Simone Villas Boas de Carvalho

**Alterações volumétricas cerebrais em indivíduos com dependência de
álcool: um estudo utilizando ressonância magnética morfométrica com
parcelamento semiautomático de sub-regiões frontais**

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

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

**São Paulo
2012**

Simone Villas Boas de Carvalho

Alterações volumétricas cerebrais em indivíduos com dependência de álcool: um estudo utilizando ressonância magnética morfométrica com parcelamento semiautomático de sub-regiões frontais

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

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

São Paulo
2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Carvalho, Simone Villas Boas de

Alterações volumétricas cerebrais em indivíduos com dependência de álcool :
um estudo utilizando ressonância magnética morfométrica com parcelamento
semiautomático de sub-regiões frontais / Simone Villas Boas de Carvalho. -- São
Paulo, 2012.

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

Orientador: Geraldo Busatto Filho.

Descritores: 1.Alcoolismo 2.Imagem por ressonância magnética 3.Atrofia
4.Cérebro 5.Córtex pré-frontal 6.Líquido cefalorraquidiano 7.Estudos transversais

USP/FM/DBD-010/12

Ficha catalográfica – documento anexo

*A Felipe e Alexandre, com todo o meu amor.
Obrigada pela paciência e compreensão.*

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq por financiar este projeto.

Ao Professor Monte Buchsbaum e a toda sua equipe do *PET Lab* do *Mount Sinai School of Medicine* por abrirem as portas e me “alfabetizarem” nesse novo campo de pesquisa.

Gera, meu querido orientador, como lhe agradecer? As palavras são insuficientes para expressar minha gratidão pelo seu tempo, paciência e tranquilidade, nas horas mais desesperadoras! Seria impossível concluir este projeto sem você.

Ao Fábio, à Luciana e à Paulinha que sempre estiveram de braços abertos para mim e nunca pouparam esforços para me ajudar. Espero poder retribuir, algum dia, tamanha disponibilidade.

Mãe, a “culpa” é toda sua por me inspirar a seguir esse caminho acadêmico. Deu no que deu!

Pai, meu caminho seria muito mais árduo se não tivesse suas palavras sempre sábias e otimistas para me fazer seguir em frente. Lembro de quando me dizia: “Moninha, pare de olhar para baixo, olhe sempre em frente!”

Loira, prometo que agora nos divertiremos mais!

Felipe, no meio desse desafio nasceu você! Entre cada mamada, um parágrafo; entre cada brincadeira, um texto. A cada dia, você me ensina que somos muito mais capazes do que supúnhamos.

Xande, nossa parceria não poderia ser melhor! Considero-me por demais privilegiada, afinal, estamos construindo uma vida que eu não ousava sonhar! Além disso, você me deu o maior presente: nosso Felipe. Obrigada.

A todos, muito obrigada por serem parte tão importante da minha história.

Esta dissertação esta de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

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

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

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

SUMÁRIO

Lista de figuras

Lista de tabelas

Resumo

Abstract

1 INTRODUÇÃO.....	15
1.1 Alcoolismo: dados epidemiológicos.....	15
1.2 Alcoolismo e saúde.....	16
1.3 Critérios diagnósticos contemporâneos para dependência de álcool.....	17
1.4 Neurobiologia da dependência de álcool: aspectos gerais.....	19
1.5 Neuropatologia e neuroimagem na dependência de álcool: achados gerais.....	23
1.6 O córtex pré-frontal: susceptibilidade aumentada para os efeitos danosos do álcool?.....	25
2. OBJETIVOS E HIPÓTESES.....	29
2.1 Objetivos.....	29
2.2 Hipóteses.....	30
3 METODOLOGIA.....	31
3.1 Aspectos éticos.....	31
3.2 Desenho do estudo.....	32
3.3 Amostra.....	32
3.3.1 Dependentes de álcool.....	32
3.3.2 Avaliação Clínica.....	33
3.3.2.1 Critérios de inclusão e exclusão para dependentes de álcool.....	35
3.3.3 Grupo controle.....	36
3.3.3.1 Critérios de exclusão para grupo controle.....	36
3.4 Aquisição de imagens de RM estrutural.....	37
3.5 Análise quantitativa das imagens.....	37
3.6 Análise estatística dos dados.....	43
3.6.1 Dados clínicos e sociodemográficos.....	43

3.6.2 Comparação das medidas de volumes cerebrais entre grupos.....	44
3.6.2.1 Volume absoluto total cerebral.....	45
3.6.2.2 Volume relativo cerebral.....	45
3.6.2.3 Volume relativo do giro do cíngulo, ventrículos e áreas de <i>Brodmann</i> (8, 9, 10, 11, 12, 44, 45, 46, 47).....	45
3.6.2.4 Volume relativo dos lobos frontal, parietal, occipital e temporal.....	46
3.6.2.5. Volume relativo das áreas anterior, orbital e dorsolateral do córtex pré-frontal.....	46
3.6.3 Investigação das relações entre volumes cerebrais e variáveis clínicas no grupo de alcoolistas.....	47
4 RESULTADOS.....	48
4.1 Dados clínicos e demográficos da amostra.....	48
4.2 Comparação das medidas de volumes cerebrais entre grupos.....	53
4.2.1 Volume total cerebral.....	53
4.2.2 Ventrículos.....	54
4.2.3 Giro do cíngulo, lobos frontal, temporal, parietal e occipital.....	55
4.3 Córtex pré-frontal (áreas anterior, orbital e dorsolateral)...	57
4.4 Áreas de <i>Brodmann</i> do córtex pré-frontal.....	58
4.5 Investigação das correlações entre volumes cerebrais e variáveis clínicas no grupo de alcoolistas.....	62
5 DISCUSSÃO.....	63
5.1 Considerações metodológicas.....	63
5.1.1 Características da amostra estudada e instrumentos de avaliação utilizados.....	63
5.1.2 Metodologia para aquisição e processamento dos dados de neuroimagem.....	66
5.2 Interpretação dos achados de alterações do volume cerebral total.....	68

5.3 Ventriculos.....	70
5.4 Interpretação dos achados de alterações volumétricas encontradas no lobo frontal e suas respectivas áreas de Brodmann.....	70
5.5 Interpretação dos achados de alterações volumétricas encontradas em outras regiões cerebrais.....	73
5.6 Interpretação dos achados de correlações entre variáveis clínicas e alterações volumétricas cerebrais.....	74
5.7 Limitações.....	75
5.8 Conclusão e perspectivas futuras.....	76
6 REFERÊNCIAS.....	78
7 APÊNDICES	

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Prevalência de abuso e dependência de álcool em indivíduos entre 15 e 64 anos de idade (AUDs).....	16
Figura 2 - Modelo esquemático simplificado sobre as principais regiões que compõem o sistema de recompensa cerebral.....	21
Figura 3 – Sistema de recompensa.....	22
Figura 4 - <i>Atlas de Perry</i>	40
Figura 5 - Posicionamento do <i>Atlas de Perry</i> no cérebro inteiro...	41
Figura 6 - Segmentação das AB.....	41
Figura 7 - Cortes axiais do cérebro demarcados com o Programa MIPS.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características demográficas dos sujeitos que preencheram critérios diagnósticos para dependência de álcool (n=98).....	49
Tabela 2 - Média e desvio padrão das idades dos sujeitos da amostra DA, em relação ao início da dependência de álcool.....	50
Tabela 3 - Histórico de tratamentos ambulatoriais e Internações relativas à dependência de álcool e/ou outros transtornos psiquiátricos dos sujeitos que preencheram critérios diagnósticos para dependência de álcool (n=98).....	51
Tabela 4 - Média e desvio padrão da pontuação nas escalas da amostra de grupo de dependentes de álcool (n=98).....	52
Tabela 5 - Características demográficas dos sujeitos do grupo controle (n=73).....	52
Tabela 6 - Média e desvio padrão do volume absoluto total cerebral segmentado em líquido, substância cinzenta e substância branca.....	54
Tabela 7 - Média e desvio padrão do volume relativo dos cornos lateral, anterior e temporal dos ventrículos cerebrais.....	55
Tabela 8 – Média e desvio padrão do volume relativo cerebral dos lobos frontal, parietal, occipital, temporal e giro do cíngulo, segmentado em líquido, substância cinzenta e substância branca e seus respectivos valores de p, hemisfério esquerdo.....	56
Tabela 9 – Média e desvio padrão do volume relativo cerebral dos lobos frontal, parietal, occipital, temporal e giro do cíngulo, segmentado em líquido, substância cinzenta e substância branca e seus respectivos valores de p, hemisfério direito.....	57
Tabela 10 - Média e desvio padrão do volume relativo cerebral das áreas anterior, orbital e dorsolateral do córtex pré-frontal, segmentado em líquido, substância cinzenta e substância branca e por hemisfério cerebral.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 11 - Volumes médios relativos e desvio padrão dos diferentes tecidos nas AB para grupo controle e grupo DA, hemisfério esquerdo.....	60
Tabela 12 - Volumes médios relativos e desvio padrão dos diferentes tecidos nas AB para grupo controle e grupo DA, hemisfério direito.....	61
Tabela 13 - Tabela 13: Relação entre as escalas Beck e AUQ e as áreas de Brodmann em que os efeitos foram significativos.....	62

RESUMO

Carvalho SVB de. *Alterações volumétricas cerebrais em indivíduos com dependência de álcool: um estudo utilizando ressonância magnética morfométrica com parcelamento semiautomático de sub-regiões frontais* [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2012.

INTRODUÇÃO: A ressonância magnética (RM) é, atualmente, uma das técnicas mais utilizadas para avaliação quantitativa do volume das estruturas cerebrais. Estudos com pessoas que preenchem critérios diagnósticos para dependência de álcool, utilizando esta técnica, demonstram atrofia cerebral nestes sujeitos, sendo que a região mais sensível e afetada pelos efeitos do álcool parece ser o córtex pré-frontal. A literatura revisada sugere que as subporções do córtex pré-frontal que podem ser mais suscetíveis aos efeitos do uso crônico do álcool são as regiões filogeneticamente mais recentes, como as áreas anterior e dorsolateral, enquanto que a área orbital, mais antiga, pode estar mais preservada. No entanto, nenhum estudo de RM morfométrica até hoje investigou possíveis diferenças no grau de comprometimento morfológico entre áreas de *Brodmann* (AB) distintas na região pré-frontal, em indivíduos que preenchem diagnóstico para dependência de álcool em comparação com voluntários saudáveis. **OBJETIVO:** O presente trabalho teve como objetivo realizar um estudo detalhado do impacto do álcool, especialmente sobre o córtex pré-frontal, parcelando-o em áreas de *Brodmann*, o que pode auxiliar para uma maior compreensão dos danos cerebrais subjacentes aos déficits cognitivos presentes em alcoolistas e ajudar no planejamento de estratégias terapêuticas e de reabilitação cognitiva. **METODOLOGIA:** A amostra foi composta por dois grupos: o grupo dependentes de álcool (DA), com 98 sujeitos que preenchiam critérios diagnósticos para dependência de álcool, e o grupo controle, com 73 sujeitos saudáveis pareados por idade, sexo e dominância cerebral. **RESULTADOS:** Foram encontradas diferenças estatisticamente significantes na volumetria cerebral, especialmente, no córtex frontal (substância cinzenta e líquido $p < 0,05$) e parietal (substância cinzenta e líquido $p < 0,05$). Quando dividido em AB, as áreas mais afetadas foram a AB 8 (SC $p < 0,001$; L $p < 0,006$), AB 9 (SC e L $p < 0,002$) e AB 44 (L $p = 0,036$, SB $p < 0,005$). **CONCLUSÃO:** Foi possível confirmar a hipótese inicial de que as áreas filogeneticamente jovens são mais sensíveis e vulneráveis à neurotoxicidade do álcool, o qual, por sua vez, acelera o processo natural do envelhecimento, implicando perdas de substância cinzenta, principalmente nas áreas cognitivamente mais sofisticadas, como a anterior e a dorsolateral do córtex pré-frontal.

Descritores: 1.Alcoolismo 2.Imagem por ressonância magnética 3.Atrofia 4.Cérebro 5.Córtex pré-frontal 6.Líquido cefalorraquidiano 7.Estudos transversais

ABSTRACT

Carvalho SVB de. *Volumetric brain changes in subjects with alcohol dependence: a study using magnetic resonance imaging with semiautomatic parcellation of prefrontal areas* [Dissertation]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2011.

INTRODUCTION: Magnetic resonance imaging (MRI) is currently one of the most widely used techniques for quantitative evaluation brain volume. MRI studies with people who meet diagnostic criteria for alcohol dependence show brain atrophy, especially on the prefrontal cortex, which seems to be the most sensitive and affected area by the neurotoxic effects of alcohol. The reviewed literature suggests that the sub-portions of the prefrontal cortex that may be more susceptible to the effects of chronic alcohol use are the phylogenetically newer regions such as the anterior and dorsolateral areas, while the orbital area, older than the others, may be preserved. However, no morphometric MRI study has investigated possible differences in the degree of morphological changes at *Brodmann* areas (BA) in prefrontal regions of people who meet the diagnosis for alcohol dependence compared with healthy volunteers. **OBJECTIVE:** The aim of this study was deep investigate alcohol's impact, especially in the prefrontal cortex, dividing it in BA, which can contribute to a better understanding of the brain damage, underlying cognitive deficits present in alcoholics, and to help to establish treatment strategies and cognitive rehabilitation. **METHODS:** The sample comprised two groups: a group of alcohol dependent (AD) with 98 subjects, who met diagnostic criteria for alcohol dependence, and the control group consisted of 73 healthy subjects matched for age, sex and cerebral dominance. **RESULTS:** Statistically significant differences were found in the brain volume, mainly in the frontal cortex (gray matter and CSF $p < 0.05$) and parietal cortex (gray matter, white matter and CSF $p < 0.05$). When divided in *Brodmann* areas, the most affected one was: BA 8 (gray matter $p < 0.001$; CSF $p < 0.006$), BA 9 (gray matter and CSF $p < 0.002$) and BA 44 (CSF $p = 0.036$, white matter $p < 0.005$). **CONCLUSION:** It was possible to confirm the initial hypothesis that the phylogenetically younger areas are more sensitive and vulnerable to alcohol neurotoxicity, which accelerates the natural process of aging, implying loss of gray matter, especially in areas more cognitively sophisticated such as the anterior and the dorsolateral prefrontal areas.

Descriptors: 1.Alcoholism 2.Resonance Magnetic Imaging 3.Atrophy 4.Brain 5.Prefrontal Cortex 6.Cerebrospinal Fluid 7.Cross-sectional fluid

1 INTRODUÇÃO

1.1 Alcoolismo: dados epidemiológicos

O alcoolismo é um problema de saúde pública, com alto custo para a sociedade. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que 76,3 milhões de pessoas no mundo sofram devido ao abuso ou dependência de álcool⁽¹⁾. Calcula-se que, no Brasil, o custo social do alcoolismo seja de aproximadamente R\$ 8 bilhões (cálculo feito a partir dos anos de vida perdidos, por mortalidade e incapacidade, divididos pelo valor do rendimento médio mensal de todos os trabalhos assalariados⁽²⁾).

A prevalência mundial de dependência de álcool é de 3,6%, sendo maior entre homens (6,3%) do que entre mulheres (0,9%)⁽³⁾. O Leste Europeu é a região com maior prevalência de abuso ou dependência de álcool: 19,2% dos homens (10,9% da população em geral) apresentam transtornos relacionados ao uso de álcool (AUD), seja abuso ou dependência. Na sequência, a Europa e as Américas ocupam o segundo e terceiro lugar, com prevalência de 5,5% e 5,2% respectivamente⁽³⁾ (Figura 1).

Figura 1 - Prevalência de abuso e dependência de álcool em indivíduos entre 15 e 64 anos de idade (AUDs). AFR: Continente Africano; AMR: Continente Americano; EMR: Região Mediterrânea do Leste; EUR: Europa; EurC: Leste Europeu; SEAR: Sudeste Asiático; WPR: Região Oeste do Pacífico; World: Mundo.

No Brasil, em 1999, estudos epidemiológicos sobre o uso de álcool estimaram que 6,6% da população eram dependentes desta substância⁽⁴⁾. Pesquisas mais abrangentes verificaram que a prevalência de dependência de álcool varia de 3,6% a 12,3%^(5 6). Um dado ainda mais alarmante apontado neste estudo mostrou que 7% dos adolescentes (12 a 17 anos) preenchiam critérios diagnósticos para esta adição (CEBRID)⁽⁶⁾. Segundo a OMS⁽⁷⁾, de 153 países, o Brasil está no 63º lugar em relação ao uso *per capita* de álcool entre jovens de 15 anos.

1.2 Alcoolismo e saúde

O álcool lidera o ranking de riscos de morte de homens entre 15 e 59 anos. Inúmeras pesquisas mostram que consumidores de álcool estão mais propensos a comportamentos de alto risco, como sexo sem proteção^(8, 9), acidentes (50,6% das vítimas de acidentes de carro estavam alcoolizadas)⁽¹⁰⁾, absenteísmo no trabalho e brigas físicas (53,6% das vítimas e 58,9% dos autores dos crimes estavam alcoolizados)^(4, 11, 12).

Além disso, a saúde física do alcoolista sofre grande impacto⁽¹³⁾. Sabe-se que doenças hepáticas, como hepatite e cirrose alcoólica, ocorrem entre 15% e 30% dos alcoolistas⁽¹⁴⁾; 40% a 50% dos casos de cirrose são consequência do abuso de álcool⁽¹⁵⁾, sendo que a cirrose está entre as sete maiores causas de morte no mundo ocidental⁽¹⁶⁾. Estudos indicam que quanto mais baixa é a condição socioeconômica de um indivíduo ou país, maior é o risco de doenças relacionadas ao consumo nocivo do álcool (por litro de álcool puro consumido). No Brasil, grupos com baixa escolaridade têm 2,1 vezes mais risco de morrer em decorrência do consumo de álcool do que grupos com maior escolaridade⁽¹⁷⁾.

Sabe-se, também, que o alcoolismo e uso de outras drogas são responsáveis por 20% das hospitalizações psiquiátricas, sendo que o álcool representa 90% dessas internações^(1, 4).

É bastante difundido e de conhecimento geral que a má nutrição do dependente de álcool é responsável por grande parte das doenças neurológicas, tais como déficits de aprendizagem, alterações das estruturas dendríticas e perda de neurônios⁽¹⁸⁾. Além disso, indivíduos jovens que preenchem critérios diagnósticos para abuso ou dependência de álcool apresentam déficits cognitivos, como, por exemplo, dificuldade para a solução de problemas, abstração, julgamento e memória de trabalho⁽¹⁹⁻²⁴⁾.

1.3 Critérios diagnósticos contemporâneos para dependência de álcool

O álcool pertence ao grupo de drogas chamadas depressoras do sistema nervoso central, cujos principais efeitos são sonolência, diminuição da ansiedade, sensação de relaxamento, diminuição da velocidade do pensamento, assim como ataxia, fala pastosa e prejuízos de julgamento, memória e concentração⁽²⁵⁾.

A Classificação Internacional de Doenças Mentais (CID – 10^a. Edição)⁽²⁶⁾ define a síndrome de dependência de álcool como um conjunto de fenômenos comportamentais, cognitivos e fisiológicos que se desenvolvem após repetido

consumo da substância, tipicamente associado ao poderoso desejo de beber, à dificuldade de controlar o consumo, à sua utilização persistente apesar das consequências nefastas, a uma maior prioridade dada ao uso da substância em detrimento de outras atividades e obrigações, à tolerância e, por vezes, a um estado de abstinência física.

De modo semelhante, o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-IV – 5ª. Edição)⁽²⁷⁾ define a dependência de álcool como um padrão de consumo que leva a prejuízos significativos, manifestado por dois ou mais dos seguintes sintomas, nos últimos 12 meses:

1. Fracasso em cumprir com suas obrigações no trabalho, escola ou em casa.
2. Uso recorrente em situações perigosas, como dirigir ou operar máquinas e equipamentos estando embriagado.
3. O uso da substância continua apesar de problemas sociais e interpessoais persistentes ou recorrentes causados ou exacerbados por ela (por exemplo, brigas físicas ou discussão com a(o) companheira(o) devido ao padrão de consumo e intoxicação).
4. Tolerância, definida por qualquer um dos aspectos abaixo:
 - a. necessidade de quantidades progressivamente maiores da substância para atingir o efeito desejado;
 - b. diminuição do efeito devido ao uso continuado da mesma quantidade de substância.
5. Abstinência, manifestada por qualquer um dos seguintes aspectos:
 - a. desenvolvimento de síndrome específica devido à redução ou cessação do uso pesado e prolongado da substância;
 - b. a substância é consumida para aliviar ou evitar sintomas de abstinência.

6. A substância é frequentemente consumida em maiores quantidades ou por um período mais longo do que o pretendido.
7. Existe um desejo persistente ou esforços malsucedidos no sentido de reduzir ou controlar o uso da substância.
8. Muito tempo é gasto em atividades necessárias para a obtenção da substância, na sua utilização ou na recuperação de seus efeitos.
9. Importantes atividades sociais, ocupacionais ou recreativas são abandonadas em virtude do uso da substância.
10. O consumo da substância continua mesmo com a consciência de ter problemas físicos e psicológicos persistentes ou recorrentes causados ou potencializados por seu uso.
11. “Fissura” ou forte desejo, ou ainda, necessidade de beber.

1.4 Neurobiologia da dependência de álcool: aspectos gerais

A dependência química de modo geral e, mais especificamente, a alcoólica, deve-se a inúmeros fatores tais como características da droga (disponibilidade, custo, potência, tempo de ação), influências genéticas (metabolização da droga, hereditariedade, comorbidades psiquiátricas, propensão para comportamento de busca de risco) e influências ambientais (contexto social, disponibilidade de outras fontes de prazer, exposição à droga)⁽²⁵⁾. Além disso, para que uma droga tenha poder de causar dependência, parece de fundamental importância que seu efeito prazeroso aconteça relativamente rápido em relação ao início de sua administração.

É de consenso geral que a dependência química se dá por meio de um processo neuroadaptativo. Ela se inicia como um ato impulsivo isolado, que se torna compulsivo e eventualmente crônico e de difícil interrupção. Observa-se assim, que o uso crônico de substâncias químicas, somado a fatores genéticos e ambientais, causa reprogramação dos circuitos neuronais envolvidos na

recompensa e motivação, na memória e condicionamento, no controle inibitório, na autoconsciência e reação ao estresse⁽²⁸⁾.

Dois componentes cerebrais parecem estar fundamentalmente envolvidos na dependência química. O primeiro está ligado ao lobo frontal, responsável pelas tomadas de decisão e outras funções executivas, como motivação, planejamento e inibição dos impulsos⁽²⁹⁾. O segundo componente relaciona-se com o sistema límbico, responsável por funções ligadas às emoções, necessidades e urgências⁽²⁹⁾. Estas duas regiões ficam comprometidas devido ao uso de substâncias psicoativas; o lobo frontal não consegue exercer sua função de controle adequadamente e o sistema límbico, por sua vez, apresenta um senso de necessidade e urgência desregulado.

Nota-se que atividades nos sistemas mesolímbico dopaminérgico, opioide endógeno e endocanabioide são cruciais para os processos de reforço e recompensa do consumo de álcool⁽³⁰⁾.

O sistema mesolímbico dopaminérgico também conhecido como sistema de recompensa cerebral, em uma hipótese evolutiva, tem a função de direcionar o indivíduo para ações em busca da preservação da espécie, em troca do prazer decorrido da realização do ato, como alimentar-se e reproduzir-se⁽²⁸⁾. As substâncias psicoativas parecem atuar sobre este sistema, com o intuito de produzir a sensação de bem-estar e prazer. No caso dos dependentes químicos, a droga acaba por se tornar a única fonte de prazer, uma vez que as demais – alimentação e exercício, por exemplo - não são reforçadores tão eficientes.

O sistema de recompensa inicia-se nos neurônios dopaminérgicos, localizados na área tegmental ventral do mesencéfalo, que se projetam rostralmente para diversas estruturas límbicas, incluindo o núcleo acumbens (posicionado na porção mais ventral do corpo estriado) (Figura 2).

Figura 2 - Modelo esquemático simplificado sobre as principais regiões que compõem o sistema de recompensa cerebral. AMIG: amígdala; NA: núcleo acumbens; COF: córtex órbito-frontal; PV: pálido ventral; ATV/SN: área tegmental ventral /substância nigra. Adaptado de Robinson e Berridge⁽³¹⁾.

O álcool tem seus efeitos exercidos sobre a neurotransmissão do ácido gama-aminobutírico (GABA) e do glutamato presentes no núcleo acumbens e na amígdala. Ele ativa os receptores GABA_a e, conseqüentemente, a liberação destes na área tegmental ventral, núcleo acumbens e amígdala. Assim, o álcool parece facilitar a liberação da dopamina no núcleo acumbens, que está situado estrategicamente para receber, da amígdala, do córtex frontal e do hipocampo, informações límbicas importantes que podem ser convertidas em ações motivacionais, por meio de conexões com o sistema motor extrapiramidal (Figura 3)⁽²⁸⁾. Com isso, exerce papel fundamental no reforço dos efeitos agudos do álcool e outras drogas, recebendo apoio do núcleo central da amígdala e do pálido ventral.

Figura 3 – Sistema de recompensa. O etanol estimula a liberação de dopamina, preferencialmente no núcleo accumbens. Apesar de diversos neurotransmissores estarem envolvidos, a desinibição dos neurônios GABAérgicos parece ser um importante mecanismo. Fonte: Spanagel e cols ⁽³²⁾.

Há evidências de que o sistema endocanabioide presente na área tegmental ventral exerça importante papel na regulação das propriedades reforçadoras das substâncias psicoativas. Os receptores endocanabioidesagem como mensageiros cerebrais retrógrados. Eles são liberados na fenda sináptica e se difundem para estimular receptores específicos nos terminais pré-sinápticos neuronais^(33, 34). Sua ação modulatória na transmissão sináptica tem interação com as drogas de abuso, uma vez que os processos reforçadores do álcool são dependentes da atividade do receptor canabioide CB1, cuja estimulação produz efeitos euforizantes⁽³²⁾.

Por último, os receptores opioides antagonistas também estão envolvidos na produção de efeitos eufóricos no sujeito, especialmente a naltrexona que diminui as respostas subjetivas e psicomotoras em dependentes e abusadores de álcool. Suspeita-se que os opioides endógenos façam parte do substrato neuroquímico do processo de reforço.

1.5 Neuropatologia e neuroimagem na dependência de álcool: achados gerais

Anteriormente ao advento das técnicas de neuroimagem, os estudos que buscavam compreender as alterações neuropatológicas causadas pelo álcool utilizavam a investigação em tecido morto, por meio da necropsia. Pesquisas sobre o peso do cérebro verificaram que este órgão nos alcoolistas, com ou sem encefalopatia de *Wernicke* (causada por deficiência de vitamina B1⁽³⁵⁾), pesava, em média, 71 gr, ou seja, 5% menos do que o cérebro de não-alcoolistas⁽³⁵⁾, sendo que o espaço pericerebral (que é inversamente proporcional ao volume) era 4,9% maior entre alcoolistas⁽³⁶⁾.

Outro estudo, realizado com homens de 40 a 69 anos, mostrou uma diferença de 31 gr entre o peso do cérebro de controles saudáveis e o órgão dos dependentes de álcool⁽³⁷⁾, representando uma redução volumétrica de 2,2%, em média.

Acredita-se que essa perda volumétrica deve-se mais a neurotoxicidade do álcool do que a problemas nutricionais associados a danos cerebrais⁽³⁵⁾. Assim, os efeitos tóxicos desta substância levam à degeneração de axônios e à diminuição de neurônios⁽³⁸⁾, sendo que esta redução ocorre principalmente no córtex frontal, com o giro frontal superior sofrendo mais danos do que o córtex motor^(36, 38, 39).

Tais déficits cognitivos associados ao uso abusivo de álcool podem estar ligados à neurodegeneração causada pelo consumo excessivo, uma vez que a substância inibe a gênese dos neurônios e da glia, que parece ser mais sensível aos seus efeitos do que o próprio neurônio⁽⁴⁰⁾. Pesquisas recentes⁽⁴¹⁾ mostram que o hipocampo sofre uma redução de 37% nas células gliais, induzindo a uma diminuição nos astrócitos e oligodendrócitos.

A partir da década de 1970, técnicas de neuroimagem pouco invasivas e mais precisas, como tomografia computadorizada (TC), ressonância magnética (RM), tomografia por emissão de pósitron (PET) e fóton único (SPECT), que permitem a investigação de alterações na estrutura e função cerebral *in vivo*,

começaram a ser utilizadas em pesquisas envolvendo portadores de transtornos neuropsiquiátricos^(42, 43). Atualmente, a ressonância magnética (RM) estrutural é a técnica mais usada para avaliação quantitativa do volume das estruturas cerebrais; ela permite a segmentação automática das imagens em extratos separados de substância cinzenta (SC), substância branca (SB) e líquido (L)⁽⁴⁴⁾. Para avaliar a presença de diferenças estatisticamente significantes entre grupos -- por exemplo, em portadores de um dado transtorno mental versus controles assintomáticos, pode-se quantificar volumes regionais, usando métodos de delineação de regiões de interesse (ROI) ou métodos automatizados, como a morfometria baseada em *voxel* (*Voxel Based Morphometry* [VBM]), que permite a realização de comparações estatísticas ao longo de todo o volume cerebral.

Desse modo, estudos utilizando imagens de RM demonstraram que há mudanças na estrutura cerebral da pessoa com dependência de álcool^(18, 45-48). No Brasil, a primeira pesquisa que usou a tomografia para investigar alterações estruturais e funcionais no cérebro em dependentes de álcool foi conduzida por Helio Elkis em 1988⁽⁴⁹⁾. De acordo com o estudo, o grupo formado por alcoolistas apresentou alterações corticais e subcorticais, que, no entanto, pareciam ser transitórias e reversíveis^(49, 50), tal qual corroborado pela literatura mundial⁽⁵¹⁾.

Outra pesquisa constatou uma diminuição do volume cortical cerebral observada através do alargamento dos ventrículos e sulcos^(18, 45-48). Wobrock e colaboradores⁽⁵²⁾ verificaram que os ventrículos laterais em dependentes de álcool eram 30% maiores do que os de controles saudáveis⁽⁵³⁾, sendo que a abstinência prolongada do álcool reduzia 5% deste alargamento⁽⁵¹⁾. Já o volume do córtex pré-frontal era, em média, 10% menor em dependentes de álcool do que em controles saudáveis^(54, 55). Observou-se, também, perda de substância cinzenta no córtex fronto-parietal⁽⁵⁶⁾ e temporal, perda de substância branca no córtex fronto-parietal⁽⁵⁷⁾ e corpo caloso e alterações volumétricas do cerebelo^(58, 59), assim como em estruturas subcorticais como tálamo, hipotálamo e corpo caudado^(45, 46, 48, 60-62). O estudo mostrou que esses danos

eram reversíveis, após longa abstinência, principalmente nos lobos frontal e temporal, mas não no lobo parietal⁽⁵⁶⁾.

Apesar de todas essas alterações, parece que a região mais sensível e afetada pelos efeitos do álcool é o córtex pré-frontal^(63, 64). Diferente dos ventrículos, cujos danos são parcialmente reversíveis após breve período de abstinência, não se observa capacidade de regeneração nessa região em curto intervalo de tempo⁽⁵²⁾.

Pfefferbaum e colaboradores⁽⁶⁵⁾ notaram que a diminuição das substâncias cinzenta e branca é maior em dependentes de álcool mais velhos do que entre os mais jovens e fica ainda mais proeminente após os 50 anos de idade. Deve-se lembrar que alterações volumétricas cerebrais podem estar relacionadas ao processo natural do envelhecimento⁽⁶⁶⁾. Em indivíduos saudáveis, há perda de tecido cerebral de 0,5% (5,4 cm³) ao ano, em média, com aumento de 4% (1,4 cm³) do líquido⁽⁶⁷⁾. Por outro lado, regiões filogeneticamente mais primitivas, isto é, límbicas e paralímbicas (amígdala, hipocampo, tálamo e cíngulo) permanecem mais preservadas de tal perda volumétrica do que regiões de desenvolvimento filogenético mais recente, sobretudo o córtex pré-frontal⁽⁶⁸⁾. Os pesquisadores⁽⁶³⁾ especularam que os efeitos do álcool seriam mais nocivos em homens mais velhos, ou seja, parece haver uma relação entre o envelhecimento normal e o impacto da toxicidade do álcool sobre o sistema nervoso, promovendo um efeito exagerado sobre a perda volumétrica de tecido nos lobos frontais. Em relação a indivíduos mais jovens com abuso ou dependência de álcool, apesar de ter se constatado uma perda menos expressiva dos tecidos cerebrais, com potencial para regeneração, encontrou-se déficits cognitivos, como dificuldades para a solução de problemas, abstração, organização, julgamento e memória de trabalho⁽¹⁹⁻²⁴⁾.

1.6 O córtex pré-frontal: susceptibilidade aumentada para os efeitos danosos do álcool?

Os efeitos da toxicidade do álcool, tanto entre jovens quanto entre pessoas mais velhas, sinalizam para uma vulnerabilidade aumentada do córtex pré-

frontal⁽⁵⁴⁾. Esta é a região filogeneticamente mais nova do neocórtex, estando relacionada ao desenvolvimento cognitivo mais sofisticado em seres humanos⁽⁶⁹⁾. A área orbital (denominada por Fuster⁽⁷⁰⁾ de ventromedial) do córtex pré-frontal desenvolve-se mais cedo (em relação às outras partes do córtex pré-frontal) e está envolvida na expressão e controle do comportamento instintivo e emocional⁽⁶⁹⁾. Já as áreas de maturação posterior (ou seja, em que a mielinização dos axônios ocorre durante o desenvolvimento da criança), como as do córtex pré-frontal dorsolateral, relacionam-se a funções mais sofisticadas, como ações intencionais / conscientes, cognição e linguagem⁽⁶⁹⁾. Esses fatos sinalizam a maior fragilidade das áreas que se desenvolvem mais tardiamente na maturação do indivíduo, corroborando os dados de que alcoolistas mais jovens já sofrem de déficits cognitivos⁽⁶⁸⁾, mesmo não havendo perda volumétrica nas estruturas cerebrais.

É grande a especificidade de subporções do córtex pré-frontal, sendo consagrada a subdivisão de cada uma das suas três regiões anatômicas anterior, orbital e dorsolateral⁽⁷⁰⁻⁷²⁾ em áreas de *Brodmann* (AB), dependendo da citoarquitetura de cada microrregião. Sabe-se que o processo de mielinização cerebral progride da porção inferior para a superior e da posterior para a anterior; ou seja, o tronco cerebral e a região cerebelar são mielinizados antes dos hemisférios cerebrais, e a última subporção a ser mielinizada é o lobo frontal⁽⁷¹⁾. A região orbital do córtex pré-frontal desenvolve-se primeiro comparativamente às outras áreas do córtex pré-frontal, desse modo, as regiões anteriores, também chamadas de dorsomedial^(71, 72) e dorsolateral, estarão completamente desenvolvidas somente no início da idade adulta.

Com exceção da AB 8, responsável pelos movimentos oculares e controle do olhar e, funcionalmente, pelo controle de incertezas, não é possível descrever a função fisiológica de cada área na região pré-frontal, mas, sabe-se que, de modo geral, esta área cerebral é responsável pela organização dos comportamentos, pela linguagem e por ações de ordem cognitiva. Além disso, tem-se que as regiões do cíngulo medial e anterior são responsáveis pelo direcionamento à ação e pela motivação, enquanto que a dorsolateral está

mais envolvida em processos de memória de trabalho. Por fim, a área orbital tem papel fundamental em relação ao controle de impulsos⁽⁶⁹⁾.

A grande susceptibilidade do córtex pré-frontal aos efeitos neuroestruturais do álcool pode ser derivada do fato de que esta região é filogeneticamente mais jovem, o que a torna mais plástica e sensível, sendo grande responsável pelo desenvolvimento cognitivo em humanos⁽⁶⁹⁾. Diferenças na sensibilidade em relação ao processo degenerativo têm sido observadas no envelhecimento normal, em que as regiões filogeneticamente mais primitivas, isto é, límbicas e para-límbicas (amígdala, hipocampo, tálamo e cíngulo), permanecem mais preservadas da perda volumétrica do que outras regiões cerebrais que se desenvolvem mais tardiamente, particularmente o córtex pré-frontal⁽⁷³⁾.

A literatura revisada acima sugere que as subporções do córtex pré-frontal, as regiões filogeneticamente mais recentes, como a anterior e a dorsolateral, poderiam ser mais suscetíveis aos efeitos do uso crônico do álcool; enquanto a área mais antiga (orbital) permaneceria mais preservada. No entanto, até hoje nenhum estudo de RM morfométrica investigou possíveis diferenças no grau de comprometimento morfológico entre AB distintas na região pré-frontal em indivíduos que preencham diagnóstico para dependência de álcool.

Tal investigação faz-se importante, pois, o estudo detalhado do impacto do álcool pode auxiliar para uma maior compreensão das regiões cerebrais mais vulneráveis aos seus efeitos neurotóxicos, assim como dos déficits cognitivos presentes em alcoolistas.

Novos métodos de tratamento como a reabilitação cognitiva em dependentes de álcool vem sendo testados com sucesso⁽⁷⁴⁻⁷⁶⁾, já que envolvem treinamento de funções sediadas nesses circuitos, tais como processo inibitório do comportamento, julgamento e tomada de decisão (córtex pré-frontal)⁽⁷⁷⁾ e memórias de curta e longa duração⁽⁷⁸⁾.

Desse modo, busca-se contribuir para a ampliação desse conhecimento, servindo como guia nas estratégias de reabilitação cognitiva; estratégias estas

que podem, no futuro, ser consolidadas em políticas públicas a fim de ampliar o repertório de tratamentos para a dependência de álcool.

2. OBJETIVOS E HIPÓTESES

2.1 Objetivos

1. Investigar a presença de possíveis alterações volumétricas no córtex pré-frontal, por meio da análise de imagens de RM do cérebro inteiro de pacientes que preenchem critérios diagnósticos para dependência de álcool, comparando-as com imagens de RM de indivíduos normais. Buscou-se verificar se as áreas anterior e dorsolateral, subporções do córtex pré-frontal de mielinização mais tardias em comparação à área orbital, seriam mais suscetíveis aos efeitos do uso crônico do álcool, enquanto que a área mais antiga permaneceria mais preservada. Foram analisadas as AB correspondentes às seguintes regiões corticais: córtex frontal relacionado às áreas anterior (AB 8, 9, 10), orbital (11, 12, 47) e dorsolateral (44, 45, 46).

2. Investigar, em caráter exploratório, a presença de alterações volumétricas regionais cerebrais, em portadores de dependência de álcool, em outras regiões cerebrais, comparando com controles saudáveis, quais sejam:

- Córtex temporal (correspondendo às AB 20, 21, 22, 27, 28, 30, 35, 36, 37, 38, 41 e 42);
- Córtex occipital (correspondendo às AB 17, 18 e 19);
- Córtex parietal (correspondendo às AB 7 (70 + 75), 39, 49);
- Giro do cíngulo (correspondendo às AB 25, 24, 31, 23 e 29);
- Ventrículos cerebrais (cornos laterais, temporais e anteriores)

3. Investigar possíveis associações entre alterações volumétricas cerebrais regionais nos pacientes alcoolistas e a intensidade de variáveis selecionadas, incluindo os diferentes níveis de “fissura” pelo álcool e de sintomas depressivos.

4. Contribuir para a criação de um banco de dados de estudos de volumetria cerebral em dependentes de álcool.

2.2 Hipóteses

1. Em relação a alterações volumétricas em regiões específicas do cérebro:

a) haveria uma diminuição significativa de substância cinzenta e aumento significativo de líquido no córtex pré-frontal do grupo de dependentes de álcool em relação ao de controle;

b) as demais regiões estão mais preservadas.

2. Em relação a alterações volumétricas em subáreas do córtex pré-frontal:

a) haveria uma diminuição significativa de substância cinzenta nas áreas dorsolaterais e anteriores em relação à orbital.

3. Em relação às correlações com variáveis clínicas:

a) haveria uma diminuição significativa de substância cinzenta e aumento de espaço líquido em indivíduos com “fissura” mais intensa;

b) haveria uma diminuição significativa de substância cinzenta e aumento de espaço líquido em indivíduos com maior gravidade de sintomas depressivos.

3. METODOLOGIA

3.1 Aspectos éticos

O presente projeto foi submetido e aprovado pelo comitê de ética (*Institutional Review Board- IRB*) do Departamento de Psiquiatria do *Mount Sinai School of Medicine* e agências regulatórias. O IRB supervisionou todos os dados obtidos em entrevistas com voluntários por meio de protocolos, com todos os dados coletados, e assegurou a manutenção da confidencialidade. Os sujeitos receberam, por escrito, informações detalhadas sobre a natureza, métodos e objetivos do estudo. Após esclarecimento de todas as dúvidas, solicitou-se a assinatura do termo de consentimento informado (ver apêndice 1).

Além disso, obteve-se aprovação da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CAPPESQ-HCFMUSP) e para a realização da presente dissertação de mestrado (registro de pesquisa nº 3703, projeto CAPPesq nº 0607/09).

As informações são confidenciais e as identidades dos sujeitos serão protegidas nas publicações que decorrerem do estudo. O acesso aos dados individuais permanece garantido e assegurou-se aos sujeitos a possibilidade de interromperem a participação na pesquisa, a qualquer momento, assim que o desejassem.

3.2 Desenho do estudo

O presente estudo fez parte de um programa de pesquisa mais amplo conduzido pelo *Neuroscience PET Laboratory* do *Mount Sinai School of Medicine*, em Nova Iorque, Estados Unidos, com o objetivo de avaliar a eficácia da sertralina (inibidor da recaptação de serotonina) no tratamento do alcoolismo, por meio da observação do metabolismo regional cerebral induzido pelo m-CPP (meta-clorofenilpiperazina), um receptor serotoninérgico misto, ou seja, age como agonista em relação aos 5-HT_{1a}⁽⁷⁹⁾, 5-HT₇, 5-HT₆, 5-HT_{2c}⁽⁸⁰⁾ e como antagonista dos receptores 5-HT₃ e 5-HT_{3A}⁽⁸¹⁾.

O m-CPP é extensivamente usado em pesquisas psiquiátricas para avaliar a sensibilidade do sistema serotoninérgico no cérebro⁽⁸²⁾. Para isso, foram convidados a participar do estudo sujeitos alcoolistas não abstinentes dispostos a se tratarem com sertralina e naltrexona (e cientes que poderiam receber naltrexona com placebo ao invés da sertralina) e psicoterapia cognitivo-comportamental durante 12 semanas.

Foram realizados dois *PET-Scan*, sendo um antes de se iniciar o tratamento e outro em sua conclusão, além de uma imagem de RM para obter um *template* anatômico, a fim de possibilitar a interpretação dos resultados dos *PET Scan*.

Fazem parte desta dissertação especificamente as avaliações de RM morfométrica incluídas nesse programa de pesquisa. Desse modo, realizou-se um estudo transversal, ou seja, as medições foram feitas em um único momento, não existindo seguimento desses indivíduos.

3.3 Amostra

3.3.1 Dependentes de álcool

Foram avaliadas imagens de RM estrutural de uma amostra composta por sujeitos não abstinentes, que preencheram critério para dependência de álcool, recrutados por meio de publicidade em jornais, encaminhamentos de centros de tratamento ou de propaganda boca a boca (ver apêndice 2).

A mestrandia estagiou durante 12 meses no centro de estudo, tendo recebido autorização do Professor Monte Buchsbaum, responsável por essa linha de pesquisa, para trabalhar com os dados clínicos e de neuroimagem (ver apêndice 3).

Os indivíduos convidados a participar do estudo passaram por uma avaliação psiquiátrica que permitiu identificar sua elegibilidade para a pesquisa.

3.3.2 Avaliação clínica

A avaliação da severidade de sintomas psiquiátricos incluiu as seguintes escalas, todas na versão de língua inglesa:

1. Questionário sociodemográfico.
2. Mini-Exame do Estado Mental (MMSE): avaliação do estado demencial, versão americana⁽⁸³⁾.
3. Entrevista Clínica Estruturada para o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (SCID-DSM-IV): obtenção de informações sobre dependência de álcool e outras substâncias, assim como outros transtornos psiquiátricos (sendo instrumento para avaliação de critérios de exclusão)⁽⁸⁴⁾.
4. Escala da Gravidade de Dependência (ASI 5ª edição): avaliação do grau de severidade do uso de álcool e outras drogas⁽⁸⁵⁾.
5. *Alcohol Urge Questionnaire* (AUQ): avaliação dos sintomas de "fissura", principalmente em relação à preocupação / pensamentos relativos ao álcool, no momento presente⁽⁸⁶⁾. Nesta pesquisa, o questionário AUQ analisou a gravidade da "fissura" no momento em que a ressonância magnética estava sendo realizada. Assim, foi possível estimar o grau de dependência da droga (as escalas DRINC e ASI também foram

utilizadas para diagnóstico mais preciso). Nossa hipótese foi a de que quanto maior a pontuação do sujeito neste questionário, maior deveriam ser as alterações volumétricas cerebrais. Desse modo, o grupo de sujeitos que preencheram critérios diagnósticos para dependência de álcool foi dividido em três subgrupos:

1. Os que pontuaram entre 0 e 8: baixa "fissura"
 2. Os que pontuaram entre 9 e 15: "fissura" moderada
 3. Os que pontuaram acima de 15: "fissura" severa
6. Escala de Avaliação Clínica de Sinais de Abstinência Alcoólica (CIWA-Ar): quantificação dos sintomas de síndrome de abstinência(87).
 7. Inventário das Consequências Negativas (DRINC): avaliação das consequências diretas em relação ao consumo contínuo de álcool(88).
 8. Inventário de Depressão de Beck (BDI): avaliação da severidade dos sintomas depressivos(89, 90).

Dados consistentes na literatura mostram alterações volumétricas cerebrais em sujeitos que preenchem critérios diagnósticos para depressão. Observam-se alterações volumétricas em regiões cerebrais semelhantes entre estes sujeitos e aqueles que preenchem critérios diagnósticos para dependência de álcool. Para avaliar se as possíveis alterações cerebrais apresentadas neste grupo eram derivadas da depressão e não da dependência do álcool, o grupo de dependentes de álcool foi subdividido a partir da sua pontuação na escala *Beck*. Assim, os dependentes de álcool foram subagrupados conforme pontuação abaixo:

1. Mínimos sintomas depressivos: pontuação entre 0 e 9
2. Depressão leve: pontuação entre 10 e 16
3. Depressão moderada: pontuação entre 17 e 29
4. Depressão grave: pontuação entre 30 e 63

3.3.2.1 Critérios de inclusão e exclusão para dependentes de álcool

Os critérios de inclusão e exclusão para a amostra de pacientes que preenchem diagnóstico para dependência de álcool são os seguintes:

Inclusão:

1. Diagnóstico de Dependência de Álcool de acordo com os critérios do DSM-IV (27), firmado com base em informações coletadas por meio de SCID-DSM-IV para Transtornos do Eixo I – edição do paciente (SCID - I/P, version 2.0) (91).
2. Idade entre 21 e 65 anos.
3. Preencher pelo menos 28 pontos no Mini-Exame do Estado Mental.

Exclusão:

1. História de abuso ou dependência de outras drogas, à exceção de nicotina.
2. História de traumatismo crânio-encefálico com amnésia pós-traumática.
3. História de doenças sistêmicas ou neurológicas que possam provocar manifestações no sistema nervoso central, detectadas com base em entrevista detalhada com paciente, exame físico geral e neurológico e análise de prontuários médicos.
4. Uso medicamentoso de disulfiram, inibidores da MAO ou de outro medicamento psicotrópico.
5. Preencher critério para outros transtornos psiquiátricos como depressivo maior, bipolar do humor, psicose e outros identificados pelo SCID-I.
6. Estar acometido de fisiopatologias cerebrais, cardíacas, renais ou de tireoide que, na opinião de um especialista, podem impedir a total cooperação do paciente e até prejudicá-lo em decorrência de sua participação na pesquisa.
7. Ter evidências laboratoriais de doenças hepáticas ou prejuízos hepatocelulares, demonstradas por resultados anormais em testagem de enzimas no fígado incluindo *SGPT*, *SGPT* ou níveis elevados de

bilirrubina (foram permitidas alterações moderadas em testes sobre a função do fígado resultantes de processos de desintoxicação do álcool).

8. História de convulsão causada por uso de álcool ou história de sofrimento importante em decorrência de síndrome de abstinência, requerendo internação para desintoxicação.
9. Mulheres grávidas ou que estejam amamentando.

3.3.3 Grupo controle

Foram avaliadas imagens de RM estrutural, procedentes do *Neuroscience PET Laboratory, Department of Radiology, Mount Sinai School of Medicine*, de uma amostra de sujeitos voluntários saudáveis, pareados com os pacientes dependentes de álcool para idade e gênero. A amostra foi composta por escolha aleatória a partir do banco de dados do grupo controle presente no grupo de pesquisa do *PET Laboratory*. Para seleção do grupo controle, utilizou-se o método de estudo caso-controle que tem sido extensivamente relatado na literatura⁽⁹²⁻⁹⁴⁾. O pareamento foi realizado por aproximação idade a idade e por gênero, na proporção de 0,76 controle por caso.

O banco de dados foi composto por pessoas interessadas em participar de pesquisas que não preenchiam critérios para diagnósticos psiquiátricos assim como seus familiares de primeiro grau.

3.3.3.1 Critérios de exclusão para grupo controle

Este grupo foi selecionado de acordo com os seguintes critérios de exclusão:

1. História passada ou atual de transtorno psiquiátrico incluindo abuso de álcool e/ou drogas.
2. História presente ou pregressa de doenças sistêmicas e/ou neurológicas que possam provocar manifestações no sistema nervoso central.

3. História de traumatismo crânio-encefálico com amnésia pós-traumática.
4. Antecedentes familiares (primeiro grau) de distúrbios psiquiátricos maiores.
5. Mulheres grávidas ou que estejam amamentando.

3.4 Aquisição de imagens de RM estrutural

Utilizou-se sequência pesada em T1 MP-RAGE (*Magnetization Prepared Rapid Gradient Echo*) para obter 196 cortes axiais ao longo de todo encéfalo, com os seguintes parâmetros de aquisição: espessura de 1,0 mm, tamanho de matriz de 256x256 *pixels*, campo de visão (FOV) de 256 mm, TR (*Repetition Time*) de 11 ms e TE (*Echo Time*) de 4,3 ms, com tempo total de aquisição de 7 min.

As não homogeneidades do campo magnético, que ocorrem geralmente nas periferias e extremidades do magneto e por falhas nos dispositivos de homogeneização, foram monitoradas mensalmente e compensadas por homogeneização no *hardware*. As não homogeneidades no campo de radiofrequência foram monitoradas usando um fantoma (*phantom*) cilíndrico, preenchido com água, e corrigidas com aplicação de um filtro *gaussiano*. Além disso, a linearidade geométrica da imagem foi monitorada com um fantoma de 100 mm em formato de cruz; detalhes da aquisição de imagem foram mantidos uniformes ao longo do estudo e a regularidade na obtenção dos fantasmas garantiu a consistência dos dados⁽⁹⁵⁾.

3.5 Análise quantitativa das imagens

Antes do processamento, cada imagem foi codificada e checada por um radiologista para detectar a presença de artefatos, de hiperintensidade de substância branca ou outra evidência de anormalidade vascular ou neoplásica⁽⁹⁵⁾. Além disso, o radiologista analisou cada imagem, corrigindo o

valor das intensidades dos *pixels* e obtendo concordância entre a posição e a orientação cerebral, alinhando as imagens.

Para processamento de imagem foi utilizado o programa MIPS 2007 (*Multi Image Processing Software*), um método de traçado semiautomatizado, desenvolvido pelo *PET Laboratory (Mount Sinai Neuroscience)*⁽⁹⁶⁾, que permite ao próprio pesquisador traçar as regiões cerebrais de interesse e mensurar seus reais volumes e o número de *voxels* de substância branca e cinzenta. Os métodos semimanuais permitem a segmentação de uma estrutura cerebral, como, por exemplo, a subdivisão dos ventrículos em suas porções anterior, posterior e temporal.

Uma análise detalhada da substância cinzenta, substância branca e líquido foi conduzida para os lobos frontal, parietal, temporal e occipital, subdivididos em aproximadamente 39 AB. Como a variação da composição celular que forma a base da divisão cortical de *Brodmann* não corresponde exatamente ao padrão dos giros, a divisão do córtex em AB requer uma análise microscópica cuidadosa das secções histológicas. Como esse parcelamento não é realizado *in vivo*, desenvolveu-se um método que faz uma aproximação das AB em imagens de ressonância magnética estrutural⁽⁹⁷⁻⁹⁹⁾. Para isso, utilizou-se o *Atlas Coronal de Perry*, composto por 33 mapas coronais igualmente espaçados das AB, com base em exame microscópio de um hemisfério inteiro em cérebro morto⁽¹⁰⁰⁾ (para ilustração das 33 áreas coronais ver Mitelman, 2005)⁽⁹⁷⁾.

Em cada indivíduo estudado, cortes coronais perpendiculares à linha comissura anterior-comissura posterior foram reconstruídos com uma matriz de 256x256 *pixels*. Para a correspondência com o *Atlas de Perry*, os cortes coronais foram inicialmente divididos em 33 cortes igualmente distribuídos, de forma que o primeiro está localizado a 1/34 do comprimento fronto-occipital total (Figuras 4, 5, 6 - ⁽¹⁰¹⁾). Os lobos frontal, parietal e occipital foram, então, manualmente delineados em cada corte. Para cada lobo temporal, o pólo temporal e a porção mais posterior da fissura *Silviana* foram identificados, e o comprimento resultante foi dividido em 13 cortes uniformemente espaçados. Os limites cerebrais foram, então, obtidos nos 33 cortes não-temporais e nos 26

(13 em cada hemisfério) cortes temporais, pela identificação visual das extremidades dos giros por meio de pontos, posteriormente conectados por linhas aproximadas. Em seguida, cada corte coronal (aproximadamente circular) foi dividido em 20 setores radiais em cada superfície hemisférica e 10 setores mediais, e o volume correspondente foi calculado para cada área de *Brodmann*. Algumas das menores AB foram fundidas (e.g. 3-1-2-5) para simplificação. A medida das variáveis dependentes para todas as análises de RM, à exceção do volume total do cérebro, foi dada em volume relativo (volume absoluto/ volume cerebral total). As informações das 39 AB identificadas por *Perry* (1-2-3-5, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 7a e 7b) foram, então, obtidas.

Figura 4 - Atlasde Perry. Observam-se, em cada corte coronal cerebral, as margens das AB demarcadas. Os cortes coronais são inicialmente divididos em 33 cortes igualmente distribuídos, tendo sido as AB microscopicamente determinadas e coloridas em diferentes texturas para delimitá-las. Algumas partes receberam identificações múltiplas e, nestes casos, foram divididas em duas áreas as porções de substância cinzenta. As abreviações das estruturas cerebrais são: Amyg: amígdala; *ant*: extremidade da estrutura anterior ou rostral; A C: comissura anterior; Ant. Nuc: núcleo anterior do tálamo; Caud: núcleo caudado; C C: corpo caloso; Cerb Ped: pedúnculo cerebral; Chi: quiasma óptico; Coll: colículo superior e interior; Dent Fasc: fascículo dentado; Formix: fórmix; Formix desc: fórmix descendente; Gen: corpo geniculado; G P: globo pálido; G P *inn*: segmento interno do globo pálido; Hab: núcleo habenular; Hippo: hipocampo; Hypo: hipotálamo; Inf: infundíbulo; Int Caps: cápsula interna; Lat Vent: ventrículo lateral; Lent: núcleo lenticular; Mam-Thal Tract: trato talâmico mamilar; M B: corpos mamilares; N A: núcleo acumbens; O B: bulbo olfatório; O Tb: trato olfatório; PC: comissura posterior; Pin: corpo pineal; *post*: extremidade da estrutura caudal ou posterior; Pre Gen: pré-geniculado; Pulv: pulvinar; Putm: putamen; R N: núcleo rubro; Sept: septo; S N: substância negra; Splen: esplênio; Stria Term: terminal estriado; Sub Thal: núcleo subtalâmico; Temp: temporal. Núcleo talâmico (posição aproximada indicada, porém, pode não ser visível macroscopicamente): NA: núcleo anterior; CN: núcleo centromedial; LD: núcleo dorsolateral; LN: núcleo lateral; LPN: núcleo lateral posterior; MN(dorso): núcleo medial; PF: núcleo parafascicular; PLN: núcleo posterolateral; PMN: núcleo posteromedial; VLN: núcleo ventrolateral.

Figura 5 - Posicionamento do *Atlas de Perry* no cérebro inteiro. À esquerda: Os limites cerebrais são obtidos nos 33 cortes não-temporais e nos 26 (13 em cada hemisfério) cortes temporais pela identificação visual das extremidades dos giros por meio de pontos, que são posteriormente conectados por linhas aproximadas. O corte número 5 (representado na imagem à direita) está corretamente posicionado. À direita: Secções, com cada cor correspondendo às AB identificadas. A AB 10 está representada em rosa e cobre todo o pólo frontal (comparar ao primeiro corte na imagem à direita); a AB 9 está representada em azul e torna-se visível no terceiro corte contado de trás para frente; a AB 46 é representada em amarelo e começa a aparecer na quarta fatia contada de trás para a frente.

Figura 6 - Segmentação das AB. À esquerda: secções aplicadas em imagem de ressonância magnética. Primeiramente, um corte coronal é delineado; em seguida, encontra-se o eixo centroide de cada hemisfério cerebral. A partir daí, traça-se 20 linhas com ângulos iguais (do centroide à parte mais externa). Ao meio: após traçadas as linhas, uma tabela identifica cada segmento aos segmentos delineados e digitalizados a partir do *Atlas de Perry*. Na figura, o corte número 5, segmentos 1-7 são identificados como AB 9; os *pixels* são identificados como substância cinzenta, branca e líquido e, em seguida, somados para fornecer o volume total da AB 9. À direita: Corte número 5 (Fig. 2) com suas respectivas AB sem as linhas de segmentação

Para aferição do volume ventricular, uma análise volumétrica dos ventrículos laterais foi realizada utilizando-se cortes axiais de 1,2 mm de espessura. Utilizou-se filtro com gradiente *Sobel* para calcular o gradiente de intensidade na imagem em cada ponto, produzindo uma linha branca constante ao redor da cavidade ventricular. Assim, com o *mouse* do computador, a pesquisadora fez em torno de 30 a 40 pontos sobre essa linha branca, circulando toda a cavidade ventricular e, ao término, um comando do programa traçou uma linha ligando todos estes pontos, na ordem em que foram colocados. A área cercada por estes pontos-linha foi então calculada e salva no arquivo de ROI (Região de Interesse). Medidas separadas dos cornos anteriores e temporais dos ventrículos laterais foram feitas nos cortes mais inferiores, enquanto eles ainda não eram confluentes. Nos cortes progressivamente mais superiores, os cornos anteriores e posteriores unem-se e passam a ser identificados como porção superior dos ventrículos laterais. A pesquisadora, por meio de treinamento, decidia (observando cada corte e cada sujeito) se os cornos anteriores e temporais estavam confluentes. Assim, foram obtidos valores de volume para os cornos anterior direito e esquerdo, cornos temporais direito e esquerdo e ventrículos laterais superiores direito e esquerdo (Figura 7).

Figura 7 - Cortes axiais do cérebro demarcados com o programa MIPS: cornos anteriores (imagem mais à esquerda), laterais (imagem central) e temporais (imagem à direita).

A pesquisadora foi treinada para realizar o traçado de cada região cerebral, até atingir a medida de confiabilidade (coeficiente de correlação intraclasse de 0,979)⁽⁹⁶⁾.

Por fim, para calcular o volume cerebral total foram somadas todas as AB (1-2-3-5, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 7a e 7b). Para avaliar o volume dos lobos frontal, parietal, occipital e temporal, o mesmo procedimento foi realizado; ou seja, para calcular o volume do córtex frontal somaram-se os volumes das AB 8, 9, 10, 11, 12, 47, 44, 45 e 46; para o córtex parietal, os volumes das AB 7 (70 + 75), 39 e 49; para córtex occipital, foram somados os volumes das AB 17, 18 e 19 e para córtex temporal somaram-se os volumes das AB 20, 21 e 22.

As imagens coronais dos lobos frontal e temporal foram segmentadas em substância cinzenta, substância branca e líquido. Para isso, foram analisados histogramas contendo os valores de *pixels* das imagens axiais de ressonância magnética de cada indivíduo. Cada tecido tinha um valor de corte dado em *pixel*. Praticamente, todos os sujeitos possuíam pontos de raridade entre substância cinzenta e substância branca e 75% dos sujeitos possuíam pontos de raridade entre substância cinzenta e líquido. Para os sujeitos que não tinham este dado, realizou-se cálculo numérico para definir o valor de corte deste ponto de raridade, levando em conta a proporção esperada da quantidade de substância cinzenta e líquido no cérebro⁽¹⁰²⁾.

3.6 Análise estatística dos dados

Os dados foram processados utilizando-se pacote SPSS V.15 (*Statistical Package for the Social Sciences*, SPSS Inc., Chicago, IL).

3.6.1 Dados clínicos e sociodemográficos

As variáveis qualitativas foram descritas com frequência absoluta e relativa e as quantitativas com média e desvio padrão. Para comparar as variáveis qualitativas foi utilizado o teste do Qui-Quadrado e para comparar as médias das variáveis quantitativas foi utilizado o teste-t para amostras independentes. Todos os testes foram realizados admitindo-se nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

3.6.2 Comparação das medidas de volumes cerebrais entre grupos

As comparações do volume cerebral entre os grupos DA e controle foram feitas por meio da Análise Multivariada de Variância (MANOVA). O teste de significância foi realizado com o Lambda de Wilks. Após o teste multivariado, seguiu-se o teste univariado (teste-t) para comparar os volumes entre os grupos.

As medidas comparadas entre os grupos foram as seguintes:

1. Cérebro todo
2. Lobos Frontal, Parietal, Occipital e Temporal
3. Giro do cíngulo
4. Ventrículos
5. Subdivisões Anterior, Orbital e Dorsolateral do córtex pré-frontal
6. AB 8, 9, 10, 11, 12, 44, 45, 46, 47 (todas no córtex pré-frontal)

As medidas regionais acima foram comparadas entre grupos de modo separado para cada hemisfério (direito e esquerdo) e para cada compartimento de tecido cerebral (substância cinzenta, substância branca e líquido).

É importante ressaltar que as medidas de volume de líquido cefalorraquidiano subcortical presentes no volume ventricular (ventrículos lateral, anterior e temporal) não foram incluídas nas medidas de volume cortical, para o qual o cérebro é dividido em córtex frontal, parietal, occipital, orbital e giro do cíngulo e em suas respectivas AB.

Para analisar possíveis associações entre as medidas volumétricas e diagnóstico, foi utilizada a Regressão Linear Múltipla, tendo como preditores o AUQ e Beck para o grupo dos dependentes de álcool.

Os métodos usados para gerar os índices cerebrais totais e regionais, (absolutos e relativos) comparados entre os grupos, são descritos nos subitens a seguir.

O nível de significância utilizado em todos os testes foi de 5%.

3.6.2.1 Volume absoluto total cerebral

O volume total cerebral foi calculado somando os volumes de substância cinzenta e substância branca dos 33 cortes coronais do cérebro. Já o volume total de líquido, substância cinzenta e branca foi obtido somando-se as AB dos quatro lobos: frontal: AB 8-9-10-11-12-44-45-46-47; parietal: AB 7-39-40; temporal: AB 20-21-22-27-28-30-35-36-37-38-41-42; e occipital: AB 17-18-19.

3.6.2.2 Volume relativo cerebral

Ao invés dos valores absolutos, optamos por medidas relativas, que são “região de interesse - ROI mm³/volume cerebral total mm³”, por elas serem mais conservadoras.

3.6.2.3 Volume relativo do giro do cíngulo, ventrículos e Áreas de Brodmann (8, 9, 10, 11, 12, 44, 45, 46, 47)

Os volumes relativos foram obtidos da seguinte forma:

	volume absoluto da área X mm³
Volume relativo da área X =	_____
	volume total cerebral (Σ de todos os cortes multiplicado pela largura do corte em mm³)

3.6.2.4 Volume relativo dos lobos frontal, parietal, occipital e temporal

O volume do córtex frontal foi obtido pela soma das AB 8, 9, 10, 11, 12, 44, 45, 46 e 47. O volume do córtex parietal foi obtido pela soma das AB 7 (70+75), 39 e 49; já para o volume do córtex occipital somaram-se as AB 17, 18 e 19. Para o volume do córtex temporal foram somadas as AB 20, 21, 22, 27, 28, 30, 35, 36, 37, 38, 41, 42. Por fim, para o volume de giro do cíngulo, as AB 25, 24, 31, 23 e 29.

Os volumes relativos foram obtidos da seguinte forma:

Volume relativo do lobo X = Σ volume relativo das respectivas AB

3.6.2.5. Volume relativo das áreas anterior, orbital e dorsolateral do córtex pré-frontal

O volume das áreas anterior, orbital e dorsolateral foi obtido pela soma das respectivas AB:

1. Área Anterior: AB 8, 9 e 10

2. Área Orbital: AB 11, 12 e 47

3. Área Dorsolateral: AB 44, 45 e 46

Os volumes relativos foram obtidos da seguinte forma:

$$\text{Volume relativo da área X} = \Sigma \text{ volume relativo das respectivas AB}$$

3.6.3 Investigação das relações entre volumes cerebrais e variáveis clínicas no grupo de alcoolistas

Para a investigação de associações significativas entre volumes cerebrais e variáveis clínicas, foram realizados testes de regressão linear univariados, usando como variáveis dependentes as medidas volumétricas cerebrais e como variáveis preditoras os escores das escalas de *Beck* e AUQ. A escolha de restringir as testagens estatísticas a apenas estas variáveis clínicas foi feita com o objetivo de diminuir o número de testes estatísticos, reduzindo o risco de erro tipo I.

4 RESULTADOS

4.1 Dados clínicos e demográficos da amostra

A amostra DA foi composta por 98 (noventa e oito) sujeitos não abstinentes (idade média = 43 anos, $dp=9,74$ anos), sendo 65 homens e 33 mulheres; 75 destros, 8 canhotos e 8 ambidestros, 38 afro-americanos, 13 caucasianos, 11 hispânicos, 2 asiáticos e 4 de outras etnias. A maioria dos participantes vivia sem companheiro(a), ou seja, eram solteiros, separados ou divorciados. A Tabela 1 apresenta os dados demográficos desse grupo.

Tabela 1 - Características demográficas dos sujeitos que preencheram critérios diagnósticos para dependência de álcool (n=98)

		n	%
Gênero	Masculino	65	66,33
	Feminino	33	33,67
Dominância cerebral	Destro	75	76,53
	Ambidestro	9	9,18
	Canhoto	8	8,16
Grupo Étnico	Caucasiano	13	13,88
	Afro-americano	38	38,77
	Hispânico	11	11,22
	Asiático	2	2,04
	Outro	4	4,1
Estado civil	Solteiro	43	43,88
	Casado	15	15,31
	Separado	7	7,14
	União Estável	2	2,04
	Divorciado	25	25,51
	Viúvo	3	3,06
Escolaridade	Superior completo	12	12,24
	<i>College</i> ¹ completo	32	32,65
	<i>College</i> incompleto	22	22,45
	Ensino médio completo	17	17,35
	Ensino médio incompleto	8	8,16
Emprego	Tempo integral	40	40,82
	Meio período	14	14,28
	Desempregado a menos de 1 mês	4	4,08
	Desempregado a mais de 1 mês	25	25,51
	Outro	7	7,5

¹*College*: o sistema de educação americano tem um formato diferente do brasileiro. Desse modo, o *college* pode ser considerado como um nível intermediário entre o fim do ensino médio e o início da graduação em nível superior, melhor compreendido como os primeiros anos de uma graduação (ciclo básico); posteriormente o aluno decide sua especialização.

O teste Qui-Quadrado indicou que não houve diferença na proporção de homens e mulheres entre os grupos controle e DA ($p=0,791$). Os testes também

não registraram diferença entre as médias dos dois grupos para peso ($p=0,224$) e altura ($p=0,940$).

Em relação aos dados clínicos, observou-se que, em média, os sujeitos da amostra relataram que começaram a se embriagar com regularidade aos 22 anos ($dp=8$ anos) e a ter problemas em relação ao excesso de bebidas alcoólicas aos 26 anos ($dp=9$ anos). Notou-se que metade dos indivíduos passou por, pelo menos, um tratamento ambulatorial para dependência de álcool, sendo que a maioria nunca ficou internada para cuidar da dependência. As Tabelas 2 e 3 apresentam tais informações.

Tabela 2 - Média e desvio padrão das idades (em anos) dos sujeitos da amostra DA, em relação ao início da dependência de álcool

	Média (dp)
Idade em que começou a ficar embriagado com regularidade	22 (8)
Idade em que começou a ter dificuldade para parar de beber	26 (9)
Idade em que começou a ter problemas em consequência do consumo de bebidas, como, por exemplo, falta de crítica a respeito da quantidade consumida, acidentes, brigas etc.	29 (9)

Tabela 3: Histórico de tratamentos ambulatoriais e internações relativas à dependência de álcool e/ou outros transtornos psiquiátricos dos sujeitos que preencheram critérios diagnósticos para dependência de álcool (n=98)

Dependentes de Álcool	categorias	n	%
Número de tratamentos ambulatoriais para dependência de álcool	0	48	49,0
	1	34	34,7
	2	8	8,2
	Mais de 3	6	6,1
Número de internações devido à dependência de álcool	0	72	73,5
	1	15	15,3
	2	5	5,1
	Mais de 3	4	4,1
Número de tratamentos ambulatoriais para outros transtornos psiquiátricos	0	79	80,7
	1	14	14,3
	2	3	3,1
Número de internações devido a outros transtornos psiquiátricos	0	92	94,0
	1	4	4,1
	2	1	1,0

Os sujeitos da amostra do grupo DA apresentaram pontuação na escala AUQ, que avalia “fissura”, de 20,47 em média (DP=11,26), indicando “fissura” severa. Em relação ao transtorno de humor depressivo, este grupo pareceu estar, em média, levemente deprimido, como é possível verificar pela escala *Beck*. A Tabela 4 fornece as pontuações médias nas referidas escalas.

Tabela 4 - Média e desvio padrão da pontuação nas escalas da amostra de grupo de dependentes de álcool (n=98)

Escalas	Média (dp)	Range: [Mínimo; Máximo]
AUQ	20,47 (11,26)	[8;56]
BECK	11,81 (7,38)	[0;63]

Por sua vez, o grupo controle foi composto por 73 sujeitos com idade média de 41 anos (dp=11,78 anos), todos voluntários saudáveis, pareados com os pacientes dependentes de álcool para idade, sexo e dominância cerebral, como mostra a Tabela 5:

Tabela 5 - Características demográficas dos sujeitos do grupo controle (n=73):

		n	%
Gênero	Masculino	47	64,4
	Feminino	26	35,6
Dominância cerebral+	Destro	64	87,7
	Ambidestro	1	1,4
	Canhoto	6	8,2
Grupo Étnico	Caucasiano	30	41,1
	Afro-americano	28	38,4
	Hispânico	7	9,6
	Asiático	2	2,7
	Outro	6	8,2

+ n= 71

4.2 Comparação das medidas de volumes cerebrais entre grupos

4.2.1 Volume total cerebral

O volume total médio do cérebro dos sujeitos do grupo controle foi de 1.158cm^3 ($dp=139\text{cm}^3$) enquanto que o do grupo DA foi de 1.159 cm^3 ($dp=130\text{cm}^3$). Porém, diferenças estatisticamente significantes entre essas medidas não foram encontradas.

Comparou-se o volume absoluto total cerebral dos sujeitos do grupo controle com os sujeitos do grupo DA, segmentando o cérebro em líquido, substância cinzenta e substância branca. Usando MANOVA, observou-se um efeito de grupo, ou seja, uma diferença entre o grupo controle e o DA em relação ao volume total cerebral. A avaliação *post hoc* de cada um dos três compartimentos de tecido cerebral indicou que a diferença entre os grupos é específica para o espaço liquórico, ou seja, os sujeitos do grupo DA apresentaram aumento de volume absoluto de líquido ($p=0,002$), causado pelo alargamento dos sulcos corticais (Tabela 6).

Tabela 6 - Média e desvio padrão do volume absoluto total cerebral segmentado em líquido, substância cinzenta e substância branca. Efeito de Grupo (MANOVA): $F=3,975$, $p<0,05$

TECIDO	GRUPO CONTROLE média cm^3 (dp)	GRUPO DA média cm^3 (dp)	p^a
LÍQUOR	93,117 (23,772)	104,287 (22,330)	0,002
SUBSTÂNCIA CINZENTA	323,008 (38,786)	316,316 (39,064)	0,268
SUBSTÂNCIA BRANCA	223,577 (36,767)	222,905 (33,767)	0,902

^a MANOVA.

4.2.2Ventrículos

Na comparação dos ventrículos laterais, a MANOVA mostrou um efeito significativo para grupo ($F = 8,525$, $p<0,05$). A inspeção dos valores numéricos nos dois grupos mostrou que este efeito ocorreu em razão de uma tendência a alargamento de ventrículos no grupo DA em todas as regiões investigadas, à exceção do corno lateral esquerdo(Tabela 7). Entretanto, essas discrepâncias entre grupos foram sutis, visto que a análise estatística *post hoc* não mostrou diferenças volumétricas estatisticamente significantes nos cornos anterior, temporal e lateral entre os grupos, como mostra a Tabela 7. Notou-se apenas uma tendência do grupo DA para apresentar aumento volumétrico nos cornos temporal direito ($p=0,086$) e anterior esquerdo ($p=0,069$).

A inspeção dos dados individuais de cada grupo indicou a ausência de *outliers* em quaisquer deles.

Tabela 7 - Média e desvio padrão do volume relativo dos cornos lateral, anterior e temporal dos ventrículos cerebrais. Efeito de Grupo (MANOVA): $F=8,525$, $p<0,05$

HEMISFÉRIO	CORNO	GRUPO CONTROLE média (dp)	GRUPO DA média (dp)	p ^a
ESQUERDO	TEMPORAL	0,2609 (0,188)	0,2817 (0,142)	0,412
	ANTERIOR	0,2395 (0,079)	0,2667 (0,107)	0,069
	LATERAL	0,3119 (0,254)	0,2488 (0,285)	0,137
DIREITO	TEMPORAL	0,2187 (0,105)	0,2504 (0,128)	0,086
	ANTERIOR	0,2162 (0,076)	0,2316 (0,092)	0,245
	LATERAL	0,2272 (0,249)	0,2471 (0,232)	0,195

a

MANOVA

4.2.3 Giro do cíngulo, lobos frontal, temporal, parietal e occipital

Foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos em praticamente todos os lobos cerebrais, especialmente nos lobos frontal e parietal.

Como é possível observar nas Tabelas 8 e 9, que apresentam as médias dos volumes relativos para ambos os grupos, o córtex parietal sofreu alterações volumétricas no grupo DA em todos os tecidos, em ambos os hemisférios cerebrais (líquor e SC $p<0,001$; SB $p<0,05$). No córtex frontal, observou-se o aumento de líquido no grupo DA ($p=0,023$ no hemisfério esquerdo e $p=0,001$ no hemisfério direito) e diminuição de substância cinzenta ($p=0,002$ no hemisfério esquerdo e $p<0,001$ no direito). No giro do cíngulo, verificou-se aumento de líquido entre os sujeitos do grupo DA em relação aos sujeitos do grupo controle ($p=0,032$ no hemisfério esquerdo e $p=0,001$ no hemisfério direito).

A avaliação *post hoc* de cada um dos três compartimentos de tecido cerebral indicou, no entanto, que o padrão de perda volumétrica não foi homogêneo. Do ponto de vista do espaço líquido, parece ter havido uma preservação do lobo temporal esquerdo, que não foi afetado; com relação à

substância cinzenta, a perda volumétrica parece ter sido específica para região fronto-parietal.

Tabela 8 – Média e desvio padrão do volume relativo cerebral dos lobos frontal, parietal, occipital, temporal e giro do cíngulo, segmentado em líquido, substância cinzenta e substância branca e seus respectivos valores de p, hemisfério esquerdo. Efeito de Grupo (MANOVA) (lobos frontal, parietal, occipital e temporal): $F=3,646$, $p<0,001$. Efeito de Grupo (MANOVA) (giro do cíngulo): $F=3,056$, $p<0,05$

Lobo	Tecido	Grupo Controle média (dp)	Grupo DA média (dp)	p ^a
Frontal	Líquor	1,4555 (0,339)	1,5742 (0,329)	,023
	SC	4,4016 (0,359)	4,2277 (0,342)	,002
	SB	3,0197 (0,297)	2,9865 (0,256)	,436
Parietal	Líquor	0,7688 (0,162)	0,8893 (0,184)	,000
	SC	2,1140 (0,206)	1,9959 (0,199)	,000
	SB	1,4827 (0,186)	1,4076 (0,168)	,006
Occipital	Líquor	0,6663 (0,2)	0,8035 (0,253)	,000
	SC	2,6325 (0,343)	2,6106 (0,281)	,648
	SB	1,8817 (0,303)	1,9545 (0,274)	,102
Temporal	Líquor	1,0365 (0,317)	1,0861 (0,309)	,306
	SC	4,8870 (0,361)	4,8693 (0,389)	,763
	SB	2,8895 (0,236)	2,8971 (0,250)	,842
Giro do Cíngulo	Líquor	0,2105 (0,113)	0,2529 (0,136)	,032
	SC	0,9451 (0,107)	0,9489 (0,112)	,824
	SB	1,1612 (0,110)	1,1339 (0,101)	,095

^a MANOVA

Tabela 9 – Média e desvio padrão do volume relativo cerebral dos lobos frontal, parietal, occipital e temporal e giro do cíngulo, segmentado em líquido, substância cinzenta e substância branca e seus respectivos valores de p, hemisfério direito. Efeito de Grupo (MANOVA) (lobos frontal, parietal, occipital e temporal): $F=4,625$, $p<0,001$. Efeito de Grupo (MANOVA) (giro do cíngulo): $F=6,408$, $p<0,001$

Lobo	Tecido	Grupo Controle média (dp)	Grupo DA média (dp)	p ^a
Frontal	Líquor	1,5514 (0,334)	1,7163 (0,321)	,001
	SC	4,4545 (0,378)	4,2886 (0,354)	,004
	SB	3,0600 (0,294)	3,0158 (0,267)	,307
Parietal	Líquor	0,7901 (0,163)	0,9048 (0,172)	,000
	SC	2,1026 (0,198)	1,9898 (0,185)	,000
	SB	1,4486 (0,147)	1,3917 (0,160)	,019
Occipital	Líquor	0,5903 (0,185)	0,7604 (0,233)	,000
	SC	2,4491 (0,292)	2,4555 (0,2690)	,882
	SB	1,8121 (0,258)	1,8874 (0,258)	,061
Temporal	Líquor	1,1479 (0,297)	1,2846 (0,336)	,006
	SC	4,9094 (0,358)	4,8742 (0,370)	,533
	SB	2,8698 (0,250)	2,8759 (0,240)	,871
Giro do Cíngulo	Líquor	0,1414 (0,076)	0,1934 (0,115)	,001
	SC	0,9119 (0,111)	0,9213 (0,106)	,572
	SB	1,1739 (0,118)	1,1421 (0,107)	,067

^a MANOVA

4.3 Córtex pré-frontal (áreas anterior, orbital e dorsolateral)

As médias e desvios padrão dos resultados relacionados às áreas anterior, orbital e dorsolateral do lobo frontal estão apresentados na Tabela 10. Observou-se que tanto o líquido ($p<0,005$) quanto a substância cinzenta ($p=0,002$) sofreram alterações volumétricas significantes na área anterior do córtex pré-frontal em sujeitos com dependência de álcool. A substância cinzenta da área orbital e dorsolateral no hemisfério esquerdo também sofreu reduções volumétricas significantes nessa amostra ($p<0,05$). A avaliação *post hoc* de cada um dos três compartimentos em cada porção frontal indicou que a substância cinzenta diminuída nos dependentes de álcool foi

relativamente homogênea, mas pareceu que a área orbital estava preservada de alargamento de sulcos.

Tabela 10 - Média e desvio padrão do volume relativo cerebral das áreas anterior, orbital e dorsolateral do córtex pré-frontal, segmentado em líquido, substância cinzenta e substância branca e por hemisfério cerebral. Hemisfério Esquerdo: Efeito de Grupo (MANOVA): $F = 4,532$, $p < 0,001$. Hemisfério Direito: Efeito de Grupo (MANOVA): $F = 2,168$, $p < 0,05$

HEMISFÉRIO	ÁREA	TECIDO	GRUPO	GRUPO DA	p^a
			CONTROLE (média / dp)	(média / dp)	
Esquerdo	Anterior	Líquor	1,0769 (0,237)	1,1815 (0,238)	,005
		SC	2,8579 (0,256)	2,7384 (0,237)	,002
		SB	1,7102 (0,200)	1,7119 (0,182)	,954
	Orbital	Líquor	0,1612 (0,633)	0,1584 (0,050)	,751
		SC	0,6413 (0,084)	0,6195 (0,056)	,043
		SB	0,6460 (0,085)	0,6252 (0,056)	,056
	Dorsolateral	Líquor	0,2174 (0,068)	0,2342 (0,068)	,114
		SC	0,9024 (0,073)	0,8698 (0,079)	,007
		SB	0,6635 (0,064)	0,6495 (0,064)	,157
Direito	Anterior	Líquor	1,1725 (0,249)	1,3037 (0,240)	,001
		SC	2,9185 (0,270)	2,7908 (0,256)	,002
		SB	1,7428 (0,201)	1,7158 (0,181)	,361
	Orbital	Líquor	0,1385 (0,038)	0,1443 (0,043)	,362
		SC	0,6273 (0,063)	0,6103 (0,052)	,055
		SB	0,6675 (0,056)	0,6593 (0,057)	,350
	Dorsolateral	Líquor	0,2404 (0,069)	0,2683 (0,071)	,011
		SC	0,9087 (0,081)	0,8875 (0,074)	,076
		SB	0,6498 (0,076)	0,6407 (0,075)	,435

^a MANOVA

4.4 Áreas de *Brodman* do córtex pré-frontal

O córtex pré-frontal foi subdividido em: AB 8, 9, 10 correspondentes à área anterior; AB 11, 12, 47 referentes à área orbital; e AB 44, 45, 46 pertencentes à área dorsolateral. Estas AB foram, também, segmentadas em líquido, substância cinzenta e substância branca; e em hemisférios esquerdo e direito.

Os efeitos da comparação entre os dois grupos são apresentados nas Tabelas 11 e 12. Notou-se entre os participantes do grupo DA maior volume relativo de líquido e redução de substância cinzenta nas AB 8, 9, 44, 46, no hemisfério esquerdo. Ainda neste hemisfério, houve uma redução volumétrica de substância branca nas AB 10 e 45. Já no hemisfério direito, observou-se maior volume relativo de líquido nas AB 8, 9, 44 e 46, redução de substância cinzenta nas AB 8, 9, 12 e de substância branca nas AB 8, 10 e 45.

Tabela 11 - Volumes médios relativos e desvio padrão dos diferentes tecidos nas AB para grupo controle e grupo DA, hemisfério esquerdo. Efeito de Grupo (MANOVA): F=3,069 , p<0,001

ÁREA	TECIDO	GRUPO CONTROLE (média / dp)	GRUPO DA (média / dp)	p ^a
8	Líquor	0,3382 (0,748)	0,3718 (0,081)	,006
	SC	0,9064 (0,102)	0,8525 (0,088)	,000
	SB	0,7921 (0,074)	0,7705 (0,074)	,060
9	Líquor	0,3788 (0,074)	0,4335 (0,104)	,000
	SC	1,1374 (0,100)	1,0846 (0,102)	,001
	SB	0,6699 (0,083)	0,6665(0,758)	,779
10	Líquor	0,3599 (0,085)	0,3763 (0,076)	,186
	SC	0,8141 (0,101)	0,8013 (0,098)	,406
	SB	0,2482 (0,065)	0,2750 (0,071)	,012
11	Líquor	0,0800 (0,041)	0,0748 (0,022)	,291
	SC	0,2999 (0,066)	0,2853 (0,030)	,054
	SB	0,2946 (0,068)	0,2800(0,029)	,058
12	Líquor	0,0440 (0,019)	0,0495 (0,024)	,115
	SC	0,2242 (0,023)	0,2227 (0,023)	,665
	SB	0,1480 (0,018)	0,1471 (0,022)	,771
44	Líquor	0,0520 (0,025)	0,0605 (0,026)	,036
	SC	0,3061 (0,037)	0,2888 (0,034)	,002
	SB	0,1733 (0,028)	0,1655 (0,030)	,084
45	Líquor	0,0924 (0,028)	0,0893 (0,027)	,476
	SC	0,3135 (0,032)	0,3058 (0,031)	,119
	SB	0,3361 (0,036)	0,3225 (0,037)	,017
46	Líquor	0,0730 (0,026)	0,0844 (0,026)	,006
	SC	0,2828 (0,028)	0,2752 (0,032)	,108
	SB	0,1541 (0,035)	0,1615 (0,033)	,160
47	Líquor	0,0372 (0,020)	0,0341 (0,011)	,211
	SC	0,1172 (0,037)	0,1115 (0,014)	,161
	SB	0,2034 (0,029)	0,1981(0,023)	,185

^a MANOVA

Tabela 12 - Volumes médios relativos e desvio padrão dos diferentes tecidos nas AB para grupo controle e grupo DA, hemisfério direito. Efeito de Grupo (MANOVA): $F=2,431$, $p<0,001$

ÁREA	TECIDO	GRUPO CONTROLE (média / dp)	GRUPO DA (média / dp)	p ^a
8	Líquor	0,3398 (0,073)	0,3886 (0,076)	,000
	SC	0,8986 (0,098)	0,8441 (0,088)	,000
	SB	0,7922 (0,074)	0,7570 (0,072)	,002
9	Líquor	0,4337 (0,110)	0,4337 (0,110)	,000
	SC	1,1572 (0,115)	1,1029 (0,112)	,002
	SB	0,6897 (0,082)	0,6785 (0,076)	,359
10	Líquor	0,3990 (0,087)	0,4151 (0,085)	,226
	SC	0,8627 (0,096)	0,8438 (0,104)	,226
	SB	0,2609 (0,072)	0,2803 (0,077)	,097
11	Líquor	0,0680 (0,020)	0,0716 (0,023)	,296
	SC	0,2916 (0,034)	0,2847 (0,029)	,161
	SB	0,2968 (0,030)	0,2948 (0,030)	,672
12	Líquor	0,0294 (0,014)	0,0309 (0,017)	,542
	SC	0,2155 (0,022)	0,2084 (0,021)	,034
	SB	0,1726 (0,021)	0,1671 (0,025)	,130
44	Líquor	0,0497 (0,022)	0,0604 (0,026)	,005
	SC	0,3010 (0,038)	0,2913 (0,032)	,072
	SB	0,1653 (0,033)	0,1566 (0,032)	,085
45	Líquor	0,0968 (0,029)	0,1005 (0,277)	,390
	SC	0,3175 (0,034)	0,3100 (0,031)	,131
	SB	0,3288 (0,043)	0,3224 (0,041)	,320
46	Líquor	0,0940 (0,029)	0,1075 (0,031)	,004
	SC	0,2902 (0,030)	0,2862 (0,033)	,423
	SB	0,1556 (0,036)	0,1617 (0,035)	,265
47	Líquor	0,0411 (0,012)	0,0419 (0,014)	,697
	SC	0,1203 (0,016)	0,1173 (0,015)	,210
	SB	0,1982 (0,025)	0,1975 (0,023)	,849

^a MANOVA

4.5 Investigação das correlações entre volumes cerebrais e variáveis clínicas no grupo de alcoolistas

De todos os modelos de Regressão Linear Múltipla, os significativos foram para a substância branca no hemisfério direito nas regiões AB 9 e AB 46 no grupo DA. Para a região AB 9, o parâmetros significativo foi o AUQ ($p = 0,036$) e indica que o aumento no escore diminui o volume ($\beta = -0,002$).

Para a região AB 46, o escore de Beck foi significativo ($p = 0,003$) e indica que o aumento no escore aumenta o volume ($\beta = 0,002$).

Tabela 13: Relação entre as escalas Beck e AUQ e as áreas de Brodmann em que os efeitos foram significativos:.

AB 9¹	β(coeficiente não padronizado)	Erro padrão	p
Constante	0,706	0,019	0,000
Beck	0,000	0,001	0,674
AUQ	-0,002	0,001	0,036
AB 46²	β(coeficiente não padronizado)	Erro padrão	p
Constante	0,151	0,008	0,000
Beck	0,002	0,000	0,003
AUQ	0,000	0,000	0,378

¹ R^2 ajustado = 0,026

² R^2 ajustado = 0,075

5 DISCUSSÃO

O presente trabalho teve como propósito fazer um estudo detalhado do impacto tóxico do etanol, presente em bebidas alcoólicas, sobre o volume do cérebro de pessoas que preenchem critérios diagnósticos para dependência desta substância. Para isso, imagens de ressonância magnética estrutural e o método semiautomatizado MIPS foram utilizados, a fim de investigar alterações volumétricas de substância cinzenta, substância branca e líquido do cérebro como um todo, de seus respectivos lobos e, mais especificamente, do córtex pré-frontal e suas AB.

Os sujeitos da amostra do grupo DA caracterizaram-se pela gravidade moderada de sintomas, pela não comorbidade com outros transtornos psiquiátricos e por não estarem abstinentes de álcool no início da pesquisa.

O principal achado mostrou uma diminuição de substância cinzenta nas áreas dorsolaterais e anteriores do córtex pré-frontal no grupo DA, quando comparado com o grupo controle. Outro resultado relevante indicou a relativa preservação dos ventrículos na amostra de dependentes, enquanto os sulcos corticais apresentaram-se alargados.

Nos itens subsequentes são discutidas a caracterização da amostra estudada, assim como as alterações volumétricas cerebrais encontradas neste grupo de sujeitos dependentes de álcool.

5.1 Considerações metodológicas

5.1.1 Características da amostra estudada e instrumentos de avaliação utilizados

Este estudo apresentou uma amostra de noventa e oito sujeitos que preencheram critérios diagnósticos para dependência de álcool e que se encontravam não abstinentes.

O número de indivíduos recrutados foi superior à maioria dos estudos de neuroimagem com dependentes de álcool, sejam eles abstinentes ou não. Smith e cols.⁽¹⁰³⁾ contaram com 55 sujeitos não abstinentes e Fein e cols.⁽¹⁰⁴⁾ tiveram uma amostra de 17 sujeitos. Por sua vez, Ratti e cols.⁽⁵⁵⁾ usaram para sua amostra de alcoolistas abstinentes 15 sujeitos, enquanto que Sullivan e cols.⁽⁵¹⁾ tiveram uma amostra de 42 sujeitos. Optar por um tamanho de amostra maior permitiu um poder estatístico destacado para evitar erros tipo I e tipo II.

A opção por indivíduos não abstinentes ocorreu por três principais motivos.

Em primeiro lugar, a presente pesquisa fazia parte de um estudo com sujeitos não abstinentes e que não estivessem em tratamento, que tinha como objetivos tratá-los medicamentosamente, utilizando sertralina, e investigar seus efeitos sobre o funcionamento cerebral. A ressonância magnética foi realizada neste contexto e, sendo assim, foram mantidos os mesmos critérios de inclusão e exclusão para a seleção da amostra.

Segundo, somente 15% dos dependentes receberam algum tipo de tratamento, indicando que a maioria dos indivíduos, que preenchiam critérios diagnósticos para dependência de álcool, não procurava tratamento⁽¹⁰⁵⁾. Assim, pode-se afirmar que uma amostra de dependentes não abstinentes é mais representativa desta população.

Por fim, procurou-se evitar variáveis de confusão como alterações cerebrais importantes causadas por outros transtornos psiquiátricos. Sabe-se que indivíduos que preenchem critérios diagnósticos para esquizofrenia^(106, 107), transtorno depressivo maior⁽¹⁰⁸⁾ entre outros, apresentam alterações de volumetria cerebral no córtex frontal e em outras regiões corticais. As síndromes decorrentes do uso danoso do álcool como a demência alcoólica ou síndrome de *Wernicke-Korsakoff* – causada pela carência de tiamina (vitamina

B1) – também provocam alterações estruturais no sistema nervoso central. Dessa forma, os critérios de exclusão para essa amostra eliminaram sujeitos com comprometimentos fisiológicos decorrentes do uso abusivo do álcool e com comorbidades psiquiátricas, uma vez que se poderia interpretar erroneamente as alterações volumétricas causadas por estas e outras psico e fisiopatologias, considerando-as como decorrentes dos efeitos neurotóxicos do álcool.

De acordo com os dados clínicos dos sujeitos da presente pesquisa, estes indivíduos apresentariam poucos prejuízos sociais e profissionais derivados do consumo nocivo do álcool, já que a maioria tinha emprego formal e poucos procuraram ajuda para tratar da dependência alcoólica. Estes dados corroboraram a tese de que os indivíduos procuram tratamento somente quando os prejuízos ocupacionais são mais severos⁽¹⁰⁵⁾, o que indicaria que a amostra representou pacientes com dependência moderada ou leve de álcool. No entanto, os resultados na escala de “fissura” (AUQ) mostraram que estes sujeitos poderiam sofrer agudamente com sintomas de fissura, apesar de terem apresentado um grau de dependência não tão grave.

Poucos estudos caracterizam sua amostra com esse perfil de sujeitos^(103, 104). Em geral, pesquisas nessa área utilizam pacientes abstinentes e em tratamento⁽⁵¹⁾, seja pela maior facilidade em recrutá-los -- dado que muitos centros de pesquisas estão ligados a hospitais universitários e centros de tratamentos --, seja por optarem em controlar os efeitos neurotóxicos agudos do álcool, buscando observar os danos mais permanentes ou duradouros sobre o cérebro. No entanto, dependentes de álcool em tratamento são, em geral, mais graves do que aqueles que não se encontram em tal situação, uma vez que a procura por tratamento deve-se a ocorrência de maiores prejuízos na vida social, familiar e laboral, além de apresentarem mais comorbidades psiquiátricas⁽¹⁰⁹⁻¹¹¹⁾. Optar por esse tipo de amostra parece apresentar algumas dificuldades, dado o número de candidatos recrutáveis para a pesquisa ser mais restrito, ou seja, encontrar sujeitos internados em clínicas psiquiátricas que não apresentem comorbidades psiquiátricas é uma tarefa difícil. Outro fator crítico é o aumento de variáveis de confusão, tais como alterações cerebrais

significativas causadas por outras patologias, por dependência de outras substâncias psicoativas ou em decorrência da síndrome de abstinência do álcool^(112, 113).

5.1.2 Metodologia para aquisição e processamento dos dados de neuroimagem

O presente estudo utilizou aparelho de ressonância magnética 3 *Tesla*. Até onde se sabe, esta é uma das poucas pesquisas com população dependente de álcool que fez uso deste tipo de aparelho, com campo magnético mais potente, dado que o mais comum é o uso de imagens de ressonância magnética adquiridas em equipamentos de 1,5 *Tesla*. O aparelho de 3 *Tesla* utilizado é mais rápido na aquisição de imagem e gera imagens com maior resolução espacial, garantindo maior nitidez^(114, 115).

O método semiautomatizado MIPS foi utilizado para o processamento dos dados de neuroimagem. Este método, que envolve o traçado manual das regiões de interesse, tem sido extensamente utilizado em pesquisas envolvendo diferentes populações, incluindo portadores de esquizofrenia, transtornos do humor, depressivo e bipolar, e transtorno do estresse pós-traumático⁽¹¹⁶⁻¹¹⁹⁾.

O método semiautomatizado (MIPS) aumenta a eficiência na segmentação por utilizar um *software* sofisticado, mas, ao mesmo tempo, necessita da *expertise* de um pesquisador treinado para fazer o delineamento das estruturas desejadas.

Em contraposição a esta metodologia, estão disponíveis, hoje em dia, métodos completamente automatizados para a realização de medidas volumétricas cerebrais, tais como *Voxel Based Morphometry* (VBM), *Tensor Based Morphometry* (TBM), *Deformation Based Morphometry* (DBM), *FreeSurfer*, entre outros. Tais métodos automatizados são mais rápidos e precisam de pouca supervisão humana no contorno das estruturas desejadas, o que permite maior reprodutibilidade, uma vez que estão sujeitos a uma menor

variabilidade, por não dependerem de execução humana⁽¹²⁰⁾.

Por outro lado, em um estudo, Oscar-Berman e Song⁽¹²⁰⁾ verificaram que o método automatizado *FreeSurfer* subestimou o volume do córtex cerebral em comparação com o método semiautomatizado *CMA System* (*Center of Morphometric Analysis*). Identificaram ainda que métodos automatizados são falhos para investigar perda de substância branca ou comprometimento subcortical, pois, não conseguem delimitar corretamente regiões subcorticais, nas quais as substâncias branca e cinzenta se misturam; podem, também, confundir deslocamento de tecido cerebral com perda do mesmo e classificar como substância cinzenta, regiões com anormalidade de substância branca, fato este bastante comum em pessoas idosas e com distúrbios psiquiátricos⁽¹²¹⁾. Os métodos automatizados não examinam corte a corte as regiões de interesse, ou seja, fazem uma análise aproximada e simplificada, ignorando o fato, por exemplo, de que os sulcos corticais têm grande variabilidade de trajetória⁽¹²²⁾.

Já os métodos semiautomatizados por serem manualmente supervisionados são menos suscetíveis à variação na qualidade da imagem, artefatos ou intensidade dos compartimentos de tecido cerebral, que tornam o delineamento das estruturas pouco claro^(120, 123). Além disso, permitem subdivisões de estruturas, como as realizadas no presente estudo com os ventrículos (os métodos automáticos não permitem a divisão dos ventrículos em cornos laterais, anteriores e temporais), assim como o delineamento preciso das AB. A identificação das AB é quase perfeitamente reproduzível, uma vez que o único passo que necessita de trabalho manual é o delineamento dos cortes coronais - procedimento simples e com alto índice de confiabilidade entre os pesquisadores¹¹³.

Uma desvantagem com relação ao método escolhido para esta dissertação é que a localização exata dos limites das AB depende da divisão em parcelas de um único cérebro por um anatomista especializado e não pode ter variação interindividual da localização das subdivisões citoarquitetônicas, além de consumir mais tempo do que os outros métodos¹¹³.

Ainda assim, apesar da grande quantidade de tempo gasto para a realização de traçados manuais, optou-se pelo método semiautomatizado MIPS.

5.2 Interpretação dos achados de alterações do volume cerebral total

O presente estudo verificou que o grupo DA apresentou alargamento dos sulcos corticais, uma vez que foi identificado um aumento de líquido cefalorraquidiano em todos os lobos cerebrais, com exceção do lobo temporal esquerdo que pareceu preservado dos efeitos neurotóxicos do álcool. Estudos de neuroimagem sugerem que o cérebro de indivíduos com dependência de álcool apresenta diminuição volumétrica quando comparado ao cérebro de indivíduos não dependentes, observada especialmente pelo alargamento dos ventrículos e sulcos corticais^(18, 45-48). É importante ressaltar que as áreas subcorticais, mais especificamente os ventrículos, não foram incluídas no cálculo e análise do volume total cerebral no presente estudo. Esse resultado reforça a hipótese de que alterações volumétricas cerebrais ocorrem em dependentes de álcool, mesmo em uma amostra de gravidade moderada desta patologia.

Este estudo constatou, também, a preservação do volume cerebral de substância cinzenta, quando realizada a análise sobre o cérebro como um todo. Entretanto, os resultados encontrados na literatura são controversos. Pesquisas com amostra de dependentes de álcool abstinentes^(46, 48, 124), verificaram aumento de líquido e diminuição do volume de substâncias cinzenta e branca. Fein⁽¹⁰⁴⁾ encontrou redução do volume de substância cinzenta, porém, não de substância branca, em indivíduos dependentes de álcool não abstinentes. Por sua vez, Di Sclafani e cols⁽¹²⁵⁾ não verificaram alterações volumétricas significativas, tanto corticalmente – pelo alargamento dos sulcos corticais – quanto subcorticalmente – pelo alargamento dos ventrículos. Acredita-se que as diferenças nos resultados dos diversos estudos dependam de vários fatores como: número de sujeitos na amostra, idade média da amostra, duração da abstinência ou ausência dela, quantidade de álcool

consumido ao longo da vida, entre outras variáveis. Achados em relação a alterações de substância branca são bastante controversos. Autores que tiveram como amostra dependentes de álcool em tratamento encontraram grandes mudanças volumétricas de substância branca^(126, 127), como Pfefferbaum e cols⁽⁴⁸⁾ que verificaram uma redução de 5% no volume total de substância branca. Já autores que investigaram amostra não abstinente, não observaram alterações⁽¹⁰⁴⁾.

Desse modo, acredita-se que esse compartimento do tecido cerebral é afetado em dependentes de álcool mais graves, como aqueles que apresentam história de convulsões ou que recebam tratamentos para a dependência^(46, 128).

Inicialmente, considerou-se que a desidratação, sempre presente em dependentes de álcool, pudesse ser responsável pelas alterações volumétricas cerebrais, uma vez que é sabido que a falta de água no organismo pode causar alterações tanto nas estruturas quanto em funções cerebrais⁽¹²⁹⁻¹³¹⁾. No entanto, diversos estudos mostraram que a desidratação não é o fator preponderante para as alterações cerebrais no caso do alcoolismo⁽¹³²⁻¹³⁴⁾.

Uma hipótese plausível para a preservação de substância branca e aumento de líquido, entre os indivíduos dependentes de álcool da presente amostra, seria o fato de que a substância branca sofre danos, porém, sua grande e rápida capacidade de regeneração conferiria novas arborizações neuronais e crescimento de células gliais^(135, 136).

De qualquer forma, a ausência de alterações de substância branca nessa amostra, assim como a preservação do córtex temporal em relação a todos os compartimentos de tecido cerebral, foi consistente com a hipótese de que alterações estruturais cerebrais em indivíduos não abstinentes, e que não receberam tratamento para essa dependência, seriam menos graves do que em amostra clínica.

Os itens seguintes trazem de forma mais detalhada as alterações sofridas pelos compartimentos de tecido cerebral, quando o cérebro foi dividido em subporções.

5.3 Ventrículos

Wobrock e colaboradores⁽⁵²⁾ verificaram que os ventrículos laterais em dependentes de álcool eram 30% maiores do que os de controles saudáveis^(53, 137), sendo que a abstinência prolongada do álcool reduziu 5% deste alargamento⁽¹³⁸⁾, apontando para a reversibilidade parcial dos danos às estruturas cerebrais⁽¹²⁷⁾.

Diferentemente de alguns resultados encontrados na literatura⁽⁴⁶⁾, este estudo não observou alterações volumétricas estatisticamente significantes dos cornos ventriculares entre os grupos. O resultado, tomado em conjunto com os resultados descritos no item anterior, indicou que este grupo de alcoolistas apresentou mais dilatação de sulcos corticais do que alargamento ventricular. Um dos possíveis motivos para tal dado deve-se ao perfil da amostra: dependentes menos graves e não abstinentes, em comparação com a literatura internacional, especialmente com amostras de pacientes abstinentes e/ou em tratamento.

Observou-se alargamento dos sulcos e menos atrofia subcortical, reiterando a hipótese de que as primeiras regiões a serem alteradas pelos efeitos neurotóxicos do álcool seriam as de maturação posterior. Assim, o aumento do volume de líquido seria específico ao alargamento de sulcos corticais. Wang e cols⁽¹³⁹⁾ encontraram resultados semelhantes ao verificarem que mesmo alcoolistas que não apresentavam alargamento significativo dos ventrículos possuíam atrofia dos sulcos corticais.

Esses achados confirmam a hipótese de que alterações nas estruturas cerebrais seriam menos severas em dependentes de álcool que nunca receberam tratamento do que em amostra em tratamento⁽¹⁰⁴⁾.

5.4 Interpretação dos achados de alterações volumétricas encontradas no lobo frontal e suas respectivas áreas de *Brodmann*

Alterações volumétricas do córtex pré-frontal, assim como déficits cognitivos na função executiva (memória de trabalho, atenção, ação não habitual e planejamento), são frequentemente relatadas na literatura, seja em amostra de dependentes de álcool não abstinentes^(54, 140, 141), seja em abstinentes^(52, 54, 142, 143), dada sua especial vulnerabilidade aos efeitos neurotóxicos desta substância.

Os resultados encontrados nesta pesquisa corroboraram os achados da literatura, já que o lobo frontal dos sujeitos do grupo DA sofreu alterações volumétricas importantes, havendo redução no volume de substância cinzenta e alargamento de sulcos corticais.

Diferentemente da presente dissertação, em geral, investigações sobre alterações estruturais nessa população não analisaram as respectivas sub-regiões (anterior, orbital e dorsolateral) do córtex pré-frontal. Até onde se sabe, este é o primeiro estudo de neuroimagem utilizando ressonância magnética estrutural, que buscou avaliar o impacto do etanol sobre as diferentes AB, permitindo ampliar a compreensão das microrregiões mais afetadas.

Verificou-se, então, que as sub-regiões mais afetadas foram a anterior e a dorsolateral. A área anterior teve redução de substância cinzenta e aumento dos sulcos corticais em ambos os hemisférios. A área dorsolateral, mais nova na escala do desenvolvimento maturacional, também sofreu reduções volumétricas de substância cinzenta no hemisfério esquerdo e alargamento dos sulcos corticais no hemisfério direito. Já a área pré-frontal mais antiga (orbital) permaneceu preservada de alterações nos compartimentos cerebrais no hemisfério direito, todavia, apresentou perda de substância cinzenta no hemisfério esquerdo. Os achados de alterações na área dorsolateral são confirmados pela literatura⁽¹⁴⁴⁾, como em Wobrock⁽⁵²⁾, que observou uma redução de mais de 10% no córtex pré-frontal de dependentes de álcool

quando comparados a controles saudáveis, e Chanraud⁽¹⁴⁴⁾, que verificou uma diminuição de 20% no volume da área dorsolateral.

Quando analisadas as AB, os achados também confirmaram a hipótese maturacional, em que as áreas anteriores e dorsolaterais sofreriam mais impacto do que a área orbital. As áreas mais afetadas foram as AB 8, 9 e 44, que apresentaram alterações em mais de um compartimento de tecido cerebral.

Pouco se sabe sobre a especificidade funcional de cada AB, porém, acredita-se que a AB 8 seja responsável pela movimentação ocular voluntária e, no plano cognitivo, pela administração de incertezas e tomada de decisões. A AB 9, por sua vez, parece ser responsável pela atenção e memória de trabalho. Por fim, a AB 44 faz parte da área de *Broca*, região envolvida na coordenação dos movimentos motores para a produção da fala. Os efeitos agudos mais comuns decorrentes da ingestão de bebidas alcoólicas em alta quantidade parecem estar ligados a estas áreas, tais como a dificuldade de julgamento e tomada de decisões, fala pastosa e visão turva.

Estudos utilizando outras técnicas de neuroimagem, especialmente aqueles ligados à observação do funcionamento cerebral como o *PET Scan*, verificaram diminuição do metabolismo cerebral nas regiões dorsolateral e medial (denominada anterior no presente estudo) mesmo em indivíduos com dependência de álcool sem complicações neurológicas ou psiquiátricas⁽¹⁴⁵⁾, sugerindo que as alterações funcionais poderiam ter início antes das estruturais. Porém, não foram encontradas pesquisas investigando alterações do metabolismo de glicose em diferentes AB.

Pesquisas longitudinais⁽⁵²⁾ mostraram que algumas alterações cerebrais relacionadas ao abuso do álcool são parcialmente reversíveis, especialmente em relação ao alargamento dos ventrículos. Por outro lado, parece que as alterações no córtex pré-frontal seriam mais permanentes⁽⁵²⁾ ou precisariam de abstinência prolongada para se notar alguma recuperação. De qualquer forma, estudos neuropatológicos^(35, 146), ou que utilizam neuroimagem⁽¹³⁴⁾, mostraram que tais alterações, bem como sua potencial reversibilidade, não se devem à

desidratação e à desnutrição, sugerindo que a toxicidade do etanol seja mais relevante neste processo.

Raz⁽¹⁴⁷⁾, por sua vez, trouxe uma contribuição interessante ao estudar alterações volumétricas cerebrais durante o processo de crescimento / envelhecimento do indivíduo. Ele verificou uma perda de 4,9% de substância cinzenta no córtex pré-frontal por década de vida. Para se ter um parâmetro de comparação, o lobo parietal sofre uma redução de 4,3% de substância cinzenta por década de vida e o hipocampo uma redução de 2% durante o mesmo período.

Sabe-se que as áreas subcorticais, como o hipotálamo, completam seu desenvolvimento primeiro do que as áreas corticais e, como Raz hipotetizou, são mais resistentes ao processo natural do envelhecimento do que as áreas mais sofisticadas do ponto de vista cognitivo, consequentemente de desenvolvimento tardio, caso do córtex pré-frontal.

Essa informação reforça a hipótese maturacional de que o córtex pré-frontal é a região mais sensível e vulnerável do cérebro como um todo. Desse modo, os efeitos neurotóxicos do álcool parecem ser catalisadores do processo do envelhecimento, por acelerarem as perdas de tecido cerebral, especialmente a substância cinzenta.

5.5 Interpretação dos achados de alterações volumétricas encontradas em outras regiões cerebrais

A área mais afetada no grupo DA foi o lobo parietal, apresentando um alargamento do espaço liquórico e redução de substância cinzenta. O lobo temporal permaneceu mais preservado do que as demais áreas, sugerindo uma capacidade de conservação maior do que as áreas frontais, mesmo diante de situações cronicamente neurotóxicas ⁽⁵²⁾.

A redução do volume de substância cinzenta no lobo parietal condiz com achados de limitações de habilidades visuo-espaciais e integração sensória⁽⁵¹⁾.

Acredita-se que essa redução no volume de substância cinzenta aconteça em decorrência da perda de neurônios, da atrofia do corpo celular neuronal, ou então, da redução do número de arborização dendrítica. Infelizmente, técnicas de neuroimagem não podem identificar a razão de tais alterações volumétricas, se decorrentes da morte neuronal ou somente da atrofia⁽¹⁴⁸⁾. Porém, acredita-se que a reversibilidade dos efeitos danosos do álcool sobre a substância cinzenta deve-se à capacidade dos neurônios sobreviventes de se remodelarem, aumentando a arborização dos dendritos⁽¹⁴⁹⁾.

Estudos de volumetria utilizando imagens de ressonância magnética mostraram uma redução de substância cinzenta entre alcoolistas não abstinentes, especialmente na sub-região dorsolateral do córtex pré-frontal e no córtex parietal^(46, 104). Verificaram também que a substância branca não sofreu alterações volumétricas⁽¹⁵⁰⁻¹⁵²⁾ e que o lobo temporal ficou preservado dos efeitos neurotóxicos do etanol^(46, 48). No presente trabalho observou-se que, à exceção do lobo parietal, a substância branca permaneceu preservada de modo homogêneo ao longo de todo o cérebro.

5.6 Interpretação dos achados de correlações entre variáveis clínicas e alterações volumétricas cerebrais

Em termos de instrumentos de avaliação, o estudo descrito nesta dissertação priorizou o uso do AUQ e da escala *Beck* para realizar as associações com as alterações cerebrais. Esta escolha deveu-se ao interesse em compreender se os efeitos agudos consequentes da ausência do álcool, como a gravidade dos sintomas de “fissura” e os sintomas depressivos, poderiam ter relação com as alterações cerebrais observadas. Alguns outros instrumentos consagrados, tais como *ASI*, *DRINC* e *CIWA-Ar* não foram utilizados nesta análise. Assim sendo, o estudo teve como limitação a impossibilidade de associar informações úteis e relevantes presentes nestas escalas. Por outro lado, a priorização de um conjunto restrito de variáveis clínicas permitiu que fossem demarcadas as testagens estatísticas repetidas

sobre uma mesma amostra, impedindo o aumento do risco de correlações significativas ao acaso (erro tipo I).

A Regressão Linear Múltipla mostrou uma associação negativa entre a escala de “fissura” e a substância branca na AB 9 do hemisfério direito. Foi observada também associação positiva significativa entre a presença de sintomas depressivos avaliados pela escala *Beck* e a substância branca na AB 46. Os achados obtidos não foram considerados relevantes e merecedores de atenção, dado que as associações foram evidenciadas apenas com o compartimento de substância branca, enquanto os demais resultados indicaram que esse compartimento de tecido cerebral manteve-se praticamente intacto.

5.7 Limitações

O presente desenho do estudo não possibilitou que se estabelecessem relações causais, ou seja, não permitiu expressar a existência de uma sequência temporal entre a exposição ao álcool e as alterações volumétricas cerebrais, já que não se tratou de um estudo longitudinal.

Como já dito no item 5.1. não foi possível generalizar os resultados obtidos para todos os graus de dependência de álcool, tampouco identificar diferenças entre danos cerebrais agudos, consequentemente potencialmente reversíveis, e danos mais duradouros.

Um aspecto peculiar do presente estudo foi o uso de um banco de dados de neuroimagem oriundo de um ensaio clínico, realizado nos Estados Unidos, por um grupo de pesquisadores sediados no *Mount Sinai School of Medicine*, em Nova Iorque. O acesso a bancos de dados coletados em outras instituições vem se tornando uma prática comum nas neurociências contemporâneas. Uma das vantagens deste tipo de iniciativa é permitir que hipóteses sejam testadas rapidamente por grupos de pesquisadores interessados na área, sem que novas amostras precisem ser coletadas. Um exemplo pioneiro deste tipo é dado pelo consórcio *Alzheimer's Disease Neuroimaging INitiative* (ADNI), que

permite que pesquisadores do mundo todo tenham acesso, de forma ágil, a um repositório de dados produzido por um conjunto seletivo de centros de pesquisa internacionais (<http://www.adni-info.org>)⁽¹⁵³⁾.

Por outro lado, a utilização de bancos de dados previamente coletados também apresenta limitações. No nosso caso, por exemplo, não nos foi possível analisar escalas de avaliação de sintomas que permitissem a documentação de dados adicionais a respeito dos pacientes alcoolistas, considerados por nós relevantes, tais como *ASI*, *DRINC* e *CIWA-Ar*. Além disso, o ensaio clínico que funcionou como matriz do presente projeto de pesquisa ainda não foi concluído em todas as suas etapas de análise de dados. Esta latência na liberação de alguns dos resultados, fora do controle da nossa equipe, impediu, no momento da conclusão deste trabalho, que tivéssemos uma visão global dos resultados do programa de pesquisa. Nosso acesso aos dados clínicos finais deverá ocorrer em breve, o que permitirá usufruir de informações adicionais, que contribuirão para um aprofundamento da interpretação dos nossos resultados, entre as quais: dados a respeito de recusas e *drop-outs* do ensaio clínico e dados a respeito da resposta terapêutica dos indivíduos alcoolistas que permaneceram em tratamento ao longo de todo o estudo.

5.8 Conclusão e perspectivas futuras

No presente estudo, foram verificadas alterações volumétricas cerebrais especialmente em áreas pré-frontais, consideradas mais jovens do ponto de vista da escala maturacional e, conseqüentemente, mais vulneráveis aos efeitos do etanol.

O mecanismo exato que causa danos cerebrais, porém, permaneceu desconhecido. No entanto, os efeitos neurotóxicos do álcool poderiam ser responsáveis por diversas anormalidades estruturais e funcionais. Devido à capacidade neurodegenerativa parcial do cérebro durante a abstinência, uma parte dos déficits pareceu ser neuroquímica, enquanto que a perda neuronal

em algumas regiões cerebrais aparentou ser permanente e irreversível⁽¹²⁷⁾. Além disso, observou-se que, mesmo em grau leve, a dependência alcoólica gerou comprometimento cerebral importante.

Foi possível confirmar a hipótese inicial de que as áreas filogeneticamente jovens seriam mais sensíveis e vulneráveis à neurotoxicidade de substâncias, no caso, o álcool, o qual, por sua vez, aceleraria o processo natural do envelhecimento, implicando perdas de substância cinzenta, principalmente nas áreas cognitivamente mais sofisticadas, especialmente no córtex pré-frontal.

Estudos mostram⁽¹³⁹⁾ que alcoolistas neurologicamente intactos e com baixa atrofia cerebral e pouco alargamento ventricular, apresentam significativa redução do metabolismo de glicose cerebral, sugerindo que efeitos neurotóxicos do etanol primeiro induziriam mudanças no metabolismo cerebral, antes de acontecerem alterações estruturais.

Pode ser que a amostra de dependentes de álcool do presente estudo faça parte deste grupo que apresentou mais alterações metabólicas do que estruturais. Desse modo, buscaremos investigar as imagens geradas por *PET Scan* para compará-las com as imagens de ressonância magnética, assim como aplicar escalas de avaliação cognitivas.

Outro objetivo para estudos futuros é replicar a pesquisa com a população brasileira, a fim de caracterizar a amostra e verificar semelhanças e diferenças nos resultados e, com isso, generalizar os achados obtidos na amostra norte-americana para o Brasil.

6 REFERÊNCIAS

1. (W.H.O.) WHO. Global Status Report on Alcohol 2004. Geneva: World Health Organization; 2004.
2. Gallassi AD. Analise do custo social do uso do alcool no Brasil no ano de 2007. Sao Paulo: Universidade de Sao Paulo; 2010.
3. Rehm J, Mathers C, Popova S, Thavorncharoensap M, Teerawattananon Y, Patra J. Global burden of disease and injury and economic cost attributable to alcohol use and alcohol-use disorders. *Lancet*. 2009;373(9682):2223-33. Epub 2009/06/30.
4. Galduroz JC, Caetano R. [Epidemiology of alcohol use in Brazil]. *Rev Bras Psiquiatr*. 2004;26 Suppl 1:S3-6. Epub 2005/02/25. Epidemiologia do uso de alcool no Brasil.
5. Silveira CM, Viana MC, Siu ER, de Andrade AG, Anthony JC, Andrade LH. Sociodemographic correlates of transitions from alcohol use to disorders and remission in the Sao Paulo megacity mental health survey, Brazil. *Alcohol Alcohol*. 2011;46(3):324-32. Epub 2011/03/19.
6. Galduroz JC, Carlini EA. Use of alcohol among the inhabitants of the 107 largest cities in Brazil--2001. *Braz J Med Biol Res*. 2007;40(3):367-75. Epub 2007/03/06.
7. (W.H.O.) WHO. Global Status Report on Alcohol 1999. Geneva: World Health Organization, 1999.
8. MacDonald TK, Fong GT, Zanna MP, Martineau AM. Alcohol myopia and condom use: can alcohol intoxication be associated with more prudent behavior? *J Pers Soc Psychol*. 2000;78(4):605-19. Epub 2000/05/04.
9. MacDonald TK, Zanna MP, Fong GT. Decision making in altered states: effects of alcohol on attitudes toward drinking and driving. *J Pers Soc Psychol*. 1995;68(6):973-85. Epub 1995/06/01.
10. Carlini-Cotrim B, da Matta Chasin AA. Blood alcohol content and death from fatal injury: a study in the metropolitan area of Sao Paulo, Brazil. *J Psychoactive Drugs*. 2000;32(3):269-75. Epub 2000/11/04.
11. Murdoch D, Pihl RO, Ross D. Alcohol and crimes of violence: present issues. *Int J Addict*. 1990;25(9):1065-81. Epub 1990/09/01.
12. Pernaenen K. Causal attributions in the explanation of alcohol-related accidents. *Addiction*. 1993;88(7):897-906. Epub 1993/07/01.
13. Li TK. Quantifying the risk for alcohol-use and alcohol-attributable health disorders: present findings and future research needs. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2008;23 Suppl 1:S2-8. Epub 2008/04/11.
14. Grant BF, Dufour MC, Harford TC. Epidemiology of alcoholic liver disease. *Semin Liver Dis*. 1988;8(1):12-25.
15. Whitmore CC, Stinson FS, Dufour MC. Surveillance Report No. 50: Trends in Alcohol-Related Morbidity Among Short-Stay Community Hospital Discharges, United States, 1979-97. Bethesda: National Institute on Alcohol

Abuse and Alcoholism, Division of Biometry and Epidemiology, 1999.

16. Shaheen NJ, Hansen RA, Morgan DR, Gangarosa LM, Ringel Y, Thiny MT, et al. The burden of gastrointestinal and liver diseases, 2006. *Am J Gastroenterol*. 2006;101(9):2128-38.
17. Andrade L, Walters EE, Gentil V, Laurenti R. Prevalence of ICD-10 mental disorders in a catchment area in the city of Sao Paulo, Brazil. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*. 2002;37(7):316-25. Epub 2002/07/12.
18. Diamond I, Messing RO. Neurologic effects of alcoholism. *West J Med*. 1994;161(3):279-87. Epub 1994/09/01.
19. Tuck RR, Jackson M. Social, neurological and cognitive disorders in alcoholics. *Med J Aust*. 1991;155(4):225-9.
20. Adams KM, Gilman S, Koeppe RA, Kluin KJ, Brunberg JA, Dede D, et al. Neuropsychological deficits are correlated with frontal hypometabolism in positron emission tomography studies of older alcoholic patients. *Alcohol Clin Exp Res*. 1993;17(2):205-10.
21. Ciesielski KT, Waldorf AV, Jung RE, Jr. Anterior brain deficits in chronic alcoholism. Cause or effect? *J Nerv Ment Dis*. 1995;183(12):756-61.
22. Giancola PR, Moss HB. Executive cognitive functioning in alcohol use disorders. *Recent Dev Alcohol*. 1998;14:227-51.
23. Ratti MT, Soragna D, Sibilla L, Giardini A, Albergati A, Savoldi F, et al. Cognitive impairment and cerebral atrophy in "heavy drinkers". *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 1999;23(2):243-58.
24. Ratti MT, Bo P, Giardini A, Soragna D. Chronic alcoholism and the frontal lobe: which executive functions are impaired? *Acta Neurol Scand*. 2002;105(4):276-81.
25. Nicastri S. Abuso de Substancias e Dependencias Quimicas: Conceitos Gerais. In: Silva MRe, editor. *Fisiopatologia dos Transtornos Psiquiatricos*. 1 ed. Sao Paulo: Atheneu; 2006. p. 301.
26. (W.H.O.) WHO. Classificação de transtornos mentais e de comportamento: CID-10. Porto Alegre: Artes Médicas; 1993.
27. (APA) APA. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. 4th ed. Washington D.C: American Psychiatric Association; 1994.
28. Koob GF, Volkow ND. Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology*. 2010;35(1):217-38. Epub 2009/08/28.
29. Crews FT, Zou J, Qin L. Induction of innate immune genes in brain create the neurobiology of addiction. *Brain, behavior, and immunity*. 2011. Epub 2011/03/16.
30. Alfonso-Loeches S, Guerri C. Molecular and behavioral aspects of the actions of alcohol on the adult and developing brain. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2011;48(1):19-47. Epub 2011/06/11.
31. Robinson TE, Berridge KC. Addiction. *Annu Rev Psychol*. 2003;54:25-53. Epub 2002/08/20.

32. Spanagel R. Alcoholism: a systems approach from molecular physiology to addictive behavior. *Physiol Rev.* 2009;89(2):649-705. Epub 2009/04/04.
33. De Petrocellis L, Cascio MG, Di Marzo V. The endocannabinoid system: a general view and latest additions. *Br J Pharmacol.* 2004;141(5):765-74. Epub 2004/01/28.
34. Christie MJ, Vaughan CW. Neurobiology Cannabinoids act backwards. *Nature.* 2001;410(6828):527-30. Epub 2001/03/30.
35. Harper CG, Blumbergs PC. Brain weights in alcoholics. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1982;45(9):838-40. Epub 1982/09/01.
36. Harper CG, Kril JJ, Holloway RL. Brain shrinkage in chronic alcoholics: a pathological study. *British medical journal (Clinical research ed.* 1985;290(6467):501-4.
37. Torvik A. Brain lesions in alcoholics: neuropathological observations. *Acta Med Scand Suppl.* 1987;717:47-54. Epub 1987/01/01.
38. Harper C, Kril J, Daly J. Are we drinking our neurones away? *British medical journal (Clinical research ed.* 1987;294(6571):534-6.
39. Harper C, Kril J. Brain atrophy in chronic alcoholic patients: a quantitative pathological study. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry.* 1985;48(3):211-7.
40. Crews FT, Nixon K. Mechanisms of neurodegeneration and regeneration in alcoholism. *Alcohol Alcohol.* 2009;44(2):115-27. Epub 2008/10/23.
41. Korbo L. Glial cell loss in the hippocampus of alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res.* 1999;23(1):164-8. Epub 1999/02/24.
42. Crippa JAS, Busatto G, McGuire PK. Achados de neuroimagem nos transtornos de ansiedade. In: Atheneu, editor. *Transtornos de ansiedade.* Rio de Janeiro 2003. p. 133-67.
43. Busatto G, Garrido GG, Crippa JAS. Neuroimagem em Psiquiatria. In: Artmed, editor. *Bases Biológicas dos Transtornos Psiquiátricos.* 2nd ed. Porto Alegre 2003. p. 157-69.
44. Ashburner J, Friston KJ. Voxel-based morphometry--the methods. *Neuroimage.* 2000;11(6 Pt 1):805-21. Epub 2000/06/22.
45. Jernigan TL, Schafer K, Butters N, Cermak LS. Magnetic resonance imaging of alcoholic Korsakoff patients. *Neuropsychopharmacology.* 1991;4(3):175-86.
46. Jernigan TL, Butters N, DiTraglia G, Schafer K, Smith T, Irwin M, et al. Reduced cerebral grey matter observed in alcoholics using magnetic resonance imaging. *Alcohol Clin Exp Res.* 1991;15(3):418-27. Epub 1991/06/01.
47. Hayakawa K, Kumagai H, Suzuki Y, Furusawa N, Haga T, Hoshi T, et al. MR imaging of chronic alcoholism. *Acta radiologica (Stockholm, Sweden.* 1992;33(3):201-6.
48. Pfefferbaum A, Lim KO, Zipursky RB, Mathalon DH, Rosenbloom MJ, Lane B, et al. Brain gray and white matter volume loss accelerates with aging in chronic alcoholics: a quantitative MRI study. *Alcohol Clin Exp Res.*

1992;16(6):1078-89. Epub 1992/12/01.

49. Elkis H. A Síndrome Psicorgânica Alcoolica :Estudo Clínico Psicométrico e Tomográfico Doutorado. São Paulo: Universidade de São Paulo (USP); 1988.
50. Elkis H. Neuroimagem em psiquiatria: achados recentes de alteracoes estruturais no alcoolismo, esquizofrenia e transtornos do humor. Revista Psiquiatria Clínica. 1996;23/24 (4/3):18-23.
51. Sullivan EV, Rosenbloom MJ, Lim KO, Pfefferbaum A. Longitudinal changes in cognition, gait, and balance in abstinent and relapsed alcoholic men: relationships to changes in brain structure. Neuropsychology. 2000;14(2):178-88. Epub 2000/05/03.
52. Wobrock T, Falkai P, Schneider-Axmann T, Frommann N, Wolwer W, Gaebel W. Effects of abstinence on brain morphology in alcoholism: a MRI study. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci. 2009;259(3):143-50. Epub 2009/01/24.
53. Gurling HM, Reveley MA, Murray RM. Increased cerebral ventricular volume in monozygotic twins discordant for alcoholism. Lancet. 1984;1(8384):986-8. Epub 1984/05/05.
54. Pfefferbaum A, Sullivan EV, Mathalon DH, Lim KO. Frontal lobe volume loss observed with magnetic resonance imaging in older chronic alcoholics. Alcohol Clin Exp Res. 1997;21(3):521-9. Epub 1997/05/01.
55. Ratti MT, Soragna D, Sibilla L, Giardini A, Albergati A, Savoldi F, et al. Cognitive impairment and cerebral atrophy in "heavy drinkers". Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 1999;23(2):243-58. Epub 1999/06/16.
56. Fein G, Shimotsu R, Chu R, Barakos J. Parietal gray matter volume loss is related to spatial processing deficits in long-term abstinent alcoholic men. Alcohol Clin Exp Res. 2009;33(10):1806-14. Epub 2009/08/04.
57. Cardenas VA, Studholme C, Gazdzinski S, Durazzo TC, Meyerhoff DJ. Deformation-based morphometry of brain changes in alcohol dependence and abstinence. Neuroimage. 2007;34(3):879-87. Epub 2006/11/28.
58. Shear PK, Sullivan EV, Lane B, Pfefferbaum A. Mammillary body and cerebellar shrinkage in chronic alcoholics with and without amnesia. Alcoholism, clinical and experimental research. 1996;20(8):1489-95.
59. Sullivan EV, Deshmukh A, Desmond JE, Mathalon DH, Rosenbloom MJ, Lim KO, et al. Contribution of alcohol abuse to cerebellar volume deficits in men with schizophrenia. Archives of general psychiatry. 2000;57(9):894-902.
60. Pfefferbaum A, Sullivan EV, Rosenbloom MJ, Mathalon DH, Lim KO. A controlled study of cortical gray matter and ventricular changes in alcoholic men over a 5-year interval. Archives of general psychiatry. 1998;55(10):905-12.
61. Hommer D, Momenan R, Rawlings R, Ragan P, Williams W, Rio D, et al. Decreased corpus callosum size among alcoholic women. Archives of neurology. 1996;53(4):359-63.
62. Sullivan EV, Mathalon DH, Lim KO, Marsh L, Pfefferbaum A. Patterns of regional cortical dysmorphology distinguishing schizophrenia and chronic alcoholism. Biol Psychiatry. 1998;43(2):118-31.

63. Pfefferbaum A, Sullivan EV, Mathalon DH, Lim KO. Frontal lobe volume loss observed with magnetic resonance imaging in older chronic alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res*. 1997;21(3):521-9.
64. De Bellis MD, Narasimhan A, Thatcher DL, Keshavan MS, Soloff P, Clark DB. Prefrontal cortex, thalamus, and cerebellar volumes in adolescents and young adults with adolescent-onset alcohol use disorders and comorbid mental disorders. *Alcohol Clin Exp Res*. 2005;29(9):1590-600.
65. Pfefferbaum A, Lim KO, Zipursky RB, Mathalon DH, Rosenbloom MJ, Lane B, et al. Brain gray and white matter volume loss accelerates with aging in chronic alcoholics: a quantitative MRI study. *Alcohol Clin Exp Res*. 1992;16(6):1078-89.
66. Terry RD, DeTeresa R, Hansen LA. Neocortical cell counts in normal human adult aging. *Ann Neurol*. 1987;21(6):530-9.
67. Resnick SM, Pham DL, Kraut MA, Zonderman AB, Davatzikos C. Longitudinal magnetic resonance imaging studies of older adults: a shrinking brain. *J Neurosci*. 2003;23(8):3295-301.
68. Grieve SM, Clark CR, Williams LM, Peduto AJ, Gordon E. Preservation of limbic and paralimbic structures in aging. *Hum Brain Mapp*. 2005;25(4):391-401.
69. Fuster JM. Frontal lobe and cognitive development. *J Neurocytol*. 2002;31(3-5):373-85.
70. Fuster JM. Frontal lobe and cognitive development. *J Neurocytol*. 2002;31(3-5):373-85. Epub 2003/06/20.
71. Sowell ER, Thompson PM, Holmes CJ, Jernigan TL, Toga AW. In vivo evidence for post-adolescent brain maturation in frontal and striatal regions. *Nat Neurosci*. 1999;2(10):859-61. Epub 1999/09/24.
72. Fuster JM. The prefrontal cortex--an update: time is of the essence. *Neuron*. 2001;30(2):319-33. Epub 2001/06/08.
73. Grieve SM, Clark CR, Williams LM, Peduto AJ, Gordon E. Preservation of limbic and paralimbic structures in aging. *Hum Brain Mapp*. 2005;25(4):391-401. Epub 2005/04/27.
74. Cunha PJ, Novaes MA. [Neurocognitive assessment in alcohol abuse and dependence: implications for treatment]. *Rev Bras Psiquiatr*. 2004;26 Suppl 1:S23-7. Epub 2005/02/25. Avaliacao neurocognitiva no abuso e dependencia do alcool: implicacoes para o tratamento.
75. Roehrich L, Goldman MS. Experience-dependent neuropsychological recovery and the treatment of alcoholism. *J Consult Clin Psychol*. 1993;61(5):812-21. Epub 1993/10/01.
76. Allen DN, Goldstein G, Seaton BE. Cognitive rehabilitation of chronic alcohol abusers. *Neuropsychol Rev*. 1997;7(1):21-39. Epub 1997/03/01.
77. Bechara A, Dolan S, Denburg N, Hindes A, Anderson SW, Nathan PE. Decision-making deficits, linked to a dysfunctional ventromedial prefrontal cortex, revealed in alcohol and stimulant abusers. *Neuropsychologia*. 2001;39(4):376-89. Epub 2001/02/13.

78. Heffernan TM, Moss M, Ling J. Subjective ratings of prospective memory deficits in chronic heavy alcohol users. *Alcohol Alcohol*. 2002;37(3):269-71. Epub 2002/05/11.
79. Hoyer D, Schoeffer P, Waeber C, Palacios JM. Serotonin 5-HT_{1D} receptors. *Ann N Y Acad Sci*. 1990;600:168-81; discussion 81-2. Epub 1990/01/01.
80. Sanders-Bush E, Tsutsumi M, Burris KD. Serotonin receptors and phosphatidylinositol turnover. *Ann N Y Acad Sci*. 1990;600:224-35; discussion 35-6. Epub 1990/01/01.
81. Hamik A, Peroutka SJ. 1-(m-chlorophenyl)piperazine (mCPP) interactions with neurotransmitter receptors in the human brain. *Biol Psychiatry*. 1989;25(5):569-75. Epub 1989/03/01.
82. Kahn RS, Wetzler S. m-Chlorophenylpiperazine as a probe of serotonin function. *Biol Psychiatry*. 1991;30(11):1139-66. Epub 1991/12/01.
83. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 1975;12(3):189-98. Epub 1975/11/01.
84. Michael B, Spitzer RL, Gibbon M, Williams JBW. Structured Clinical Interview for DSM-IV-TR Axis I Disorders, Research Version, Patient Edition (SCID-I/P). Research B, editor. New York: New York State Psychiatric Institute; 2002.
85. McLellan AT, Kushner H, Metzger D, Peters R, Smith I, Grissom G, et al. The Fifth Edition of the Addiction Severity Index. *J Subst Abuse Treat*. 1992;9(3):199-213. Epub 1992/01/01.
86. Bohn MJ, Krahn DD, Staehler BA. Development and initial validation of a measure of drinking urges in abstinent alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res*. 1995;19(3):600-6. Epub 1995/06/01.
87. Sullivan JT, Sykora K, Schneiderman J, Naranjo CA, Sellers EM. Assessment of alcohol withdrawal: the revised clinical institute withdrawal assessment for alcohol scale (CIWA-Ar). *Br J Addict*. 1989;84(11):1353-7. Epub 1989/11/01.
88. Miller WR, J. S. Tonigan, et al. The Drinker Inventory of Consequences (DrlnC): An Instrument for Assessing Adverse Consequences of Alcohol Abuse. Rockville: Department of Health and Human Services.; 1995.
89. Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J, Erbaugh J. An inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatry*. 1961;4:561-71. Epub 1961/06/01.
90. Beck AT. Depression: Causes and Treatment. Philadelphia: University of Pennsylvania Press; 1996.
91. First MB, Spitzer RL, Gibbon M, Williams JB. Structured Clinical Interview for DSM-IX Axis I Disorders - Patient Edition (SCID-I/P) Version 2.0. New York: Biometrics Research Department, New York State, Psychiatric Institute; 1996.
92. Schulz KF, Grimes DA. Case-control studies: research in reverse. *Lancet*. 2002;359(9304):431-4. Epub 2002/02/15.

93. Lwanga SKL, S. Sample size determination in health studies: a practical manual. Geneva: World Health Organization; 1991.
94. Schlesselman JJ. Case-control studies: design, conduct, analysis. New York: Oxford University Press; 1982.
95. Byne W, Buchsbaum MS, Kemether E, Hazlett EA, Shinwari A, Mitropoulou V, et al. Magnetic resonance imaging of the thalamic mediodorsal nucleus and pulvinar in schizophrenia and schizotypal personality disorder. *Arch Gen Psychiatry*. 2001;58(2):133-40. Epub 2001/02/15.
96. Buchsbaum MS, Yang S, Hazlett E, Siegel BV, Jr., Germans M, Haznedar M, et al. Ventricular volume and asymmetry in schizotypal personality disorder and schizophrenia assessed with magnetic resonance imaging. *Schizophr Res*. 1997;27(1):45-53. Epub 1997/11/28.
97. Mitelman SA, Brickman AM, Shihabuddin L, Newmark R, Chu KW, Buchsbaum MS. Correlations between MRI-assessed volumes of the thalamus and cortical Brodmann's areas in schizophrenia. *Schizophr Res*. 2005;75(2-3):265-81. Epub 2005/05/12.
98. Buchsbaum MS, Nenadic I, Hazlett EA, Spiegel-Cohen J, Fleischman MB, Akhavan A, et al. Differential metabolic rates in prefrontal and temporal Brodmann areas in schizophrenia and schizotypal personality disorder. *Schizophr Res*. 2002;54(1-2):141-50. Epub 2002/02/21.
99. Hazlett EA, Buchsbaum MS, Byne W, Wei TC, Spiegel-Cohen J, Geneve C, et al. Three-dimensional analysis with MRI and PET of the size, shape, and function of the thalamus in the schizophrenia spectrum. *Am J Psychiatry*. 1999;156(8):1190-9. Epub 1999/08/18.
100. Perry RH. Coronal Atlas. Mount Sinai School of Medicine 1993.
101. Mitelman SA, Buchsbaum MS, Brickman AM, Shihabuddin L. Cortical intercorrelations of frontal area volumes in schizophrenia. *Neuroimage*. 2005;27(4):753-70. Epub 2005/07/02.
102. Mitelman SA, Shihabuddin L, Brickman AM, Hazlett EA, Buchsbaum MS. MRI assessment of gray and white matter distribution in Brodmann's areas of the cortex in patients with schizophrenia with good and poor outcomes. *Am J Psychiatry*. 2003;160(12):2154-68. Epub 2003/11/26.
103. Smith S, Fein G. Cognitive performance in treatment-naive active alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res*. 2010;34(12):2097-105. Epub 2010/09/24.
104. Fein G, Di Sclafani V, Cardenas VA, Goldmann H, Tolou-Shams M, Meyerhoff DJ. Cortical gray matter loss in treatment-naive alcohol dependent individuals. *Alcohol Clin Exp Res*. 2002;26(4):558-64. Epub 2002/05/01.
105. Cohen E, Feinn R, Arias A, Kranzler HR. Alcohol treatment utilization: findings from the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. *Drug Alcohol Depend*. 2007;86(2-3):214-21. Epub 2006/08/22.
106. Kawasaki Y, Suzuki M, Nohara S, Hagino H, Takahashi T, Matsui M, et al. Structural brain differences in patients with schizophrenia and schizotypal disorder demonstrated by voxel-based morphometry. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2004;254(6):406-14. Epub 2004/11/13.

107. Suzuki M, Zhou SY, Takahashi T, Hagino H, Kawasaki Y, Niu L, et al. Differential contributions of prefrontal and temporolimbic pathology to mechanisms of psychosis. *Brain*. 2005;128(Pt 9):2109-22. Epub 2005/06/03.
108. Cheng YQ, Xu J, Chai P, Li HJ, Luo CR, Yang T, et al. Brain volume alteration and the correlations with the clinical characteristics in drug-naïve first-episode MDD patients: a voxel-based morphometry study. *Neurosci Lett*. 2010;480(1):30-4. Epub 2010/07/03.
109. Tucker JA, Vuchinich RE, Rippens PD. Different variables are associated with help-seeking patterns and long-term outcomes among problem drinkers. *Addict Behav*. 2004;29(2):433-9. Epub 2004/01/21.
110. Gazdzinski S, Durazzo TC, Weiner MW, Meyerhoff DJ. Are treated alcoholics representative of the entire population with alcohol use disorders? A magnetic resonance study of brain injury. *Alcohol*. 2008;42(2):67-76. Epub 2008/03/25.
111. Lloyd JJ, Chen CY, Storr CL, Anthony JC. Clinical features associated with receipt of alcohol treatment. *J Stud Alcohol*. 2004;65(6):750-7. Epub 2005/02/11.
112. Bjork JM, Grant SJ, Hommer DW. Cross-sectional volumetric analysis of brain atrophy in alcohol dependence: effects of drinking history and comorbid substance use disorder. *Am J Psychiatry*. 2003;160(11):2038-45. Epub 2003/11/05.
113. Sameti M, Smith S, Patenaude B, Fein G. Subcortical volumes in long-term abstinent alcoholics: associations with psychiatric comorbidity. *Alcohol Clin Exp Res*. 2011;35(6):1067-80. Epub 2011/02/22.
114. Di Perri C, Dwyer MG, Wack DS, Cox JL, Hashmi K, Saluste E, et al. Signal abnormalities on 1.5 and 3 Tesla brain MRI in multiple sclerosis patients and healthy controls. A morphological and spatial quantitative comparison study. *Neuroimage*. 2009;47(4):1352-62. Epub 2009/04/18.
115. K S. 3-tesla MRI bests 1.5-tesla in body and brain. 2001 [cited 2011 outubro]; Available from: <http://www.diagnosticimaging.com/dimag/legacy/advancedMR/3tmri.html>.
116. Mitelman SA, Canfield EL, Brickman AM, Shihabuddin L, Hazlett EA, Buchsbaum MS. Progressive ventricular expansion in chronic poor-outcome schizophrenia. *Cogn Behav Neurol*. 2010;23(2):85-8. Epub 2010/06/11.
117. Goldstein KE, Hazlett EA, New AS, Haznedar MM, Newmark RE, Zelmanova Y, et al. Smaller superior temporal gyrus volume specificity in schizotypal personality disorder. *Schizophr Res*. 2009;112(1-3):14-23. Epub 2009/05/29.
118. Hazlett EA, Buchsbaum MS, Byne W, Wei TC, Spiegel-Cohen J, Geneve C, et al. Three-dimensional analysis with MRI and PET of the size, shape, and function of the thalamus in the schizophrenia spectrum. *Am J Psychiatry*. 1999;156(8):1190-9. Epub 1999/08/18.
119. Buchsbaum MS, Hazlett EA. Functional brain imaging and aging in schizophrenia. *Schizophr Res*. 1997;27(2-3):129-41. Epub 1998/01/07.
120. Oscar-Berman M, Song J. Brain volumetric measures in alcoholics: a

comparison of two segmentation methods. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2011;7:65-75. Epub 2011/03/25.

121. Cardenas VA, Boxer AL, Chao LL, Gorno-Tempini ML, Miller BL, Weiner MW, et al. Deformation-based morphometry reveals brain atrophy in frontotemporal dementia. *Arch Neurol*. 2007;64(6):873-7. Epub 2007/06/15.

122. Crespo-Facorro B, Kim J, Andreasen NC, Spinks R, O'Leary DS, Bockholt HJ, et al. Cerebral cortex: a topographic segmentation method using magnetic resonance imaging. *Psychiatry Res*. 2000;100(2):97-126. Epub 2000/12/15.

123. Buchsbaum MS, Nenadic I, Hazlett EA, Spiegel-Cohen J, Fleischman MB, Akhavan A, et al. Differential metabolic rates in prefrontal and temporal Brodmann areas in schizophrenia and schizotypal personality disorder. *Schizophr Res*. 2002;54(1-2):141-50. Epub 2002/02/21.

124. Pfefferbaum A, Ford JM, White PM, Mathalon D. Event-related potentials in alcoholic men: P3 amplitude reflects family history but not alcohol consumption. *Alcohol Clin Exp Res*. 1991;15(5):839-50. Epub 1991/10/01.

125. Di Sclafani V, Ezekiel F, Meyerhoff DJ, MacKay S, Dillon WP, Weiner MW, et al. Brain atrophy and cognitive function in older abstinent alcoholic men. *Alcohol Clin Exp Res*. 1995;19(5):1121-6. Epub 1995/10/01.

126. Sullivan EV, Marsh L, Mathalon DH, Lim KO, Pfefferbaum A. Anterior hippocampal volume deficits in nonamnesic, aging chronic alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res*. 1995;19(1):110-22. Epub 1995/02/01.

127. Kril JJ, Halliday GM. Brain shrinkage in alcoholics: a decade on and what have we learned? *Prog Neurobiol*. 1999;58(4):381-7. Epub 1999/06/15.

128. Sullivan EV, Marsh L, Mathalon DH, Lim KO, Pfefferbaum A. Relationship between alcohol withdrawal seizures and temporal lobe white matter volume deficits. *Alcohol Clin Exp Res*. 1996;20(2):348-54. Epub 1996/04/01.

129. Kempton MJ, Ettinger U, Schmechtig A, Winter EM, Smith L, McMorris T, et al. Effects of acute dehydration on brain morphology in healthy humans. *Hum Brain Mapp*. 2009;30(1):291-8. Epub 2007/12/08.

130. Kempton MJ, Ettinger U, Foster R, Williams SC, Calvert GA, Hampshire A, et al. Dehydration affects brain structure and function in healthy adolescents. *Hum Brain Mapp*. 2011;32(1):71-9. Epub 2010/03/26.

131. Duning T, Kloska S, Steinstrater O, Kugel H, Heindel W, Knecht S. Dehydration confounds the assessment of brain atrophy. *Neurology*. 2005;64(3):548-50. Epub 2005/02/09.

132. Claus D, Wille HJ, Neundorfer B, Gmelin E. [Is the increase in brain volume of abstinent alcoholics a sequela of rehydration?]. *Klin Wochenschr*. 1987;65(4):185-93. Epub 1987/02/16. Ist eine Zunahme des Hirnvolumens abstinenter Alkoholiker Rehydratationsfolge?

133. Tang M, Falk JL. Chronic alcohol dependence and water-electrolyte status. *Alcohol*. 1986;3(1):33-7. Epub 1986/01/01.

134. Schroth G, Naegele T, Klose U, Mann K, Petersen D. Reversible brain

shrinkage in abstinent alcoholics, measured by MRI. *Neuroradiology*. 1988;30(5):385-9. Epub 1988/01/01.

135. Bartsch AJ, Homola G, Biller A, Smith SM, Weijers HG, Wiesbeck GA, et al. Manifestations of early brain recovery associated with abstinence from alcoholism. *Brain*. 2007;130(Pt 1):36-47. Epub 2006/12/21.

136. Trabert W, Betz T, Niewald M, Huber G. Significant reversibility of alcoholic brain shrinkage within 3 weeks of abstinence. *Acta Psychiatr Scand*. 1995;92(2):87-90. Epub 1995/08/01.

137. Pfefferbaum A, Rosenbloom M, Deshmukh A, Sullivan E. Sex differences in the effects of alcohol on brain structure. *Am J Psychiatry*. 2001;158(2):188-97. Epub 2001/02/07.

138. Mann K, Mundle G, Strayle M, Wakat P. Neuroimaging in alcoholism: CT and MRI results and clinical correlates. *J Neural Transm Gen Sect*. 1995;99(1-3):145-55. Epub 1995/01/01.

139. Wang GJ, Volkow ND, Roque CT, Cestaro VL, Hitzemann RJ, Cantos EL, et al. Functional importance of ventricular enlargement and cortical atrophy in healthy subjects and alcoholics as assessed with PET, MR imaging, and neuropsychologic testing. *Radiology*. 1993;186(1):59-65. Epub 1993/01/01.

140. Adams KM, Gilman S, Koeppe RA, Klun KJ, Brunberg JA, Dede D, et al. Neuropsychological deficits are correlated with frontal hypometabolism in positron emission tomography studies of older alcoholic patients. *Alcohol Clin Exp Res*. 1993;17(2):205-10. Epub 1993/04/01.

141. Harper CG, Kril JJ. Neuropathology of alcoholism. *Alcohol Alcohol*. 1990;25(2-3):207-16. Epub 1990/01/01.

142. Kopelman MD. Alcohol and frontal lobe impairment: fascinating findings. *Addiction*. 2008;103(5):736-7. Epub 2008/04/17.

143. Ratti MT, Bo P, Giardini A, Soragna D. Chronic alcoholism and the frontal lobe: which executive functions are impaired? *Acta Neurol Scand*. 2002;105(4):276-81. Epub 2002/04/10.

144. Chanraud S, Martelli C, Delain F, Kostogianni N, Douaud G, Aubin HJ, et al. Brain morphometry and cognitive performance in detoxified alcohol-dependents with preserved psychosocial functioning. *Neuropsychopharmacology*. 2007;32(2):429-38. Epub 2006/10/19.

145. Dao-Castellana MH, Samson Y, Legault F, Martinot JL, Aubin HJ, Crouzel C, et al. Frontal dysfunction in neurologically normal chronic alcoholic subjects: metabolic and neuropsychological findings. *Psychol Med*. 1998;28(5):1039-48. Epub 1998/10/30.

146. Harper CG, Kril JJ, Holloway RL. Brain shrinkage in chronic alcoholics: a pathological study. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1985;290(6467):501-4. Epub 1985/02/16.

147. Raz N, Gunning FM, Head D, Dupuis JH, McQuain J, Briggs SD, et al. Selective aging of the human cerebral cortex observed in vivo: differential vulnerability of the prefrontal gray matter. *Cereb Cortex*. 1997;7(3):268-82. Epub 1997/04/01.

148. Brooks PJ. Brain atrophy and neuronal loss in alcoholism: a role for DNA damage? *Neurochem Int.* 2000;37(5-6):403-12. Epub 2000/06/29.
149. Arendt T, Bruckner MK, Pagliusi S, Krell T. Degeneration of rat cholinergic basal forebrain neurons and reactive changes in nerve growth factor expression after chronic neurotoxic injury--I. Degeneration and plastic response of basal forebrain neurons. *Neuroscience.* 1995;65(3):633-45. Epub 1995/04/01.
150. de la Monte SM. Disproportionate atrophy of cerebral white matter in chronic alcoholics. *Arch Neurol.* 1988;45(9):990-2. Epub 1988/09/01.
151. Pfefferbaum A, Sullivan EV, Mathalon DH, Shear PK, Rosenbloom MJ, Lim KO. Longitudinal changes in magnetic resonance imaging brain volumes in abstinent and relapsed alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res.* 1995;19(5):1177-91. Epub 1995/10/01.
152. Shear PK, Jernigan TL, Butters N. Volumetric magnetic resonance imaging quantification of longitudinal brain changes in abstinent alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res.* 1994;18(1):172-6. Epub 1994/02/01.
153. Petersen RC, Aisen PS, Beckett LA, Donohue MC, Gamst AC, Harvey DJ, et al. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI): clinical characterization. *Neurology.* 2010;74(3):201-9. Epub 2010/01/01.

7 APÊNDICES

APÊNDICE 1

Termo de consentimento - Mount Sinai School of Medicine

**MOUNT SINAI SCHOOL OF MEDICINE
CONSENT FOR RESEARCH**

Page 1 of 11

GCO # 00-0347

PART I: RESEARCH PARTICIPANT INFORMATION SHEET

TITLE OF PROJECT:

m-CPP PET Scanning of Alcoholism: Effects of Sertraline

A. PURPOSE OF THE STUDY:

You are being asked to participate in a research study. The purpose of this study is two-fold. First, the purpose is to determine the effect of a chemical called serotonin in the brains of people with alcohol abuse problems and to see if measurements of serotonin functioning can help predict who will respond successfully to treatment. The second purpose is to study whether the medication Sertraline, which works with the brain's serotonin system, is effective in the treatment of people with alcohol abuse problems. Sertraline is officially approved by the Food and Drug Administration (FDA) for depression and is a medication in common use. The FDA has not approved it for the treatment of alcoholism and it is the testing of this use that is the purpose of the current study. You qualify for participation because you have a heavy alcohol use history and are interested in treatment and sobriety. Funds for conducting this research are provided by the National Institutes of Health.

B. DESCRIPTION OF THE RESEARCH:

Upon entry into the study, you will be given a thorough medical examination, including blood tests (total of about three teaspoons), a drug urine screen, a pregnancy test if you are a woman, and an electrocardiogram (which is a recording of the electrical activity of the heart), to help ensure that you are medically healthy and able to go through this study. If you are a woman, you may not participate in this study if you are pregnant, nursing, or not using birth control to avoid pregnancy. Acceptable forms of birth control include, pills, condoms, IUD, diaphragm, and abstinence or menopause. You will also undergo a psychiatric examination (called the SCID) to determine if you are suffering from any major psychiatric illness, such as depression or anxiety. You will also be asked to fill out a number of evaluation forms looking at your mood and personality, your level of depression, of anxiety, and of desire for alcohol. We will ask you questions about family history. These interviews and questionnaires will take approximately 2 to 2½ hours. The names of these instruments include: Time-line follow-back assessment method, DRINC scale (Drinker Inventory of Consequences), The CIWA Scale, Addiction

Subject/Surrogate Initials _____

For IRB Official Use Only

This Consent Document is approved for use by Mount Sinai's Institutional Review Board (IRB)

From: _____ To: _____

**MOUNT SINAI SCHOOL OF MEDICINE
CONSENT FOR RESEARCH**

Page 2 of 11

GCO # 00-0347

Severity Index Alcohol Urge Questionnaire, Beck Depression Inventory (BDI), Spielberger State/Trait Anxiety Scale, Obsessive Compulsive Drinking Scale (OCDS), BDHI, Treatment Services Review (TSR). You will also be asked to provide sociodemographic information (information about where you live, work, etc.). You will take a breathalyzer test to ensure you are not intoxicated when signing this consent form. The lead-in for this study is a 20-day period of psychotherapy and support without medication treatment other than Librium, if needed. Upon starting this period, you will be closely monitored daily for 7 days for symptoms of withdrawal by the study psychiatrist and if indicated will be given a standard 7-day Librium taper to prevent serious symptoms of alcohol withdrawal. Librium is a medication which is used in decreasing doses to stop withdrawal symptoms (shakes, changes in blood pressure and temperature, anxiety; visual or auditory hallucinations, and rarely death).

Serotonin is important in the regulation of mood, appetite and behavior. We are interested in this chemical because investigations have shown that some people with alcohol problems have reduced activity of serotonin in the brain. We will be using a method to measure the activity of the serotonin system in people diagnosed as having alcohol dependence by administering meta-chlorophenylpiperazine (m-CPP), a substance that is present after the medication trazodone (Desyrel) is processed through the body. Trazodone is a medication approved by the Food and Drug Administration (FDA). The medication you will be receiving, m-CPP, is metabolic product of trazodone which would occur normally in the body after receiving trazodone. m-CPP is not approved by the FDA however, special license is granted by the FDA for the purposes of this investigation. We will also be doing PET scans, a technique that allows us to take pictures of brain activity, to identify what part of your brain is responding to m-CPP. This part of the study will involve two different PET scans performed on two different days (about 4 hours each day); on one day you will receive m-CPP prior to the PET scan, on another day, you will receive a saline infusion (a salt water solution routinely used to provide fluids in a hospital setting, called a "placebo infusion" [a placebo is an inactive substance, like a sugar pill]) prior to the PET scan.

Three days prior to receiving the PET scans, you will be asked to follow a specific diet: low monoamine (monoamines are building blocks of brain chemical messages). A low monoamine diet involves avoiding the following foods and drink: aged cheeses (like blue cheese), fermented fruits, banana skins, pods of broad beans (like English beans and Chinese peapods), fava beans, liver, brains, pickled fish, fermented sausages (like pepperoni, sausage, and salami), red wine, beer, and caffeinated drinks (less than three cups of coffee per day). If the need for any medication arises during the two weeks prior to the study, please notify one of the investigators. You will also be asked not to smoke, drink, or eat from midnight the evening before each PET scan; further, you will spend the night prior to each PET scan at Mount Sinai in the General Clinical Research Center. We will ask you if you have had a PET scan during the past year. Also, you will be asked about any past or present exposure to sleeping pills or other drugs (including marijuana, amphetamines, or "recreational drugs"), which affect the brain, or if you have been exposed to radiation or X-rays. You will be asked about any history of epilepsy, head injury, liver, bladder, or kidney disease, and any allergies. If you are a woman of childbearing age, you will receive a urine pregnancy test on the day of each PET scan and cannot participate if it is positive.

Subject/Surrogate Initials _____

For IRB Official Use Only

This Consent Document is approved for use by Mount Sinai's Institutional Review Board (IRB)

From: _____ To: _____

**MOUNT SINAI SCHOOL OF MEDICINE
CONSENT FOR RESEARCH**

Page 3 of 11

GCO # 00-0347

We will recruit 100 participants over the course of this five year project.

Nicotine Patch

If you are a regular smoker (i.e. 10 or more cigarettes daily), we will ask you to refrain from smoking cigarettes the night before and during the PET lab procedures. We will provide you with a nicotine patch, which will be worn the night before each PET scan to help with any nicotine craving that you may have. The nicotine patch is a common treatment for nicotine addiction.

m-CPP/Placebo Procedure

You will have a breathalyzer test on the morning of each PET scan, and if it is positive you will not have a PET scan on that occasion. You will be asked to lie down on a bed and one intravenous infusion line of normal saline will be started in your arm. m-CPP or a placebo infusion will be given to you through one intravenous line (through a soft catheter, or tubing, placed in a vein in your arm). m-CPP and saline are prepared in solutions identical to each other. This is done to compare the chemicals in the brain with and without the drug. The infusion of normal saline is given as a comparison with the day you receive m-CPP to improve our understanding of the effects of m-CPP. You will not know whether you have received m-CPP or the saline placebo on that day. You will be asked to fill out some self-ratings and to complete some standardized tests of cognition (thinking) on the day of each PET scan.

PET Procedure

Each PET scan will take place at the Neuroscience PET Laboratory at Mount Sinai. You will be brought from the GCRC to the PET Lab on each scan morning at approximately 8:00 AM. Your brain metabolism (the number of teaspoons of sugar per minute each region of the brain consumes) will be recorded by a PET scanner using the injection of a radioactive sugar-like compound named 18-fluorodeoxyglucose (18-FDG); the 18-FDG will be injected intravenously (described above) in your arm. The 18-FDG allows the investigators to "trace" where in the brain the mental or biological activity takes place.

About 35 minutes after the injection of 18-FDG, you will be asked to empty your bladder, and be moved to the PET scanner. The scanner is a large, donut-shaped computer assisted device that detects radioactivity coming from the 18-FDG which has been taken up in your brain. You will lie on a narrow bed with your head and shoulders inside the donut hole. The scanner will make pictures of your brain showing the areas of greater and lesser glucose use. Your head will be held in place by a specially molded plastic face mask and it will be necessary for you to lie in place without moving while the scanning process takes place. The plastic mask will be made to help you lie still during the PET scan. The plastic will feel like a warm towel on your face at first and will then cool and become quite firm. The process of molding the mask will take approximately two or three minutes. The scanning procedure will last about 30-45 minutes. A very small plastic tube will remain in your arm during the scan and you should refrain from very active movement.

Subject/Surrogate Initials _____

For IRB Official Use Only

This Consent Document is approved for use by Mount Sinai's Institutional Review Board (IRB)

From: _____ To: _____

**MOUNT SINAI SCHOOL OF MEDICINE
CONSENT FOR RESEARCH**

Page 4 of 11

GCO # 00-0347

PET scans will be reviewed by the director of the PET Laboratory 1-2 weeks after the scan date.

MRI Procedure

In addition to the PET scans, you will have a brain scanning procedure known as Magnetic Resonance Imaging (MRI), which takes anatomic (structural) pictures of your brain. This scanner is similar to the PET scanner, only the donut is somewhat thicker. For the PET scan the top of your head will enter the scanner. For the MRI you will enter the scanner head first and your head and torso will be inside the ring. The MRI procedure takes up to one hour and it is necessary for you to lie very quietly without moving during the scan. The MRI scan will be done prior to the treatment component of the study. MRI scans will be reviewed by the radiology department 1-2 weeks after the scan date.

Treatment Procedure

Following the completion of the second PET scan, you will enter into the treatment component of the study, which will last for 12 weeks. For this part of the study, you will take the medication Sertraline, beginning at a dose of 50mg per day, which will be slowly titrated (increased) up to 200mg over the course of several days.

Once started on the medication, you will have the normal substance abuse therapy designed for people with alcohol problems. You will meet with the study therapist either individually or in group once weekly for the 12 weeks. Therapy sessions last approximately one hour. You will have a breathalyzer test for alcohol weekly, and you will have a urine sample for a drug screen weekly. The results of all breathalyzer and urine drug screens in the study will be kept confidential and will only be available to study personnel. You will meet with the research assistant bi-weekly (i.e. once every two weeks) for the 12 weeks, and will be asked about problems you may have with the medication you are taking, and you will be asked to fill out a small number of questionnaires, in addition to being interviewed and tested with standardized clinical instruments. The bi-weekly assessments will take approximately 30-45 minutes to complete. Bi-weekly meetings with the research team are mandatory as it is essential to provide you with standard clinical care. You will be asked to meet with members of the research team at week 6 of the Sertraline trial to complete the project's questionnaires and assess general study progress. This meeting will take 1-2 hours. You will be asked to give blood samples at mid study and at the end of the study (combined from both tests for a total approximately three teaspoons). There is a meeting with the study psychiatrist at week 2 and week 6 after starting the medication however, you may see the study psychiatrist at any stage in the study if necessary or if you request it. The treatment part of the study will finish at 12 weeks, at which time, the psychiatrist and the therapist may make a recommendation to you about further treatment if required.

When appropriate, the research team will distribute a wireless phone to participants to facilitate contact throughout the twelve weeks of the Sertraline trial. The number of minutes on the phone will be purchased and controlled by the research team. Participants will be permitted a small number of personal calls however, the primary

Subject/Surrogate Initials _____

For IRB Official Use Only

This Consent Document is approved for use by Mount Sinai's Institutional Review Board (IRB)

From: _____ To: _____

**MOUNT SINAI SCHOOL OF MEDICINE
CONSENT FOR RESEARCH**

Page 5 of 11

GCO # 00-0347

purpose of the phone is to stay in contact with the research team. The phone will be returned at the end of the study

You may also wish to pursue other non-medication treatments for alcoholism, like Alcoholics Anonymous ("A.A."). If you decide to do this, it will not interfere with the study procedures, but we ask that you inform study personnel.

At the end of the treatment portion of the study, you will receive a third PET scan. This PET scan procedure is identical to the one described above, with the placebo infusion. m-CPP will not be used during the third PET scan. The purpose of this final PET scan is to study the effects of the medication on brain metabolism.

In the unlikely event that a potentially clinically important finding is revealed from the PET or the MRI scan, we will inform you by phone within 48 hours. At that time, if you would like, we will call your primary care provider to review the findings or provide you with an appropriate referral.

We request permission to allow us to contact you in the future to find out how you are doing and to ask if you would like to participate in follow-up studies. Do you agree to allow us to contact you again in the future? Please initial the appropriate line:

Yes _____ No _____

We ask permission for the data we gather in the current study to be used in future data analysis. Please initial the appropriate line:

Yes _____ No _____

C. COSTS/REIMBURSEMENTS:

You will not incur any cost for your participation in this study, and will receive \$100 for each PET scan (3), \$100 for the MRI scan (1), \$50 for the mid-study assessment, and \$50 at the completion of the treatment part of the study. Thus, you will receive up to \$500 for your time and expenses for participation.

D. POTENTIAL RISKS AND DISCOMFORTS:

m-CPP

Possible side effects of m-CPP include nausea, anxiety, rapid heart rate, increased or decreased blood pressure, and the sensation of body coolness and/or headache. If you experience any of these side effects, they usually go away as soon as the drug wears off within a day or so.

Subject/Surrogate Initials _____

For IRB Official Use Only

This Consent Document is approved for use by Mount Sinai's Institutional Review Board (IRB)

From: _____ To: _____

**MOUNT SINAI SCHOOL OF MEDICINE
CONSENT FOR RESEARCH**

Page 6 of 11

**GCO # 00-0347
PET Scanning**

For the PET scanning procedure, there is a possibility of local pain during the needle insertion. 18-FDG, the imaging material used in the PET scanning procedure, is not burned up normally by the body, but in this study only very small doses will be administered (about 15 micrograms per kilogram of body weight), less than one ten-thousandth of the amount required to show any drug, behavior, or mood effects. It will be passed in the urine within 48 hours after administration and most of it will be eliminated from the body in the first 7 hours. The likelihood of an allergic reaction to the injected radioactive compound is extremely low. The risks associated with the administered 5.0 mCi of 18-FDG radioactivity into the body cannot be absolutely determined. However, the amount of radiation subjects will be exposed to will be quite low. The amount of radioactivity injected is comparable to the amount generally used for routine diagnostic nuclear medicine studies.

Injection of 18-FDG will expose you to a small dosage of radiation, so the risk of developing cancer in the future may be slightly increased. The amount of radiation is equal to about 6-10 chest X-rays for each scan. The resulting effective dose equivalent (TEDE) to an average human being is estimated to be about 550 mrem. The critical organ (organ receiving the maximum dose and higher than TEDE) is the urinary bladder wall, which receives 3250 mrem. These doses are well within the limits established by Nuclear Regulatory Commission (NRC) for people working in radiology and nuclear medicine. According to NRC, the TEDE for occupational workers is 5000 mrem per year while any single organ should not receive more than 50,000 mrem. People living in this world are exposed to radiation every day. It has been estimated that the average annual radiation exposure received by people in the U.S. is 360 mrem. Most of this exposure is from natural background, like radon, food, water, and cosmic background radiation, etc.

MRI Scanning

Some people find the amount of noise produced by the MRI uncomfortable. For this reason, ear plugs may be provided. If you have any surgical clips or metallic prostheses (such as an artificial hip or knee), you cannot participate in this study. No short term risks have been reported for MRI scanning. Some people may feel uncomfortable inside the scanner (claustrophobia, or feeling nervous, anxious, or scared in an enclosed space) and if so, you may leave the scanner.

Medication Treatment

The medication that you will be getting, Sertraline, is a drug that works on the serotonin system and has been used in the treatment of depression and anxiety disorders for a number of years. There is preliminary evidence that it may be helpful in the treatment of alcoholism. The most common side effects of this medication include dry mouth, nausea, tremor, insomnia, diarrhea, and sexual difficulties. There is evidence that mania is a possible side effect for participants with a family history of mania. In the event of mania or any other possible side effect, a study psychiatrist is available at all times for immediate treatment and/or referral. There are no known long term side effects from

Subject/Surrogate Initials _____

For IRB Official Use Only

This Consent Document is approved for use by Mount Sinai's Institutional Review Board (IRB)

From: _____ To: _____

**MOUNT SINAI SCHOOL OF MEDICINE
CONSENT FOR RESEARCH**

Page 7 of 11

GCO # 00-0347

taking Sertraline. Sudden discontinuation of the medication may cause side effects. Dizziness or a "flu-like syndrome" is the most common symptom if Sertraline is abruptly stopped. Other symptoms may include nausea, fatigue, headache, gait instability, and insomnia. If you wish to discontinue the medication, alert the research team immediately and you will receive detailed instructions for tapering off the medication. Sertraline should not be taken in conjunction with Antabuse. It is important to report usage of any other medications, prescription or non prescription (i.e. Ginkgo, xenedrine or other herbal medicines) to the research team.

Nicotine Patch

Wearing a nicotine patch may be associated with a clinically non-significant increase blood pressure and heart rate.

Intravenous Line (IV)/Blood Drawing

There are six (6) occasions when blood drawings or intravenous injection (of 18-FDG, m-CPP, and/or placebo) take place as part of this study (intake, 3 PET scan days, and 2 blood drawing days during treatment component). Potential side effects for the blood sampling or injection may include some discomfort and possible some local bruising at the site of the needle. You may experience some inability to use both arms due to the IV insertion.

Risks of Alcohol Withdrawal

When an alcohol dependent person stops drinking there is a potential risk of withdrawal symptoms. These include: shakes, changes in blood pressure and temperature, anxiety, visual or auditory hallucinations, and rarely death. The use of a seven-day Librium taper will significantly decrease the risk of these side effects. Librium will be used clinically and prescribed by the study psychiatrist, as indicated. However, Librium may have the side effects of sleepiness and coordination problems. You should not drive nor operate heavy machinery immediately after taking the Librium medication. There is a very remote possibility that this medication can cause an allergic reaction and even more remotely sudden death.

E. POTENTIAL BENEFITS:

There is no guarantee that you personally will benefit from participation in the study. There may be direct benefit to you if the medications and therapy help you stay free of alcohol ingestion during and after the study. These benefits may be both physical and mental. We also expect the results of the study will benefit science and other people through increasing our knowledge of the effects of Sertraline in the treatment of, and serotonin's role in, alcohol problems.

F. ALTERNATIVES TO PARTICIPATION:

Subject/Surrogate Initials _____

For IRB Official Use Only

This Consent Document is approved for use by Mount Sinai's Institutional Review Board (IRB)

From: _____ To: _____

**MOUNT SINAI SCHOOL OF MEDICINE
CONSENT FOR RESEARCH**

Page 8 of 11

GCO # 00-0347

Although, as mentioned above, Sertraline is FDA approved for the treatment of depression, it is not approved by the FDA for the treatment of alcoholism. It should be noted that the scans used in this study (PET and MRI) are not a treatment. This study is for research purposes only and the alternative is not to participate. If you do not want to participate in this study, the research staff will refer you for treatment at a substance abuse treatment program.

G. CONFIDENTIALITY:

Your identity as a participant in this research study will be kept confidential in any publication of the results of this study. The information obtained during this research (Research Record) will be kept confidential to the extent permitted by law. However, this Research Record and your personal Medical Record (if any and if relevant to the study) may be reviewed by government agencies (such as the Food and Drug Administration or the Department of Health and Human Services), the agency or company sponsoring this research, individuals who are involved in, or authorized to monitor or audit, the research, or the Institutional Review Board (the committee that oversees all research in humans at Mount Sinai School of Medicine) if required by applicable laws or regulations.

H. COMPENSATION/TREATMENT:

In the event of injury resulting from your participation in this research study, the facilities at Mount Sinai Hospital and professional attention will be made available to you at your expense. Financial compensation from Mount Sinai will not be provided. If you believe that you have suffered an injury related to this research as a participant in this study, you should contact Dr. Monte Buchsbaum at telephone number (212) 241-5294.

I. VOLUNTARY PARTICIPATION:

Participation in this study is voluntary. If you decide not to participate, this will not affect your ability to receive medical care at Mount Sinai or to receive any benefits to which you are otherwise entitled.

Any new information that develops during this study, which might affect your decision to participate, will be given to you immediately.

Subject/Surrogate Initials _____

For IRB Official Use Only

This Consent Document is approved for use by Mount Sinai's Institutional Review Board (IRB)

From: _____ To: _____

MOUNT SINAI SCHOOL OF MEDICINE
CONSENT FOR RESEARCH

Page 9 of 11

GCO # 00-0347

A signed copy of this consent form will be given to you.

J. TERMINATION OF PARTICIPATION :

You may discontinue participation in the study at any time without penalty or loss of benefits to which you are otherwise entitled.

K. CONTACT PERSON(S):

If you have any questions, at any time, about this research, or want to discuss any possible study-related injuries please contact Dr. Monte Buchsbaum, at telephone number 212-241-5294. If you still have questions regarding the study or your rights as a participant in the study you may discuss them with an administrator of the Institutional Review Board at Mount Sinai School of Medicine at telephone number (212) 659-8980.

L. DISCLOSURE OF FINANCIAL INTERESTS:

None

Subject/Surrogate Initials _____

For IRB Official Use Only

This Consent Document is approved for use by Mount Sinai's Institutional Review Board (IRB)

From: _____ To: _____

**MOUNT SINAI SCHOOL OF MEDICINE
CONSENT FOR RESEARCH**

Page 10 of 11

GCO # 00-0347

AUTHORIZATION TO PARTICIPATE IN RESEARCH

The participant/surrogate and the investigator/delegate must each SIGN, DATE and TIME this two page authorization form.

Research Subject's Name (printed): _____

1. I hereby volunteer to participate in a research program under the supervision of Dr. Monte Buchsbaum and his/her associates at Mount Sinai School of Medicine.

2. I acknowledge that I have read, or had explained to me in a language I understand, the attached consent document and that _____ has explained to me the nature and purpose of these studies. This explanation included a description of the parts of the study that are experimental, the possible discomforts, symptoms, side effects and risks that I might reasonably expect, and the possible complications, if any, that I might reasonably experience from both known and unknown causes as a result of my participation in these studies. I have had the opportunity to ask questions I had about the study and all of the questions I asked were answered to my satisfaction.

3. I understand that I am free to withdraw this authorization and to discontinue my participation in these studies any time. The consequences and risks, if any, of withdrawing from the study while it is ongoing have been explained to me. I understand that such withdrawal will not affect my ability to receive medical care to which I might otherwise be entitled.

4. I confirm that I have read, or had read to me, this entire authorization and that all blanks or statements that require completion were in fact, properly completed before I signed this authorization.

Research Subject/Surrogate: _____
Signature

Name: _____
Print Name

Relationship: _____
If signed by surrogate

Date: _____ Time: _____

Subject/Surrogate Initials _____

For IRB Official Use Only

This Consent Document is approved for use by Mount Sinai's Institutional Review Board (IRB)

From: _____ To: _____

**MOUNT SINAI SCHOOL OF MEDICINE
CONSENT FOR RESEARCH**

Page 11 of 11

GCO # 00-0347

AUTHORIZATION TO PARTICIPATE IN RESEARCH (continued)

For subjects who are not able to read this consent document themselves, the following must be completed:

I confirm that I have accurately translated and/or read the information to the subject:

Name: _____
Signature

Name: _____
Print Name

Address: _____
Number and Street City State Zip Code

Date: _____ Time: _____

I confirm that the consent document was translated and/or read to the subject:

Name of Witness: _____
Signature

Name of Witness: _____
Print Name

Date: _____ Time: _____

I have fully explained to the above volunteer/patient/relative/guardian the nature and purpose of the foregoing drugs, devices or procedures, possible alternative methods of treatment which might be advantageous, the benefits reasonably to be expected, the attendant discomforts and risks involved, the possibility that complications may arise as a result thereof and the consequences and risks, if any, which might be involved in the event the volunteer/patient/relative/guardian hereafter decides to discontinue such treatment. I believe that the above volunteer/patient/relative/guardian understands the nature, purposes, benefits, and risks of participation in this research. I have also offered to answer any questions the above volunteer/patient/relative/guardian might have with respect to such drugs, devices or procedures and have fully and completely answered all such questions.

Signature of Principal Investigator/Delegate (person who obtained consent)

Print Name of person who obtained consent _____ Title _____
Date: _____ Time: _____

Subject/Surrogate Initials _____

For IRB Official Use Only

This Consent Document is approved for use by Mount Sinai's Institutional Review Board (IRB)

From: _____ To: _____

APÊNDICE 2**Publicidade****DO YOU THINK YOU DRINK TOO MUCH?**

Do you have cravings for alcohol?

Do you need to drink more to achieve the same effect?

Do you continue drinking despite problems it the causes at work or at home?

Would you like to reduce or stop your drinking?

Mount Sinai School of Medicine is conducting a research study of a medication that may help you reduce or stop your drinking. Everyone is guaranteed medication and therapy at no cost. You will receive free brain imaging to assess the medication effect. Patients will be compensated for time and expenses for their participation. If you are between the ages of 21-65 and want to know more, call (212) 241-5289.

GCO #00-0347 (0002)-04

DO YOU THINK YOU DRINK TOO MUCH?

Mount Sinai School of Medicine is conducting a research study of a medication that may help you reduce or stop your drinking. Everyone is guaranteed medication and therapy at no cost. Patients will also be compensated for time and expenses for their participation. If you are between the ages of 21-65 and want to know more, call (212) 241-5289.

GCO #00-0347 (0002)-05

IRB approved through 06/30/08

APÊNDICE 3**Autorização do Professor Monte Buchsbaum**

Monte S. Buchsbaum, M.D.

Neuroscience PET Laboratory

Box 1505, Department of Psychiatry

Mount Sinai School of Medicine

One Gustave L. Levy Place

New York, New York, 10029-6574

monte.buchsbaum@mssm.edu

Phone: 212-241-5294

Fax: 212-423-0819

To whom it may concern:

This is to confirm that I will collaborate with the research carried out by Simone Villas Boas de Carvalho at the University of Sao Paulo towards a degree of Master of Science. Her research project will involve data analyses and interpretation of results of a brain imaging study conducted at the PET Laboratory at Mount Sinai School of Medicine, of which Simone has participated. I will assist her in completing her study if necessary, and we will publish the results together.

Monte S. Buchsbaum M.D.

Monte S. Buchsbaum, M.D.