Carlos Toledo Cerqueira

Estudo de ressonância magnética funcional das
mudanças da atividade cerebral durante recordações
afetivas autobiográficas decorrentes da administração
prolongada de clomipramina a sujeitos saudáveis

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

Programa de Psiquiatria
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Busatto Filho

São Paulo

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Cerqueira, Carlos Toledo

Estudo de ressonância magnética funcional das mudanças da atividade cerebral durante recordações afetivas autobiográficas decorrentes da administração prolongada de clomipramina a sujeitos saudáveis / Carlos Toledo Cerqueira. -- São Paulo, 2013.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Psiquiatria.

Orientador: Geraldo Busatto Filho.

Descritores: 1.Clomipramina 2.Imagem por ressonância magnética 3.Humor irritável/efeitos de drogas 4.Humor irritável/fisiologia 5.Rememoração mental/fisiologia 6.Rememoração mental/efeitos de drogas 7.Emoções manifestas/efeitos de drogas 8.Lobo frontal/efeitos de drogas 9.Lobo occipital/efeitos de drogas 10.Lobo parietal/efeitos de drogas 11.Autorrelato 12.Felicidade 13.Antidepressivos 14.Mapeamento cerebral 15.Córtex cerebral/efeitos de drogas 16.Humanos

Dedicatória

Aos meus pais, com amor e carinho.

Ao estimado Professor e Orientador Geraldo Busatto Filho, pelo exemplo e pela dedicação à produção científica em nosso país, além do apoio, que tornou possível a transposição das diversas e complexas barreiras que encontramos durante a execução desse estudo.

Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço à imensa participação, colaboração e orientações valiosas do Doutor João Ricardo Sato, com sua característica inteligência, simplicidade e simpatia. Tanto na escolha da metodologia a ser utilizada - diferenças entre os estados afetivos -, na orientação da análise de imagens com o programa XBAM, bem como finalização da análise estatística das escalas afetivas, sua disponibilidade para ajudar a resolver problemas decorrentes dessas análises e da interpretação dos resultados. Sou muito grato.

Ao Prof. Dr. Geraldo Busatto Filho, pela possibilidade de fazer parte de seu grupo de pesquisa apesar das limitações impostas pela minha principal atividade como psiquiatra clínico; pela coordenação do projeto de neuroimagem do estudo psicofarmacológico de antidepressivos em pessoas saudáveis, disponibilização dos meios necessários, ensino e orientação para idealização do paradigma de indução emocional por relatos autobiográficos; pela valiosa orientação, e paciência, para escrita e estruturação, de forma objetiva e realista, nossos textos e artigos; pela amizade e pelos valiosos conselhos profissionais, para adequar meu desejo de perseverar como psiquiatra clínico e psicoterapeuta, à finalidade de estruturar uma carreira científica.

Ao Dr. Jorge Renner Cardoso de Almeida, pelo coleguismo e amizade durante a aquisição de dados, pelas longas conversas sobre os mais diversificados temas e companheiro nas "baladas" da equipe do protocolo "Sol da Meia Noite".

À Prof. Clarice Gorenstein, pela coordenação do ensaio farmacológico, projeto principal, do qual esse estudo fez parte; pela participação na idealização e

coordenação do projeto de fármaco-ressonância; pela orientação do uso e adequação das escalas de avaliação ao paradigma de indução emocional e durante as sessões experimentais; e pela sua disposição para colaboração com material, pessoal, interpretação dos achados e composição dos artigos publicados desde o início de nossa colaboração com o LIM 23.

Ao Prof. Dr. Valentim Gentil Filho, pela forma original que idealizou o desenho experimental para o estudo da modificação na expressão emocional de sujeitos saudáveis devido ao uso de clomipramina; pela disposição para discussão de nossos achados, críticas e colaborações valiosas na interpretação e composição de nossos artigos.

Ao Prof. Dr. Edson Amaro Jr., pela participação na idealização do paradigma de indução emocional, aquisição de dados e análise de imagens; bem como, na alocação de pessoal e orientação na análise de imagens.

À Profa. Dr. Cláudia da Costa Leite, na alocação do material e pessoal necessário para aquisição dos exames; bem como sua disposição para colaboração e críticas na redação dos artigos científicos.

Ao amigo Fábio Moreira pelo auxílio na revisão de linguagem dessa tese.

À "colega" e amiga biomédica, Maria Ângela Barreiros, pela contribuição na aquisição de dados e na análise de imagens; e companheira nas "baladas" do protocolo "Sol da Meia Noite".

Ao Dr. Fábio Barros, pela sua atenção, dedicação e importância no início do estabelecimento da técnica de Ressonância Magnética funcional em nosso meio, e pelas valiosas discussões e orientações nos primórdios da concepção desse estudo.

Ao grande colega e amigo Fábio de Souza Duran, pela sempre pronta disposição em ajudar, seja na organização de nossos arquivos, com o sistema linux, seja na orientação e produção de figuras para nossos textos e artigos; bem como nos momentos de descontração durante nossos almoços e *happy hours* nas redondezas.

À colega e amiga Doutora Maurien Tebinka Senhorini pela amizade, discussões e desabafos, durante nossos protocolos, análises e produção de artigos, que reverteram para mim conhecimento e experiência para os momentos que se seguiram; bem como, pelo companheirismo durante nossos protocolos e *happy hours*.

À amiga Luciana Cristina Santos, pelo auxílio em diversas sentidos, principalmente com os entraves burocráticos e formalidades necessárias durante todo o processo do projeto à defesa.

Agradeço à CAPES pelo auxílio na participação congresso da *Society of Biological Psychiatry* de 2012 para apresentação de pôster relacionado a essa pesquisa.

Aos componentes dos LIMs 21, 23 e 44, que de qualquer forma colaboraram, seja na execução ou em discussão desse estudo, agradeço.

Sumário

Resumo.....	1
Abstract.....	3
1. Introdução.....	5
1.1. Justificativa e relevância do estudo.....	5
1.2. A Clomipramina.....	7
1.3. Conceitos fundamentais dos métodos de neuroimagem e RM funcional.....	9
1.4. Modelos e métodos de estudo contemporâneos das vias de processamento cerebral das emoções.....	13
1.5. Estudos de neuroimagem funcional usando relato autobiográfico em sujeitos normais.....	18
1.6. Novos paradigmas de estimulação através de relatos autobiográficos em estudos de RMf.....	20
1.7. Ensaios farmacológicos de antidepressivos em voluntários saudáveis utilizando RMf.....	21
2. Objetivos.....	26
2.1. Objetivos Específicos.....	26
2.2. Objetivos Gerais.....	26
2.3. Hipóteses.....	27
3. Métodos.....	28
3.1. Aspectos éticos.....	28
3.2. Recrutamento dos voluntários e pré-seleção.....	28
3.3. Critérios de Seleção.....	29
3.3.1. Critérios de Inclusão.....	29
3.3.2. Critérios de Exclusão.....	30
3.4. Critérios de responsividade.....	30
3.5. Ensaio farmacológico.....	31
3.6. Seleção dos indivíduos para os procedimentos de neuroimagem.....	34
3.7. Seleção, obtenção e elaboração dos scripts pessoais.....	35
3.8. Sessão de simulação.....	36
3.9. Sessão experimental utilizada nos exames I e II.....	37
3.10. Parâmetros de aquisição dos dados de ressonância magnética.....	40
3.11. Análise estatística.....	41
3.11.1. Diferenças demográficas entre os grupos responsivo e não responsivo.....	41
3.11.2. Análise da Ansiedade relacionada às sessões de RMf.....	42
3.11.3. Análise dos escores obtidos nas escalas afetivas durante os estados afetivos.....	42
3.11.4. Análise de imagens de RMf.....	43
4. Resultados.....	47
4.1. Amostra selecionada para os procedimentos de neuroimagem.....	47
4.2. Ansiedade relacionada às sessões experimentais.....	49
4.3. Médias das escalas de auto avaliação emocional durante as fases do estudo.....	49
4.3.1. Efeitos do estado medicamentoso sobre a indução emocional.....	50
4.3.2. Efeitos da interação dos fatores responsividade e estado medicamentoso sobre a indução emocional.....	50

4.4. Resultados de RM funcional.....	56
4.4.1. Interação dos efeitos medicação e grupo.....	56
4.4.2. Efeito cerebral da medicação sobre os grupos responsivo e não responsivo....	60
4.4.2.1. Efeitos da medicação sobre a indução emocional no grupo responsivo.....	60
4.4.2.2. Efeitos da medicação sobre a indução emocional no grupo não responsivo..	61
5. Discussão.....	68
5.1. Modificações encontradas sobre a indução emocional através de escalas de auto avaliação afetiva.....	70
5.2. Modificação da atividade cerebral relacionada a resposta afetiva devido a antidepressivos.....	72
5.3. Mudanças de atividade cerebral na resposta antidepressiva associadas ao controle emocional e atividade auto referencial.....	75
5.4. Limitações.....	83
5.5. Conclusões.....	85
6. Referências Bibliográficas.....	87
Apêndice.	98

Lista de tabelas

Tabela 1. Diferenças entre grupos - demográficas, imaginação visual e dosagem média de clomipramina.....	48
Tabela 2. Escores médios e desvio padrão obtidos nas escalas de auto para os estados emocionais induzidos nas fases medicada e não medicada do estudo para o grupo responsivo (n=6) e não responsivo (n=10).....	52
Tabela 3. Média da diferença entre os estados afetivos nas escalas de auto avaliação, e desvio padrão, obtidos durante as fases medicada e não medicada no grupo responsivo (n=6) e não responsivo (n=10).....	53
Tabela 4. Picos de máxima e extensão de clusters com alteração de sinal na interação do efeito de grupo (Responsivo versus não responsivo) e estado medicamentoso (fase medicada versus não medicada) sobre contrastes emocionais (n=16).	58
Tabela 5. Local de máxima e extensão de clusters com sinal BOLD que tiveram mudanças significativas grupo responsivo na comparação do status de medicação (fases medicada versus descontinuação) sobre contrastes afetivos (n=6).....	63
Tabela 6. Áreas cerebrais de efeitos BOLD resultantes da comparação dos voluntários não responsivos após 4 semanas de uso de clomipramina versus sem medicação entre os estados afetivos induzidos de felicidade, irritabilidade e neutros (n=10).....	64

Lista de Ilustrações

Lista de Figuras

Figura 1. Regiões com aumento de efeito BOLD na interação dos efeitos do uso e responsividade à clomipramina sobre a diferença entre a irritabilidade e estados afetivos neutros, e entre irritabilidade e felicidade	59
Figura 2. Regiões com alteração de efeito BOLD nos cortes axiais do cérebro nas diferenças entre os estados afetivos no grupo responsivo.....	66
Figura 3. Regiões com alteração de efeito BOLD nos cortes axiais do cérebro nas diferenças entre os estados afetivos no grupo não responsivo	67

Lista de Gráficos

Gráfico 1. Efeito da medicação sobre a diferença entre os estados emocionais	54
Gráfico 2. Escores médios e desvios padrão, obtidos na escala de ansiedade para a diferença entre os estados afetivos de irritabilidade e felicidade para os grupos responsivo (n=6) e não responsivo (n=10) nos períodos com e sem o uso de medicação.....	55

Lista de Quadros

Quadro 1. Processo de seleção e acompanhamento dos voluntários.....	33

Lista de abreviaturas

BA – Brodmann Área (Área de Brodmann)
 BOLD - blood oxygenation level dependent
 CPF - córtex pré-frontal
 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 - 4a edição-
 texto revisado)
 FAPESP – Fundação de Amparo a Pesquisa e Ensino do Estado de São Paulo
 FLAIR – fluid attenuated inversion recovery
 FOV - field of view
 FSCr - fluxo sanguíneo cerebral regional
 GE – General Electric
 HC-FMUSP - Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de
 São Paulo (HC-FMUSP)
 IAPS – International Affective Pictures System
 IPQ – Institute de Psiquiatria
 IRSN - Inibidor de recaptção de serotonina e noradrenalina
 ISRN - Inibidor seletivo da recaptção de noradrenalina
 ISRS - Inibidor seletivo da recaptção de serotonina
 mg – miligrama
 ms – milisegundo
 NIFTI – Neuroimaging Informatics Technology Initiative
 PET - Positron emission tomography (tomografia por emissão de pósitrons)
 RMf – Ressonância magnética funcional
 s – segundo
 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)
 T - Tesla
 TE - time echo
 TR – relaxation time
 USP – Universidade de São Paulo
 VVIQ - Vividness Visual Imagery Questionare
 Voxel - Volume element ou Volume cell

Carlos Toledo Cerqueira

Estudo de ressonância magnética funcional das
mudanças da atividade cerebral durante recordações
afetivas autobiográficas decorrentes da administração
prolongada de clomipramina a sujeitos saudáveis

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

Programa de Psiquiatria
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Busatto Filho

São Paulo

2013

Resumo

Cerqueira CT. *Estudo de ressonância magnética funcional das mudanças da atividade cerebral durante recordações afetivas autobiográficas decorrentes da administração prolongada de clomipramina a sujeitos saudáveis* [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013.

INTRODUÇÃO: Apesar da importância dos medicamentos antidepressivos no tratamento dos transtornos de humor e de ansiedade, sua ação sobre sistemas cerebrais responsáveis pela expressão emocional ainda não foram claramente estabelecidos. Estudos recentes têm examinando o sinal dependente de nível de oxigenação sanguínea (do inglês, “BOLD”) durante estímulos emocionais em indivíduos saudáveis sob uso de antidepressivos. Nesse estudo, pretendemos estender essa avaliação às alterações do humor e comportamento emocional devido ao uso prolongado de um antidepressivo bloqueador de serotonina e noradrenalina em pessoas saudáveis. **MÉTODOS:** foram selecionados dezesseis voluntários, sem antecedentes psiquiátricos pessoais ou familiares, que participaram de um ensaio farmacológico simples-cego de quatro semanas de doses baixas de clomipramina (até 40 mg/dia). Ao final desse período, dez sujeitos foram selecionados como não responsivos, e os restantes seis sujeitos foram selecionados como responsivos por apresentarem claras mudanças em três dos quatro seguintes critérios: tolerância interpessoal, eficiência, bem estar, e mudança substancial em sua auto percepção. O grupo de sujeitos classificados como responsivos foram submetidos a um ensaio controlado duplo-cego confirmatório. A aquisição de imagens cerebrais ocorreu após quatro semanas de uso de medicação (simples cego) e quatro semanas após a sua suspensão, ao final da participação no ensaio farmacológico. O imageamento cerebral foi realizado durante a indução de estados afetivos de felicidade, irritabilidade e neutros por relatos autobiográficos. A resposta emocional desses estados foi obtida por escalas de auto avaliação de ansiedade, irritabilidade e felicidade. As diferenças de sinal entre os estados afetivos foram utilizadas para a análise estatística da interação dos efeitos estado medicamentoso e grupo por testes ANOVA. **RESULTADOS:** Foi encontrada uma interação significativa entre o efeito de grupo e o estado medicamentoso sobre os estados afetivos de irritabilidade, mas não sobre os de felicidade. Se observou redução na auto avaliação de ansiedade no grupo responsivo com o uso de medicação na diferença entre os estados induzidos de irritabilidade e felicidade, em comparação com o efeito no grupo não responsivo; e também, redução na auto avaliação de felicidade com o uso de clomipramina na totalidade da amostra, na

diferença entre o estados induzidos de irritabilidade e neutro. A alteração sobre o efeito BOLD ($p < 0,005$) foi localizada em regiões adjacentes à junção frontoparietal para a indução de irritabilidade em relação à felicidade e em relação aos estados neutros, no grupo responsivo em relação ao não responsivo, durante o período em uso relativo àquele sem uso de clomipramina, e na junção têmporo-parieto-occipital, exclusivamente para a diferença irritabilidade-felicidade. CONCLUSÕES: a modificação favorável que sujeitos saudáveis apresentaram ao uso prolongado de um antidepressivo bloqueador da serotonina e noradrenalina, pode estar relacionada à modificação no processamento cerebral da memória autobiográfica de emoções negativas.

Descritores: 1.Clomipramina 2.Imagem por ressonância magnética 3.Humor irritável/efeitos de drogas 4.Humor irritável/fisiologia 5.Rememoração mental/fisiologia 6.Rememoração mental/efeitos de drogas 7.Emoções manifestas/efeitos de drogas 8.Lobo frontal/efeitos de drogas 9.Lobo occipital/efeitos de drogas 10.Lobo parietal/efeitos de drogas 11.Autorrelato 12.Felicidade 13.Antidepressivos 14.Mapeamento cerebral 15.Córtex cerebral/efeitos de drogas 16.Humanos

Abstract

Cerqueira CT. Study of functional magnetic resonance imaging of brain activity changes during affective autobiographical memories due to prolonged administration of Clomipramine the healthy subjects [Thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2013.

INTRODUCTION: despite the importance of antidepressant agents to the treatment of anxiety and depressive disorders, there is not yet a clear understanding of their actions upon specific brain systems relevant to emotional processing. Recent studies have examined blood oxygen level dependent (BOLD) signal during emotion stimuli in healthy individuals in antidepressant use. The study intends to extend these measures to the changes over mood and emotional behavior by prolonged use of a serotonin and noradrenaline blocker antidepressant. **METHODS:** we selected sixteen subjects, with no personal or family history of psychiatric disorders, which participated of a four-week single-blind trial with low doses of clomipramine (up to 40mg/day). After this period, ten subjects were classified as non responsive, the remaining six subjects being classified as responsive because clomipramine provided positive changes in three of four of the following criteria: interpersonal tolerance, self-efficacy, mood and self-perception of a substantial change. Responsives were included in a placebo-controlled confirmatory trial. Imaging sessions occurred at the end of the four-week course of clomipramine and again after a four-week clomipramine washout period, at the end of pharmacological trial. Subjects were scanned during the induction of irritability, happiness and neutral affective states by autobiographical recall. Self-report assessment was performed for each induction by anxiety, irritability and happiness scales. Inter-condition differences (affective induction) were used in the analysis of interaction of medication status and group effects by ANOVA tests. **RESULTS:** A significant interaction was found between group and treatment during irritability, but not during happiness emotions. It was observed a reduction in the scale of self-evaluation of anxiety in responsive group with the use of medication to the difference between irritability-happiness states, compared to the non responsive group; and a reduction in auto evaluation of happiness, in the totality of the sample in use of clomipramine, in difference irritability-neutral. There was a significant increase of BOLD effect in the responsive group during use relative to the period without use of clomipramine, compared to the effect on non-responsive group ($p < 0.005$). This effect was located in regions that surround the frontoparietal junction to the irritability relative to happiness and to irritability relative to neutral induction, and in the temporo-parieto-occipital junction, exclusively to the irritability relative to happiness induction. **CONCLUSIONS:** The favorably changes in healthy subjects who respond to

prolonged serotonin and noradrenaline blocker use, may relate to changes in neural processes of autobiographical memory of negative emotions.

Descriptors: 1.Clomipramine 2. Magnetic Resonance Imaging 3. Irritable mood/drug effect 4. Irritable mood/physiology 5.Mental recall/physiology 6. Mental recall /drug effect 7.Manifested emotion/drug effect 8.Frontal lobe/drug effect 9.Occipital lobe/drug effect 10.Lobo parietal/drug effect 11.Self report 12.Happiness 13.Antidepressants 14.Brain mapping 15.Cerebral cortex/drug effect 16.Human

1. Introdução

1.1. Justificativa e relevância do estudo

Os antidepressivos constituem a classe de medicamentos mais utilizada em transtornos psiquiátricos, principalmente, nos quadros depressivos, transtorno obsessivo compulsivo, transtorno de pânico e fobias. Mas apesar da sua enorme importância, seus mecanismos de ação sobre a atividade cerebral permanecem pouco elucidados.

Muitos estudos de neuroimagem funcional foram realizados sobre a ação dos antidepressivos em pacientes com transtornos de humor e ansiedade. Alguns deles têm sugerido que a eficácia dos antidepressivos decorre da capacidade de reverter vieses cognitivos automáticos, associados ou não ao humor (Kennedy et al., 2007; Fu et al., 2008; Fitzgerald et al., 2008; ; Harmer et al., 2009; Onur et al., 2009; Van Wingen et al., 2010; Delaveau et al., 2011; Klumpp et al., 2012). Mais recentemente, vem adquirindo crescente importância, a modificação da auto avaliação em quadros depressivos e ansiosos (Liao et al., 2010; Delaveau et al., 2011; Lemogne et al., 2009a,b, 2010, 2012; Qiu et al., 2011). Entretanto, o sucesso terapêutico está relacionado à normalização da atividade em regiões cerebrais críticas para diversos tipos de funções mentais (Davidson et al., 2003; Fu et al., 2007; Drevets 2010; Simplicio 2011).

Em estudos realizados em pacientes, o melhor esclarecimento da ação cerebral dos antidepressivos sofre o viés da interferência de alterações mórbidas prévias, como cronicidade, exposição prolongada a psicofármacos e demais tratamentos, remissão de insônia, entre outros, inerentes a esses transtornos. Estudos

de RMf têm utilizado amostras de sujeitos saudáveis para o estudo de ações de antidepressivos (Harmer et al., 2011; van Marle et al., 2011). Eles têm se demonstrado uma alternativa para o estudo dos efeitos de medicamentos antidepressivos, pois excluem fatores de confusão relacionados à morbidez, além de lançar novos insights sobre como essa classe de drogas altera o funcionamento normal do cérebro.

Esta tese teve o objetivo de mapear modificações de atividade cerebral durante indução emocional em indivíduos saudáveis que apresentaram modificações afetivas, em comparação com sujeitos que não apresentaram tal resposta ao antidepressivo clomipramina.

1.2. A Clomipramina

A clomipramina é classificada estruturalmente como um antidepressivo tricíclico. Além da eficácia usual como antidepressivo, sobretudo em episódios graves, a clomipramina é considerada droga de primeira linha no tratamento do transtorno obsessivo-compulsivo, transtorno de pânico e agorafobia (Marazziti et al., 2012). Doses orais são prontamente absorvidas pelo aparelho gastrointestinal e extensivamente desmetilada pelo metabolismo de primeira passagem no fígado ao seu metabólito preliminar, dimetilclomipramina. A clomipramina é excretada na urina, principalmente sob a forma de seus metabólitos, livre ou na forma conjugada, e sua meia-vida da clomipramina tem sido estimada em 20,4 horas com uma variação de 15,6 a 35,1 horas.

Assim como outros antidepressivos tricíclicos, a Clomipramina apresenta afinidade por receptores histaminérgicos H1, α 1-adrenérgicos, 5-HT2A e muscarínicos. É uma droga tradicionalmente reconhecida por sua alta afinidade com o receptor de serotonina, mas que atualmente vêm sendo advogado como um antidepressivo com efeito dual: serotoninérgico e noradrenérgico (Gillman 2007). Estudos farmacológicos recentes usando clonagem de receptores têm mostrado que a clomipramina exibe forte dupla ação tanto como 5-HT e inibidor da recaptação de NA, que preenchem os critérios de um antidepressivo combinado de inibidor de recaptação de serotonina (IRS), tanto quanto é inibidor de recaptação de noradrenalina (IRN) em intensidade maior que duloxetina e agentes venlafaxina. A

clomipramina, mesmo em doses baixas como 10 mg, chega a ocupar 80% dos receptores serotoninérgicos, tal qual 20 mg de paroxetina e 50 de fluvoxamina. No cérebro, bloqueia a recaptação de serotonina e noradrenalina, promovendo um aumento de aminas na fenda sináptica. Este aumento ocorre em diversos locais do cérebro, incluindo locais envolvidos com o processamento emocional como, por exemplo, a amígdala, córtex pré-frontal, caudado, putâmen, hipocampo e tálamo (Wong et al., 2009).

1.3. Conceitos fundamentais dos métodos de neuroimagem e RM funcional

A pesquisa da origem anatômica das funções cerebrais remonta aos primórdios da ciência médica, mas no último século e particularmente na última década, houve crescimento abrupto do conhecimento anatômico com a incorporação de novas ciências ao conhecimento médico. Recentemente, com o desenvolvimento de técnicas de estudo *in vivo*, achados anteriores vêm se confirmando, ampliando e diversificando, com inovadoras linhas de pesquisa. Com a incorporação de técnicas computacionais e estatísticas nas técnicas de obtenção e análise de imagens houve um crescimento abrupto, mas ainda em desenvolvimento, de técnicas de análise imagens cerebrais baseada no *voxel*.

Esse conceito serviu de base para o desenvolvimento de métodos capazes de estimar a volume de estruturas cerebrais (Volumetria Baseada no Voxel), realizar medidas de substâncias específicas em determinadas regiões cerebrais (Espectroscopia), imagens de conjuntos de feixes neuronais através da tensão de difusão das moléculas de água (do inglês, *Difusion Tensor Imaging, DTI*), medidas do fluxo sanguíneo cerebral, do metabolismo e ocupação de neuroreceptores através de radioisótopos (análise automatizada de imagens obtidas por Tomografia por Emissão de Pósitrons, do inglês, *PET* – ou por Emissão de Fóton Único – do inglês, *SPECT*), e também por alguns métodos de Ressonância Magnética funcional, como do sinal Dependente do Nível de Oxigenação sangue (do inglês, *BOLD*) ou *Arterial Spin Labeling*, obter indiretamente estimativas da atividade cerebral regional.

Cada um desses métodos e seus respectivos programas de análise de imagem seguem algoritmos específicos de processamento das imagens individuais para obter um mapa estatístico do cérebro composto por unidades tridimensionais, o *voxel*. E assim permitem através de comparações uma a uma obter diferenças entre grupos ou características dos grupos entre si, gerando mapas cerebrais resultantes dessas comparações.

Em geral, o sinal obtido pelo registro por um método específico é realizado em camadas ou fatias cerebrais, distribuídos em números predeterminados de linhas e colunas para compor uma matriz de voxels (por ex.: 64 linhas x 64 colunas). Geralmente, transformado em outras matrizes que formam modelos ou moldes padronizados, baseados em coordenadas, compostos pela totalidade dos *voxels* de um determinado sujeito. E, posteriormente, se realizar a análise de grupos, testes de hipóteses e outras técnicas mais sofisticadas.

Para tal, são necessárias diferentes etapas, que caracterizam cada programa de análise e método utilizado, que tem como objetivo otimizar a captação de sinal e adaptar os diferentes cérebros a um mesmo tamanho e/ou molde, e o posicionamento em coordenadas tridimensionais predeterminadas (suavização e normalização).

Atualmente, imagens para estimação do fluxo sanguíneo regional (FSCr) e metabolismo cerebral vem se tornando o meio mais válido e confiável para se avaliar padrões de funcionamento cerebral regional em seres humanos vivos e investigar anormalidades funcionais associadas a transtornos neuropsiquiátricos. As principais técnicas utilizadas nesse tipo de estudos são a tomografia por emissão de pósitrons (*PET*) e a tomografia por emissão de fóton único (*SPECT*) e a RMf. Esta última, por

não envolver radiação, pode ser considerada totalmente não invasiva, permitindo múltiplos exames no mesmo sujeito. A detecção de alterações no nível de oxigenação da hemoglobina (efeito *BOLD* – *blood oxygen level dependent*) permite uma estimação confiável das variações do fluxo sanguíneo cerebral regional (Ogawa et al., 1990), com boa resolução espacial e temporal.

No caso de exames de RM funcional, são adquiridos diversos volumes cerebrais sucessivamente, em tempos predeterminados, e essa sequência é chamada de série temporal. Nestas, há a necessidade adicional da ajuste temporal e espacial (alinhamento e correção de movimento) dos volumes cerebrais de cada indivíduo antes das fases de análise de grupo, dado que a captação de sinal de um volume cerebral ocorre por fatias independentes, assim, mesmo aquelas pertencentes ao mesmo volume cerebral não são captadas ao mesmo tempo, necessitando correção para obtenção do sinal apropriado de cada voxel a cada momento ao longo do experimento (Amaro e Barker, 2006). Assim, o sinal BOLD em cada voxel particular é relacionado a variável tempo, tendo-se como referencia os parâmetros que não se relacionam à tarefa.

Com o resultado final, podemos obter mapas estatísticos tridimensionais do cérebro relacionados a tarefa alvo e tarefa controle. Quando comparadas entre si geram os mapas estatísticos que representam o objeto de estudo. Esse procedimento também é algumas vezes mencionado como método de subtração de imagens. Dessa forma, podem ser realizadas comparações entre grupos, entre diferentes intervenções. Também é possível se realizar o estudo do “estado de repouso”, sem execução de tarefas de estimulação (do inglês, *default mode function, DMF*), para estudo das áreas

relacionadas a “atividade cerebral padrão” ou *default mode network*, *DMN*). E com o emprego de abordagens estatísticas mais complexas, como a análise de correlação temporal entre determinadas áreas, se estimar a conectividade funcional elas. Onde o padrão de atividade dos voxels das duas ou mais áreas poderão determinar um índice de correlação positivo ou negativo, que representa o quanto e qual direção o comportamento das áreas se assemelha ao longo de um dado período.

Assim, a utilização da RM funcional tem alavancado o conhecimento sobre o funcionamento cerebral na normalidade, transtornos de humor, esquizofrenia, bem como de intervenções terapêuticas ou efeitos diretos de drogas e medicamentos.

1.4. Modelos e métodos de estudo contemporâneos das vias de processamento cerebral das emoções

Desde as formulações iniciais do fisiologista americano Walter Cannon, a partir da década de 1920, trabalha-se com o conceito de que os diferentes órgãos e sistemas biológicos apresentam níveis hierarquizados de organização, com o propósito de manutenção da *homeostase*.¹ Os *estímulos*² sinalizam alterações sobre o organismo e desencadeiam eventos fisiológicos específicos, os quais são, por sua vez, integrados de formas complexas no cérebro para proporcionar ações necessárias, orientadas para restabelecer o equilíbrio interno. Um tipo de manifestação essencial dessa integração, em animais e seres humanos, são as *emoções*³. Este fenômeno complexo permite caracterizar subjetivamente uma relação com uma situação, algo ou alguém, e influenciar, ou mesmo alterar a motivação, priorizando atitudes e o ajustamento ao contexto atual a curto ou longo prazo.

Nesse contexto, podemos classificar como primitivas ou *emoções básicas*⁴, o prazer, medo, nojo e surpresa, que pressupõem expressões específicas da espécie, evidentes poucos dias após o nascimento (Posner et al., 2005). Abordagens recentes para estudo de variáveis emocionais se utilizam do modelo categórico para divisão das emoções. Neste, podemos dividir as emoções com relação à valência em emoções

---

¹ Tendência à estabilidade ou equilíbrio do meio interno do organismo.

² Toda e qualquer alteração física passível captação por órgãos sensoriais.

³ As emoções são estados afetivos agudos, intensos e complexos, associados a manifestações físicas (como alterações de respiração, cardiovasculares, gastrointestinais, dentre outras), despertados por estímulo interno ou externo.

⁴ Emoções diretamente ligadas a estímulos fisiológicos.

*positivas*⁵ (ex.: alegria, satisfação, realização) e *negativas*⁶ (ex.: medo, ansiedade, irritabilidade e nojo).

A longo prazo, a capacidade de reserva dos diferentes órgãos e sistemas para responder às demandas é limitada. As emoções são parte da sinalização do desequilíbrio, influenciam o *humor*⁷ e os *sentimentos*⁸ e, conseqüentemente aspectos motivacionais para a busca de objetivos os quais geram padrões complexos de comportamento. Neste contexto, outro tipo de modelo categórico pode ser usado para dividir conceitualmente as emoções com relação à sua tendência motivacional, em *aproximativas*⁹ ou *evitativas*¹⁰.

Um exemplo de estímulo capaz de alterar a atividade cerebral é o doloroso. Considerado um estímulo negativo e evitativo primordial, se relaciona ao aumento de atividade em áreas cerebrais como ínsula, tálamo, cíngulo anterior, córtex somático sensorial e DLPF, e diminuição de atividade em áreas do córtex frontal anterior, visual, parietal, e do cíngulo posterior (Oshiro et al., 2009).

Uma das emoções mais importantes, tanto na saúde quanto no contexto dos transtornos mentais, é a ansiedade. A percepção da atividade cardiovascular aumentada relacionada a ansiedade, se associa a atividade cerebral em regiões do cerebelo, corpo do cíngulo e ponte. Assim como essas áreas podem ser estimuladas

---

⁵ Emoções percebidas subjetivamente como boas ou favoráveis a homeostase.

⁶ Emoções percebidas subjetivamente como ruins ou desfavoráveis à homeostase.

⁷ Estado de disposição básica, difusa e prolongada da afetividade do sujeito, estável por período ou caráter mais prolongado.

⁸ Reações mais duradouras e de base eminentemente psíquica e subjetiva, despertadas por estímulos externos ou por representações subjetivas internas.

⁹ Emoções que motivam a aproximação de objetos e situações desejáveis.

¹⁰ Emoções que motivam o afastamento de objetos e situações indesejáveis ou deletérios.

por exercícios isométricos ou demanda cognitiva intensa (Critchley et al., 2000).

As tarefas de estimulação mental para estudo de atividade cerebral, exigem que os voluntários se engajem a um objetivo específico. E isto, por si só, modifica profundamente a atividade cerebral. É possível realizar a diferenciação da atividade cerebral espontânea, que ocorre em estado de repouso, *DMF*, sem estímulos relevantes, daquela observada durante a atenção dirigida. Diversos autores defendem a ideia de que, no estado de repouso a pessoa se encontra em um estado intensamente voltado a si próprio, seus pensamentos e reflexões. Durante a atividade de repouso encontra-se aumento de atividade relativa de áreas do córtex do cíngulo posterior, parietal ínfero-posterior lateral, pré-frontal medial e estruturas do lobo temporal medial, reconhecida como *DMN*. A atenção dirigida, porém, envolve áreas do cíngulo anterior dorsal, córtex dorsolateral pré-frontal, lobo parietal superior, sulco intraparietal, campo visual frontal, área temporal sensível a movimento, córtex pré-motor ventral e opérculo frontal (Wicker 2003).

Múltiplas áreas do cérebro, se tornam ativas conjuntamente, perfazendo alças ou circuitos cerebrais, durante o processamento cerebral das emoções. Diversas estruturas subcorticais, como o complexo amídala/hipocampo e hipotálamo, integram informações provenientes das áreas corticais exteroceptivas, interoceptivas e associativas, e sub regiões do lobo frontal, interligadas por regiões límbicas, paralímbicas e núcleos subcorticais, perfazendo assim, alças ou circuitos, que podem variar na participação desses componentes, de acordo com a categoria emocional e a forma como são induzidas (Phan et al., 2002; Critchley 2009; Cerqueira et al., 2008).

Assim, em estudos de neuroimagem funcional nenhuma área específica é

encontrada de forma comum a todas emoções ou formas usadas em sua indução emocional. Entretanto, pôde ser verificado que tanto emoções positivas quanto negativas tendem a recrutar a amígdala, podendo indicar a função desta estrutura cerebral na percepção da saliência ou relevância de estímulos em geral. Também o giro pré-frontal medial tem sido engajado pela maioria dos métodos de indução e emoções específicas, sendo aventado como responsável pela consciência das emoções, avaliação e controle emocional (Cerqueira et al., 2008; Cerqueira et al., 2010; Phillips et al., 2003a).

A ativação da amígdala tem se associado fortemente às emoções de medo e felicidade, por uma variedade de métodos, mas também por outras emoções, principalmente quando utilizados estímulos visuais. Enquanto a tristeza tem se relacionado mais especificamente à ativação do giro do cíngulo subgenual, e os gânglios da base têm se associado mais fortemente às emoções positivas e aproximativas; e ainda, às categorias emocionais felicidade, raiva e nojo (Phan et al., 2002; Murphy 2008).

Dados como os que foram revisados acima permitiram recentemente a elaboração de um modelo que leva em conta, basicamente, a existência de dois sistemas neurais que se conectam e se modulam reciprocamente. Um sistema ventral, composto por circuitos envolvendo amígdala, hipotálamo, ínsula, estriado ventral, as regiões ventrais do cíngulo anterior e o córtex orbitofrontal, e um sistema dorsal, composto pelo hipocampo, regiões dorsais do giro do cíngulo anterior e o córtex pré-frontal (CPF).

O primeiro seria responsável pela percepção e produção do estado afetivo, e o

segundo, pela modulação do estado afetivo para a obtenção de uma resposta contextualmente apropriada. O funcionamento equilibrado desses dois sistemas depende de conexões recíprocas existentes entre eles, o que permite a modulação mútua para gerar comportamentos e emoções complexos. Enquanto o primeiro recebe aferências extensas de áreas sensoriais primárias e de associação, o segundo está envolvido em mecanismos cognitivos, como memória e atenção. A extensão dessa interação determina diversos fatores, desde a relevância e complexidade de um estímulo até mecanismos de codificação, retenção e recordação de memórias, assim como padrões de comportamento, ao longo do eixo de vida (Markowitsch et al., 2003; Phillips et al., 2003a; Critchley et al., 2004; St Jacques et al., 2011).

1.5. Estudos de neuroimagem funcional usando relato autobiográfico em sujeitos normais

Considera-se a recordação de episódios autobiográficos uma forma particular de memória episódica, permeada de características sensoriais, espaciais, de movimento, de percepção de tempo e emocionais. Portanto, complexa, também pelo conteúdo cognitivo e semântico, influenciada pela retenção e recordação, e também, pelo componente emocional e pelo tempo decorrido desde que ocorreu a experiência a ser lembrada (Markowitsch et al., 2003). Esse fenômeno complexo provê uma ligação do momento atual com a consciência do curso de tempo para a reconstrução e reelaboração do significado de seu próprio passado (Tulving and Markowitsch 1998). Neste contexto, o conteúdo da memória autobiográfica é integrado ao senso de coerência e de continuidade de si mesmo que constitui parte da personalidade do indivíduo (Conway e Pleydell-Pearce 2000). Ao tomar consciência da memória de um evento, é provável que se reavalie a relação com a personalidade no tempo presente e o recodifiquem nesta base atual (Markowitsch et al., 2003). Um exemplo da modificação plástica da memória autobiográfica pode ser vista no estudo de St. Jaques e colaboradores (St Jacques et al., 2011), que mostrou relação positiva do aumento da atividade pré-frontal com avanço da idade, modulando a atividade amigálica.

Em estudos pioneiros na utilização da memória autobiográfica para indução emocional, que aplicaram a técnica de *PET*, podemos relacionar padrões de atividade cerebral a categorias emocionais específicas, como: atividade de áreas do córtex

temporal, principalmente, para a raiva; e para ansiedade e culpa em sua sub-região polar. Na indução de culpa ocorre diminuição de atividade no lobo frontal, ao contrário da ansiedade e raiva, que tiveram atividade reduzida na sub-região orbital do lobo frontal. A atividade no córtex insular foi mais frequente para a tristeza, para a ansiedade e a culpa. No córtex parietal, redução de atividade, durante emoções de tristeza e raiva. Também foram frequentes achados de aumento de atividade durante a competição sexual, raiva e culpa, no cíngulo anterior, assim como, na porção subgenua, durante a indução de tristeza. Enfim, no globo pálido se encontrou atividade durante a competição sexual; e o hipocampo, com atividade diminuída durante a ansiedade. (para maiores detalhes ver: Rauch et al., 1999; Dougherty et al., 1999; Kimbrell et al., 1999; Li 2000; Liotti et al., 2000; Mayberg et al., 2000).

1.6. Novos paradigmas de estimulação através de relatos autobiográficos em estudos de RMf

Nos dias atuais a técnica de recordação por relato autobiográfico vem sendo utilizada em uma variedade de linhas de pesquisa, como, o estudo dos subprocessos da memória autobiográfica. Tais como, paradigmas utilizados para o estudo do processamento emocional e da memória autobiográfica em diversas condições relevantes par os transtornos psiquiátricos e de personalidade, como, memórias traumáticas, super generalização de memórias, pensamentos prevalentes, resolução de conflitos, controle emocional e estratégias de enfrentamento (Levine et al., 2004; Beblo et al., 2006; Svoboda et al., 2006; Cooney et al., 2007; Daselaar et al., 2008; Kross e Ayduk 2009; Holland e Kessinger 2010).

Em um estudo de nosso grupo, esta técnica foi utilizada pela primeira vez por Cerqueira e colaboradores para se estudar emoções de felicidade e de irritabilidade em sujeitos saudáveis utilizando-se a técnica de Ressonância Magnética funcional. Em relação à primeira foram encontradas áreas cerebrais envolvidas no controle vegetativo e percepção de suas alterações conhecidas como hipotálamo e tálamo, e, ínsula e córtex somatosensorial, respectivamente, bem como, áreas pré-frontais anteriores e dorsolaterais, relacionadas à evocação de memórias e ao controle emocional. Foram também encontradas áreas específicas para a irritabilidade localizadas no giro de cíngulo subgenual, bem, como, no córtex frontal anterolateral e têmporo-occipital.

Esses achados foram associados anteriormente a quadros depressivos e com o

transtorno bipolar na literatura, ao controle emocional e percepção exteroceptiva (Cerqueira et al., 2008, 2010).

1.7. Ensaios farmacológicos de antidepressivos em voluntários saudáveis utilizando RMf

A fim de eliminar o viés causado pela melhora sintomatológica nas pesquisas de neuroimagem que avaliam mudanças de atividade cerebral induzidas por antidepressivos em amostras de portadores de transtornos do humor, estudos recentes de RMf têm investigado padrões de mudança na atividade cerebral decorrente do uso de medicamentos antidepressivos em voluntários sadios.

Tais estudos se utilizam de ensaios farmacológicos envolvendo a administração venosa ou oral de dose única de antidepressivo, ou administração oral diária durante intervalos maiores de tempo e incluem sessões repetidas de aquisição de imagens cerebrais, com o objetivo de demonstrar diferenças nos padrões de atividade funcional regional nos cérebros dos voluntários entre as fases com medicação e sem medicação.

Num dos primeiros estudos realizados com RMf nesta área, McKie et al., demonstraram que, após a administração aguda intravenosa do antidepressivo inibidor seletivo de recaptura da serotonina (ISRS) citalopram, ocorre um aumento da atividade funcional da amígdala em “estado de repouso”, assim como em corpo estriado, tálamo e hipocampo (McKie et al., 2005).

Um dos métodos utilizados para estudar o processamento emocional em estudos de neuroimagem funcional, consiste a apresentação de fotografias de conteúdo emocional. Utilizando a administração de uma dose oral única de fluvoxamina, foi encontrada diminuição da resposta neuronal na amígdala durante a avaliação de figuras aversivas (Takahashi et al., 2005). Em estudo similar, foi verificado aumento de atividade no tálamo medial após uso da reboxetina, bem como, modulação da atividade de determinadas áreas pré-frontais e insulares após uso de citalopram. Neste estudo, ambos antidepressivos foram capazes de modular a atividade de áreas frontais e occipitais (Brühl et al., 2010).

Em outro estudo que utilizou a administração oral de reboxetina por sete dias ou citalopram, ambos antidepressivos levaram a um aumento da atividade do córtex orbitofrontal a figuras de conteúdo prazeroso e diminuição de atividade a estímulos aversivos (McCabe et al., 2010). Simmons et al., se utilizaram de esquema semelhante, num ensaio farmacológico de 21 dias de uso do ISRS escitalopram, e detectaram modulação negativa da atividade na ínsula posterior e cíngulo anterior independentemente da valência dos estímulos apresentados, bem como modulação negativa da atividade funcional no córtex medial pré-frontal e no cíngulo anterior durante antecipação de figuras aversivas versus prazerosas (Simmons et al., 2009).

Um outro tipo de paradigma de estimulação emocional utilizado em estudos de RMf associados ao uso de antidepressivos em sujeitos normais envolve o reconhecimento de expressões faciais. De forma altamente padronizada e de simples aplicação, este paradigma envolve a apresentação repetida de faces com progressivas

intensidades de expressões de uma emoção específica, e solicita-se ao voluntário que ele demonstre em que ponto da apresentação das faces ele reconhece a expressão da emoção em questão. Embora prático e padronizado, este método se restringe à avaliação dos estágios preliminares do processamento emocional (reconhecimento emocional), não visando indução ou provocação de emoções como alguns dos outros paradigmas discutidos acima.

Em um estudo que envolveu a administração de doses únicas intravenosas de citalopram, detectou-se diminuição da resposta do córtex pré-frontal ventrolateral e da amígdala à apresentação de faces de nojo (Del-Ben et al., 2005). Estudos subsequentes, com foco na amígdala, replicaram este resultado e detectaram também aumento de resposta na ínsula a faces expressando nojo em associação com o uso do antidepressivo (Anderson et al., 2008), assim como resposta atenuada à apresentação de faces expressando medo (Murphy et al., 2009). O mesmo padrão de modulação da atividade amidalar em resposta a faces com expressões de medo foi detectado após uso de reboxetina (Onur et al., 2009). Em outros estudos, detectou-se diminuição significativa da atividade frontal medial, amidalar e hipocampal à apresentação de faces de medo após o uso de citalopram por sete dias (Harmer et al., 2006), e com o mesmo período de utilização de reboxetina, foi encontrada diminuição da atividade neuronal na amígdala (Norbury et al., 2007). Em um estudo subsequente, foi detectado aumento de atividade na amígdala durante a visualização de expressões felizes após o uso de citalopram por 7 a 10 dias (Norbury et al., 2008). Quando utilizado escitalopram durante 21 dias, ocorreu diminuição de atividade neuronal em amígdala e

ínsula bilateralmente durante o reconhecimento de faces de medo, mas não durante o processamento de faces de felicidade (Arce et al., 2008).

Em síntese, os resultados discutidos neste item confirmam a previsão de que a administração de medicamentos antidepressivos, mesmo em dose única, interfere na atividade de regiões cerebrais sabidamente relevantes para o processamento emocional. Os estudos de RMf evidenciam que, em períodos de utilização aguda ou subaguda (1-7 dias), antidepressivos ISRS ou ISRN promovem preferencialmente diminuição de atividade funcional em regiões frontais, núcleos subcorticais e amígdala a estímulos emocionais negativos, bem como aumento de atividade em algumas destas regiões a estímulos positivos. Já quando são utilizados por períodos mais prolongados, os antidepressivos tendem a promover efeito modulador negativo sobre áreas corticais associativas límbicas, tais como ínsula e cíngulo anterior, frontais, parietais e occipitais, independente da valência do estímulo utilizado durante a aquisição das imagens.

Os efeitos agudos dos SSRI sobre o estado afetivo são, muitas vezes, opostos aos efeitos de doses repetidas. Ou seja, ocorre elevação inicial da ansiedade, que é muitas vezes seguida do efeito ansiolítico se o uso é continuado por duas ou três semanas (Simmons et al., 2009). Um efeito semelhante foi pesquisado em estudo anterior realizado por nosso grupo (Almeida et al., 2010). Foi encontrada relação positiva entre a atividade em regiões da ínsula, durante a estimulação emocional por figuras positivas e negativas, e a modificação positiva da afetividade em uma amostra

de voluntários saudáveis após o uso de clomipramina por quatro semanas (Almeida, 2008).

Um estudo recente encontrou modulação negativa da atividade frontal, se estendendo à ínsula, e no giro temporal superior durante recordação autobiográficas de conteúdos positivos comparados a negativos, consequente a utilização de uma única dose de reboxetina (Papadatou-Pastou et al., 2012). Esse efeito foi interpretado como resultante do efeito antidepressivo que facilitaria a recordação das emoções negativas uma vez que as emoções positivas são lembradas mais facilmente que as negativas.

2. Objetivos

2.1. Objetivos Gerais

Esta tese teve como objetivo utilizar relatos autobiográficos de conteúdo emocional para avaliar o engajamento de circuitos cerebrais específicos relacionadas à essa forma de provocação emocional. Os participantes do presente projeto foram voluntários saudáveis, recrutados a partir de um ensaio clínico farmacológico que objetivou testar a capacidade da clomipramina em modificar padrões de resposta emocional e cerebral através da técnica de RM funcional. O imageamento cerebral ocorreu simultaneamente à recordação autobiográfica de emoções de irritabilidade, felicidade e neutras, em duas ocasiões: uma delas na vigência do uso de clomipramina, e a outra após a descontinuação da medição.

2.2. Objetivos Específicos

A estratégia de pesquisa acima teve os seguintes objetivos específicos:

- (a) Contribuir para uma melhor compreensão das ações cerebrais da clomipramina nos sistemas neuronais envolvidos com o processamento emocional. Previmos que durante a vigência do uso do antidepressivo, ocorreriam mudanças no padrão da ativação destes sistemas neuronais.

(b) Através de uma classificação de uma parte dos voluntários que apresentassem resposta emocional ao uso da clomipramina, investigar seu padrão de ativação cerebral específico, comparando-os com aqueles que não se modificaram com o uso do antidepressivo.

2.3. Hipóteses

Tomando por base os achados da literatura revisada, aventamos a hipótese de o aumento de sinal BOLD devido a utilização de medicação no grupo responsivo e diminuição, no grupo não responsivo. E, levando em conta a utilização desse paradigma de estimulação emocional específico, previmos que esse efeito ocorreria preferencialmente em determinadas áreas do cérebro.

As hipóteses dessa tese foram de que as diferenças citadas acima ocorreriam na interação dos fatores grupo e estado medicamentoso, nas regiões: córtex sensitivo somático, frontal dorsomedial, cíngulo anterior, e gânglios da base, durante a indução de felicidade comparada aos estados afetivos neutros; e no córtex sensitivo somático, dorsomedial pré-frontal, e na junção têmporo-parieto-occipital, durante a indução de irritabilidade em relação aos estados neutros. Em comparação aos estados de felicidade, a alteração de sinal BOLD ocorreria em regiões córtex do cíngulo posterior e pré-frontal dorsolateral.

3. Métodos

3.1. Aspectos éticos

Os participantes assinaram termo de consentimento informado antes de serem submetidos a qualquer tipo de procedimento. Os procedimentos do estudo seguiram as normas da Declaração de Helsinque, e suas reformulações posteriores. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo em 2012.

3.2. Recrutamento dos voluntários e pré-seleção

Para esse estudo foram recrutados voluntários do Projeto Temático: Estudo Psicobiológico da Regulação Emocional a Partir Dos Efeitos de Antidepressivos – Protocolo IPQ-VOL-NL-01.04, coordenado pelo Prof. Valentim Gentil Filho, pela Profa. Clarice Gorenstein e pelo Prof. Geraldo Busatto Filho, e com financiamento pela FAPESP (processo 01/00189-9) até 2008, e que objetivou testar os efeitos da clomipramina em doses suficientes para modificar padrões de resposta emocional, cognitiva e comportamental em voluntários sem história pessoal ou familiar de transtornos psiquiátricos (Gentil et al., 2007). O processo de recrutamento dos voluntários para o projeto temático foi realizado através de cartazes, palestras, anúncios na imprensa, chamadas de rádio e TV, encaminhamento por outros participantes e pesquisadores, cartas a indivíduos que participaram de estudos

anteriores, etc. Foram divulgadas as características dos voluntários procurados, bem como a natureza geral do estudo. Os indivíduos interessados eram submetidos a uma entrevista telefônica para triagem inicial e demais procedimentos de seleção. Aqueles que eram recrutados a partir dos procedimentos iniciais foram avaliados durante entrevista clínica e psiquiátrica, bem como a exames laboratoriais, para seleção conforme os critérios abaixo. O quadro 1 sumariza esse procedimento.

3.3. Critérios de Seleção

3.3.1. Critérios de Inclusão

- a. Voluntários sadios com idades entre 21 e 50 anos;
- b. Primeiro grau completo de escolaridade mínima;
- c. Residência na cidade de São Paulo;
- d. Ausência de diagnóstico de transtorno psiquiátrico através da entrevista clínica estruturada (*Structered Clinical Interview* – SCID - DSM-IV (FIRST et al., 1997));
- e. Classificação como destro de acordo com o inventário estruturado de lateralidade cerebral

3.3.2. Critérios de Exclusão

- a. Indivíduos com história pessoal de doenças mentais psiquiátricas avaliação psiquiátrica inicial;
- b. Indivíduos com história familiar de primeiro grau ou em avós de doenças mentais psiquiátricas, conforme pelo rastreamento de história familiar (*Family History Screen*, Weissman et al., 2000);
- c. Presença de gravidez ou amamentação, ou história de parto nos últimos 6 meses;
- d. História de tratamento com medicamentos psicoativos nos 6 meses anteriores à seleção;
- e. Início de psicoterapia em período inferior aos 6 meses anteriores à seleção;
- f. Contraindicação para realização de ressonância magnética de crânio e geradores de artefatos de imagem, como aparelhos e próteses metálicas, e cliques metálicos.

3.4. Critérios de responsividade

A responsividade dos participantes à clomipramina do ensaio farmacológico pela equipe de psiquiatras do projeto temático era caracterizada pela presença de três dos seguintes critérios (Gentil et al., 2007):

- a) Aumento na tolerância interpessoal (diminuição de irritabilidade, da ansiedade e tensão na interação social, maior tolerância);
- b) Aumento da eficiência (melhora na habilidade em decidir, em priorizar demandas e autoconfiança);
- c) Bem estar (com energia, sentir-se melhor, melhora do humor);
- d) Mudança substancial em sua auto percepção (mudança no seu “eu” habitual, sentir-se diferente).

3.5. Ensaio farmacológico

Durante primeira fase do ensaio farmacológico, simples cego, os participantes receberam doses a partir de 10 mg/dia de clomipramina com aumento escalonado até 40 mg/dia, conforme à tolerância individual. Os voluntários foram avaliados semanalmente sobre estímulos da vida diária para sua inclusão no grupos responsivo ou não responsivo. Para caracterização de um voluntario como responsivo era necessária a presença de modificação substancial de pelo menos 3 de 4 critérios, avaliados independentemente por dois psiquiatras, cegos para o status medicamento dos voluntários. Do contrário, eram selecionados para o grupo não responsivo. isso era determinado até a quarta semana de uso. Após isso, uso de Clomipramina era interrompido de forma escalonada.

A segunda fase do ensaio farmacológico, controlado duplo cego *crossover*, era realizada após 4 semanas de descontinuação para confirmação dos critérios de responsividade e foi conduzida apenas no grupo de sujeitos responsivos. Eles foram divididos aleatoriamente para retornar gradativamente às mesmas doses de Clomipramina usadas anteriormente, ou selecionados para a utilização de placebo ativo prontantelina 30 mg/dia (que mimetiza os efeitos anticolinérgicos da clomipramina), ambos por 4 semanas. Após isso se realizou a troca destes obedecendo novamente à descontinuação e administração escalonadas por 4 semanas.

Quadro 1. Processo de seleção e acompanhamento dos voluntários

Exclusão preliminar: 2938

escolaridade, idade, residência, desistências

* Motivos de exclusão não somam 100% porque um indivíduo pode apresentar mais de um fator de exclusão

3.6. Seleção dos indivíduos para os procedimentos de neuroimagem

Ao final da terceira semana da primeira fase do ensaio farmacológico os voluntários eram encaminhados aos procedimentos de neuroimagem. Primeiramente os voluntários eram informados em linhas gerais sobre objetivo, forma e período em que ocorreria a pesquisa e suas dúvidas iniciais foram esclarecidas. As datas dos exames eram passadas aos voluntários e havendo disponibilidade, seguia com a leitura e preenchimento do termo de consentimento livre e esclarecido, seguido do esclarecimento das demais dúvidas, e caso consentido, assinatura do termo. Eram verificados contraindicações aos exames de Ressonância Magnética, aparelhos e próteses dentárias fixas geradores de artefatos de imagem.

O voluntário respondia o inventário de lateralidade e o Questionário de Clareza da Imaginação Visual (do inglês, VVIQ) (Campos et al., 2002) para caracterizar a amostra em relação a sua capacidade de imaginação visual. Capacidade importante levando-se em conta a utilização da memória autobiográfica para indução emocional para a avaliação da resposta emocional e mudanças de atividade cerebral. Para aceitação no projeto de neuroimagem, os voluntários também deveriam concluir a obtenção de pelo menos três relatos autobiográficos da cada uma das emoções alvo.

3.7. Seleção, obtenção e elaboração dos scripts pessoais

Passados os procedimentos iniciais de seleção, foram levantados assuntos subjetivamente neutros para formulação dos scripts impessoais que precediam os scripts pessoais nas séries de aquisição de imagens.

A parte seguinte da entrevista teve como objetivo principal obter 3 situações de conteúdo emocional feliz, 3 situações neutras e 3 de irritabilidade. Foi usado um método padronizado para seleção subjetiva das três situações mais intensas de irritabilidade que ocorreram preferencialmente nos últimos seis meses (Cerqueira et al., 2008, 2010).

O voluntário respondia em um questionário específico, qual a principal emoção evocada em cada uma das situações listadas (dentre elas: ansiedade, tristeza, irritabilidade, raiva, frustração e culpa).. Em seguida, era solicitado que atribuisse nota para a intensidade das situações que tiveram a irritabilidade como mais intensa. Mas também deveriam graduar outras emoções, caso presentes naquela determinada situação. Qualquer situação que apresentasse alguma emoção tão ou mais intensas que a irritabilidade era descartada. A presença de raiva, caracterizada pela intenção de ferir, física ou moralmente, com qualquer pontuação era excluída. As três situações mais intensas eram selecionadas, passando à parte descritiva padronizada.

O mesmo procedimento era utilizado para a seleção das situações positivas. Que, tal qual as situações de irritabilidade, não poderiam conter emoções com a característica oposta (George et al., 1996). Para seleção das situações neutras, era

utilizada uma listagem de situações cotidianas, que evocassem uma efetiva lembrança e fossem excluídas quaisquer emoções positivas ou negativas evidentes, assim como, de expectativa.

A abordagem e elaboração detalhada dos scripts a serem apresentados seguem modelo padronizado anteriormente, num estudo realizado anteriormente por nosso grupo (Cerqueira et al., 2008, 2010). Os scripts foram compostos na segunda pessoa do singular no tempo presente, como se estivessem ocorrendo aqui e agora (Rauch et al., 1999). Eram divididos em três períodos de 20 s, contendo respectivamente, a situação e posição do voluntário, data e pessoas envolvidas, e reação emocional propriamente dita. Então, foram gravados em tom normal de voz, sem prosódia, por locutor do mesmo gênero do voluntário, com a duração de 60 segundos (George et al., 1996). Os scripts pessoais eram precedidos por 20 s de script de conteúdo selecionado pelos voluntários como neutro, não autobiográfico, obtidos da imprensa comum ou notícias da internet. Esta estrutura geral foi idealizada com o objetivo de engajar o participante na tarefa e dissipar as emoções evocadas no script anterior.

3.8. Sessão de simulação

A visita de simulação foi executada na mesma semana da primeira visita à RMf (normalmente entre três e quatro dias), do primeiro exame. Através de um simulador, especialmente construído para o projeto, o participante pode experimentar a replica do aparelho e o ambiente de RMf, e os equipamentos utilizados durante a aquisição

de dados. Além disso, cada um dos indivíduos foi treinado e exposto a uma versão diferente dos scripts contidas no paradigma que iria experimentar no dia de aquisição de dados na RMf. Desta maneira, o participante tornou-se acostumado com a execução do paradigma, ao ruído do aparelho de ressonância magnética e à temperatura do ambiente.

3.9. Sessão experimental utilizada nos exames I e II

Primeiramente, o voluntário realizou uma entrevista com a equipe de enfermagem, sendo retirados objetos metálicos; em seguida, uma entrevista com o pesquisador, abordando os preparativos e instruções sobre a realização da sessão experimental de RMf. Também responderam o inventário de Ansiedade traço-estado-Estado (IDATE-E, Spielberger 2005). O indivíduo, então, era posicionado no equipamento de RM. Durante os exames, os sujeitos visualizavam a tela por jogo de espelhos para apresentação de escalas visuais sem mudança de posição, e utilizavam fones de ouvido e luva à mão direita. Esta, especialmente desenvolvida para simplificar a tarefa de resposta às escalas afetivas (1- 4) a um simples contato do dedo correspondente contra o polegar. Os scripts e escalas foram apresentados por este mesmo computador e software, especialmente desenvolvido para sincronização da apresentação do estímulo com a aquisição de imagens, gravação dos escores com o tempo de resposta às escalas afetivas. O escore dado nas escalas era visualizado na tela, e as respostas reavaliadas após a sessão experimental.

Em seguida, todos equipamentos eram testados e instruções finais eram passadas ao participante. Com a equipe posicionada e todos os equipamentos prontos e sincronizados, a aquisição de dados de imagem propriamente se iniciava.

Após o final da aquisição de imagens, se obtinha do participante a confirmação das respostas dadas durante a sessão experimental, um relato de sua percepção do paradigma e respondia novamente a escala IDATE-E.

A sessão experimental de RMf era composta três séries com a mesma estrutura, que se iniciam por um período de linha de base sem estímulo, e para se evitar a variável de confusão do início para o final do procedimento, foi adotada a apresentação contrabalançada dos scripts com emoção: a) Feliz-Neutro-Irritabilidade; b) Irritabilidade-Neutro-Feliz; c) Feliz-Neutro-Irritabilidade, que também foram contrabalançados entre os sujeitos participantes: a-b-a; b-a-b. Os voluntários foram instruídos a permanecer com os olhos abertos e prestar atenção no trecho da narração que estiver ouvindo no momento, procurando lembrar das emoções e sentimentos como se estivessem ocorrendo neste momento (Dougherty et al., 1999). O primeiro período de cada série de aquisição era o período de linha de base, em que não há estímulo. Neste, os sujeitos foram orientados a reagir normalmente, permanecendo relaxados. Antecedendo cada um dos scripts pessoais, eram apresentados os scripts impessoais de conteúdo subjetivamente neutro. Ao final de cada um dos períodos de linha de base e dos scripts de irritabilidade, neutro e feliz, o estado afetivo era avaliado através de escalas afetivas unipolares em ordem pseudo randomizada ao

longo do experimento, pontuando de 1 a 4 a intensidade das emoções felicidade, irritabilidade e ansiedade.

Durante a apresentação, o estímulo e as escalas visuais também eram apresentados aos pesquisadores, na sala de comando da RM, podendo ser verificada sua execução, bem como as respostas em relação ao estado afetivo.

3.10. Parâmetros de aquisição dos dados de ressonância magnética

Imagens para análise do efeito BOLD foram adquiridas utilizando equipamento de 1,5 T GE LX-MR (General Electric, Milwaukee WI, USA), no Instituto de Radiologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP. Serão adquiridas, alternadamente, 15 fatias do cérebro com 7,7 mm e intervalos de 0,3 mm entre si, a cada 2 segundos (TR=2s), totalizando 220 volumes cerebrais para cada série de aquisição, que era realizada 3 vezes por voluntário. Os parâmetros de aquisição foram: gradientes de 40mT/m/s, *rise time* de 125 ms, matriz 64x64, tempo de eco de 40 ms, *flip angle* 90°, gradiente de eco, eco-planar. A apresentação do estímulo é sincronizada com a aquisição de imagens via relê óptico, através de pulso de radiofrequência. Um software foi produzido especialmente para o propósito de sincronizar a aquisição de imagens com a apresentação do estímulo, das escalas visuais e suas respostas.

Em seguida à sessão de RMf, foram adquiridas imagens de RM estrutural com a sequência FLAIR, para verificações de lesões do encéfalo, com os seguintes parâmetros: 20 cortes de 5mm de espessura, TR=10s, TE=140ms, IR=2,2s e FOV=240mm).

3.11. Análise estatística

3.11.1 Diferenças demográficas entre os grupos responsivo e não responsivo

A fim de determinar se havia diferenças significativas entre os grupos que pudessem interferir nos resultados, analisamos potenciais variáveis de confusão. São elas, idade, anos de educação, capacidade de imaginação visual, gênero dos voluntário e dosagem média de clomipramina utilizada.

Para análise estatística das diferenças entre o grupo responsivo e não responsivo, utilizamos o teste qui-quadrado para variáveis qualitativas (gênero dos voluntários), e para as restantes, variáveis numéricas, utilizamos o t-teste não pareado. Ambos sob o limiar estatístico para erros tipo I de 0,05.

3.11.2. Análise da Ansiedade relacionada às sessões de RMf

Para verificar o possível efeito de confusão de ansiedade relacionada aos exames de RMf, analisaram-se as diferenças entre o momento antes de iniciar cada sessão e após seu termino, utilizamos a escala IDATE-E. Para sua análise utilizamos testes ANOVA nos grupos separadamente. Foram utilizados os valores obtidos na escala nos momentos anterior e posterior aos exames, referentes aos exames I e II.

3.11.3. Análise dos escores obtidos nas escalas afetivas durante os estados afetivos

No tratamento estatístico dos estados afetivos adotamos o mesmo procedimento geral, que será visto adiante, daquele utilizado para análise das imagens de RMf. Primeiramente foram obtidas as médias das diferenças entre os estados afetivos, das três séries de aquisição da sessão de RMf. Esse procedimento foi adotado para cada uma das escalas de auto avaliação de irritabilidade, ansiedade e felicidade. Assim obtivemos para cada sujeito as diferenças dos afetivos: do estado induzido de irritabilidade subtraído do neutro (I-N), estado de irritabilidade do estado de felicidade (I-F) e do estado afetivo de felicidade subtraído dos neutros (F-N) para cada uma das séries de aquisição, para o exame I (com medicação) e exame II (sem medicação). Em seguida foram realizadas comparações múltiplas tomando como fator dependente o uso de medicação (em uso de medicação, e sem uso de medicação) e como fator independente a responsividade à medicação (grupo responsivo e grupo não responsivo) com o teste ANOVA 2X2.

3.11.4. Análise de imagens de RMf

A pré-análise consiste na conversão das imagens adquiridas no formato DICOM para o formato nifti, que as reagrupa em séries temporais. A análise de imagens foi realizada pelo software XBAM versão 3.4. Os dados são reagrupados e fatias cerebrais. E assim também são analisados.

O primeiro passo da análise de imagens envolve a análise individual. Primeiramente, é realizado o realinhamento para correção do movimento da cabeça do voluntário. Nela, são corrigidas diferenças decorrentes da translação e rotação dos 220 volumes adquiridos sequencialmente em cada uma das três séries de aquisição da sessão de RMf. Assim como, artefatos produzidos sobre a excitação dos spins, são espacial e temporalmente corrigidos (Bullmore et al., 2003), seguido de suavização com filtro Gaussiano (FWHM 7.2 mm) para melhorar o índice sinal/ruído.

Em seguida, a parametrização da resposta hemodinâmica para cada condição experimental (estados afetivos de irritabilidade, felicidade e neutro) é conduzida através da convolução da intensidade de sinal obtida nas séries temporais em cada voxel a partir de duas funções Poisson com picos em 4 e 8 segundos após o início do estímulo (Bullmore et al., 2001). Para mensurar o tamanho do efeito BOLD, foi calculada a diferença entre os valores máximo e mínimo do modelo ajustado, expresso na unidade de porcentagem de variação da intensidade do sinal. As condições experimentais, foram contrastadas com os períodos sem estimulação, contidos na série de aquisição.

A distribuição dos coeficientes do modelo, sob hipótese nula de nenhum efeito experimental, foi então obtida para cada voxel através de 20.000 permutações (Bullmore et al., 2001). A média ponderada das duas convoluções é computada, e tem sua probabilidade calculada (Friman et al., 2003). Isso consiste na raiz da soma dos quadrados dos desvios do valor da intensidade média (durante toda a série de aquisição) devido ao modelo (séries temporais que se ajustam ao modelo) dividida pela raiz da soma dos quadrados devido aos resíduos (séries temporais originais subtraído das séries temporais modeladas), originando a razão dos quadrados (do inglês, SSQratio). Essa abordagem utiliza a montagem de uma linha de regressão que leva em consideração os estimadores que se ajustam ao modelo e os resíduos, que não se ajustam ao modelo. Este método permite bom controle dos erros tipo I, com o mínimo de pressupostos distribucionais.

Para testar a hipótese dos valores da razão SSQ observada em cada voxel ser determinada pelo desenho experimental, a distribuição da razão SSQ sob a hipótese nula é obtida pela permutação das séries temporais usando o método de randomização. Este processo é repetido 20 vezes para cada voxel e dos dados combinados sobre todos os voxels, resultando em mapas permutados das razões SSQ a cada fatia do cérebro para cada condição experimental. Combinando os dados randomizados para todos os voxels se produzem os mapas das razões SSQ sob a hipótese nula. Através dessa distribuição e do valor crítico apropriado o erro tipo I de qualquer dado pode ser obtido. Dois tipos de imagem são produzidos: nível de voxel ou nível de cluster. O primeiro leva em conta apenas a estatística decorrente da

análise de cada voxel isoladamente. O segundo produz uma imagem cuja probabilidade de atividade está relacionada à proximidade entre voxels ativados, de maneira que a massa total (valor de SSQ envolvido) dos voxels adjacentes é utilizada como parâmetro estatístico.

Já na fase de análise individual, são obtidos através das razões SSQ os mapas das comparações dos estados afetivos de irritabilidade subtraído pelos estados neutros (I-N), de irritabilidade subtraídos pelos de felicidade (I-F) e dos estados de felicidade subtraídos pelos neutros (F-N). A detecção dos voxels ativados é estendida à detecção de grupos de voxels usando o método detalhado por Bullmore et al. (1999b).

Imagens estruturais foram obtidas através de transformação das imagens funcionais de cada sujeito para melhor interpolação dos dados estruturais e funcionais. Para poder estender a inferência estatística ao grupo, os mapas das razões SSQ observadas e randomizadas são inicialmente transformadas para o espaço de imagens estruturais do mesmo sujeito. O segundo estágio envolve a obtenção dos parâmetros de distorção da imagem estrutural para um espaço padronizado. Os mapas da SSQratio e do tamanho de efeito BOLD são, então, utilizando os parâmetros obtidos nesses dois estágios, transformados para o mapa estereotático de Talairach e Tournoux (Bullmore et al., 2003). Os mapas de ativação de grupo são obtidos através de testes que levam em consideração a mediana dos voxels individualmente.

Com as imagens das diferenças I-N, I-F e F-N, padronizadas para todos os sujeitos pelo passo anterior, passamos à comparação de grupos. Para testar a

interação dos fatores de grupo e medicação foram realizados testes ANOVA 2X2, tendo como fator independente o uso de medicação e como fator dependente os grupos. A significância estatística para erro tipo I foi estabelecida ao limiar 0,01 para os *voxels* e 0,005 para os *clusters*.

Para a avaliação do efeito cerebral da medicação sobre os grupos separadamente, foram utilizados testes ANOVA simples para diferenças entre os estados afetivos I-N, I-F e F-N, comparando os exames realizados sob uso de medicação e após a descontinuação da mesma. Esta análise foi conduzida para auxiliar o entendimento das redes neuronais envolvidas com os achados principais (interação dos efeitos), observando, agora, os grupos isoladamente. Procedimento realizado para o grupo responsivo (n=6) e não responsivo (n=10), separadamente. A significância estatística para o erro tipo I foi estabelecida ao limiar 0,01 para os *voxels* e 0,05 para os *clusters*, pois utilizou amostras reduzidas.

4. Resultados

4.1. Amostra selecionada para os procedimentos de neuroimagem

Dezesseis sujeitos foram selecionados para o estudo. Dez deles compuseram o grupo não responsivo, dois deles alcançaram somente a dosagem de 20 e 30 mg/dia, respetivamente (n=10; média=37; DP=6,75 mg/dia). O grupo responsivo foi composto de seis sujeitos, dois deles alcançaram somente a dosagem de 30 mg/dia (n=6; média=36,67; DP=5,16). O restante dos sujeitos alcançou a dosagem máxima prevista de 40 mg/dia. As características demográficas, idade, sexo, anos de estudo, médias na escala VVIQ e da dosagem de clomipramina, além do teste das diferenças entre os dois grupos, são apresentados na tabela 1. Não havia diferenças significativas entre grupos para essas variáveis ou dosagem média de clomipramina.

Tabela 1. Diferenças entre grupos - demográficas, imaginação visual e dosagem média de clomipramina.

<i>Variável</i>		Responsivos	Não responsivos	Teste* (<i>p</i>)
<i>Gênero</i>	<i>Masculino (n)</i>	0	3	2.22 (0.14)
	<i>Feminino (n)</i>	6	7	
<i>Idade (anos)</i>	<i>média (D.P.)</i>	30.7 (14.8)	34.7 (6.5)	0.70 (0.49)
<i>Anos de estudo</i>	<i>média (D.P.)</i>	11.3 (0.8)	11.6 (1.2)	-0.53 (0.60)
<i>VVIQ</i>	<i>média (D.P.)</i>	34.3 (11.8)	34.2 (10.3)	0.02 (0.98)
<i>Dosagem de Clomipramina (mg/dia)</i>	<i>média (D.P.)</i>	36.67 (5.16)	37 (6.75)	-0.11 (0.91)

4.2. Ansiedade relacionada às sessões experimentais

Não foram observadas diferenças na comparação dos escores obtidos na escala IDATE-E entre os momentos imediatamente antes e imediatamente após a conclusão dos exames nas sessões de RMF, com e sem uso de medicação, seja no grupo responsivo ($p=0,85$) ou no grupo não-responsivo ($p=0,32$), pelo teste ANOVA 2X2.

4.3. Médias das escalas de auto avaliação emocional durante as fases do estudo

As médias obtidas nas escalas afetivas de ansiedade, irritabilidade e felicidade, nos grupos responsivo e não responsivo, após a utilização de quatro semanas de clomipramina e após quatro semanas de descontinuação da mesma, em cada um dos estados afetivos induzidos, podem ser visualizadas na Tabela 2. A análise descritiva das médias obtidas para cada um dos estados afetivos é favorável à afirmação de que o paradigma de indução emocional foi capaz de modificar o estado afetivo dos voluntários ao longo das séries de aquisição nas sessões experimentais. Na Tabela 3 são visualizadas as médias da diferença entre os estados afetivos I-N, I-F e F-N obtidas pelas escalas de auto avaliação afetiva, nas fases sob uso de medicação e após a sua suspensão.

4.3.1. Efeitos do estado medicamentoso sobre a indução emocional

A escala afetiva de felicidade diferenciou um efeito do estado medicamentoso sobre o total de sujeitos que constituíram a amostra, (Tabela 3, em negrito sublinhado, e Gráfico 1). Menores índices foram encontrados, sob uso de medicação, para a diferença entre os estados afetivos I-N ($p=0,024$ corrigido), mas não para a diferença I-F ($p=0,352$ não corrigido) ou para a diferença F-N ($p=0,522$ não corrigido). As escalas afetivas de irritabilidade e ansiedade não demonstraram diferenças em relação ao efeito farmacológico nos voluntários para a diferença I-N ($p=0,840$; $p=0,533$; respectivamente – não corrigidos), I-F ($p=0,796$; $p=0,137$; respectivamente – não corrigidos) ou F-N ($p=0,138$; $p=0,233$; respectivamente – não corrigidos).

4.3.2. Efeitos da interação dos fatores responsividade e estado medicamentoso sobre a indução emocional

Foi encontrada uma interação significativa ($p=0,048$ corrigido) dos efeitos do uso de clomipramina (variável dependente) e resposta à medicação (variável independente) na diferença I-F pelos testes ANOVA na comparação das médias obtidas na escala afetiva de ansiedade (Tabela 3, em negrito, e gráfico 2). O mesmo não ocorreu com os escores médios das escalas afetivas de irritabilidade ($p=0,472$ corrigido), nem da escala de felicidade ($p=0,113$ não corrigido). Análises post-hoc revelaram uma tendência à menores índices de ansiedade na diferença I-F do status medicado para o não medicado no grupo responsivo ($p=0,053$; teste t pareado). Mas

não foram encontradas diferenças no grupo não responsivo ($p=0,2$; teste t pareado), ou na comparação entre os grupos sob uso de medicação ($p=0,10$; t-teste não pareado) e sem o uso de medicação ($p = 0,5$; t-teste não pareado).

Na comparação da diferença entre os estados afetivos I-N não foi encontrada interação significativa entre o efeito de grupo e uso de medicação para as escalas de irritabilidade ($p=0,840$ não corrigido), ansiedade ($p=0,059$ não corrigido), ou felicidade ($p=0,233$ não corrigido); bem como na diferença F-N para as escalas de irritabilidade ($p=0,700$ não corrigido), ansiedade ($p=0,325$ não corrigido), e de felicidade ($p=0,522$ não corrigido).

Tabela 2. Escores médios e desvio padrão obtidos nas escalas de auto para os estados emocionais induzidos nas fases medicada e não medicada do estudo para o grupo responsivo (n=6) e não responsivo (n=10).

Grupo escalas	Estados afetivos											
	Medicados						Não medicados					
	Felicidade		Neutro		Irritabilidade		Felicidade		Neutro		Irritabilidade	
Responsivos												
felicidade	3.83	(0.0)	2.28	(0.7)	1.00	(0.0)	3.56	(0.3)	2.00	(0.6)	1.22	(0.3)
ansiedade	1.00	(0.0)	1.00	(0.0)	1.72	(0.8)	1.00	(0.0)	1.00	(0.0)	1.72	(0.7)
irritabilidade	1.06	(0.2)	1.22	(0.3)	3.50	(0.4)	1.17	(0.7)	1.33	(0.7)	3.61	(0.5)
Não responsivos												
felicidade	3.93	(0.2)	2.63	(0.6)	1.33	(0.4)	3.93	(0.4)	2.47	(0.7)	1.40	(0.4)
ansiedade	1.13	(0.2)	1.00	(0.0)	1.43	(0.4)	1.13	(0.2)	1.00	(0.0)	1.50	(0.7)
irritabilidade	1.00	(0.0)	1.10	(0.4)	3.03	(0.6)	1.00	(0.0)	1.13	(0.6)	3.17	(0.4)

Tabela 3. Média da diferença entre os estados afetivos nas escalas de auto avaliação, e desvio padrão, obtidos durante as fases medicada e não medicada no grupo responsivo (n=6) e não responsivo (n=10).

Escala <i>Grupos</i>	Irritabilidade - Neutro				Irritabilidade - Felicidade				Felicidade - Neutro			
	medicados		não medicados		medicados		não medicados		medicados		não medicados	
Felicidade <i>Responsivo</i>	-1,28*	(0,68)	-0,78	(0,41)	-2,83	(0,81)	-2,33	(0,56)	0,67	(0,67)	0,67	(0,47)
<i>Não responsivo</i>	0,93	(0,90)	0,70	(0,63)	0,45	(0,66)	0,17	(0,79)	0,63	(0,55)	0,60	(0,84)
Irritabilidade <i>Responsivo</i>	2,28	(0,52)	2,28	(0,48)	2,44	(0,59)	2,44	(0,67)	0,17	(0,28)	0,33	(0,47)
<i>Não responsivo</i>	1,93	(0,65)	2,00	(0,60)	2,03	(0,77)	2,13	(0,45)	0,1	(0,42)	0,2	(0,39)
Ansiedade <i>Responsivo</i>	1,06	(0,98)	1,50	(0,58)	0,22**	(1,07)	1,05	(1,02)	0,83	(0,62)	0,50	(0,59)
<i>Não responsivo</i>	-1,30	(1,55)	-1,07	(0,37)	-2,60	(0,89)	-2,53	(0,82)	0,53	(0,89)	0,7	(1,00)

Valores em negrito: diferença significativa na comparação dos momentos com e sem o uso de medicação sobre os voluntários como um todo ($p=0,024$).

Negrito itálico: interação significativa dos efeitos de grupo e medicação ($p=0,048$).

* $p=0,053$; ** $p=0,024$

Gráfico 1. Efeito da medicação sobre a diferença entre os estados emocionais de irritabilidade - neutro na escala de felicidade obtido na amostra completa ($n=16$).

Gráfico 1

Notas médias individuais e tendência linear obtidas para a diferença dos estados afetivos de irritabilidade – neutro na escala de felicidade (n=16) quando medicados e não medicados. Houve diferença significativa na comparação dos períodos com e sem o uso de medicação na amostra (n=16), com menores índices na escala de felicidade para a diferença entre os estados afetivos I – N em uso de medicação ($p=0,024$ corrigido).

Gráfico 2. Escores médios e desvios padrão, obtidos na escala de ansiedade para a diferença entre os estados afetivos de irritabilidade e felicidade para os grupos responsivo (n=6) e não responsivo (n=10) nos períodos com e sem o uso de medicação.

Os valores acima tiveram interação significativa ($p=0,036$ corrigido) na combinação dos efeitos de grupo e estado medicamentoso, sobre contraste afetivo Irritabilidade - Felicidade.

4.4. Resultados de RM funcional

4.4.1. Interação dos efeitos medicação e grupo

Essa análise demonstrou diferenças significativas para os estados afetivos induzidos de irritabilidade versus neutro, e versus felicidade, que são mostradas na Tabela 4 e Figura 1. Que incluem, as localizações, áreas de Brodmann (BA, do inglês) e probabilidades relacionadas aos focos de alteração do sinal BOLD.

A indução emocional de irritabilidade contrastada à tarefa controle neutra foi comparada simultaneamente nos dois status medicamentosos (medicado e não medicado) e entre os grupos de responsivos e não responsivos.

Foi encontrado aumento de sinal BOLD para no grupo responsivo, em relação ao não responsivo, com o uso de medicação em relação ao período sem uso de medicação, para diferença dos estados afetivos irritabilidade-neutro, que se localizou num foco que abrangeu regiões posteriores dos giros frontais superior e médio, giros pré-central, pós-central e parietal inferior (BA2,3,4,6,8,9,40).

Também encontramos focos de aumento significativo de sinal BOLD para a diferença dos estados afetivos irritabilidade-felicidade, para no grupo responsivo, em relação ao não responsivo, com o uso de medicação em relação ao período sem uso de medicação, que se estenderam pela região posterior dos giros frontal médio e superior, e giros supramarginal, parietal inferior, pré-central e pós-central (BA2,3,4,6,40); e também na região compreendida pelos giros parietal inferior e angular, occipital superior e médio, e temporal médio (BA18,19,21,37,39,41).

Não foram encontrados efeitos de interação significativos sobre a diferença entre a indução dos estados afetivos de felicidade e tarefa controle neutra ($p < 0,005$).

Tabela 4. Picos de máxima e extensão dos clusters com alteração de sinal na interação do efeito de grupo (Responsivo vs. não responsivo) e estado medicamentoso (fase medicada vs. não medicada) sobre contrastes emocionais (n=16).

Contraste afetivo	Área de Brodmann	Extensão (voxels)	Coordenadas (x) (y) (z)			Probabilidade (p<0,005)
Comparação						
Região cerebral						
Irritabilidade – Neutro						
Responsivo > Não responsivo						
Giros frontais superior e médio, pré-central, pós-central e parietal inferior	6,8,9, 2,3,4, 40	79	-43	-18	37	0.002
Responsivo < não responsivo						
Irritabilidade – Felicidade						
Responsivo > Não responsivo						
Giros occipitais superior e médio, parietal inferior, angular e temporal médio	19, 37,39,40,41 21	88	-25	-67	9	0.003
Giro frontal médio, supramarginal, pré-central , pós-central	6, 40, 2,3,4	106	-36	-18	42	<0.001
Responsivo < Não responsivo						
Nenhuma						
Felicidade – Neutro						
Nenhuma						

Figura 1.

Cortes axiais (acima) e sagitais (abaixo), com as respectivas coordenadas do mapa estereotático do cérebro na convenção radiológica, mostrando as regiões com aumento de efeito BOLD na interação dos efeitos do uso e responsividade à clomipramina sobre a diferença entre a irritabilidade e estados afetivos neutros (I-N), à esquerda, e entre irritabilidade e felicidade (I-F), à direita. Apesar da grande superposição das áreas de aumento de atividade na região parietal lateral esquerda, destaca-se a extensão desta às regiões do giro frontal superior e médio na diferença I-N. Enquanto a atividade na junção têmporo-parieto-occipital esquerda foi exclusiva da diferença I-F.

4.4.2. Efeito cerebral da medicação sobre os grupos responsivo e não responsivo

4.4.2.1. Efeitos da medicação sobre a indução emocional no grupo responsivo

As localizações, áreas de Brodmann e probabilidades relacionadas aos focos de alteração do sinal BOLD devido ao efeito da clomipramina sobre a indução emocional no grupo responsivo, podem ser visualizados na Tabela 5 e Figura 2.

No grupo de responsivos, foi encontrado aumento de sinal BOLD entre os períodos em uso e sem uso de clomipramina na diferença I-N, no córtex do giro lingual (BA18) no hemisfério direito, e nos giros pré-central, pós-central, e parietal inferior (BA2,3,6,40) no hemisfério esquerdo. Assim como foi encontrada diminuição de sinal BOLD nos giros fusiforme e lingual (BA19,37), nos giros parietal superior e occipital médio (BA7,19,39) à direita, e no giro temporal médio (BA21) à esquerda.

O grupo responsivo, na comparação dos momentos com e sem uso de medicação, apresentou diferença entre estados afetivos de irritabilidade e felicidade, de aumento de sinal BOLD no cíngulo posterior se estendendo ao pré-cuneus (BA23,30) e nos giros frontais inferior e médio, se estendendo a ínsula anterior (BA45,46), à esquerda. Tal qual, áreas com diminuição de sinal BOLD nos giros parietal superior, occipital médio, lingual e fusiforme (BA7,17,18,19), à esquerda.

O grupo responsivo apresentou, na diferença F-N entre os períodos com e sem medicação, diminuição de sinal BOLD nos giros lingual e occipital médio (BA18,19) bilateralmente. Como também, aumento de sinal BOLD no giro temporal médio (BA21) à esquerda.

4.4.2.2. Efeitos da medicação sobre a indução emocional no grupo não responsivo

As localizações, áreas de Brodmann e probabilidades relacionadas aos focos de alteração do sinal BOLD devido ao efeito da clomipramina sobre a indução emocional no grupo não responsivo podem ser visualizados na Tabela 6 e Figura 3.

No grupo não responsivo, a diferença I-N apresentou aumento de sinal BOLD na comparação entre os momentos com e sem uso da medicação em regiões do cerebelo e giro fusiforme (BA18,37), cerebelo e o giro lingual (BA17,18,19), e nos giros temporal médio e superior (BA21,37), à esquerda. Como também, foi encontrada diminuição de sinal BOLD no cíngulo subgenual, no cíngulo anterior se estendendo à porção anterior do giro frontal médio (BA32,45,46), e do giro pré-central à porção posterior do giro frontal médio (BA4,6).

Na diferença I-F, o efeito do uso de medicação sobre o grupo não responsivo, mostrou aumento de efeito BOLD à esquerda, se estendendo da ínsula posterior ao giro temporal superior (BA21,22), e na região compreendendo putâmen, ínsula, frontal inferior e médio (BA44,45). Como também, redução no efeito BOLD à direita, na porção dorsal da ponte, se estendendo ao cerebelo, e à esquerda, em regiões dos giros temporais médio e superior (BA21,22), e também, nos giros occipitais médio e superior se estendendo ao giro parietal superior (BA7,18,19, 39), além de regiões posteriores dos giros frontais superior e médio se estendendo aos giros pré-central e pós-central (BA3,4,6).

No contraste F-N, não foram encontradas regiões com aumento de efeito BOLD com o uso de medicação. Mas somente, diminuição na região da ponte à

direita, cerebelo e giros temporais inferior e médio se estendendo a regiões occipitais (BA 18,19,21,22,37), à esquerda

Tabela 5. Local de máxima e extensão de clusters com sinal BOLD que tiveram mudanças significativas grupo responsivo na comparação do status de medicação (fases medicada versus descontinuação) sobre contrastes afetivos (n=6).

Contraste	Área de Brodmann	Extensão (voxels)	Coordenadas			Probabilidade (p<0,05)
			(x)	(y)	(z)	
Cerebral Região						
Irritabilidade > Neutro						
Giro lingual, cerebelo	18	16	14	-74	-18	0.046
Giros pré-central, pós-central e parietal inferior	2,3,6,40	95	-43	-30	42	0.022
Irritabilidade < Neutro						
Giros fusiforme e lingual	19,37	30	32	-67	-18	0.016
Médio temporal	21	33	-51	-33	-7	0.047
Giros superior parietal, occipital médio	7,19,39	58	29	-59	37	0.017
Irritabilidade > Felicidade						
Cíngulo posterior, pré-cuneus	23,30	56	-4	-41	15	0.030
Giros frontais inferior e médio, insula	45,46	83	-32	48	9	0.019
Irritabilidade < Felicidade						
Giros occipital inferior, lingual e fusiforme	7,17,18,19	226	25	-67	-18	0.006
Felicidade > Neutro						
Giro temporal médio	21	33	-51	-33	-13	0.025
Felicidade < Neutro						
Giros lingual, fusiforme e occipital médio	18,19	78	-32	-70	-7	0.014
Giros lingual, fusiforme e occipital médio	18,19	110	32	-70	-13	0.003

Tabela 6. Áreas cerebrais de efeitos BOLD resultantes da comparação dos voluntários não responsivos após 4 semanas de uso de clomipramina versus sem medicação entre os estados afetivos induzidos de felicidade, irritabilidade e neutros (n=10).

Contraste	Área de Brodmann	Extensão (voxels)	Coordenadas			Probabilidade <i>P</i> <0,05
			(x)	(y)	(z)	
Região Cerebral						
Irritabilidade > Neutro						
Cerebelo, giro fusiforme	18,37	47	-32	-48	-29	0.016
Giro lingual, cerebelo	17,18,19	51	-14	-62	-18	0.020
Giros temporaais médio e superior	37,21,37	31	-46	-55	-1	0.018
Irritabilidade < Neutro						
Cíngulo anterior, giro frontal médio	32,45,46	25	-22	41	4	0.020
Giros pré-central e pós-central	4,6	25	-36	7	42	0.018
Irritabilidade > Felicidade						
Ínsula posterior, giro temporal superior	21,22	56	-4	-40	15	0.030
Putâmen, insula, giros frontais inferior e médio	44,45	83	-32	48	9	0.019

continua

continuação

Contraste	Área de Brodmann	Extensão (voxels)	Coordenadas			Probabilidade
Região Cerebral			(x)	(y)	(z)	<i>P<0,05</i>
Irritabilidade > Felicidade						
Giros occipitais médio e superior, e parietal superior	18,19, 39,7	226	25	-67	-18	0.006
Giros pré-central e pós-central	3,4,6	55	-15	37	1	0.033
Giros temporais médio e superior	21,22	26	-51	-30	-2	0.047
Felicidade > Neutro						
Nenhuma						
Felicidade < Neutro						
Ponte		44	0	-30	-29	0.017
Cerebelo		41	-22	-41	-29	0.032
Giro temporal médio/inferior, occipital	18,19,21,22,37	202	-51	-33	-2	0.003
						conclusão

Figura 2.

A Figura 2 mostra as regiões com alteração de efeito BOLD (amarelo-vermelho: aumento; azul-verde: diminuição) nos cortes axiais do cérebro nas comparações Irritabilidade versus Felizes e Neutros no grupo responsivo, na comparação das imagens funcionais em uso versus sem uso de medicação. Bem como, da Felicidade versus Neutro.

Figura 3.

A Figura 4 mostra as regiões com alteração de efeito BOLD (amarelo-vermelho: aumento; azul-verde: diminuição) nos cortes axiais do cérebro cortes axiais das comparações entre os estados afetivos no grupo não responsivo, na comparação das imagens funcionais em uso versus sem uso de medicação. Bem como, da Felicidade versus Neutro.

5. Discussão

O presente estudo utilizou a técnica de RMF para avaliar a capacidade da clomipramina em modificar características subjetivas associadas à expressão emocional de voluntários saudáveis. Foram elas, autoestima e segurança, capacidade de decisão e de priorizar demandas, tensão e irritabilidade no relacionamento interpessoal, com repercussão positiva em sua vida diária. Para tal finalidade utilizamos uma técnica de indução emocional que levasse em conta aspectos pessoais da experiência, a recordação autobiográfica. Em torno da relação entre os critérios de responsividade, memória autobiográfica e função cerebral pretendemos discutir os achados do estudo.

Ensaio farmacológico com antidepressivos em sujeitos saudáveis têm mostrado mudanças em funções mentais que se assemelham àqueles relacionados à resposta terapêutica em pacientes em tratamento para depressão ou ansiedade. Estudos recentes que utilizaram a técnica de RMf se concentram no objetivo de reconhecer marcadores cerebrais do efeito de antidepressivos, sobretudo, sobre o processamento emocional. Porém, para essa finalidade utilizaram estímulos emocionais genéricos, ou impessoais. Neste estudo, optamos pela indução emocional por relatos autobiográficos, por acreditar que essa forma de indução é uma das que mais se aproxima de funções chave para a modificação da expressão emocional e auto avaliação.

Com a estratégia de divisão de grupos em função da presença ou não do efeito em estudo, pudemos observar diferenças significativas entre padrões de atividade cerebral dos grupos, como também, das escalas de auto avaliação afetiva. Essa comparação considerou o estado medicamentoso, ou seja, com e sem

uso de medicação. Encontramos aumento significativo de sinal BOLD em regiões que circundam a junção do córtex frontoparietal e têmporo-parieto-occipital (TPO), e redução os índices de ansiedade, em relação aos estados afetivos de irritabilidade. Mas não foi observado nenhum efeito em relação aos estados induzidos de felicidade.

Essas e outras informações serão discutidas com maior detalhe nos itens a seguir.

5.1. Modificações encontradas sobre a indução emocional através de escalas de auto avaliação afetiva

Em um estudo que utilizou duas semanas de administração de moclobemida em pessoas saudáveis, se encontrou leve melhora do humor e diminuição do cansaço subjetivo (Siepmann et al., 2004). Uma metanálise realizada por Serretti e colaboradores, considerando o instrumento “Positive and Negative Affect Scale” encontrou efeito significativo com base em quatro estudos que utilizaram citalopram ou escitalopram (Harmer et al., 2004; Kellner et al., 2008; Tse and Bond 2002a,b). Não se encontraram diferenças para a subescala de afetos positivos. Foi observado efeito significativo na subescala de afetos negativos, em direção a menores escores reportados pelos sujeitos enquanto estavam em uso de antidepressivo. Esses estudos utilizaram períodos diferentes de utilização da medicação (1, 7, 14 e 48 dias) e o efeito mais robusto ocorreu com a utilização mais prolongada (Kellner et al., 2008).

No atual estudo, foi encontrada diferença significativa em relação à indução de irritabilidade, tanto na avaliação do efeito geral da medicação sobre os voluntários como um todo, quanto na interação dos fatores estado medicamentoso e reposta à medicação. Houve uma diferença significativa entre os períodos medicado e não medicado na escala afetiva de felicidade sobre a diferença da irritabilidade com estados neutros, com menor avaliação positiva dos estados de irritabilidade durante uso de medicação que após a sua suspensão. Na interação dos fatores de grupo e medicação, se encontrou sobre a diferença I-F redução dos escores da escala de ansiedade para o grupo responsivo durante o uso de

medicação, mas não pela escala de avaliação de irritabilidade.

Tal como observado nos estudos acima nossos achados ocorreram somente nas comparações da emoção negativa irritabilidade com as demais. Mais que isso, envolveu uma menor avaliação positiva dos estados afetivos negativos, além de redução da ansiedade. Ao mesmo tempo, não foi encontrada redução na intensidade da irritabilidade durante estes mesmos estados afetivos. O que pode sugerir, um aumento de tolerância a essa emoção em particular, ou até às negativas em geral, sem contudo, acrescentar um viés para a avaliação positiva. Esses achados corroboram a visão, de que, ao contrário de efeitos euforizantes, os antidepressivos produzem formas de modulação específicas de emoções negativas. Tal como observado por Serretti e cols. em metanálise recente, estudos que utilizaram doses continuadas por mais de 1 ou 2 semanas foram capazes de identificar, de forma mais consistente, alterações sobre o comportamento emocional influenciado por emoções negativas. E, conseqüentemente a isso, ocorreu uma influência positiva sobre o comportamento social, que adquire uma conotação mais assertiva (Serretti et al., 2010).

5.2. Modificação da atividade cerebral relacionada a resposta afetiva devido a antidepressivos

Os resultados do estudo anterior para pesquisa da atividade cerebral de estados afetivos de irritabilidade e felicidade, onde se destacaram regiões frontais e parietais, e têmporo-parieto-occipitais, à esquerda (Cerqueira et al., 2008, 2010), foi tomado como base para as hipóteses do atual estudo. Nele, encontrou-se, em relação à emergência de estados afetivos de irritabilidade, contrastados aos neutros ou de felicidade, aumento significativo da atividade cerebral nestas duas regiões cerebrais quando considerada a interação dos efeitos de grupo (responsivos e não responsivos) e uso de medicação (medicados e não medicados).

Muito embora essa abordagem seja inédita na literatura, alguns estudos foram capazes de relacionar áreas cerebrais e alteração do humor em sujeitos saudáveis com outras técnicas. O efeito de 21 dias de escitalopram resultou em aumento da atividade da rede de estruturas que inclui o córtex insular, pré-frontal médio/superior e parietal lateral esquerdos na interação dos efeitos da medicação e atribuição de adjetivos a si mesmo (Matthews et al., 2010). Houve correlação significativa entre os escores obtidos na escala IDATE-E e atividade do cíngulo posterior. Essa região teve aumento de atividade específica ao grupo responsivo do atual estudo na diferença I-F. Além de confirmar os achados obtidos na comparação de grupos, se destacaram neste grupo, a atividade pré-frontal ventrolateral se estendendo à ínsula anterior e frontoparietal, também à esquerda. E um estudo anterior de nosso grupo, com o mesmo desenho experimental do

atual, comparando grupos de sujeitos responsivos e não responsivos sob uso de medicação, encontrou aumento de atividade em regiões da ínsula anterior esquerda tanto para indução de emoções felizes quanto de raiva por figuras afetivas (Almeida, 2009).

Achado semelhante ao desta tese, foi encontrado em um estudo recente em indivíduos sem alteração do humor após dose única de reboxetina quando comparada ao placebo. Foi encontrada redução de atividade em regiões cerebrais esquerdas frontais estendendo-se a ínsula para recordações autobiográficas de conteúdo positivo quando comparadas às de conteúdo negativo (Papadatou-Pastou et al., 2012).

Em outros tipos de tarefas de avaliação emocional, se encontrou aumento de atividade, conjunta ou isoladamente, em regiões do córtex pré-frontal, parietal e occipital decorrente da utilização de antidepressivos, como, a utilização de reboxetina 7 dias sobre o reconhecimento de adjetivos negativos versus positivos pessoais (Norbury et al., 2008), durante o reconhecimento de faces de nojo após o uso de diferentes antidepressivos em dose única: citalopram (Brühl et al., 2010), reboxetina (Brühl et al., 2011) e fluvoxamina (Takahashi et al., 2005).

Mais relevantes em relação ao atual estudo, foram os achados de atividade aumentada em regiões frontais e parietais de estudos que utilizaram a auto avaliação de adjetivos, características ou traços negativos em comparação com positivos após administração única de reboxetina (Miskowiak et al., 2007) ou prolongada por 7 dias (Norbury et al., 2008).

No grupo não responsivo, encontramos um padrão oposto ao dos responsivos nos clusters frontoparietal e TPO, de redução. E semelhante a outros

achados citados acima, foi observado aumento de atividade na ínsula e gânglios da base, e, diminuição de atividade no cíngulo anterior e, inesperadamente, na região da ponte; região de difícil acesso pela técnica utilizada. Esse padrão de diminuição de atividade é comparável com a da modulação cerebral exercida pelos antidepressivos durante estímulos emocionais em geral, predominante em estudos de RMf anteriores com indivíduos saudáveis, expostos ao uso de doses únicas, ou contínuas breves (Anderson et al., 2008). Como os que apresentam diminuição de atividade em regiões límbicas subcorticais, como amígdala, ou durante a antecipação de figuras aversivas versus positivas, aumento de atividade na ínsula anterior bilateralmente, e no contraste oposto, diminuição de atividade no cíngulo anterior e córtex pré-frontal (Simmons et al., 2009).

A convergência de resultados entre o atual grupo de não responsivos e o de outros estudos não é surpreendente, considerando estes não tiveram por objetivo identificar alterações de humor na amostra. Assim, é esperado que a maioria dos voluntários selecionados para esses estudos teria um perfil comportamental e de humor semelhante àqueles classificados como não responsivos no presente estudo. Mas independente da resposta comportamental observável ou subjetiva, eles podem evidenciar partes comuns com os efeitos psicofarmacológicos em relação ao mecanismo cerebral de ação dos antidepressivos.

5.3. Mudanças de atividade cerebral na resposta antidepressiva associadas ao controle emocional e atividade auto referencial

Estudos anteriores têm demonstrado que pacientes que se recuperam de quadros depressivos mostram normalização de atividade anormal no córtex medial pré-frontal (Kennedy et al., 2001; Anand et al., 2005; Canli et al., 2005; Price e Drevets 2009; Brody et al., 2001). Interações corticais-subcorticais do córtex pré-frontal dorso medial para a amígdala, núcleos hipotalâmicos e substância cinzenta periaquedutal são abundantes e constituem o ponto central de muitas investigações por serem passíveis de modificação por medicação ou psicoterapia ao exercerem papel central no controle emocional através do efeito modulador da atividade sensorial somática e visceral exercido por essas áreas (McCabe e Mishor 2011; Hooley et al., 2009; Driessen et al., 2009; King et al., 2009).

A região denominada “dorsal nexus”, associada ao nosso achado na região frontoparietal, que teve aumento de atividade no grupo responsivo do atual estudo, tem demonstrado aumento de conectividade na depressão com cada uma das três redes, cognitiva, afetiva e de atividade cerebral em repouso. A descoberta de que essas regiões são ligadas entre si através da *dorsal nexus* fornece um mecanismo potencial para explicar como os sintomas de depressão maior provenientes de redes distintas, diminuição da capacidade de se concentrar em tarefas cognitivas, ruminação, vigilância excessiva de autofoco e desregulação emocional, visceral e autonômica, poderiam ocorrer simultaneamente e se comportarem de forma sinérgica. Isto sugere que o *dorsal nexus* desempenha um papel crítico na sintomatologia depressiva, exercendo um tipo de efeito “hot

wiring”. Sugere ainda que o dorsal nexus apresenta um potencial alvo terapêutico e um biomarcador da resposta antidepressiva (Sheline et al., 2010).

Os ISRS são capazes de interromper a ruminação de pensamentos e sentimentos negativos, e consequentemente reduzir sintomas de depressão e ansiedade (Siegle 2007). Alterações como estas, relacionadas ao córtex pré-frontal, se constituem alvos de intervenção psicoterapêutica, tais como, direcionamento do foco de atenção, reelaboração e supressão voluntária das emoções (DeRubeis et al., 2008). A exemplo disso, a atividade em regiões pré-frontais se correlacionou positivamente com a intensidade das emoções negativas, e a atividade no córtex pré-frontal medial diminuiu durante a tarefa de reduzir voluntariamente as emoções apresentadas (Kross e Ayduk 2009).

Pacientes depressivos mostram atividade anormal em regiões que incluem o córtex pré-frontal ventrolateral e dorsolateral, ínsula, corpo estriado e tálamo durante o processamento auto referencial (Grimm et al., 2009; Lemogne et al., 2009b). Proposições têm sido feitas a partir da participação desse circuito neural para essa alteração psicopatológica da depressão. Tais como, a relação entre o aumento de atenção de auto foco e a desregulação na rede fronto insular (Matthews et al., 2009; Strigo et al., 2008; Grimm et al., 2009; Johnson et al., 2009; Lemogne et al., 2009b; Yoshimura et al., 2013), promovendo aumento de foco em regiões de processamento somático e auto percepção.

A atividade alterada na região cortical medial na depressão pode refletir uma capacidade prejudicada de dissociar sua avaliação afetiva e subjetiva atual de auto referências ou memórias autobiográficas negativas, o que têm sido interpretado como um aumento na atividade de auto foco. Além disso, autores têm

considerado uma estrita ligação entre o processo auto referencial e a memória autobiográfica (Addis e Schacter 2008).

O aumento na atividade auto referencial (não delirante) tem sido alvo de pesquisas recentes por serem encontrados com frequência em transtornos psiquiátricos, tratáveis por antidepressivos, como, amnésia dissociativa, estresse pós-traumático depressão maior, acompanhados da diminuição da regulação afetiva (Brand et al., 2009; Lemogne et al., 2009b; Lemogne et al., 2010; Lemogne et al., 2012; Mickley e Kensinger 2009; Hooley et al., 2009). A auto referência é considerada o processo pelo qual alguém se coloca como foco ou parâmetro, avaliando estímulos (externos ou internos) como fortemente relacionados a si mesmo (Lemogne et al., 2009b). Nesses quadros, gatilhos externos ou internos são interpretados de forma prevalente como auto referentes e negativos.

Considerando os efeitos otimizadores sobre o processamento das emoções, observados por meio de escalas de avaliação, preferencialmente sobre a emergência de emoções negativas, é possível especular que as mudanças subjetivas favoráveis possam compartilhar mecanismos semelhantes aos observados em pacientes, quando medicados com antidepressivos. Efeito este que pode ser evidenciado por um maior senso de controle emocional e melhor avaliação de experiências negativas emocionalmente marcantes. E, possivelmente, também ocorre por meio do efeito dos antidepressivos na atividade de regiões frontais e suas conexões com regiões límbicas e paralímbicas, incluindo o giro do cíngulo (Kross e Ayduk 2009; Sheline et al., 2009; Van Wingen et al., 2010).

Os dados acima, reforçam a ideia de que tanto pacientes, quanto sujeitos

saudáveis, em uso de antidepressivos, parecem avaliar de forma mais pertinente seu estado afetivo e sua relação com o ambiente externo. Neste estudo em particular, a modificação, pela ação do antidepressivo, nos escores das escalas de avaliação e nas localizações específicas do cérebro, se relacionam de forma direta à utilização do paradigma de indução emocional autobiográfica. Assim, a modificação de funções associadas à memória autobiográfica pode, pelo menos em parte, ser considerada responsável pela modificação dos critérios de resposta que definiram os grupos, não obstante, se considerarmos suas semelhanças conceituais. Essa ideia aponta para a modulação da memória autobiográfica, de funções e de vias de processamento cerebral a elas associadas, como parte integrante do mecanismo de ação dos antidepressivos.

Alterações da memória autobiográfica têm sido mais extensamente pesquisadas em transtornos psiquiátricos, por estar relacionada a automatização e manutenção de processos mentais que afetam a atenção voluntária e a memória, com estreitamento da atenção e viés negativo na tomada de decisões. A super-generalização da memória autobiográfica é um tipo de alteração que leva a uma tendência a interpretação negativa das memórias passadas. Esse achado tem sido observado em transtornos alimentares, depressão maior e transtorno de estresse pós-traumático (Holland e Kensinger 2010). Como também é frequente a tendência de recordar, persistentemente, eventos adversos do passado remoto no transtorno de personalidade *borderline*, na amnésia dissociativa e na depressão maior (Driessen et al., 2004; Driessen et al., 2009; King et al., 2010). A persistência na recordação de memórias autobiográficas negativas, tomadas como auto representações e base de referência, podem estar implicados nos distúrbios da

prospecção e tomada de decisões (Addis e Schacter 2008).

Em estudos anteriores, efeitos do tratamento antidepressivo foram observados no giro fusiforme e córtex pré-frontal em pacientes depressivos, nos quais foram avaliadas retenção e recordação de faces expressando emoções felizes (Van Wingen et al., 2010). Os achados nessas regiões também são consistentemente replicados em estudos de memória e recordação autobiográficas (Addis et al., 2004; Cerqueira et al., 2008; Cerqueira et al., 2010; Holland e Kensinger 2010; Ino et al., 2011). As funções envolvidas neste paradigma são altamente dependentes da interação de processos afetivos e cognitivos, como as diversas formas de atenção e memória, assim como das capacidades perceptivas visuo-espaciais e representacionais (Buchanan 2007; Cabeza e St Jacques 2007). Os quais são potencialmente alterados em pacientes depressivos (Van Wingen et al., 2010; King et al., 2010), e modificadas por antidepressivos, também em pessoas saudáveis, em outros paradigmas de estimulação mental por aspectos emocionais (Harmer et al., 2009).

O envolvimento das redes relacionadas à via atencional posterior (que abrange o achado na junção têmporo-parieto-occipital) e na via fronto-posterior (que abrange o achado frontoparietal) no efeito antidepressivo em estudos sobre a memória autobiográfica, apontam para um denominador comum, a forma de indução emocional utilizada em nosso estudo: adequação do julgamento sobre si próprio em relação ao potencialmente percebido no meio externo.

Estudos abordando atividade cerebral em repouso, têm reportado que pacientes com fobia social apresentam correlação entre gravidade da doença e atividade nas regiões parietais e occipitais. Como também, a diminuição de

atividade de regiões frontoparietais na atividade cerebral em repouso é revertida com o tratamento antidepressivo, sugerindo comprometimento das vias funcionais da percepção e controle do estado emocional na avaliação das auto representações relevantes (Liao et al., 2010; Qiu et al., 2011). Ao contrário, em pacientes depressivos, tem sido encontrado aumento de atividade basal nessas regiões, que é revertido com o tratamento antidepressivo (Zhang et al., 2011; Delaveau et al., 2011).

Em sujeitos saudáveis, a região ventromedial do CPF pode subsidiar a representação supra modal mental de um estímulo a ser auto referenciado durante ambos processamentos, explícitos e implícitos. Sua ativação pode ser responsável pela ligação automática de informações subsequentes como potencialmente auto relevantes, aumentando a forma espontânea de auto foco, tal como ocorre na ruminação depressiva (Rameson et al., 2010; Northoff et al., 2006; Grimm et al., 2009b; Johnson et al., 2009). De fato, a falta de deativação dessa área durante a distração é positivamente associada aos níveis de ruminação em pacientes depressivos (Johnson et al., 2009).

O córtex pré-frontal dorsomedial é considerado responsável pela avaliação explícita do processo auto referencial (Northoff et al., 2006), enquanto as regiões corticais médias dorsais posteriores, como o cíngulo posterior, espelham essa atividade, realizando a integração das simulações mentais auto relevantes com as experiências passadas (Grimm et al., 2009b; Yoshimura et al., 2010; Johnson et al., 2009). De acordo com sua natureza analítica, o auto foco, na depressão, é caracterizado pelo estilo narrativo e avaliativo, que é, portanto, consistente com o envolvimento do CPF dorsomedial e das estruturas mediais posteriores,

respectivamente (Lemogne et al., 2012).

O efeito exercido sobre o córtex pré-frontal dorsomedial pode ser considerado, em parte, responsável pela alteração do processo auto referencial, juntamente com regiões do cíngulo posterior, exercendo modulação da memória autobiográfica e, conseqüentemente, alterando a avaliação das situações relevantes com as experiências passadas (Grimm et al., 2009b; Yoshimura et al., 2010; Johnson et al., 2009). Assim, é bastante razoável, a associação dos efeitos da diminuição da auto avaliação negativa combinada à facilitação da memória para emoções negativas (Padatou Pastou et al., 2012), considerando a participação do córtex da ínsula anterior, do CPF ventrolateral e cíngulo posterior nos voluntários responsivos do presente estudo.

A modificação da referida circuitaria poderia, em parte, explicar a maior facilidade com que os voluntários responsivos lidaram com situações de tensão, irritabilidade e tomada de decisões (de acordo com os critérios de resposta e durante a indução emocional). Isso corrobora afirmações anteriores de que o efeito antidepressivos está associado ao aumento da assertividade em situações cotidianas, melhora do processo de decisão e auto avaliação, tornando-o mais deliberativo e controlado (Serretti et al., 2010; Simmons et al., 2009; Matthews et al., 2010).

A falta de modificação sobre os escores da escala de irritabilidade durante os estados afetivos da mesma emoção, possibilita a interpretação de que não houve uma redução na intensidade das emoções de irritabilidade, nem da atividade relacionada a elas, mas sim, menor ansiedade durante este estado afetivo, provavelmente, pela diminuição da influência de representações

negativas. Isso pode ser aventado como um aumento de tolerância a irritabilidade, ou a emoções negativas em geral, juntamente com aumento de atividade em áreas responsáveis pelo julgamento de si mesmo, de sua relação com o ambiente e de seu estado afetivo.

5.4. Limitações

A clomipramina, assim como outros antidepressivos tricíclicos, apresenta afinidade histaminérgica H1, α 1-adrenérgicos, 5-HT2A e receptores pós-sinápticos muscarínicos (Gillman 2007). Não podemos, portanto, descartar a possibilidade de que as diferenças relatadas no presente estudo podem ser influenciadas por efeitos da clomipramina em um ou mais desses receptores.

Apesar do tamanho modesto da amostra, a abordagem de medidas repetidas foi capaz de reconhecer diferenças significativas sob um limiar estatístico rígido, compatível com estudos anteriores de RMf.

Outras limitações devem ser realçadas, tais como, a quantidade de ensaios realizadas pelo grupo responsivo em relação aos não responsivos, que não participaram da fase controlada do ensaio farmacológico. Todavia, os exames sob uso de clomipramina se deram no primeiro ensaio (simples cego) do estudo farmacológico e não interfeririam nas diferenças encontradas, considerando que o segundo exame de imagem também respeitou o mesmo período de tempo para suspensão da medicação e sua realização.

Outra limitação que deve ser apontada é a diferença no intervalo entre o primeiro e segundo exame do grupo de responsivos em relação aos não responsivos. Embora essa diferença envolva limitações gerais deste tipo de técnica, consideramos que esta é pequena para modificar variáveis não consideradas pelo estudo, visto que os voluntários eram acompanhados pelo grupo de psiquiatras semanalmente.

Também, como se procurou enfatizar a classificação dos indivíduos com

base na presença ou ausência de quaisquer padrões de mudanças de humor subjetiva sob uso de Clomipramina, optamos por usar a ordem de exame fixa com a primeira sessão de RMf sempre sob o estado medicamentoso. Portanto, seria possível que os nossos resultados fossem influenciados por efeitos de prática na tarefa entre a avaliação no estado medicado e não medicado. No entanto, os efeitos de tal prática seriam minimizados com a sessão de simulação que antecedeu em até 5 dias os exames de RMf. E, caso ocorressem, seria esperado que houvesse atenuação da atividade e não aumento.

A influência de diferenças interindividuais nas funções abordadas acima, como também em outras não abordadas por esse estudo, podem estar relacionadas a diversidade de variáveis de personalidade que poderiam ser responsáveis pela variabilidade dos achados. Esses fatores podem ter influenciado na taxa de responsividade encontrada no atual estudo, como também, na menor porcentagem de estudos que encontraram efeitos favoráveis com a utilização de antidepressivos em pessoas saudáveis (Dumont et al 2005; Knutson et al 1998; Miskowiak et al 2007; Lemogne et al., 2009a; Tang et al., 2009; Di Simplicio et al., 2011; Pezawas et al., 2005). Esse aspecto, que afeta diferentemente traços de personalidade, necessitam ser investigados com maior profundidade.

5.5. Conclusões

A abordagem deste estudo da função cerebral do efeito positivo de um antidepressivo sobre características emocionais pessoais, com um paradigma autobiográfico de indução emocional, foi eficaz em realçar diferenças subjetivas quanto a áreas cerebrais e escalas de auto avaliação emocional. Esse efeito foi mais marcante sobre o contraste entre emoções de felicidade e de irritabilidade. A ausência de antecedentes pessoais ou familiares, e a repetição do ensaio farmacológico no grupo respondedor, conferiram maior validade aos achados.

Foram encontradas diferenças por medidas objetivas, que também subsidiaram a classificação pelos critérios de responsividade, para as modificações favoráveis ao uso prolongado de baixas doses de um potente bloqueador de serotonina e noradrenalina. Esse efeito foi verificado através do sinal BOLD e escalas de auto avaliação de ansiedade na comparação com os sujeitos não responsivos.

Com o uso da medicação foi possível verificar que a indução de irritabilidade não sofreu alteração quanto a sua intensidade, quando medida pela escala de irritabilidade. Todavia, diminuiu os índices de ansiedade, especificamente no grupo responsivo, e também de felicidade, no conjunto dos grupos. O que poder ser caracterizado, como em estudos anteriores, como um indício de maior especificidade na avaliação emocional.

Os efeitos cerebrais e comportamentais descritos aqui são comparáveis àqueles vistos em pacientes, que adquirem melhor controle emocional e assertividade após o tratamento antidepressivo. Parte desses efeitos são associados

a modificações de funções visuo-espaciais, auto referenciais e auto avaliativas, que tem relação estreita com alterações da memória autobiográfica.

Deste modo, a modulação exercida sobre a atividade das áreas frontoparietais e têmporo-parieto-occipitais relacionada à indução de irritabilidade por memórias autobiográficas, pode estar relacionada ao efeito comportamental favorável da clomipramina em uma parcela de sujeitos saudáveis.

6. Referências Bibliográficas:

Addis DR, McIntosh AR, Moscovitch M, Crawley AP, McAndrews MP. Characterizing spatial and temporal features of autobiographical memory retrieval networks: a partial least squares approach. *Neuroimage* 2004; **23**:1460-1471.

Addis DR e Schacter DL. Constructive episodic simulation: temporal distance and detail of past and future events modulate hippocampal engagement. *Hippocampus* 2008; **18**:227-237.

Almeida JRC. *Padrões de funcionamento cerebral em voluntários saudáveis antes e após o uso de antidepressivo: estudo de ressonância magnética funcional durante indução emocional através de estimulação visual* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2009.

Amaro E, Jr. e Barker GJ. Study design in fMRI: basic principles. *Brain Cogn* 2006; **60**:220-232.

Anand A, Li Y, Wang Y, Wu J, Gao S, Bukhari L, Mathews VP, Kalnin A, Lowe MJ. Antidepressant effect on connectivity of the mood-regulating circuit: an fMRI study. *Neuropsychopharmacology* 2005; **30**:1334-1344.

Anderson IM, McKie S, Elliott R, Williams SR, Deakin JF. Assessing human 5-HT function in vivo with pharmacofMRI. *Neuropharmacology* 2008; **55**:1029-1037.

Arce E, Simmons AN, Lovero KL, Stein MB, Paulus MP. Escitalopram effects on insula and amygdala BOLD activation during emotional processing. *Psychopharmacology (Berl)* 2008; **196**:661-672.

Beblo T, Driessen M, Mertens M, Wingenfeld K, Piefke M, Rullkoetter N, Silva-Saavedra A, Mensebach C, Reddemann L, Rau H, Markowitsch HJ, Wulff H, Wolfgan. Functional MRI correlates of the recall of unresolved life events in borderline personality disorder. *Psychol Med* 2006; **36**:845-856.

Brammer MJ, Bullmore ET, Simmons A, Williams SC, Grasby PM, Howard RJ, Woodruff PW, Rabe-Hesketh S. Generic brain activation mapping in functional magnetic resonance imaging: a nonparametric approach. *Magn Reson Imaging* 1997; **15**:763-770.

Brand M, Eggers C, Reinhold N, Fujiwara E, Kessler J, Heiss WD, Markowitsch HJ. Functional brain imaging in 14 patients with dissociative amnesia reveals right inferolateral prefrontal hypometabolism. *Psychiatry Res* 2009; **174**:32-39.

Brody AL, Saxena S, Stoessel P, Gillies LA, Fairbanks LA, Alborzian S, Phelps ME, Huang SC, Wu HM, Ho ML e outros. Regional brain metabolic changes in patients with major depression treated with either paroxetine or interpersonal therapy: preliminary findings. *Archives of General Psychiatry* 2001; **58**:631.

Brühl AB, Kaffenberger T, Herwig U. Serotonergic and noradrenergic modulation of emotion processing by single dose antidepressants. *Neuropsychopharmacology* 2010; **35**:521-533.

Brühl AB, Jäncke L, Herwig U. Differential modulation of emotion processing brain regions by noradrenergic and serotonergic antidepressants. *Psychopharmacology (Berl)* 2011; **216**:389-399.

Buchanan TW. Retrieval of emotional memories. *Psychol Bull* 2007; **133**:761-779.

Bullmore E, Brammer M, Williams SC, Rabe-Hesketh S, Janot N, David A, Mellers J, Howard R, Sham P. Statistical methods of estimation and inference for functional MR image analysis. *Magn Reson Med* 1996; **35**:261-277.

Bullmore E, Long C, Suckling J, Fadili J, Calvert G, Zelaya F, Carpenter TA, Brammer M. Colored noise and computational inference in neurophysiological (fMRI) time series analysis: resampling methods in time and wavelet domains. *Hum Brain Mapp* 2001; **12**:61-78.

Bullmore E, Fadili J, Breakspear M, Salvador R, Suckling J, Brammer M. Wavelets and statistical analysis of functional magnetic resonance images of the human brain. *Stat Methods Med Res* 2003; **12**:375-399.

Bullmore E, Fadili J, Maxim V, Sendur L, Whitcher B, Suckling J, Brammer M, Breakspear M. Wavelets and functional magnetic resonance imaging of the human brain. *Neuroimage* 2004; **23 Suppl 1**:S234-49.

Cabeza R e St Jacques P. Functional neuroimaging of autobiographical memory. *Trends in Cognitive Sciences* 2007; **11**:219-227.

Campos A, Gonzalez MA, Amor A. The Spanish version of the Vividness of Visual Imagery Questionnaire: factor structure and internal consistency reliability. *Psychol Rep* 2002; **90**:503-506.

Canli T, Cooney RE, Goldin P, Shah M, Sivers H, Thomason ME, Whitfield-Gabrieli S, Gabrieli JD, Gotlib IH. Amygdala reactivity to emotional faces predicts improvement in major depression. *Neuroreport* 2005; **16**:1267.

Cerqueira CT, Almeida JR, Sato JR, Gorenstein C, Gentil V, Leite CC, Amaro E, Jr., Busatto GF. Cognitive control associated with irritability induction: an autobiographical recall fMRI study. *Rev Bras Psiquiatr* 2010; **32**:109-18 LID - S1516-44462.

Cerqueira CT, Almeida JRC, Gorenstein C, Gentil V, Leite CC, Sato JR, Amaro E, Busatto GF. Engagement of multifocal neural circuits during recall of autobiographical happy events. *Braz J Med Biol Res* 2008; **41**:1076-1085.

- Conway MA e Pleydell-Pearce CW. The construction of autobiographical memories in the self-memory system. *Psychol Rev* 2000; **107**:261-288.
- Cooney RE, Joormann J, Atlas LY, Eugene F, Gotlib IH. Remembering the good times: neural correlates of affect regulation. *Neuroreport* 2007; **18**:1771-1774.
- Critchley HD, Elliott R, Mathias CJ, Dolan RJ. Neural activity relating to generation and representation of galvanic skin conductance responses: a functional magnetic resonance imaging study. *J Neurosci* 2000; **20**:3033-3040.
- Critchley HD, Wiens S, Rotshtein P, Ohman A, Dolan RJ. Neural systems supporting interoceptive awareness. *Nat Neurosci* 2004; **7**:189-195.
- Critchley HD. Psychophysiology of neural, cognitive and affective integration: fMRI and autonomic indicants. *Int J Psychophysiol* 2009; **73**:88-94.
- Daselaar SM, Rice HJ, Greenberg DL, Cabeza R, LaBar KS, Rubin DC. The spatiotemporal dynamics of autobiographical memory: neural correlates of recall, emotional intensity, and reliving. *Cereb Cortex* 2008; **18**:217-229.
- Davidson RJ, Irwin W, Anderle MJ, Kalin NH. The neural substrates of affective processing in depressed patients treated with venlafaxine. *Am J Psychiatry* 2003; **160**:64-75.
- de Almeida JR, Phillips ML, Cerqueira CT, Zilberman M, Lobo D, Henna E, Tavares H, Amaro E, Gorenstein C, Gentil V, Busatto GF. Neural activity changes to emotional stimuli in healthy individuals under chronic use of clomipramine. *J Psychopharmacol* 2010; **24**:1165-1174.
- Delaveau P, Jabourian M, Lemogne C, Guionnet S, Bergouignan L, Fossati P. Brain effects of antidepressants in major depression: a meta-analysis of emotional processing studies. *J Affect Disord* 2011; **130**:66-74.
- Del-Ben CM, Deakin JF, McKie S, Delvai NA, Williams SR, Elliott R, Dolan M, Anderson IM. The effect of citalopram pretreatment on neuronal responses to neuropsychological tasks in normal volunteers: an FMRI study. *Neuropsychopharmacology* 2005; **30**:1724-1734.
- DeRubeis RJ, Siegle GJ, Hollon SD. Cognitive therapy versus medication for depression: treatment outcomes and neural mechanisms. *Nat Rev Neurosci* 2008; **9**:788-796.
- Dougherty DD, Shin LM, Alpert NM, Pitman RK, Orr SP, Lasko M, Macklin ML, Fischman AJ, Rauch SL. Anger in healthy men: a PET study using script-driven imagery. *Biol Psychiatry* 1999; **46**:466-472.
- Driessen M, Beblo T, Mertens M, Piefke M, Rullkoetter N, Silva-Saavedra A, Reddemann L, Rau H, Markowitsch HJ, Wulff H, Lange W, Woermann FG.

Posttraumatic stress disorder and fMRI activation patterns of traumatic memory in patients with borderline personality disorder. *Biol Psychiatry* 2004; **55**:603-611.

Driessen M, Wingefeld K, Rullkoetter N, Mensebach C, Woermann FG, Mertens M, Beblo T. One-year functional magnetic resonance imaging follow-up study of neural activation during the recall of unresolved negative life events in borderline personality disorder. *Psychol Med* 2009; **39**:507-516.

Dumont G, De Visser SJ, Cohen AF, Van Gerven J. Biomarkers for the effects of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) in healthy subjects. *British journal of clinical pharmacology* 2005; **59**:495-510.

First MB, Spitzer RL, Williams JB. Structured clinical interview for DSM-IV axis I disorders SCID-I: clinician version, administration booklet. 1997; American Psychiatry Press, New York.

Fitzgerald PB, Laird AR, Maller J, Daskalakis ZJ. A meta-analytic study of changes in brain activation in depression. *Hum Brain Mapp* 2008; **29**:683-695.

Friman O, Borga M, Lundberg P, Knutsson H. Adaptive analysis of fMRI data. *Neuroimage* 2003; **19**:837-845.

Fu CHY, Williams SCR, Brammer MJ, Suckling J, Kim J, Cleare AJ, Walsh ND, Mitterschiffthaler MT, Andrew CM, Pich EM, Bullmore ET. Neural responses to happy facial expressions in major depression following antidepressant treatment. *Am J Psychiatry* 2007; **164**:599-607.

Fu CHY, Williams SCR, Cleare AJ, Scott J, Mitterschiffthaler MT, Walsh ND, Donaldson C, Suckling J, Andrew C, Steiner H, Murray RM. Neural responses to sad facial expressions in major depression following cognitive behavioral therapy. *Biol Psychiatry* 2008; **64**:505-512.

Gentil V, Zilberman ML, Lobo D, Henna E, Moreno RA, Gorenstein C. Clomipramine-induced mood and perceived performance changes in selected healthy individuals. *J Clin Psychopharmacol* 2007; **27**:314-315.

George MS, Ketter TA, Parekh PI, Herscovitch P, Post RM. Gender differences in regional cerebral blood flow during transient self-induced sadness or happiness. *Biol Psychiatry* 1996; **40**:859-871.

Gillman PK. Tricyclic antidepressant pharmacology and therapeutic drug interactions updated. *Br J Pharmacol* 2007; **151**:737-748.

Grimm S, Boesiger P, Beck J, Schuepbach D, Bermpohl F, Walter M, Ernst J, Hell D, Boeker H, Northoff G. Altered negative BOLD responses in the default-mode network during emotion processing in depressed subjects. *Neuropsychopharmacology* 2009; **34**:932-943.

Harmer CJ, Shelley NC, Cowen PJ, Goodwin GM. Increased positive versus negative affective perception and memory in healthy volunteers following selective serotonin and norepinephrine reuptake inhibition. *Am J Psychiatry* 2004; **161**:1256-1263.

Harmer CJ, Mackay CE, Reid CB, Cowen PJ, Goodwin GM. Antidepressant drug treatment modifies the neural processing of nonconscious threat cues. *Biol Psychiatry* 2006; **59**:816-820.

Harmer CJ, Goodwin GM, Cowen PJ. Why do antidepressants take so long to work? A cognitive neuropsychological model of antidepressant drug action. *Br J Psychiatry* 2009; **195**:102-108.

Harmer CJ, de Bodinat C, Dawson GR, Dourish CT, Waldenmaier L, Adams S, Cowen PJ, Goodwin GM. Agomelatine facilitates positive versus negative affective processing in healthy volunteer models. *J Psychopharmacol* 2011; **25**:1159-1167.

Holland AC e Kensinger EA. Emotion and autobiographical memory. *Phys Life Rev* 2010; **7**:88-131.

Hooley JM, Gruber SA, Parker HA, Guillaumot J, Rogowska J, Yurgelun-Todd DA. Cortico-limbic response to personally challenging emotional stimuli after complete recovery from depression. *Psychiatry Res* 2009; **172**:83-91.

Ino T, Nakai R, Azuma T, Kimura T, Fukuyama H. Brain activation during autobiographical memory retrieval with special reference to default mode network. *Open Neuroimag J* 2011; **5**:14-23.

Johnson MK, Nolen-Hoeksema S, Mitchell KJ, Levin Y. Medial cortex activity, self-reflection and depression. *Soc Cogn Affect Neurosci* 2009; **4**:313-27 LID - 10.1093/sca.

Kellner M, Demiralay C, Muhtz C, Husemann J, Kolsch W, Hiemke C, Yassouridis A, Wiedemann K. No effect of six weeks of treatment with escitalopram on mood in healthy volunteers--irrespective of genotype for the promoter of the serotonin transporter. *Psychiatry Res* 2008; **161**:339-343.

Kennedy SH, Evans KR, Kruger S, Mayberg HS, Meyer JH, McCann S, Arifuzzman AI, Houle S, Vaccarino FJ. Changes in regional brain glucose metabolism measured with positron emission tomography after paroxetine treatment of major depression. *Am J Psychiatry* 2001; **158**:899-905.

Kennedy SH, Konarski JZ, Segal ZV, Lau MA, Bieling PJ, McIntyre RS, Mayberg HS. Differences in brain glucose metabolism between responders to CBT and venlafaxine in a 16-week randomized controlled trial. *Am J Psychiatry* 2007; **164**:778-788

Kimbrell TA, George MS, Parekh PI, Ketter TA, Podell DM, Danielson AL, Repella JD, Benson BE, Willis MW, Herscovitch P, Post RM. Regional brain activity during transient self-induced anxiety and anger in healthy adults. *Biol Psychiatry* 1999; **46**:454-465.

King AP, Abelson JL, Britton JC, Phan KL, Taylor SF, Liberzon I. Medial prefrontal cortex and right insula activity predict plasma ACTH response to trauma recall. *Neuroimage* 2009; **47**:872-880.

King MJ, MacDougall AG, Ferris SM, Levine B, MacQueen GM, McKinnon MC. A review of factors that moderate autobiographical memory performance in patients with major depressive disorder. *J Clin Exp Neuropsychol* 2010; **32**:1122-1144.

Knutson B, Wolkowitz OM, Cole SW, Chan T, Moore EA, Johnson RC, Terpstra J, Turner RA, Reus VI. Selective alteration of personality and social behavior by serotonergic intervention. *Am J Psychiatry* 1998; **155**:373-379.

Kross E e Ayduk O. Boundary conditions and buffering effects: Does depressive symptomology moderate the effectiveness of distanced-analysis for facilitating adaptive self-reflection? *J Res Pers* 2009; **43**:923-927.

Lemogne C, Bergouignan L, Piolino P, Jouvent R, Allilaire JF, Fossati P. Cognitive avoidance of intrusive memories and autobiographical memory: specificity, auto-noetic consciousness, and self-perspective. *Memory* 2009a; **17**:1-7.

Lemogne C, Le Bastard G, Mayberg H, Volle E, Bergouignan L, Lehericy S, Allilaire JF, Fossati P.. In search of the depressive self: extended medial prefrontal network during self-referential processing in major depression. *Social Cognitive and Affective Neuroscience* 2009b; **4**:305.

Lemogne C, Mayberg H, Bergouignan L, Volle E, Delaveau P, Lehericy S, Allilaire JF, Fossati P. Self-referential processing and the prefrontal cortex over the course of depression: a pilot study. *J Affect Disord* 2010; **124**:196-201.

Lemogne C, Delaveau P, Freton M, Guionnet S, Fossati P. Medial prefrontal cortex and the self in major depression. *J Affect Disord* 2012; **136**:e1-e11.

Levine B, Turner GR, Tisserand D, Hevenor SJ, Graham SJ, McIntosh AR. The functional neuroanatomy of episodic and semantic autobiographical remembering: a prospective functional MRI study. *J Cogn Neurosci* 2004; **16**:1633-1646.

Liao W, Qiu C, Gentili C, Walter M, Pan Z, Ding J, Zhang W, Gong Q, Chen H. Altered effective connectivity network of the amygdala in social anxiety disorder: a resting-state fMRI study. *PLoS One* 2010; **5**.

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**:30-42.

Markowitsch HJ, Vandekerckhove MM, Lanfermann H, Russ MO. Engagement of lateral and medial prefrontal areas in the ecphory of sad and happy autobiographical memories. *Cortex* 2003; **39**:643-665.

Matthews SC, Simmons AN, Strigo IA, Arce E, Stein MB, Paulus MP. Escitalopram attenuates posterior cingulate activity during self-evaluation in healthy volunteers. *Psychiatry Res* 2010; **182**:81-87.

Mayberg HS, Brannan SK, Tekell JL, Silva JA, Mahurin RK, McGinnis S, Jerabek PA. Regional metabolic effects of fluoxetine in major depression: serial changes and relationship to clinical response. *Biological Psychiatry* 2000; **48**:830-843.

C, Mishor Z, Cowen PJ, Harmer CJ. Diminished neural processing of aversive and rewarding stimuli during selective serotonin reuptake inhibitor treatment. *Biol Psychiatry* 2010; **67**:439-445.

McCabe C e Mishor Z. Antidepressant medications reduce subcortical--cortical resting-state functional connectivity in healthy volunteers. *Neuroimage* 2011; **57**:1317.

McKie S, Del-Ben C, Elliott R, Williams S, del Vai N, Anderson I, Deakin JF. Neuronal effects of acute citalopram detected by pharmacMRI. *Psychopharmacology (Berl)* 2005; **180**:680-686.

Mickley KR e Kensinger EA. Phenomenological characteristics of emotional memories in younger and older adults. *Memory* 2009; **17**:528-543.

Miskowiak K, Papadatou-Pastou M, Cowen PJ, Goodwin GM, Norbury R, Harmer CJ. Single dose antidepressant administration modulates the neural processing of self-referent personality trait words. *Neuroimage* 2007; **37**:904-911.

Murphy SE, Norbury R, O'Sullivan U, Cowen PJ, Harmer CJ. Effect of a single dose of citalopram on amygdala response to emotional faces. *Br J Psychiatry* 2009; **194**:535-540.

Norbury R, Mackay CE, Cowen PJ, Goodwin GM, Harmer CJ. Short-term antidepressant treatment and facial processing. Functional magnetic resonance imaging study. *Br J Psychiatry* 2007; **190**:531-532.

Norbury R, Mackay CE, Cowen PJ, Goodwin GM, Harmer CJ. The effects of reboxetine on emotional processing in healthy volunteers: an fMRI study. *Mol Psychiatry* 2008; **13**:1011-1020.

Northoff G, Heinzel A, de Greck M, Bermpohl F, Dobrowolny H, Panksepp J. Self-referential processing in our brain--a meta-analysis of imaging studies on the self. *Neuroimage* 2006; **31**:440-457.

Ogawa S, Menon RS, Tank DW, Kim SG, Merkle H, Ellermann JM, Ugurbil K. Functional brain mapping by blood oxygenation level-dependent contrast magnetic resonance imaging. A comparison of signal characteristics with a biophysical model. *Biophys J* 1993; **64**:803-812.

Onur OA, Walter H, Schlaepfer TE, Rehme AK, Schmidt C, Keysers C, Maier W, Hurlemann R. Noradrenergic enhancement of amygdala responses to fear. *Soc Cogn Affect Neurosci* 2009; **4**:119-126.

Oshiro Y, Quevedo AS, McHaffie JG, Kraft RA, Coghill RC. Brain mechanisms supporting discrimination of sensory features of pain: a new model. *J Neurosci* 2009; **29**:14924-14931.

Papadatou-Pastou M, Miskowiak KW, Williams JM, Harmer CJ, Reinecke A. Acute antidepressant drug administration and autobiographical memory recall: a functional magnetic resonance imaging study. *Exp Clin Psychopharmacol* 2012; **20**:364-372.

Phan KL, Wager T, Taylor SF, Liberzon I. Functional neuroanatomy of emotion: a meta-analysis of emotion activation studies in PET and fMRI. *Neuroimage* 2002; **16**:331-348.

Phillips ML, Drevets WC, Rauch SL, Lane R. Neurobiology of emotion perception I: The neural basis of normal emotion perception. *Biol Psychiatry* 2003; **54**:504-514.

Posner J, Russell JA, Peterson BS. The circumplex model of affect: an integrative approach to affective neuroscience, cognitive development, and psychopathology. *Dev Psychopathol* 2005; **17**:715-734.

Price JL e Drevets WC. Neurocircuitry of mood disorders. *Neuropsychopharmacology* 2009; **35**:192-216.

Qiu C, Liao W, Ding J, Feng Y, Zhu C, Nie X, Zhang W, Chen H, Gong Q. Regional homogeneity changes in social anxiety disorder: a resting-state fMRI study. *Psychiatry Res* 2011; **194**:47-53.

Rameson LT, Satpute AB, Lieberman MD. The neural correlates of implicit and explicit self-relevant processing. *Neuroimage* 2010; **50**:701-8 LID - 10.1016/j.ne.

Rauch SL, Shin LM, Dougherty DD, Alpert NM, Orr SP, Lasko M, Macklin ML, Fischman AJ, Pitman RK. Neural activation during sexual and competitive arousal in healthy men. *Psychiatry Res* 1999; **91**:1-10.

Serretti A, Calati R, Goracci A, Di Simplicio M, Castrogiovanni P, De Ronchi D. Antidepressants in healthy subjects: what are the psychotropic/psychological effects? *Eur Neuropsychopharmacol* 2010; **20**:433-453.

Sheline YI, Barch DM, Price JL, Rundle MM, Vaishnavi SN, Snyder AZ, Mintun MA, Wang S, Coalson RS, Raichle ME. The default mode network and self-referential processes in depression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; **106**:1942-1947.

Sheline YI, Price JL, Yan Z, Mintun MA. Resting-state functional MRI in depression unmasks increased connectivity between networks via the dorsal nexus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; **107**:11020-11025.

Siegle GJ. Brain mechanisms of borderline personality disorder at the intersection of cognition, emotion, and the clinic. *Am J Psychiatry* 2007; **164**:1776-1779.

Siepmann M, Handel J, Mueck-Weymann M, Kirch W. The effects of moclobemide on autonomic and cognitive functions in healthy volunteers. *Pharmacopsychiatry* 2004; **37**:81-87.

Simmons AN, Arce E, Lovero KL, Stein MB, Paulus MP. Subchronic SSRI administration reduces insula response during affective anticipation in healthy volunteers. *Int J Neuropsychopharmacol* 2009; **12**:1009-1020.

Simplicio M, Norbury R, Harmer CJ. Short-term antidepressant administration reduces negative self-referential processing in the medial prefrontal cortex in subjects at risk for depression. *Mol Psychiatry* 2011; **17**:503-10.

Spielberger CD, Gorsuch RL, Lushene, RE. Manual for the State-Trait Anxiety Inventory. Consulting Psychologists Press, 1970, Palo Alto.

St Jacques PL, Botzung A, Miles A, Rubin DC. Functional neuroimaging of emotionally intense autobiographical memories in post-traumatic stress disorder. *J Psychiatr Res* 2011; **45**:630-637.

Strigo IA, Simmons AN, Matthews SC, Craig AD, Paulus MP. Association of major depressive disorder with altered functional brain response during anticipation and processing of heat pain. *Arch Gen Psychiatry* 2008; **65**:1275-1284.

Svoboda E, McKinnon MC, Levine B. The functional neuroanatomy of autobiographical memory: a meta-analysis. *Neuropsychologia* 2006; **44**:2189-2208.

Takahashi H, Yahata N, Koeda M, Takano A, Asai K, Suhara T, Okubo Y. Effects of dopaminergic and serotonergic manipulation on emotional processing: a pharmacological fMRI study. *Neuroimage* 2005; **27**:991-1001.

Tang TZ, DeRubeis RJ, Hollon SD, Amsterdam J, Shelton R, Schalet B. Personality change during depression treatment: a placebo-controlled trial. *Arch Gen Psychiatry* 2009; **66**:1322-1330.

Tse WS e Bond AJ. Difference in serotonergic and noradrenergic regulation of human social behaviours. *Psychopharmacology (Berl)* 2002a; **159**:216-221.

Tse WS e Bond AJ. Serotonergic intervention affects both social dominance and affiliative behaviour. *Psychopharmacology (Berl)* 2002b; **161**:324-330.

Tulving E e Markowitsch HJ. Episodic and declarative memory: role of the hippocampus. *Hippocampus* 1998; **8**:198-204.

van Marle HJ, Tendolkar I, Urner M, Verkes RJ, Fernandez G, van Wingen G. Subchronic duloxetine administration alters the extended amygdala circuitry in healthy individuals. *Neuroimage* 2011; **55**:825-831.

Van Wingen GA, Van Eijndhoven P, Cremers HR, Tendolkar I, Verkes RJ, Buitelaar JK, Fernandez G. Neural state and trait bases of mood-incongruent memory formation and retrieval in first-episode major depression. *Journal of Psychiatric Research* 2010; **44**:527-534.

Weissman MM, Wickramaratne P, Adams P, Wolk S, Verdelli H, Olfson M. Brief screening for family psychiatric history: the family history screen. *Arch Gen Psychiatry* 2000; **57**:675-682.

Wicker B, Ruby P, Royet JP, Fonlupt P. A relation between rest and the self in the brain? *Brain Res Brain Res Rev* 2003; **43**:224-230.

Wong DF, Tauscher J, Grunder G. The role of imaging in proof of concept for CNS drug discovery and development. *Neuropsychopharmacology* 2009; **34**:187-203.

Yoshimura S, Okamoto Y, Onoda K, Matsunaga M, Okada G, Kunisato Y, Yoshino A, Ueda K, Suzuki SI, Yamawaki S. Cognitive behavioral therapy for depression changes medial prefrontal and ventral anterior cingulate cortex activity associated with self-referential processing. *Soc Cogn Affect Neurosci* 2013; [Epub ahead of print] PubMed PMID: 23327934.

Zhang J, Wang J, Wu Q, Kuang W, Huang X, He Y, Gong Q. Disrupted brain connectivity networks in drug-naive, first-episode major depressive disorder. *Biol Psychiatry* 2011; **70**:334-342.

Apêndice

Artigo submetido ao periódico *Molecular Psychiatry*.

Healthy individuals treated with clomipramine: an fMRI study of brain activity during autobiographical recall of emotions

Carlos T. Cerqueira, MD,¹ João R. Sato, PhD,² Jorge R.C. de Almeida, MD,³ Edson Amaro Junior, MD, PhD,⁴ Cláudia C. Leite, MD, PhD,⁴ Clarice Gorenstein, PhD,¹ Valentim Gentil, MD, PhD¹ and Geraldo F. Busatto, MD, PhD

¹Department and Institute of Psychiatry, University of São Paulo School of Medicine *Hospital das Clínicas*, São Paulo, Brazil; ²Department of Cognitive Neuroscience, Federal University of the ABC, Santo André, Brazil; ³Department of Psychiatry, University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, PA, USA; ⁴Department of Radiology, University of São Paulo School of Medicine, São Paulo, Brazil

Running title: Neural correlates of clomipramine mood response

Correspondence: Carlos Toledo Cerqueira, Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, s/n, São Paulo, SP 05430-010 Brazil Tel: +55 11 2661-8132; Fax: +55 11 3082-1015

.

E-mail: carlostoledo@usp.br

Functional magnetic resonance imaging studies of antidepressant effects have only explored emotion perception in healthy subjects without mood change. Therefore, the brain networks related to changes in mood and emotional behavior in healthy subjects remain unexplored. Sixteen subjects with no history of psychiatric disorders were selected from an ongoing four-week open trial of low doses of clomipramine. Treatment resulted in clear effects in six subjects in terms of changes in interpersonal tolerance, self-efficiency, mood, and subjective state. They were then included in a placebo-controlled confirmatory trial. Subjects were scanned at the end of the four-week course of clomipramine and again after a four-week clomipramine washout period, after discontinuation of treatment. The scans were run during emotion-eliciting stimuli. Significant interactions were found between group and treatment status during irritability ($P < 0.005$) but not during happiness, responders showing greater frontoparietal cortex activity during irritability than during happiness and neutral emotion, and greater temporo-parieto-occipital cortex activity during irritability than during happiness. We conclude that antidepressants not only induce positive mood responses but also acting upon negative emotions.

Keywords: emotion induction; irritability; antidepressant; mood; pharmaco-MRI, self-perception

INTRODUCTION

The specific neural mechanisms whereby selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) and serotonin-norepinephrine reuptake inhibitors (SNRIs) exert their therapeutic effects are not fully established. Recent functional magnetic resonance imaging (fMRI) studies conducted under controlled conditions assessed brain activation in healthy individuals receiving citalopram,^{1–4} fluvoxamine,⁵ reboxetine^{6–10}, or escitalopram^{2,11–13} administered in single or multiple doses for one to three weeks. Using a variety of emotion-eliciting experimental paradigms, these studies provided evidence that SSRIs and SNRIs attenuate the changes in cortical and subcortical limbic activity that are typically elicited during the presentation of emotionally salient stimuli.¹⁴

It has been postulated that the efficacy of antidepressants is related to the reversal of automatic responses to emotional information, and of mood-dependent negative emotional biases.^{15–18} Conversely, other studies reported favorable effects of low doses of antidepressants in a subset of healthy individuals.^{19,20} However, the aforementioned fMRI studies failed to identify features that characterize subgroups of healthy individuals who undergo clear mood, self-perception and performance changes in response to antidepressants. To date, fMRI studies of this nature have been restricted to patients with unipolar depression, and those who respond positively to antidepressant treatment have changes in a wide range of brain regions believed to be critical to emotional processing, including the following: amygdala, ventral striatum, orbitofrontal and visual cortical areas implicated in the evaluation of emotionally-salient stimuli and generation of emotional states; the ventral anterior cingulate cortex and insula, involved in the central mapping of autonomic and visceral reactions associated with emotions; and the hippocampus, dorsal anterior cingulate, parietal and dorsolateral prefrontal cortices, implicated in attention, memory and regulation of emotion-triggered behaviors.^{15,21–29} However, recent fMRI studies argue that such neural correlates of changes may be confounded by disease and treatment-related variables, as well as brain activity changes due to the remission of insomnia and other features of depression.^{15–18,24}

In this study, we aimed to determine whether a group of healthy subjects, with no personal or family history of psychiatric disorders, who show a positive mood change in response to low doses of clomipramine exhibit activity changes in the above-cited brain regions relevant to emotional processing.

METHODS

Subjects

Sixteen healthy individuals (21–50 years of age), right-handed according to the Edinburgh Handedness Inventory,³⁰ were selected from among participants in a controlled trial of clomipramine in healthy subjects.¹⁹ These individuals had no personal or first-degree family history of psychiatric disorders such as psychosis, recurrent mood disorders or drug addiction, as assessed by the Family History Screen³¹ and no history of neurological or general medical conditions, as assessed by an unstructured clinical interview, physical examination and electrocardiography, as well as blood and urine tests. They were not currently using any drug with psychotropic effects. Pregnant or lactating females in the last 6 months were excluded. This study was approved by the local ethics committees, and all participants gave written informed consent.

Pharmacological trial

In the first phase of the pharmacological trial, clomipramine was administered in a single-blind fashion, at doses that were gradually increased over a two-week period, according to subject tolerance, up to a maximum of 40 mg/day and maintained thereafter for an additional period of two weeks. Participants were assessed weekly for subjective changes in emotional responses to everyday stimuli. At the end of week 4, subjects were classified as responders or non-responders on the basis of whether or not they met at least three of the following criteria: increased interpersonal tolerance (diminished irritability and tension in social interactions); greater sense of self-efficacy (better decision making, improved ability to prioritize and greater self-confidence); increased feeling of well-being (brighter mood); and perception of a substantial change from their usual subjective state.¹⁹ The mean dose of clomipramine was 37.0 mg/day (s.d. 6.8 mg/day) in the non-responder group and 36.7 mg/day (s.d. 5.2 mg/day) in the responder group. Responders were then included in a double-blind cross-over trial in which they were randomized to receive clomipramine (at the same respective final doses) or placebo (propranolol, 30 mg/day).

To maximize the inclusion of clomipramine responders, we used a fixed scanning order: responders and non-responders underwent fMRI at the end of the four-week single-blind phase of clomipramine (medicated state), and

after four weeks of clomipramine washout. Table 1 shows the demographic characteristics of the groups. There were no significant between-group differences for any of those variables.

Experimental paradigm

Unstructured clinical interviews were carried out within the two weeks preceding the first fMRI scan. In addition, subjects completed the Vividness of Visual Imagery Questionnaire (VVIQ).³² There were no between-group differences in VVIQ scores (Table 1). We used a previously validated method to choose and record emotionally salient autobiographical experiences over the 6 months prior to the fMRI scanning session.^{25,26}

Within 5 days prior to the first fMRI session, subjects were trained in a sham session, lying down inside a mock scanner that replicated the MRI environment and the sounds emitted during image acquisition, in order to adapt to the fMRI procedure.

During the fMRI session, subjects listened to recordings through non-magnetized headsets (Commander-XG®; Resonance Technology, Los Angeles, CA, USA). Three separate runs were performed; each consisting of an initial baseline period of rest (80 s) followed by three emotion-eliciting trials (happiness, neutral emotion and irritability). Each trial consisted of the presentation of one non-personal text (20 s) and one personal script of specific emotional state induction (60 s). In view of the possible confounding effects, the order of the happiness and irritability trials was alternated, both within and between subjects, although the neutral emotion trial was always performed between the other two. Immediately after the presentation of each personal script or baseline rest period, self-report assessment was performed using four-point visual scales of happiness, irritability or anxiety (applied in pseudo-randomized order). The visual scales were presented via a mirror mounted on the head coil of the fMRI scanner. To determine the levels of anxiety across the scanning procedure, we administered the state form of the State-Trait Anxiety Inventory (STAI-S)³³ immediately before and after image acquisition.

Behavioral data analysis

For each emotional scale (happiness, irritability and anxiety) and fMRI run, the irritability scores were subtracted from the neutral emotion and happiness scores. Likewise, the happiness scores were subtracted from the neutral emotion scores. Therefore, the average scores of the three runs were expressed as irritability minus neutral emotion

(I–N contrast), irritability minus happiness (I–H contrast) and happiness minus neutral emotion (H–N contrast). These variables were analyzed using repeated measures ANOVA, the dependent and independent factors being treatment status and medication response, respectively. *Post-hoc t*-tests were performed for statistically significant comparisons. ANOVA was also used to compare pre- and post-fMRI STAI-S scores.

Image acquisition

For each fMRI run, 220 gradient-echo T2*-weighted echo-planar imaging sets were obtained using a GE LX-MR 1.5T scanner (General Electric, Milwaukee, WI, USA). Each set consisted of 15 interleaved non-contiguous 7.0 mm-thick transaxial slices, with 0.7-mm gap, parallel to the intercommisural line. Imaging parameters were as follows: echo time = 40 ms; repetition time = 2 s; matrix 64×64 ; interslice gap = 0.3 mm; field-of-view = 200×200 mm; and flip angle = 90° . Stimulus presentation was synchronized with image acquisition via an optical relay, triggered by the radiofrequency pulse. A purpose-written software was used for synchronizing the presentation of stimuli and visual analog scales, as well as the capture of subject responses and image acquisition.

fMRI data analysis

Image processing involved, firstly, data realignment and spin history correction to minimize motion-related artifacts,³⁴ and spatial Gaussian smoothing (full width at half-maximum = 7.2 mm). The modeling of the blood oxygen level-dependent (BOLD) response curve for the three script types was carried out assuming a linear combination of two Poisson functions with peaks at 4 and 8 s after the onset. The goodness of fit statistic was computed, at each voxel,³⁵ by the residual sum of squares (SSQ) ratio between the constrained (null) model (assuming the respective beta coefficients as zero) and the full model. The SSQ ratio distribution under the null hypothesis was obtained by permutation of the time-series using wavelet-based re-sampling as previously described.³⁶ This permutation method has been shown to provide good type I error control with minimal distributional assumptions.

The SSQ ratio maps were registered into standard space by rigid body transformation of the fMRI data into morphological images obtained for the same subjects, followed by affine transformations onto a template.³⁴ In the individual analyses, the I–N, H–N and I–H contrast maps were obtained by direct comparisons within the same fMRI run, whereas they were averaged for use in the group comparisons.

In order to identify voxel clusters showing significant BOLD response differences between groups, we carried out a two-way ANOVA with groups and the treatment status as the between-subject and within-subject factors, respectively. Statistical significance was assessed non-parametrically by permutations, considering voxel and cluster type I errors of 0.05 and 0.005, respectively.

RESULTS

Behavioral data

Anxiety during scans

There were no significant differences between the pre- and post-fMRI scores on the STAI-S in the responder group ($P = 0.23$) or in the non-responder group ($P = 0.09$).

Affective contrasts

In both groups, clomipramine had a significant effect on the happiness scale in the I–N contrast ($P = 0.036$, Bonferroni correction), but not on the irritability and anxiety scales in the I–H and H–N contrasts.

Interaction effects

A significant effect was found in anxiety scale scores for the interaction of clomipramine treatment and group variables on the I–H ($P = 0.048$, Bonferroni correction), but not on the I–N contrast. In the responder group, there was a trend toward a statistical difference between the medicated and unmedicated states for the I–H contrast on the anxiety scale ($P = 0.053$, paired t -test), with lower anxiety scores during clomipramine than after washout. No interaction was found in the I–N and H–N contrasts for any scale.

fMRI results

Interaction effects

There was a significant interaction between clomipramine use and group effects in the I–N and I–H contrasts (Table 2). In the I–N contrast, there was a large cluster of stronger BOLD signals in responders

(compared with non-responders), encompassing posterior portions of the superior and middle frontal gyri (Brodmann's area [BA] 8, 9); pre- and post-central gyri (BA 2–4, 6); and inferior parietal gyrus (BA 40). Responders also showed stronger BOLD signals in the I–H contrast in a cluster involving the medial frontal gyrus (BA 6); pre- and post-central gyri (BA 2–4); and supramarginal gyrus (BA 40)—as well as in a cluster encompassing the inferior parietal and angular gyri (BA 37, 39–41); superior and middle occipital gyri (BA 19); and middle temporal gyrus (BA 21). There were no significant interaction effects for the H–N contrast.

DISCUSSION

To our knowledge, this is the first pharmacological fMRI study to report clear changes in mood and emotional behavior after four weeks of antidepressant in subjects with no personal or family history of psychiatric disorders. When presented with irritation-eliciting stimuli while under treatment, the clomipramine responders showed a pattern of brain activity that was significantly different from that observed in the non-responders under the same conditions. Among the non-responders, task-related BOLD signals were weaker in the medicated state, whereas, during the induction of irritability, the responders showed greater frontoparietal activity when medicated than when unmedicated.

In previous fMRI studies using emotion-eliciting stimuli to evaluate clinical samples of subjects with mood disorders under antidepressant treatment, treatment success has been shown to be accompanied by increased regional brain activity in frontoparietal and other brain regions.^{15,17,27,37–46} Our results are in agreement with those and similar findings,^{6,14,47} indicating that a stronger prefrontal-parietal BOLD signal during the eliciting of emotion is a neural correlate of the effect of the drug on mood regulation. This effect appears to be independent of the clinical (therapeutic) action, because it also occurs in healthy individuals.^{8–10,12,48,49}

The absence of differences in demographic variables and clomipramine doses between the two groups, whose components were free for personal or family history of psychiatric disorders, indicate that the distinct mood-related and brain activity changes detected in the responder subjects were not due to pharmacokinetic or subclinical factors. Rather, they may conceivably be related to genetic variations in patterns of drug response or 5-HT turnover.⁵⁰ Indeed, previous studies of antidepressant response have highlighted gene variations unrelated to

vulnerability to mood disorders.⁵³ Other variables, such as personality type^{6,52–55} (not assessed in the present study), may be related to the distinctive patterns of brain activity observed here, and deserve further evaluation.

The differences in brain activity between responders and non-responders were localized in left-lateralized clusters primarily involving the frontal and parietal cortices. This suggests that the neural substrate specifically associated with the response to clomipramine in healthy subjects does not extensively involve the multifocal cortical-subcortical circuitry that is typically engaged in non-personal emotional tasks. However, the small sample size may have precluded the detection of less salient, but still potentially relevant differences, in other brain regions involved in emotional processing in humans.

The brain regions in which the BOLD signal differed between responders and non-responders are particularly localized, thought to be highly relevant for self-referential emotional tasks.^{24–29,53} Since these findings were not confounded by disorder-related effects or genetic vulnerability to mood abnormalities, they underscore the relevance of frontoparietal regions to emotional processing and to the psychopharmacological effects of clomipramine. However, the salience of between-group activity differences in the frontoparietal region may have been influenced by the choice of a paradigm of autobiographic recall to elicit emotional responses,^{25,26} and studies corroborating these findings using other emotion-eliciting paradigms are warranted.

It is noteworthy that the brain activity differences between responders and non-responders in the present study were specifically detected for the emotional condition of negative valence (irritability), rather than for the neutral or happiness condition. Previous fMRI studies of healthy individuals reported greater fronto-parietal activity during recollection of self-relevant negative information than during that of self-relevant positive information.^{6,8} The valence-specific findings of this study are consistent with findings that healthy individuals who report beneficial effects from treatment with antidepressants describe themselves as more resilient to negative emotional experiences, rather than as more prone to positive experiences.²⁰

The pattern detected in the within-group comparison of the non-responder group (see Supplementary information, Table S1), with reductions of activity in brain regions considered critical to emotional processing under clomipramine is similar to the patterns reported in previous fMRI studies in healthy individuals exposed to chronic (multiple-dose) antidepressants during emotional stimuli.^{14,56} This similarity may derive from the fact that only

approximately one third of healthy subjects display notable mood and performance changes under treatment with antidepressants.^{19,57} Since those studies did not inform about subjects presenting clear, sustained mood changes induced by the treatment used, their sample may have had effects akin to those of the non-responders in the present study.

Besides the small sample size, other limitations of this study include an imbalance between responders and non-responders in terms of the duration of exposure to clomipramine, with the former group receiving two four-week courses of clomipramine before their first fMRI scanning session, whereas non-responders only received a single four-week course, as they were not included in the second phase of the trial. On the other hand, it is unlikely that a longer duration of treatment would have resulted in a pattern of brain activity response given that both groups underwent the first fMRI session (medicated) in first phase of pharmacological trial. Also, it is possible that the fixed scanning order, with the first fMRI session always run in the medicated state in order to select the responders for the controlled trial, may have resulted in nonspecific practice effects from the first to the second fMRI session (medicated vs. unmedicated state). However, such practice effects were likely minimized by the simulated scanning session one week prior to the first actual session.

In conclusion, carefully selected healthy subjects experiencing a consistent positive change in mood and perceived performance during weeks of a controlled trial of sub-antidepressant doses of clomipramine present a distinct pattern of increased activity in fronto-parietal regions during emotion-eliciting stimuli in comparison with non-responders. These findings underscore the need for a systematic evaluation of subjective mood changes in pharmacological fMRI study of antidepressants in healthy populations in order to reduce inter-subject variability in brain activity patterns. Studies in healthy individuals responding with mood and performance changes to antidepressants may help discriminating between the therapeutic and other pharmacodynamic actions of these drugs.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by a grant from the *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo* (FAPESP, São Paulo Research Foundation; Grant no. 01/00189-9).

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

- 1 Murphy SE, Norbury R, O'Sullivan U, Cowen PJ, Harmer CJ. Effect of a single dose of citalopram on amygdala response to emotional faces. *Br J Psychiatry* 2009; **194**(6) 5-40.
- 2 Simmons AN, Arce E, Lovero KL, Stein MB, Paulus MP. Subchronic SSRI administration reduces insula response during affective anticipation in healthy volunteers. *Int J Neuropsychopharmacol* 2009; **12**(8):1009-1020.
- 3 Windischberger C, Lanzenberger R, Holik A, Spindelegger C, Stein P, Moser U *et al.* Area-specific modulation of neural activation comparing escitalopram and citalopram revealed by pharmaco-fMRI: a randomized cross-over study. *Neuroimage* 2010; **49**(2):1161-1170.
- 4 McCabe C, Mishor Z. Antidepressant medications reduce subcortical--cortical resting-state functional connectivity in healthy volunteers. *Neuroimage* 2011; **57**(4):1317-1323.
- 5 Takahashi H, Yahata N, Koeda M, Takano A, Asai K, Suhara T *et al.* Effects of dopaminergic and serotonergic manipulation on emotional processing: a pharmacological fMRI study. *Neuroimage* 2005; **27**(4):991-1001.
- 6 Miskowiak K, Papadatou-Pastou M, Cowen PJ, Goodwin GM, Norbury R, Harmer CJ. Single dose antidepressant administration modulates the neural processing of self-referent personality trait words. *Neuroimage* 2007; **37**(3):904-911.
- 7 Norbury R, Mackay CE, Cowen PJ, Goodwin GM, Harmer CJ. Short-term antidepressant treatment and facial processing. Functional magnetic resonance imaging study. *Br J Psychiatry* 2007; **190**:531-532.

- 8 Norbury R, Mackay CE, Cowen PJ, Goodwin GM, Harmer CJ. The effects of reboxetine on emotional processing in healthy volunteers: an fMRI study. *Mol Psychiatry* 2008; **13**(11):1011-1020.
- 9 Onur OA, Walter H, Schlaepfer TE, Rehme AK, Schmidt C, Keysers C *et al.* Noradrenergic enhancement of amygdala responses to fear. *Soc Cogn Affect Neurosci* 2009; **4**(2):119-126.
- 10 Brühl AB, Jäncke L, Herwig U. Differential modulation of emotion processing brain regions by noradrenergic and serotonergic antidepressants. *Psychopharmacology (Berl)* 2011; **216**(3):389-399.
- 11 Norbury R, Taylor MJ, Selvaraj S, Murphy SE, Harmer CJ, Cowen PJ. Short-term antidepressant treatment modulates amygdala response to happy faces. *Psychopharmacology (Berl)* 2009; **206**(2):197-204.
- 12 Brühl AB, Kaffenberger T, Herwig U, others. Serotonergic and noradrenergic modulation of emotion processing by single dose antidepressants. *Neuropsychopharmacology* 2010; **35**(2):521-533.
- 13 Matthews SC, Simmons AN, Strigo IA, Arce E, Stein MB, Paulus MP. Escitalopram attenuates posterior cingulate activity during self-evaluation in healthy volunteers. *Psychiatry Res* 2010; **182**(2):81-87.
- 14 Anderson IM, McKie S, Elliott R, Williams SR, Deakin JF. Assessing human 5-HT function in vivo with pharmacMRI. *Neuropharmacology* 2008; **55**(6):1029-1037.
- 15 Fitzgerald PB, Laird AR, Maller J, Daskalakis ZJ. A meta-analytic study of changes in brain activation in depression. *Hum Brain Mapp* 2008; **29**(6):683-95.
- 16 Van Wingen GA, Van Eijndhoven P, Cremers HR, Tendolkar I, Verkes RJ, Buitelaar JK *et al.* Neural state and trait bases of mood-incongruent memory formation and retrieval in first-episode major depression. *J Psychiatr Res* 2010; **44**(8):527-534.
- 17 Davidson RJ, Irwin W, Anderle MJ, Kalin NH. The neural substrates of affective processing in depressed patients treated with venlafaxine. *Am J Psychiatry* 2003; **160**(1):64-75.
- 18 Harmer CJ, Goodwin GM, Cowen PJ. Why do antidepressants take so long to work? A cognitive neuropsychological model of antidepressant drug action. *Br J Psychiatry* 2009; **195**(2):102-108.

- 19 Gentil V, Zilberman ML, Lobo D, Henna E, Moreno RA, Gorenstein C. Clomipramine-induced mood and perceived performance changes in selected healthy individuals. *J Clin Psychopharmacol* 2007; **27**(3):314-315.
- 20 Serretti A, Calati R, Goracci A, Di Simplicio M, Castrogiovanni P, De Ronchi D. Antidepressants in healthy subjects: what are the psychotropic/psychological effects? *Eur Neuropsychopharmacol* 2010; **20**(7):433-453.
- 21 Mayberg HS, Brannan SK, Tekell JL, Silva JA, Mahurin RK, McGinnis S *et al.* Regional metabolic effects of fluoxetine in major depression: serial changes and relationship to clinical response. *Biol Psychiatry* 2000; **48**(8):830-843.
- 22 Fu CHY, Williams SCR, Brammer MJ, Suckling J, Kim J, Cleare AJ *et al.* Neural responses to happy facial expressions in major depression following antidepressant treatment. *Am J Psychiatry* 2007; **164**(4):599-607.
- 23 Drevets WC. Translating progress in depression research to the clinic: one step at a time on a very long road. *World Psychiatry* 2010; **9**(3):162.
- 24 Simplicio D. Short-term antidepressant administration reduces negative self-referential processing in the medial prefrontal cortex in subjects at risk for depression. *Mol Psychiatry* 2011; **17**(5):503-510
- 25 Cerqueira CT, Almeida JRC, Gorenstein C, Gentil V, Leite CC, Sato JR *et al.* Engagement of multifocal neural circuits during recall of autobiographical happy events. *Braz J Med Biol Res* 2008; **41**(12):1076-1085.
- 26 Cerqueira CT, Almeida JR, Sato JR, Gorenstein C, Gentil V, Leite CC *et al.* Cognitive control associated with irritability induction: an autobiographical recall fMRI study. *Rev Bras Psiquiatr* 2010; **32**(2):109-118.
- 27 Price JL, Drevets WC. Neurocircuitry of mood disorders. *Neuropsychopharmacology* 2009; **35**(1):192-216.
- 28 Young KD, Erickson K, Nugent AC, Fromm SJ, Mallinger AG, Furey ML *et al.* Functional anatomy of autobiographical memory recall deficits in depression. *Psychol Med* 2011; **29**:1-13

- 29 Lemogne C, Delaveau P, Freton M, Guionnet S, Fossati P. Medial prefrontal cortex and the self in major depression. *J Affect Disord* 2012; **136**(1-2):e1-e11.
- 30 Oldfield RC. The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia* 1971; **9**(1):97-113.
- 31 Weissman MM, Wickramaratne P, Adams P, Wolk S, Verdeli H, Olfson M. Brief screening for family psychiatric history: the family history screen. *Arch Gen Psychiatry* 2000; **57**(7):675-682.
- 32 Campos A, Gonzalez MA, Amor A. The Spanish version of the Vividness of Visual Imagery Questionnaire: factor structure and internal consistency reliability. *Psychol Rep* 2002; **90**(2):503-506.
- 33 Spielberger CD. State-trait anxiety inventory: Wiley Online Library; 2005.
- 34 Bullmore E, Fadili J, Breakspear M, Salvador R, Suckling J, Brammer M. Wavelets and statistical analysis of functional magnetic resonance images of the human brain. *Stat Methods Med Res* 2003; **12**(5):375-399.
- 35 Friman O, Borga M, Lundberg P, Knutsson H. Adaptive analysis of fMRI data. *Neuroimage* 2003; **19**(3):837-845.
- 36 Bullmore E, Brammer M, Williams SC, Rabe-Hesketh S, Janot N, David A *et al.* Statistical methods of estimation and inference for functional MR image analysis. *Magn Reson Med* 1996; **35**(2):261-277.
- 37 Roy M, Harvey PO, Berlim MT, Mamdani F, Beaulieu MM, Turecki G *et al.* Medial prefrontal cortex activity during memory encoding of pictures and its relation to symptomatic improvement after citalopram treatment in patients with major depression. *J Psychiatry Neurosci* 2010; **35**(3):152-162.
- 38 López-Solà M, Pujol J, Hernández-Ribas R, Harrison BJ, Contreras-Rodríguez O, Soriano-Mas C *et al.* Effects of duloxetine treatment on brain response to painful stimulation in major depressive disorder. *Neuropsychopharmacology* 2010; **35**(11):2305-2317.

- 39 Kennedy SH, Evans KR, Kruger S, Mayberg HS, Meyer JH, McCann S *et al.* Changes in regional brain glucose metabolism measured with positron emission tomography after paroxetine treatment of major depression. *Am J Psychiatry* 2001; **158**(6):899-905.
- 40 Canli T, Cooney RE, Goldin P, Shah M, Sivers H, Thomason ME *et al.* Amygdala reactivity to emotional faces predicts improvement in major depression. *Neuroreport* 2005; **16**(12):1267-1270.
- 41 Anand A, Li Y, Wang Y, Wu J, Gao S, Bukhari L *et al.* Antidepressant effect on connectivity of the mood-regulating circuit: an FMRI study. *Neuropsychopharmacology* 2005; **30**(7):1334-1344.
- 42 Anand A, Li Y, Wang Y, Gardner K, Lowe MJ, others. Reciprocal effects of antidepressant treatment on activity and connectivity of the mood regulating circuit: an FMRI study. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 2007; **19**(3):274-282.
- 43 Moses-Kolko EL, Perlman SB, Wisner KL, James J, Saul AT, Phillips ML. Abnormally reduced dorsomedial prefrontal cortical activity and effective connectivity with amygdala in response to negative emotional faces in postpartum depression. *Am J Psychiatry* 2010; **167**(11):1373-1380.
- 44 Lemogne C, Mayberg H, Bergouignan L, Volle E, Delaveau P, Lehericy S *et al.* Self-referential processing and the prefrontal cortex over the course of depression: a pilot study. *J Affect Disord* 2010; **124**(1-2):196-201.
- 45 Fales CL, Barch DM, Rundle MM, Mintun MA, Mathews J, Snyder AZ *et al.* Antidepressant treatment normalizes hypoactivity in dorsolateral prefrontal cortex during emotional interference processing in major depression. *J Affect Disord* 2009; **112**(1-3):206-211.
- 46 Hsu DT, Langenecker SA, Kennedy SE, Zubieta JK, Heitzeg MM. fMRI BOLD responses to negative stimuli in the prefrontal cortex are dependent on levels of recent negative life stress in major depressive disorder. *Psychiatry Res* 2010; **183**(3):202-208.
- 47 Anderson IM, Del-Ben CM, Mckie S, Richardson P, Williams SR, Elliott R *et al.* Citalopram modulation of neuronal responses to aversive face emotions: a functional MRI study. *Neuroreport* 2007; **18**(13):1351-1355.

- 48 Grefkes C, Wang LE, Eickhoff SB, Fink GR. Noradrenergic modulation of cortical networks engaged in visuomotor processing. *Cereb Cortex* 2010; **20**(4):783-797.
- 49 Völlm B, Richardson P, McKie S, Elliott R, Deakin JF, Anderson IM. Serotonergic modulation of neuronal responses to behavioural inhibition and reinforcing stimuli: an fMRI study in healthy volunteers. *Eur J Neurosci* 2006; **23**(2):552-560.
- 50 Fortier E, Noreau A, Lepore F, Boivin M, Perusse D, Rouleau GA *et al.* Early impact of 5-HTTLPR polymorphism on the neural correlates of sadness. *Neurosci Lett* 2010; **485**(3):261-265.
- 51 Savitz JB, Drevets WC. Imaging phenotypes of major depressive disorder: genetic correlates. *Neuroscience* 2009; **164**(1):300-330.
- 52 Knutson B, Wolkowitz OM, Cole SW, Chan T, Moore EA, Johnson RC *et al.* Selective alteration of personality and social behavior by serotonergic intervention. *Am J Psychiatry* 1998; **155**(3):373-379.
- 53 Lemogne C, Bergouignan L, Boni C, Gorwood P, Pelissolo A, Fossati P. Genetics and personality affect visual perspective in autobiographical memory. *Conscious Cogn* 2009; **18**(3):823-830.
- 54 Tang TZ, DeRubeis RJ, Hollon SD, Amsterdam J, Shelton R, Schalet B. Personality change during depression treatment: a placebo-controlled trial. *Arch Gen Psychiatry* 2009; **66**(12):1322-1330.
- 55 Pezawas L, Meyer-Lindenberg A, Drabant EM, Verchinski BA, Munoz KE, Kolachana BS *et al.* 5-HTTLPR polymorphism impacts human cingulate-amygdala interactions: a genetic susceptibility mechanism for depression. *Nat Neurosci* 2005; **8**(6):828-834.
- 56 de Almeida JR, Phillips ML, Cerqueira CT, Zilberman M, Lobo D, Henna E, Tavares H, Amaro E, Gorenstein C, Gentil V, Busatto GF. Neural activity changes to emotional stimuli in healthy individuals under chronic use of clomipramine. *J Psychopharmacol* 2009; **24**(8):1165-1174.
- 57 Dumont G, De Visser SJ, Cohen AF, Van Gerven J. Biomarkers for the effects of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol.* 2005; **59**(5):495-510.

Supplementary information is available at *Molecular Psychiatry's* website

Table 1. Between-group variables

<i>Variable</i>	<i>Groups</i>		
	<i>Responders</i>	<i>Non-responders</i>	<i>Statistic¹ (P value)</i>
Gender, n			
Male	0	3	2.22 (0.14)
Female	6	7	
Age (years), mean (s.d)	30.7 (14.8)	34.7 (6.5)	0.70 (0.49)
Years of education, mean (s.d)	11.3 (0.8)	11.6 (1.2)	−0.53 (0.60)
VVIQ, ² mean (s.d)	34.3 (11.8)	34.2 (10.3)	0.02 (0.98)
Clomipramine dose (mg/day), mean (s.d)	36.67 (5.16)	37 (6.75)	−0.11 (0.91)

¹Chi-square for categorical variables; *t*-test for continuous variables. ²Vividness of Visual Imagery Questionnaire.

Table 2. Self-report visual analog scale scores for the emotional states induced during the medicated and post-washout phases

Group	Induced states											
	During treatment						After washout					
	Scale	Happiness		Neutral		Irritability		Happiness		Neutral		Irritability
Responders (n = 6)	Mean	s.d.	Mean	s.d.	Mean	s.d.	Mean	s.d.	Mean	s.d.	Mean	s.d.
Happiness	3.83	(0.0)	2.28	(0.7)	1.00	(0.0)	3.56	(0.3)	2.00	(0.6)	1.22	(0.3)
Anxiety	1.00	(0.0)	1.00	(0.0)	1.72	(0.8)	1.00	(0.0)	1.00	(0.0)	1.72	(0.7)
Irritability	1.06	(0.2)	1.22	(0.3)	3.50	(0.4)	1.17	(0.7)	1.33	(0.7)	3.61	(0.5)
Non-responders (n = 10)												
Happiness	3.93	(0.2)	2.63	(0.6)	1.33	(0.4)	3.93	(0.4)	2.47	(0.7)	1.40	(0.4)

Anxiety	1.13	(0.2)	1.00	(0.0)	1.43	(0.4)	1.13	(0.2)	1.00	(0.0)	1.50	(0.7)
Irritability	1.00	(0.0)	1.10	(0.4)	3.03	(0.6)	1.00	(0.0)	1.13	(0.6)	3.17	(0.4)

Table 3. Local maxima and extent of clusters with blood oxygen level-dependent signal change in the interaction between group effect (responder vs. non-responder) and treatment status (during clomipramine treatment vs. after clomipramine washout) in emotional contrasts ($n = 16$)—irritability minus neutral emotion; irritability minus happiness; and happiness minus neutral emotion

Emotional Contrast	Brodmann's area	K (voxels)	Talairach Coordinates			<i>P</i>
Relationship						
Brain Region			(x)	(y)	(z)	
Irritability – Neutral						
Responder > Non Responder						
Superior and middle frontal gyri,	6,8,9	79	–43	–18	37	0.002
pre-central and post-central gyri,	2,3,4					
inferior parietal gyrus	40					

Responder < Non Responder

None

Irritability – Happiness

Responder > Non Responder

Superior and middle occipital gyri,	19	88	-26	-67	9	0.003
inferior parietal and angular gyri,	37,39,40,41					
middle temporal gyrus	21					
Middle frontal gyrus,	6	106	-36	-18	42	<0.001
supramarginal gyrus,	40					
pre-central and post-central gyri	2,3,4					

Responder < Non Responder

None

Happiness – Neutral

None

Figure 1. The areas highlighted in yellow and red represent blood oxygen level-dependent signal variance related to interaction between medication use and group effects (radiological convention) for the irritability minus happiness contrast, in the left cerebral hemisphere regions of the temporo-parieto-occipital cortex (coronal view, on the left) and frontoparietal cortex (axial view, on the right), together with their respective Talairach-Tournoux Atlas coordinate.