Leandro Augusto Paula da Silva

**Estimulação Magnética Transcraniana: Um Estudo Controlado do
Padrão da Ativação Cerebral na Depressão Maior Utilizando a
Tomografia por Emissão de Pósitrons**

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

Área de Concentração: Psiquiatria

Orientador: Prof. Dr. Beny Lafer

SÃO PAULO

2008

DEDICATÓRIA

**À minha esposa, Daniela,
pela convivência, carinho e suporte.**

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, ao Prof. Dr. Beny Lafer, por ter realmente me orientado na confecção desta tese, de forma séria, correta e exigente.

Aos colegas da USP, com os quais tive a oportunidade de conviver enquanto fazia as matérias em São Paulo, e aos professores desta época, Prof. Geraldo Busatto, Prof. Eluf, Prof. Franciso Assumpção e Prof. Paulo Caramelli.

À Dra. Sheila Caetano, amiga em San Antonio e no Brasil, que me auxiliou tecnicamente e, sobretudo, por suas gentis palavras de suporte.

À Dra. Shalini, pelo apoio e afeto. Ao Frank Zamarripa, pelo suporte e ensinamentos iniciais, e pelo suporte após o retorno ao Brasil.

Aos colegas de San Antonio, com quem aprendi pesquisa e tive a oportunidade de conviver, Kristina Hunter, Rhonda Barnard, Pablo Najt, Dra. Giovana Zunta, Dra. Serap Monkul, Dr. Marco Peluso. Ao Mark Nicoletti, pela solicitude no laboratório de neuroimagem e pelos jogos de foolsball e de basquete nos parques de San Antonio. Ao Dr. Fabiano Nery por ter me recebido em San Antonio. Ao Dr. Benício Frey, pelos jogos de tênis, seriedade e entusiasmo com pesquisa.

À Dra. Fabiene Lauar, por ter me auxiliado a sentir e viver uma nova forma de existir.

À Capes, pelo apoio financeiro através do programa PDEE (Doutorado-sanduiche) nos anos de 2005 e 2006, para a realização da pesquisa em San Antonio, Texas, EUA (BEX 3395/04-9).

À University of Texas Health Science Center – Department of Psychiatry, pelo apoio institucional durante o meu fellowship em 2005 e 2006.

Aos pacientes e controles saudáveis voluntários neste estudo.

À Psiquiatria, um dos nortes da minha vida.

Aos Professores, Dr. Sérgio Kehdy, Dr. Ronan Rego, Dra. Maria Goretti Lamounier, eternas referências de profissionais sérios e competentes.

Ao Prof. Dr. Maurício Viotti e ao Prof. Dr. José Carlos Cavalheiro, primeiros incentivadores de minha vida acadêmica.

Ao Prof. Dr. Jair Soares, pela oportunidade de frequentar um serviço de excelência em neuroimagem e transtornos do humor.

À Eliza S. Fukushima, por todo o suporte e cuidado.

Ao Dr. Luiz Augusto, pela amizade incondicional e conversas durante todos estes anos. Ao Dr. Bruno e ao Dr. Giovani, pela amizade e pelas conversas sobre a medicina. Ao Prof. Dr. João Eduardo, novo amigo, experiente e companheiro.

Ao Luis Eduardo, amigo de longa data, um irmão.

Aos amigos não psiquiatras, por me ajudarem a arejar meus pensamentos.

À Wilce e Raimundo, meus pais, pelo incentivo e apoio. Pelo início de tudo.

Aos meus irmãos, Emerson e Guilherme, pela convivência, ainda que esporádica.

À minha filha, Juliane, que tolerou meu período fora e minha dedicação a este trabalho, com carinho e paciência.

À minha esposa, Daniela, que me ajudou a traçar este percurso, pelo incentivo, presença e tolerância com os finais de semana e noites dispendidas na confecção desta tese. Por ter me acompanhado no período fora do país.

SUMÁRIO

Lista de Siglas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO

1.1 Transtorno Depressivo Maior.....14

1.2 Estimulação Magnética Transcraniana.....16

1.2.1 Estimulação Magnética Transcraniana no TDM.....18

1.3 Tomografia por Emissão de Pósitrons (Positron Emission Tomography – PET).....18

1.3.1 Estimulação Magnética Transcraniana e a Tomografia por Emissão de Pósitrons (PET).....21

1.4 Neuroimagem no Transtorno Depressivo Maior.....22

1.4.1 Estudos Volumétricos no TDM.....23

1.4.2 Espectroscopia no TDM.....23

1.4.3 Estudos Funcionais no TDM.....24

1.5 Modelo Neuroanatômico da Depressão.....25

2. OBJETIVOS

2.1 Geral.....31

2.1.1 Específicos.....31

2.2 Hipóteses.....	31
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	
3.1 Casuística.....	32
3.1.1 Pacientes com TDM.....	33
3.1.1.1 Critérios de Inclusão.....	34
3.1.1.2 Critérios de Exclusão.....	34
3.1.2 Controles Saudáveis.....	34
3.1.2.1 Critérios de Inclusão.....	34
3.1.2.2 Critérios de Exclusão.....	35
3.1.3 Avaliação Clínica.....	35
3.1.3.1 Entrevista Psiquiátrica.....	36
3.1.3.2 Descrição Demográfica.....	36
3.2 Escalas de Avaliação Clínica.....	44
3.2.1 Escala de Depressão de Hamilton.....	44
3.2.2 Escala de Lateralidade de Oldfield.....	44
3.2.3 Exames Complementares.....	44
3.3 Neuroimagem.....	44
3.3.1 Ressonância Magnética por Imagem.....	44
3.3.2 Tomografia por Emissão de Pósitrons.....	45
3.3.2.1 Pré-processamento das Imagens.....	47
3.4 Estimulação Magnética Transcraniana.....	48
3.5 Análise dos Dados.....	53

4. RESULTADOS	
4.1 Avaliação Funcional.....	54
5. DISCUSSÃO.....	61
6. CONCLUSÕES.....	76
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Aniquilação do pósitron e emissão dos raios gama.....	20
Figura 2: Modelo Neuroanatômico da Depressão – Adaptado de Mayberg (2003).....	29
Figura 3: Aparelho de PET utilizado.....	46
Figura 4: Aparelho de EMT de alta frequência, em forma de B.....	48
Figura 5: Robô NeuroMate [®]	49
Figura 6: Aparelho utilizado para a medição do escalpo do paciente.....	50
Figura 7: Localização do aparelho de EMT e local de aplicação em um paciente.....	51
Figura 8: Mudanças no FSCr em Pacientes versus controles nas intensidades de 90%, 100% e 110% do LM.....	60
Figura 9: Posicionamento do aparelho de EMT e foco de ativação do CPFDL em um controle.....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Entrevistas realizadas e amostra final de pacientes e controles.....	37
Tabela 2: Dados demográficos dos pacientes.....	38
Tabela 3: Dados demográficos dos controles.....	41
Tabela 4: Distribuição grupos controles e pacientes em relação ao sexo.....	42
Tabela 5: Variáveis idade e anos de escolaridade para os grupos controles e pacientes..	42
Tabela 6: Variáveis tempo de doença, número de episódios e HAM-D para o grupo de pacientes.....	43
Tabela 7: Sequência da EMT durante a PET.....	52
Tabela 8: Mudanças do FSCr em pacientes, comparando com controles, a 90% de intensidade da EMT.....	55
Tabela 9: Mudanças do FSCr em pacientes, comparando com controles, a 100% de intensidade da EMT.....	56
Tabela 10: Mudanças do FSCr em pacientes, comparando com controles, a 110% de intensidade da EMT.....	57
Tabela 11: Mudanças do FSCr em pacientes, comparando com controles, em repouso..	58

RESUMO

Falhas na conectividade cerebral e na atividade córtico-límbica podem estar envolvidas no Transtorno Depressivo Maior (TDM). O uso simultâneo da Estimulação Magnética Transcraniana (EMT) e a Tomografia por Emissão de Pósitrons (PET) é um eficiente método não-invasivo para estudar a conectividade funcional interregional do cérebro humano e os mecanismos envolvidos na ação precisa da EMT sobre o córtex pré-frontal dorso-lateral (CPFDL), componente do modelo neuroanatômico da depressão.

O presente estudo avaliou o padrão de ativação das áreas envolvidas neste modelo, como o CPFDL, tálamo, hipocampo, amígdala, giro do cíngulo e cerebelo, em pacientes com Transtorno Depressivo Maior (TDM), comparados a controles.

Dezessete pacientes com TDM e 17 controles foram estudados. A EMT foi aplicada em uma frequência de 3 Hz no CPFDL esquerdo. Um braço robótico para localização precisa do estímulo foi utilizado. Cada indivíduo foi submetido a duas sessões de EMT em três intensidades (90% do Limiar Motor (LM), 100% do LM e 110% do LM) e duas sessões de EMT “placebo” (aplicadas como clicks auditivos). Durante a EMT, as imagens foram realizadas em uma câmera GE 4096 e o fluxo sanguíneo cerebral foi medido através da PET utilizando $H_2^{15}O$. Imagens por Ressonância Magnética (RMI) foram adquiridas para co-registro da PET-RMI, possibilitando a localização precisa do CPFDL. Mudanças significativas no Fluxo Sanguíneo Cerebral (FSC) indicando atividade neural foram detectadas utilizando uma estratégia de subtração sem áreas de interesse prévias.

Os pacientes, comparados a controles, apresentaram uma resposta diminuída do FSC na área estimulada (CPFDL esquerdo) na intensidade de 100% do LM. Áreas não diretamente estimuladas que apresentaram uma diminuição do FSC, em pacientes, foram o giro do cíngulo anterior direito (90% do LM) e, dentre as regiões sub-corticais, globo pálido esquerdo (90% e 110% do LM) e tálamo direito (100% do LM). O giro do cíngulo posterior, bilateralmente, e a vermis cerebelar direita apresentaram aumento do FSC em todas as intensidades de estimulação.

Este estudo sugere que pacientes com depressão maior podem apresentar um limiar mais alto para a estimulação com EMT do CPFDL esquerdo, e uma resposta córtico-límbica distinta à EMT, quando comparados aos resultados dos indivíduos controles. Estes achados devem ser considerados em estudos que utilizarem EMT para tratamento da depressão. Este estudo sugere que a fisiopatologia do TDM envolve um prejuízo da conectividade córtico-límbica.

ABSTRACT

Disturbed corticolimbic activity and connectivity may underlie major depressive disorder. The simultaneous use of transcranial magnetic stimulation (TMS) and positron emission tomography (PET) is a powerful noninvasive method to study interregional functional connectivity of the dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC), a major component of the neuroanatomic model of depression. Seventeen unmedicated patients with recurrent major depression and 17 healthy volunteers were studied. TMS was delivered at 3 Hz to the left DLPFC by image guided robotic TMS (irTMS) system. Each subject underwent two trials of TMS at each of three intensities (90% MT (motor threshold), 100% MT, 110% MT), and two trials of sham TMS (delivered as auditory clicks). During the TMS, cerebral blood flow (CBF) was measured with $H_2^{15}O$ -Positron Emission Tomography (PET). An anatomical MR scan was acquired for PET-MRI co-registration to facilitate precise location of the DLPFC. Significant changes in cerebral blood flow indicating neural activity were detected using a ROI-free image subtraction strategy. Patients had a decreased response in regional CBF (rCBF) in left DLPFC in the intensity of 100% of MT. Left and right posterior cingulate demonstrated increased CBF across all intensities in depressed patients. Patients also had a decreased response in the right anterior cingulate at 90% of MT and right cerebellar vermis in response to left DLPFC stimulation across all intensities, compared to healthy volunteers. Among subcortical regions, only left globus pallidus and right thalamus showed a significant de-activation across varying TMS intensities. Patients with major depression may have a higher threshold for the TMS stimulation of the left DLPFC and a different corticolimbic

response to TMS stimulation than healthy controls, a finding that must be taken into consideration in studies utilizing TMS as a treatment for depression. These findings suggest impaired cortico-limbic connectivity in unipolar depression, which could underlie illness pathophysiology.

1. INTRODUÇÃO

1.1 TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR

O Transtorno Depressivo Maior (TDM) se caracteriza por episódios recorrentes de tristeza, perda de interesse em atividades e diminuição da energia. Outros sintomas são a perda de confiança e auto-estima, o sentimento injustificado de culpa, idéias de morte e suicídio, diminuição da concentração e perturbações do sono e do apetite. Podem estar presentes também sintomas somáticos, como cefaléias e dores musculares (Wise et al., 2006; Goodwin, 2007). O diagnóstico de Transtorno Depressivo só é feito quando os sintomas determinam prejuízo pessoal e social e duram, pelo menos, duas semanas.

O TDM é atualmente conceituado como uma doença crônica, com múltiplas fases, em que, apesar dos recentes avanços da investigação científica na biologia molecular, genética e neuroimagem, ainda permanecem questões a serem respondidas quanto à sua fisiopatologia. Os modelos biológicos mais estudados no TDM são baseados nas ações cerebrais dos tratamentos farmacológicos. A observação dos mecanismos de ação de antidepressivos e outras substâncias capazes de promover alterações do humor, como o LSD, cocaína e medicamentos como a reserpina, levaram à hipótese de que flutuações na concentração das aminas biogênicas (noradrenalina, serotonina e dopamina) na fenda sináptica seriam responsáveis por alterações do humor (Schildkraut, 1965). Evidências dos estudos de neuroimagem, bioquímicos e *postmortem* indicam que o TDM é uma síndrome que afeta circuitos que integram as áreas corticais, subcorticais e límbicas (Lafer et al., 1997; Soares et Mann, 1997; Mayberg et al., 2003; Monkul et al.,

2003; Caetano et al., 2006). Adicionalmente, esta síndrome tem sido associada recentemente a prejuízos na sinalização de circuitos que regulam a neuroplasticidade e a sobrevivência celular (Manji et al., 2001) e é improvável que se trate de uma doença decorrente de uma única alteração genética, região cerebral ou sistema de neurotransmissores (Nestler et al., 2002; Mayberg et al., 2007). Atualmente o TDM é visto como um transtorno envolvendo múltiplos sistemas, com o episódio depressivo sendo visto como o efeito em cadeia de uma falha de regulação da rede, sob as condições de estresse cognitivo, emocional ou somático. (Mayberg, 2003, 2007).

Kessler e colegas (2003) detectaram a prevalência pontual em 6,6% da população nos EUA e uma prevalência durante a vida de 16,2%. Grave prejuízo ocupacional e social atinge aproximadamente 60% das pessoas acometidas (Murray et al., 1997).

Segundo estimativas da Organização Mundial de Saúde, considerando-se os “anos de vida ajustados pela incapacidade (DALY)”, o TDM era a 4ª causa mundial de incapacidade em adultos em 1990 (Murray et al., 1997) e, até 2020, se persistirem as tendências atuais de transição demográfica, o TDM será a segunda maior causa mundial de incapacidade, abaixo somente das doenças isquêmicas do coração (Murray et al., 1997).

Juntamente com o Transtorno Afetivo Bipolar, o risco de suicídio no TDM é maior do que em qualquer outra doença física ou mental (Woods, 2000; Nierenberg et al., 2001). Embora os tratamentos tenham avançado consideravelmente nos últimos anos, a remissão incompleta é comum, ocasionando uma maior probabilidade de recaídas, maior

risco de tentativas de suicídio, funcionamento social pobre e maior número de comorbidades médicas (Kennedy e Foy, 2005).

Um número crescente de estudos de neuroimagem conduzidos nas últimas duas décadas sugere que pacientes portadores de TDM apresentam anormalidades cerebrais estruturais e funcionais, particularmente em áreas que participam dos circuitos anatômicos envolvidos na regulação do humor, como o córtex pré-frontal dorsolateral, giro do cíngulo anterior, hipocampo, estriado, e, acessoriamente, cerebelo (Mayberg, 1997, 2003; Soares e Mann, 1997a; b; Drevets et al., 1998). Estes circuitos cerebrais possuem extensa interconexão, e, quando disfuncionais, podem resultar em sintomatologia depressiva (Soares e Mann, 1997; Mayberg, 2003).

1.2 ESTIMULAÇÃO MAGNÉTICA TRANSCRANIANA

A Estimulação Magnética Transcraniana (EMT) é um instrumento desenvolvido por Barker (Barker et al, 1985) para, transitoriamente, alterar o estado fisiológico do cérebro. É uma técnica não invasiva e relativamente indolor, baseada no princípio de Faraday, em que correntes elétricas podem ser convertidas em campos magnéticos e vice-versa. Um banco de capacitores é rapidamente descarregado em um dispositivo que produz um campo magnético. Quando este dispositivo é posicionado próximo à cabeça de um ser humano, o campo magnético penetra o cérebro e induz um campo elétrico na região adjacente do córtex cerebral. Um campo elétrico de intensidade suficiente despolariza os neurônios corticais, gerando um potencial de ação (Gershon et al., 2003). O efeito estimulador da EMT é concentrado no córtex superficial (Heller e van Hulsteyn,

1992), produzindo um campo magnético de 21 milímetros de profundidade, em média (Lancaster et al., 2004). Embora a força do campo magnético diminua com o aumento da distância do dispositivo, efeitos da estimulação podem ser observados em pontos distantes do cérebro, refletindo a conectividade regional funcional do córtex estimulado, enquanto efeitos locais refletem excitação direta dos neurônios corticais (Fox et al, 1997, Paus et al, 1999). A EMT pode ser aplicada em um pulso único ou em repetidos pulsos por segundo. Quando os pulsos possuem uma frequência maior que um ciclo por segundo (1 Hz) é tida como de alta frequência, enquanto uma frequência igual ou menor a um ciclo por segundo é considerada como baixa frequência (Haraldsson et al., 2004). Não está claro quais neurônios (ou grupos de neurônios) são estimulados pela EMT, e como isto varia em função da intensidade ou frequência. Esta distinção da frequência é importante, pois trabalhos com animais (Post et al., 1997) e humanos (Pascual-Leone et al., 1994) evidenciam que frequências diferentes resultam em efeitos divergentes e até mesmo antagônicos na atividade neural (Wassermann et al., 1998; Kimbrell et al., 1999).

A EMT pode ser realizada em pacientes ambulatoriais e não causa uma convulsão intencional ou requer, obrigatoriamente, anestesia. (Wassermann, 1998). O efeito colateral mais comum é cefaléia, que se resolve rapidamente com analgésicos simples, na maior parte dos casos. A literatura descreve casos de convulsões induzidas pela EMT, embora aparentemente restritas a pacientes com predisposição, e em frequências mais altas (Rosa et al., 2004).

1.2.1 ESTIMULAÇÃO MAGNÉTICA TRANSCRANIANA NO TDM

A aplicação da EMT no CPFDL tem sido testada como um potencial tratamento para depressão e os resultados sugerem efeitos terapêuticos discretos a moderados (Pascual-Leone et al., 1996; George et al, 2000; Nahas et al, 2001; Dannon et al., 2002; Garcia-Toro et al., 2006). Os parâmetros técnicos para a aplicação da EMT no TDM ainda não estão definidos. Não se sabe ainda qual o local exato, número de dias, frequência e intensidade da estimulação (Gershon et al., 2003). Da mesma forma, ainda não se sabe qual população clínica melhor se beneficiaria desta abordagem, não sabendo-se ainda se seria melhor aplicável à depressão unipolar, bipolar ou psicótica (Gershon et al., 2003).

O uso da EMT como adjuvante em tratamento com antidepressivos também tem sido utilizada, com resultados promissores (Rumi et al., 2005).

O mecanismo de ação preciso da EMT sobre o CPFDL em pacientes deprimidos não está ainda completamente esclarecido, embora seja um instrumento promissor para o estudo dos substratos neurais da emoção em indivíduos sadios e deprimidos (Paus e Barret, 2004; Chang, 2004).

1.3 TOMOGRAFIA POR EMISSÃO DE PÓSITRONS (POSITRON EMISSION TOMOGRAPHY – PET)

A PET é denominada desta forma devido à utilização de isótopos emissores de pósitrons para gerar imagens do funcionamento cerebral. Isótopos emissores de pósitron são entidades radioativas, incluindo o oxigênio 15 (^{15}O), nitrogênio 13 (^{13}N), carbono 11

(^{11}C) e flúor 18 (^{18}F). Os isótopos radioativos são incorporados a moléculas específicas para estudar o fluxo sanguíneo cerebral, metabolismo cerebral e neuroreceptores. A água (^{15}O) fornece uma medida do fluxo sanguíneo cerebral e, devido à sua meia-vida curta, de aproximadamente dois minutos, permite que sucessivas varreduras possam ser realizadas em uma mesma sessão de imagem, permitindo mapear múltiplas condições.

Radionuclídeos emissores de pósitrons são produzidos por um ciclotron. Átomos destes radionuclídeos emissores de pósitrons são utilizados para marcar moléculas de um composto de interesse, que são introduzidos no paciente, geralmente através de injeção intravenosa. O traçador radioativo irá se distribuir no corpo, com sua distribuição e concentração variando segundo o tempo. Em um dado tempo, os átomos radioativos irão decair, emitindo um pósitron e um neutrino. O neutrino percorre o corpo sem alterações, não sendo detectado. O pósitron rapidamente perde energia em colisões com os elétrons no tecido e, em uma distância muito curta, aniquila-se com um destes elétrons. Esta aniquilação converte a massa do elétron e do pósitron em energia, que é liberada na forma de raios gama. Seguindo as leis de conservação de energia, são emitidos dois raios gama, em um ângulo de 180° , com uma energia de 511 KeV. Estes raios gama geralmente possuem energia suficiente para escapar do corpo sem atenuação, sendo detectados por sistemas externos de detecção.

Figura 1: Aniquilação do pósitron e emissão dos raios gama

Um aparelho de PET consiste de detectores de cintilação dispostos em círculo, que procuram por eventos “coincidentes”, em que a interação com dois raios gama ocorre quase simultaneamente em lados opostos do aparelho. Se as localizações de ambos raios gama podem ser detectadas com precisão, a linha em que ocorreu a aniquilação (e a emissão do pósitron, portanto) pode ser determinada. Estas “linhas de resposta” correspondem a projeções das concentrações das moléculas radioativas no cérebro. Através da combinação das linhas de respostas em diversos ângulos diferentes, os dados podem ser reconstruídos em imagens. A contagem da densidade nas imagens resultantes reflete a concentração dos isótopos radioativos nos tecidos. Assim como fornece a informação espacial, o aparelho de PET possui uma resolução temporal de segundos a minutos, sendo possível seguir procedimentos e mudanças biológicas. Em conjunto, as informações espaciais e temporais obtidas fornecem os dados necessários para a

conversão da sequência de imagens em uma avaliação dos processos biológicos ocorridos (Fox e Mintum, 1989; Berman e Weinberger, 1991).

As imagens de PET carecem de resolução espacial e de detalhes anatômicos necessários para identificar especificamente áreas menores de atividade cerebral. Para localizar a atividade cerebral, a imagem pode ser convertida em um espaço padronizado, como o espaço de Talairach (Talairach e Tournoux, 1988). Dados de muitos indivíduos são agrupados para revelar áreas de ativação. O co-registro com a IRM (Imagem por Ressonância Magnética) tem sido utilizado para melhor definição da área ativada.

Devido à meia-vida curta da água radioativa (^{15}O), a PET deve ser realizada adjacente ao ciclotron que a produz, restringido esta técnica praticamente somente à pesquisa, devido à exigência da presença física do ciclotron no local do experimento.

1.3.1 ESTIMULAÇÃO MAGNÉTICA TRANSCRANIANA E A TOMOGRAFIA POR EMISSÃO DE PÓSITRONS (PET)

A EMT, quando em combinação com a PET permite o mapeamento *in vivo* da conectividade neuronal humana inter-regional. O conjunto EMT/PET possibilita o mapeamento da conectividade inter-regional através da estimulação específica de uma região com o EMT, usando as imagens obtidas com a PET para detectar mudanças na atividade neural em outras áreas cerebrais (Fox et al, 1997; Paus et al., 1997). O uso associado da EMT com técnicas de imagem permite um avanço no entendimento de como a EMT afeta o cérebro, permitindo o refinamento das aplicações clínicas e seu uso terapêutico. Adicionalmente, permite o aprofundamento das investigações sobre circuitos cerebrais e conectividade.

Os primeiros estudos com este conjunto demonstraram alterações dos circuitos cerebrais estimulados, em concordância com os padrões de conectividade observados em estudos animais (Fox et al., 1997; Paus et al., 1997). Estudos posteriores estimulando o CPFDL (Speer et al., 2003) e o córtex motor primário (Fox et al., 2006) avançaram no entendimento deste conjunto. Outros grupos utilizaram o SPECT (Barret et al., 2004; Ohnishi et al., 2004) para medição das alterações do FSC causadas pela EMT.

O conjunto EMT/PET também oferece um novo meio de determinar quais circuitos estão sendo modulados por tratamentos específicos, permitindo verificar possíveis mudanças no padrão de conectividade entre diferentes áreas cerebrais antes e após o tratamento, pois diferentes áreas cerebrais estão ativadas durante o estado eutímico ou durante o estado depressivo, em pacientes com Depressão Maior (Soares et al., 1997; Mayberg, 2003).

1.4 NEUROIMAGEM NO TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR

O avanço das técnicas de neuroimagem tem permitido a investigação dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos no TDM *in vivo* no sistema nervoso central (SNC) por meio de estudos volumétricos, utilizando a Tomografia Computadorizada e a Ressonância Nuclear Magnética (RNM); neuroquímicos – utilizando a Espectroscopia por Ressonância Magnética (ERM); e funcionais, utilizando a Ressonância Magnética Funcional (RMF), Tomografia por Emissão de Pósitrons (PET) e a Tomografia por Emissão de Fóton Único (SPECT).

1.4.1 ESTUDOS VOLUMÉTRICOS NO TDM

Achados globais incluem um aumento do risco de lesões de hiperintensidade em imagens ponderadas em T2 (Videbech, 1997), alargamento de sulcos e ventrículos (Elkis et al., 1995), mas com preservação do volume cerebral total (Husain et al., 1991; Coffey et al., 1993; Kumar et al., 2000). Achados regionais evidenciam menor volume do lobo frontal (Krishnan et al., 1992; Coffey et al., 1993; Kumar et al., 1998); preservação do volume do lobo temporal (Bremner et al., 2000; Caetano et al., 2004) e da amígdala (Bremner et al., 2000), diminuição do volume do hipocampo (Campbell et al., 2004, Caetano et al., 2004) e preservação do volume do tálamo (Parashos et al., 1998; Caetano et al., 2001). Os achados nos núcleos da base incluem diminuição do caudado e putâmen (Parashos et al., 1998), embora outros grupos não tenham replicado estes achados (Lenze et al., 1999; Lacerda et al., 2004).

1.4.2 ESPECTROSCOPIA NO TDM

A técnica mais comumente utilizada no estudo dos transtornos afetivos tem sido a Espectroscopia por Ressonância Magnética de Próton (ERM-H¹), que permite a mensuração do NAA (N-Acetil Aspartato), que é um marcador de viabilidade neuronal, além do estudo de substâncias envolvidas no metabolismo dos fosfolípides de membrana (GPC+PC – glicerolfosfocolina), do estado metabólico energético celular (PCr+Cr – fosfocreatina + creatina), e de aspectos da neurotransmissão (Glu – Glutamato e Gln – Glutamina (Stanley et al., 2002).

Pacientes com TDM apresentaram uma diminuição do NAA no CPFDL (Murata et al., 2001), diminuição do Glu+Gln no giro do cíngulo (Auer et al., 2000), diminuição da

razão GPC+PC/PCr+Cr na amígdala (Kusumakar et al., 2001) e diminuição da razão GPC+PC/PCr+Cr nos gânglios da base (Renshaw et al., 1997).

1.4.3 ESTUDOS FUNCIONAIS NO TDM

Os estudos funcionais utilizam o Fluxo Sanguíneo Cerebral (FSC) ou o metabolismo de glicose, como medidas de ativação cerebral. Habitualmente o FSCr (FSC regional) é pareado com o metabolismo tecidual local. Os dois procedimentos de neuroimagem mais utilizados para a medida do FSCr são a PET e o SPECT. Adicionalmente, uma medida funcional relacionada ao FSCr (embora indiretamente) pode ser obtida através da RMF, que pode ser obtida utilizando a técnica *BOLD* (*blood oxygenation level-dependent* – oxigenação do sangue nível dependente) (Bandettini et al., 1992).

A literatura atual sugere que tanto efeitos globais, quanto locais, no metabolismo neuronal e fluxo sanguíneo cerebral são observados em uma variedade de patologias psiquiátricas (Drevets et al., 1992; Soares et al., 1997, Mayberg et al., 1997).

Estudos avaliando o FSC indicam uma diminuição do FSCr do CPFDL em pacientes, comparados a controles (Kimbrell et al., 2002; Gonul et al., 2004). Em uma metanálise recente, Fitzgerald e cols (2006) demonstraram que 6 em 8 estudos funcionais desta área apresentaram uma diminuição da atividade. Outros estudos avaliando o FSC apresentaram um aumento do FSC em pacientes deprimidos, no giro do cíngulo anterior, amígdala, hipocampo e cerebelo (Videbech et al., 2002).

Dentre os estudos avaliando o metabolismo de glicose, foi verificada uma diminuição do metabolismo no CPFDL (Baxter et al., 1989; Biver et al., 1994), giro do

cíngulo anterior (Mayberg et al., 1997; Kimbrell et al., 2002), e posterior (Mayberg et al., 1997), amígdala (Kimbrell et al., 2002) e córtex temporal (Kimbrell et al., 2002) e um aumento do metabolismo no cerebelo (Kimbrell et al., 2002).

1.5 MODELO NEUROANATÔMICO DA DEPRESSÃO

Um melhor entendimento da neuroanatomia das emoções normais tem enriquecido o estudo da fisiopatologia do TDM e as evidências apontam para o envolvimento de estruturas cerebrais bem determinadas, postuladas como relevantes na regulação, expressão e reconhecimento de emoções específicas (Liotti et al., 2001; Mayberg, 2002; Philips et al., 2003). Soares e Mann (1997) propuseram que as áreas compreendidas no modelo neuroanatômico da depressão seriam o córtex pré-frontal, complexo amígdala hipocampo, tálamo, gânglios da base e, acessoriamente, cerebelo. Dentre estas estruturas, o CPFDL, devido às suas particularidades anatômicas e funcionais, tem sido considerado peça fundamental na compreensão da neurobiologia das emoções. O córtex pré-frontal apresenta extensas conexões com outras regiões cerebrais, em especial com gânglios da base e tálamo, através de circuitos que regulam a atividade motora, os movimentos oculares e aspectos do comportamento (Weinberger, 1993; Mega e Cummings, 1994). O CPFDL, que engloba as áreas de Brodmann 9 e 46, está implicado em diversas e importantes funções cognitivas, como memória de trabalho, processamento visuo-motor, memória espacial e outras funções executivas (Barbas, 2000; Fuster 2002). Estudos post-mortem relatam redução no tamanho e da densidade dos neurônios e das células gliais nesta área em pacientes deprimidos (Rajkowska et al., 2001; Uranova et al., 2004). A diminuição da função do lobo pré-frontal no TDM é a alteração mais consistente nos

estudos de metabolismo cerebral (Soares et al., 1997; Mayberg et al., 1999; Drevets et al., 2001).

Segundo Alexander (Alexander et al., 1986, 1990) estas estruturas funcionam de forma integrada. Este autor iniciou os estudos sobre a hipótese dos circuitos cerebrais segregados. O tema central desta hipótese é que a convergência estrutural e a integração funcional ocorre dentro de cada circuito, mais do que entre os circuitos. Estudos estruturais e funcionais sugerem que os circuitos funcionam de forma segregada, embora com intercomunicações. Admitidamente, as evidências anatômicas nas quais este esquema se baseia permanecem incompletas. As hipóteses continuam baseadas em estudos animais e em estudos com humanos utilizando métodos de imagem funcional e estrutural.

Mega e Cummings (1994) propuseram a existência de cinco grandes circuitos anatômicos paralelos, sendo dois motores e três cognitivos, que ligam regiões do córtex frontal a estruturas subcorticais (estriado, globo pálido, substância negra e tálamo). De forma simplificada, a estrutura comum a todos estes circuitos inclui feixes excitatórios que saem do lobo frontal e terminam nos núcleos caudado, putamem e estriado ventral, de onde saem feixes inibitórios para globo pálido e substância negra. Estas estruturas enviam novas aferências para núcleos talâmicos e sub-talâmicos, que completam o circuito enviando conexões excitatórios ao lobo frontal. Estes circuitos não são fechados, recebendo aferências de outras áreas corticais.

Mayberg propôs uma expansão deste modelo, agrupando as áreas em três seções gerais: dorsal, ventral e subcortical (Figura 2). A seção dorsal (atenção-cognição)(*attention-cognition-context*), em azul no esquema abaixo, inclui elementos

neocorticais e límbicos superiores, mediando aspectos cognitivos de emoção negativa como apatia, lentidão psicomotora e prejuízo da função executiva, com base em estudos de lesão-déficit estrutural (Mayberg et al., 1994), efeitos de tratamento específico em pacientes deprimidos (Bench et al., 1992; Mayberg et al., 2000), e padrões de conectividade em primatas (Petrides e Pandia, 1984; Morecraft et al., 1993).

A seção ventral (autônômica circadiana)(*autonomic-circadian internal milieu*), em vermelho na figura abaixo, é composta de regiões límbicas e paralímbicas, responsáveis pela mediação de aspectos circadianos, somáticos e vegetativos da depressão.

A seção subcortical, em verde, é composta pelo tálamo, estriado e tronco cerebral, e é colocada em separado por não obedecer à relação inversa proposta por Mayberg, em que a segregação frontal-límbica (dorsal-ventral) identifica as regiões cerebrais onde uma relação inversa é vista em diferentes paradigmas utilizando PET. Tristeza e depressão são ambas associadas à diminuição das regiões neocorticais dorsais e aumento nas límbicas e paralímbicas.

Falhas em qualquer ponto na integração desta rede é explicada como a hipótese que gera os sintomas clínicos encontrados na depressão. Este modelo propõe que a remissão ocorre quando há modulação apropriada das interações disfuncionais cortiço-límbicas, o que pode ser atingido por diversas formas de tratamento. Diferentes intervenções terapêuticas como drogas, placebo, terapia cognitiva comportamental e cirurgia agem em diferentes pontos deste circuito, para o reestabelecimento do equilíbrio. É, portanto, postulado que a modulação inicial de um único alvo por tratamento específico ocasiona mudanças adaptativas dos circuitos, nos caminhos necessários para se recuperar a homeostase, resultando na recuperação clínica. As regiões frontal dorsal medial (mF9),

região rostral do giro do cíngulo anterior (rCg24), e córtex órbito frontal medial (oF11) estão separados de seus respectivos “compartimentos” para enaltecer suas interações primárias fundamentais, tanto no próprio “nível” como entre os diferentes “níveis”, em relação à integração auto-referencial (*self*), saliência emocional e estímulos exógenos relevantes para a recompensa, punição e recompensa nos estados normal e deprimido.

Figura 2: Modelo Neuroanatômico da Depressão – Adaptado de Mayberg (2003)

Abreviações: mF: medial frontal; dF: prefrontal; pm: premotor; par: parietal; aCg: giro do cíngulo anterior dorsal; pCg: giro do cíngulo posterior; rCg: região rostral do giro do cíngulo; tr cereb: tronco cerebral; mOF: órbita frontal medial; Cg25: giro do cíngulo subgenual; Hip: hipotálamo; Hc: Hipocampo; ins-a: ínsula anterior; amig: amígdala; ins-p: ínsula posterior; os números são designações de Brodmann. Os outros termos da figura constam no parágrafo acima.

Como os outros modelos, este é um modelo em construção, em que novos estudos ajudarão a confirmá-lo ou corrigi-lo.

Desenvolvemos o presente estudo visando ampliar o conhecimento da fisiopatologia envolvida no TDM, a partir da associação de técnicas de imagem e estimulação cerebral, permitindo a investigação *in vivo* desta patologia. Este foi o primeiro estudo estimulando o CPFDL de pacientes deprimidos, comparados a controles, utilizando EMT em diferentes frequências, com a utilização da PET para visualização das diferenças do FSC das áreas cerebrais envolvidas no modelo neuroanatômico da depressão.

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL

Comparar as alterações do FSCr através da PET em áreas conhecidamente interconectadas, quando o CPFDL esquerdo é estimulado pela EMT , em pacientes com TDM e controles.

2.1.1 ESPECÍFICOS

2.1.1.1 Verificar se a estimulação do córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo de pacientes produz um aumento significativamente menos intenso do FSC nesta área, comparando a controles.

2.1.1.2 Avaliar as alterações do FSCr em pacientes e em controles nas estruturas que compõem o modelo neuroanatômico do TDM, quando estimulando o CPFDL esquerdo com EMT, a saber: córtex pré-frontal dorsolateral, hipocampo, amígdala, giro do cíngulo anterior, tálamo, globo pálido, estriado e cerebelo.

2.1.1.3 Verificar se a estimulação do CPFDL com EMT nas intensidades de 90%, 100% e 110% do Limiar Motor (LM) produz alterações crescentes do FSC nas estruturas do modelo neuroanatômico do TDM.

2.2 HIPÓTESES

2.2.1 O FSCr estará diminuído no CPFDL de pacientes, comparados a controles, quando estimulando com EMT esta área cerebral, em todas as intensidades utilizadas.

2.2.2 As variações do fluxo sanguíneo cerebral regional nas estruturas que compõem o modelo neuroanatômico da depressão estarão alteradas em pacientes com TDM comparados a controles.

2.2.3 Intensidades crescentes de estimulação (90%, 100% e 110% do LM) do CPFDL com a EMT serão correlacionadas a alterações crescentes do FSC nas estruturas que compõem o modelo neuroanatômico da depressão.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

Este projeto foi desenvolvido na Divisão de Transtornos do Humor e Ansiedade do Departamento de Psiquiatria do Centro de Ciências da Saúde da Universidade do Texas em San Antonio (*UTHSCSA*), Texas, EUA, e no Centro de Pesquisas em Imagem (*IRC – Image Research Center*) da *UTHSCSA*, Texas, EUA, sob supervisão dos Doutores Jair C. Soares e Peter T. Fox. O consentimento informado foi obtido de todos os participantes, em acordo com a declaração de Helsinki, sob os auspícios do Comitê de Ética e do Comitê de Segurança Radioativa da Universidade do Texas, Centro de Ciências da Saúde, em San Antonio, Texas, EUA.

O autor desta tese conduziu a maior parte das entrevistas psiquiátricas e aplicação das escalas. Todos os pesquisadores envolvidos na realização deste estudo foram previamente treinados, somente iniciando as entrevistas dos pacientes após terem observado 10 entrevistas e ter realizado em conjunto com um pesquisador experiente outras cinco entrevistas, obtendo concordância diagnóstica de 100%. Adicionalmente, o autor preparou os indivíduos para o procedimento, aplicou o traçador radioativo, auxiliou no pré-processamento das imagens, organizou o banco de dados e auxiliou no processamento da análise estatística.

3.1 CASUÍSTICA

Os pacientes foram selecionados através de divulgação em mídia impressa e TV, anunciados na comunidade local, além de encaminhamentos de psiquiatras e psicólogos da Universidade do Texas em San Antonio, Texas, EUA. Pacientes e controles receberam US\$300.00 pela participação em todas as fases do estudo. O valor recebido pelos pacientes e as demais fases deste estudo foram financiadas pela *Dana Foundation Clinical Hypothesis Program in Imaging*, RR 20571; *UTHSCSA (University of Texas Health Science Center at San Antonio) GCRC* (M01-RR-01346); *Krus Endowed Chair in Psychiatry (UTHSCSA)*; e Capes (BEX 3395/04-9).

3.1.1 PACIENTES COM TDM

3.1.1.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Idade entre 18 e 65 anos

Diagnóstico de TDM recorrente pelo DSM-IV

3.1.1.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Presença de outro diagnóstico psiquiátrico do eixo I para o DSM-IV, exceto transtornos ansiosos (incluindo Transtorno de Estresse Pós-Traumático)

Uso atual de medicação antidepressiva – duas semanas sem antidepressivos (quatro semanas, no caso de fluoxetina)

Presença de patologia neurológica ou história de trauma crânio-encefálico com perda de consciência por mais de cinco minutos

Presença de patologia clínica que pudesse influenciar os dados de neuroimagem (e.g., patologias cardiovasculares, endocrinológicas, hepáticas, renais)

Gravidez (teste de beta HCG na urina no dia do exame físico e no dia da realização da PET)

Presença de objetos metálicos no corpo (e.g., próteses metálicas, marca-passo cardíaco, ferimentos por arma de fogo com permanência do projétil).

3.1.2 CONTROLES SAUDÁVEIS

3.1.2.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Idade entre 18 e 65 anos de idade

Ausência de qualquer diagnóstico pelo DSM-IV de transtornos psiquiátricos

Ausência de história psiquiátrica que sugerisse qualquer diagnóstico pelo DSM-IV de transtornos psiquiátricos em parentes de primeiro grau

3.1.2.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Presença de patologia neurológica ou história de trauma crânio-encefálico com perda de consciência por mais de cinco minutos

Presença de patologia clínica que pudesse influenciar os dados de neuroimagem (e.g., patologias cardiovasculares, endocrinológicas, hepáticas, renais)

Gravidez (teste de beta HCG na urina no dia do exame físico e no dia da realização da PET)

Presença de objetos metálicos no corpo (e.g., próteses metálicas, marca-passo cardíaco, ferimentos por arma de fogo com permanência do projétil).

3.1.3 AVALIAÇÃO CLÍNICA

3.1.3.1 ENTREVISTA PSIQUIÁTRICA

Todos os indivíduos foram submetidos às entrevistas estruturadas no momento de entrada no protocolo de pesquisa. Previamente à entrevista clínica, todos foram submetidos a uma triagem por telefone, para verificar se eram ou não elegíveis para a entrevista (e.g., se havia alguma patologia neurológica ou clínica grave, o indivíduo já era automaticamente excluído).

Os pacientes foram submetidos ao SCID-I/P (versão para pacientes, eixo I)(First et al., 2002), enquanto os controles foram entrevistados utilizando-se o SCID-I/NP (versão para não-pacientes, eixo I)(First et al., 2002). O pesquisador só iniciou as entrevistas após ter observado 10 entrevistas e ter realizado em conjunto com um pesquisador experiente outras cinco entrevistas, obtendo concordância diagnóstica de 100%. Todas as entrevistas desta pesquisa foram revisadas por um psiquiatra (Dr. Jair C. Soares) com licença para praticar medicina nos EUA.

3.1.3.2 DESCRIÇÃO DEMOGRÁFICA

Foram selecionados 62 pacientes com suspeita de TDM recorrente, mas somente 19 preencheram os critérios exigidos (Tabela 1). As maiores causas de exclusão foram pontuação na escala de Hamilton menor que 18, depressão bipolar (e não unipolar

recorrente), condições clínicas graves e uso atual de medicações antidepressivas. As imagens de dois pacientes não apresentaram qualidade boa o suficiente para serem analisadas. Todos os pacientes eram destros, exceto um.

Foram selecionados 37 controles saudáveis para participar da entrevista, sendo que 18 foram excluídos após a entrevista e dois por não tolerarem a dor induzida pela EMT (Tabela 1). Somente um controle da amostra final era canhoto.

A amostra final do estudo foi constituída por 17 pacientes com TDM recorrente e 17 controles saudáveis.

Tabela 1 – Entrevistas realizadas e amostra final de pacientes e controles

	Pacientes com TDM (n)	Controles Saudáveis (n)
Entrevistas realizadas (SCIDs)	62	37
Indivíduos que não preencheram os critérios de inclusão	43	18
Tomografias por Emissão de Pósitrons com EMT realizadas	19	19
Indivíduos que não toleraram o procedimento	-	2
Imagens não utilizáveis	2	-
Amostra final	17	17

Os dados demográficos dos pacientes e controles são apresentados na tabela 2 e 3. Sete dos 17 pacientes apresentavam comorbidades ansiosas, conforme demonstra a tabela 2.

Tabela 2 - Dados demográficos dos pacientes

	Sexo	Idade	Anos de escolari- dade	Idade do primeiro episódio depressivo	Número de episódios	Comorbi- dades	HAM-D (21 itens)
Paciente 1	M	21	14	7	30	Não	19
Paciente 2	M	47	16	40	18	Não	19
Paciente 3	F	41	12	24	10	Não	19
Paciente 4	F	61	10	59	2	TAG	30
Paciente 5	M	35	16	16	9	Não	26
Paciente 6	F	37	20	18	6	Não	18
Paciente 7	F	41	19	34	2	Fobia Social	24

Paciente 8	F	22	14	13	10	TAG, TOC	38
Paciente 9	F	50	14	21	5	TEPT	19
Paciente 10	M	24	13	13	3	Não	19
Paciente 11	M	46	20	19	9	TEPT	18
Paciente 12	F	56	14	16	12	Não	22
Paciente 13	F	47	14	25	12	Não	18
Paciente 14	F	22	12	16	6	Não	23
Paciente 15	F	19	14	14	7	Não	19
Paciente 16	F	37	10	7	9	Fobia Social, TEPT	21
Paciente 17	F	25	16	12	8	TEPT	26
	12 F	Média:	Média:	Média:	Média:	TEPT: 3	Média:
	5 M	36,8	14,6	15,5	9,3	TAG: 1	22,2

	Fobia
	Social:1
	TAG e
	TOC: 1
	Fobia
	Social e
	TEPT: 1

M: Masculino; F: Feminino

TAG: Transtorno de Ansiedade Generalizada

TEPT: Transtorno de Estresse Pós-Traumático

TOC: Transtorno Obsessivo Compulsivo

Tabela 3 - Dados demográficos dos controles

	Sexo	Idade	Anos de escolaridade
Controle 1	M	41	12
Controle 2	M	46	20
Controle 3	F	24	16
Controle 4	F	33	12
Controle 5	F	25	13
Controle 6	M	43	17
Controle 7	M	25	17
Controle 8	F	25	14
Controle 9	F	45	14
Controle 10	F	30	12
Controle 11	F	33	14
Controle 12	M	38	19
Controle 13	F	33	12
Controle 14	M	25	19
Controle 15	F	62	19
Controle 16	F	27	16
Controle 17	M	50	18
	F 10	35,7	Média: 15,5
	7 M		

Os pacientes com TDM recorrente e controles saudáveis não apresentaram diferenças estatisticamente significativas quanto ao sexo, idade e anos de escolaridade, conforme demonstram as tabelas 4 e 5.

Tabela 4 – Distribuição grupos controles e pacientes em relação ao sexo

		Paciente Controle		p
		N (%)	N (%)	
	Sexo	M	F	
		5 (29)	7 (41)	0,472
		12 (71)	10 (59)	

Para avaliar a significância foi utilizado o teste Qui-quadrado.

Tabela 5 – Variáveis idade e anos de escolaridade para os grupos controles e pacientes

		N (34)	Média	DP	IC 95%		Min	Max	P
					Inf.	Sup.			
Idade	Controle	17	35,66	10,95	30,03	41,29	24,1	62,2	0,789
	Paciente	17	36,78	13,15	30,02	43,54	19,3	61,1	
Anos de escolaridade	Controle	17	15,53	2,85	14,06	17,00	12	20	0,356
	Paciente	17	14,59	3,00	13,05	16,13	10	20	

Para avaliar a significância foi utilizado o teste t-Student para amostras independentes.

A tabela 6 apresenta a média e o desvio padrão das variáveis tempo de doença, número de episódios e escore na escala de depressão de Hamilton (HAM-D).

Tabela 6 – Variáveis tempo de doença, número de episódios e HAM-D para o grupo de pacientes

	N (17)	Média	DP	Min	Max
Tempo de doença (anos)	17	15,88	10,553	2	40
Número de episódios	17	9,29	6,678	2	30
HAM-D (21 ítems)	17	22,24	5,356	18	38

3.2 ESCALAS DE AVALIAÇÃO CLÍNICA

3.2.1 ESCALA DE DEPRESSÃO DE HAMILTON

A Escala de Depressão de Hamilton (Hamilton, 1960) avalia a intensidade do quadro depressivo. Foi utilizada a versão de 21 itens, com variação de 0 a 62 pontos. Neste protocolo, pacientes com escore inferior a 18 foram excluídos.

3.2.2 ESCALA DE LATERALIDADE DE OLDFIELD

Esta escala é composta de 10 questões sobre a preferência em usar a mão direita ou esquerda para realizar atividades motoras diárias (e.g., desenhar, escrever, usar a escova de dente) para avaliar se o indivíduo é destro, canhoto ou ambidestro.

3.2.3 EXAMES COMPLEMENTARES

Em todos os pacientes e controles foram realizados exames físicos de rotina e neurológico básico, com a realização dos seguintes exames laboratoriais: função hepática, eletrólitos, função renal, função tireoideana, urina rotina e testagem para drogas.

3.3 NEUROIMAGEM

3.3.1 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA POR IMAGEM (RMI)

Uma RMI foi adquirida para co-registro com a Tomografia por Emissão de Pósitrons, para possibilitar a localização precisa do CPFDL e das estruturas correspondentes ao foco da ativação funcional. Os exames foram realizados em um

Elscent 1.9 T Prestige system (Elscent Ltd., Haifa, Israel). As imagens empregaram *3D Gradient Recalled Acquisitions in the Steady State (3D GRASS)*, com um tempo de repetição de 33ms, tempo de eco de 6 ms, ângulo de 35° para obter um volume de 256x256x128 de dados, em uma resolução espacial de 1 mm³.

A localização do CPFDL esquerdo foi determinada a partir do estudo da RMI que precedeu a sessão EMT/TEP. Durante a sessão de RMI o paciente era requisitado a deitar-se e permanecer estático, sem mover a cabeça.

3.3.2 TOMOGRAFIA POR EMISSÃO DE PÓSITRONS

As imagens pela PET foram realizadas em uma câmera GE 4096 (Figura 3), que possui um espaço de pixel de 2.0 mm, um inter-plano, distância centro a centro de 6.5 mm, 15 planos de imagem e um eixo z campo de visão de 10 cm. A correção da atenuação da radiação foi realizada através de uma imagem de transmissão coletada antes da primeira imagem, utilizando uma fonte ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga. O FSC foi medido com H₂¹⁵O, administrado em um bolo intravenoso de 8-10 ml de solução salina contendo 50-70mCi . No início da aquisição das imagens uma cânula intravenosa foi inserida no antebraço esquerdo dos participantes para injeção do traçador radioativo. Uma imagem de 90 segundos era disparada assim que o traçador era detectado no campo de visão através do aumento da contagem radioativa. Cada indivíduo foi submetido a uma série de 11 imagens independentes no aparelho, durante uma sessão de três horas de duração, com uma transmissão, um teste n-back (teste que avalia funções executivas, como memória de trabalho e atenção – a análise deste teste ficou completamente a cargo do Dr. David Glehn, do departamento de psicologia da *UTHSCSA*), uma imagem de repouso e duas

imagens em cada uma das quatro condições estudadas (90%, 100% e 110%, e controle auditivo)(tabela 7). Um intervalo de 10 minutos entre as imagens era suficiente para a queda substancial do isótopo radioativo (cinco meias-vidas) e retorno ao estado de repouso do FSC nas regiões ativadas.

Figura 3: Aparelho de PET

3.3.2.1 PRÉ-PROCESSAMENTO DAS IMAGENS

As imagens foram reconstruídas utilizando-se um filtro *Hann*, resultando em imagens com uma resolução espacial de aproximadamente 7 mm (*full-width at half-maximum (FWHM)*). O método utilizando a ferramenta de extração do cérebro (*Brain Extraction Tool (BET)*) foi aplicada nos dados obtidos de cada indivíduo para definir o volume da RMI. O volume cerebral da PET foi definido pela intensidade limite de 30% do valor máximo em cada indivíduo, com valores inferiores a este sendo considerados dados não provenientes do cérebro. Após este processo automatizado, uma inspeção visual foi realizada para checagem das imagens obtidas. As imagens da PET eram normalizadas para um valor arbitrário médio de 1,000 (Raichle, 1983; Fox et al., 1988; Friston et al., 1990). Seguindo a normalização global da imagem de cada indivíduo, movimentos durante o exame e inter-imagens foram avaliados e corrigidos utilizando-se o algoritmo de Woods (Woods et al., 1992). As imagens da PET eram normalizadas para permitir parear os volumes normalizados da RMI, através do algoritmo de *convex hulls* de Lancaster et al. (1999). A normalização das imagens da PET para parear os volumes da RM foi realizada através do algoritmo de Lancaster et al. (1999), implementado no programa. O algoritmo SN (*spatial normalization*)(Lancaster et al., 1999) realizou a normalização espacial (nove-parâmetros), registrando cada indivíduo ao formato alvo fornecido pelo atlas de Talairach e Tournoux (1988).

Mudanças regionais na atividade neuronal foram medidas através da monitorização das mudanças no FSCr normalizado. O FSCr normalizado foi medido através da gravação da distribuição da radioatividade seguindo a injeção intravenosa da água radioativa marcada com ^{15}O (Fox e Mintun, 1989).

3.4 ESTIMULAÇÃO MAGNÉTICA TRANSCRANIANA

O posicionamento do dispositivo de EMT foi determinado previamente, a partir do estudo da RMI. A EMT foi posicionada no primeiro corte anterior ao corpo caloso, na junção do giro frontal superior e médio (CPFDL).

A EMT foi aplicada no CPFDL esquerdo a 3 Hz com um dispositivo em forma de 8 (ou B), resfriado por água (Cadwell, Inc.; Kennewick, Washington)(Figura 4). O dispositivo era alimentado por uma unidade Cadwell HSMS, que desenvolve um pulso elétrico tri-fásico, com uma duração total de 240 μ s e um pico *E-field* de 435 volts/metro na superfície do dispositivo, a 100% de carga da máquina.

Figura 4: Aparelho de EMT de alta frequência, em forma de B

Durante a obtenção das imagens, o aparelho foi mantido em uma posição fixa determinada pelo robô neurocirúrgico NeuroMate[®] (Figura 5)(ISS, Sacramento, California) (Lancaster et al., 2004), possibilitando focar o ponto preciso da estimulação, conforme determinado pela RMI (Figura 7). A localização precisa do encéfalo do paciente era fornecida através da medição de seu escalpo (Figura 6)(Lancaster et al., 2004). O robô também permitiu que o dispositivo permanecesse imóvel durante as sucessivas estimulações. A cabeça do participante foi imobilizada usando-se uma máscara termo-facial anexada a um imobilizador de cabeça.

Figura 5: Robô NeuroMate[®]

**Local em que o aparelho
de EMT era acoplado**

**Robô
NeuroMate**

Figura 6: Aparelho utilizado para a medição do escalpo do paciente

**Base do aparelho
(conectada ao
NeuroMate[®])**

**Controle manual
utilizado na
medição do escalpo**

O córtex motor primário (M1) foi localizado previamente às imagens e seu Limiar Motor (LM) determinado, definido como a intensidade que causava contrações palpáveis do músculo *abductor pollicis brevis*, da mão contralateral, em aproximadamente metade das estimulações, quando estimulando M1 em uma intensidade ≤ 0.3 Hz. Esta intensidade, que varia de indivíduo para indivíduo, foi definida como o parâmetro de 100% do LM.

Devido ao local escolhido para a aplicação da EMT ser uma área muito sensível e susceptível a dor, anestesia local com 5 ml de polocaína, solução a 1.5%, foi aplicada nos ramos dos nervos supratroclear e supraorbital, com uma agulha curta fina inserida no ângulo entre as bordas superior e medial da órbita, até que a área ficasse visivelmente inchada e o paciente relatasse parestesia na parte central da fronte.

Figura 7: Localização do aparelho de EMT e local de aplicação em um paciente.

Para o controle do estímulo auditivo, a altura do som da EMT de cada indivíduo foi medida em decibéis, próximo ao meato auditivo externo. Nas estimulações placebo (*sham*) o aparelho de EMT não era ligado e duas caixas de som eram posicionadas próximas à cabeça do indivíduo emitindo um som similar (gravado previamente) à EMT, no mesmo volume da intensidade de 100%.

A EMT foi aplicada em três intensidades: 90%, 100% e 110% do limiar motor e um controle auditivo, com duas aplicações em cada condição. As aplicações foram realizadas em uma ordem pseudo-randomizada (a randomização ocorria somente a partir da 4ª imagem, pois as 3 primeiras eram fixas, conforme expõe a tabela 7). A EMT era iniciada 30 a 60 segundos antes da injeção do traçador radioativo e continuava durante os primeiros 40 dos 90 segundos de aquisição da imagem.

Tabela 7 – Sequência da EMT durante a PET

Scan	Condição
1	Transmissão
2	n-back
3	Repouso
4 – 11	EMT aplicado no CPFDL esquerdo, randomicamente, distribuído nas intensidades de 90%, 100%, 110% do limiar motor e controle auditivo – duas estimulações em cada condição

3.5 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram analisados utilizando o algoritmo validado de Fox e cols. (1985), implementado no programa MIPS (*Multiple Image Processing Station*)(*Research Imaging Center, UTHSCSA, San Antonio, Texas, EUA*). A hipótese nula é a de que não haveria diferenças nas alterações do FSC na áreas do modelo neuroanatômico da depressão, em pacientes comparados a controles, quando estimulando o CPFDL esquerdo com EMT nas intensidades de 90%, 100% e 110% do LM. Utilizou-se uma estratégia *ROI-free* (sem áreas de interesse prévias) para verificar mudanças significativas no FSC. Uma imagem paramétrica estatística (*statistical parametric image-SPI*) foi computada, em imagens com condições semelhantes, em uma média dos indivíduos. O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para verificar a distribuição normal dos dados. A imagem resultante foi subtraída da condição de interesse, através de um teste t de Student, implementado no MIPS. O desvio padrão foi calculado através de todos os voxels da imagem computada. Extremos locais (positivos e negativos) foram identificados em cada imagem resultante, utilizando um algoritmo de procura 3-D (Mintun et al., 1989), respeitando um volume mínimo de 250 mm³ (Mintun et al., 1989; Fitzgerald et al., 2006). Para facilitar a visualização destes valores máximos e mínimos, as imagens paramétricas estatísticas foram convertidas em valores z, através da divisão de cada voxel da imagem pelo desvio padrão médio da condição e então sobrepostas na imagem normalizada média da RMI da mesma condição. O coeficiente de correlação de Pearson, implementado dentro do MIPS, foi utilizado nas medidas de associação linear entre condições distintas, sendo utilizado para a testagem da terceira hipótese listada (2.2.3). O nível de significância adotado foi de 1%. A correção de Bonferroni para comparações múltiplas

foi utilizada na análise post hoc. Como o número de áreas analisadas foi de aproximadamente 330, partindo-se de um $p < 0,01$ (nível de significância de 1%), chegou-se a um $p < 0,00003$ para a análise final das hipóteses 2.2.1 e 2.2.2 ($p < 0,00003$ para um escore $Z \geq 5$, e um tamanho de cluster $> 250 \text{ mm}^3$, bicaudal).

4. RESULTADOS

4.1 AVALIAÇÃO FUNCIONAL

Os pacientes apresentaram uma resposta diminuída no Fluxo Sanguíneo Cerebral (FSC) à estimulação em 100% de intensidade do Limiar Motor (LM) da Estimulação Magnética Transcraniana (EMT) no Córtex Pré-frontal Dorsolateral (CPFDL) esquerdo. O giro do cíngulo posterior esquerdo e direito demonstraram aumento do FSC em todas as intensidades nos pacientes deprimidos. Os pacientes também apresentaram uma resposta diminuída no giro do cíngulo anterior a 90% do LM e vermis cerebelar direita em resposta à EMT do CPFDL em todas as intensidades, comparando com controles saudáveis. Dentre as regiões subcorticais, o globo pálido esquerdo nas intensidades de 90% e 110% do LM e o tálamo direito, na intensidade de 100% demonstraram uma diminuição do FSC entre pacientes. Não encontramos uma correlação do aumento do FSC com intensidades crescentes de estimulação. As tabelas 8, 9 e 10 apresentam as áreas com alteração do FSC quando estimulando o CPFDL em diferentes intensidades. A

tabela 11 apresenta as diferenças do FSC em pacientes, em repouso, que é demonstrada para uma melhor caracterização da amostra estudada.

Tabela 8 – Mudanças do FSCr em pacientes, comparando com controles, a 90% de intensidade da EMT

Região	AB	Lado	Coordenadas x, y, z	Extensão (mm ³)	Z ^c
Giro do cíngulo anterior	24	Direito	8, 28, 10	285	-5.95
Giro do cíngulo anterior	24	Direito	6, 14, 22	254	-6.25
Globo pálido		Esquerdo	-20, -4, 0	257	- 5.95
Giro do cíngulo posterior	23	Direito	8, -58, 12	302	7.09
Giro do cíngulo posterior	30	Esquerdo	-10, 56, 8	329	6.79
Cerebelo	Vermis	Direito	4, -48, -2	287	7.69

AB: Área de Brodmann

Z^c – escores Z: um número positivo indica um aumento do FSC e um número negativo indica uma diminuição do FSC.

Para todos os resultados da tabela, $p < 0.00003$ para um escore $Z \geq 5$, e um tamanho de cluster $> 250 \text{ mm}^3$, bicaudal

Tabela 9 – Mudanças do FSCr em pacientes, comparando com controles, a 100% de intensidade da EMT

Região	AB	Lado	Coordenadas x, y, z	Extensão (mm^3)	Z^c
Córtex pré-frontal dorsolateral	9	Esquerdo	-26, 23, 30	259	-5.61
Tálamo		Direito	6, -30, 8	264	-6.41
Giro frontal inferior		Direito	26, 26, 2	265	6.20
Giro do cíngulo posterior	30	Esquerdo	16, -56, 14	298	7.41
Giro do cíngulo posterior	30	Esquerdo	-10, 56, 10	308	7.58

Giro do cíngulo posterior	29	Direito	2, -46, 12	299	6.33
Cerebelo		Direito	4, -60, 0	260	5.70

AB: Área de Brodmann

Z^c – escores Z: um número positivo indica um aumento do FSC e um número negativo indica uma diminuição do FSC.

Para todos os resultados da tabela, $p < 0.00003$ para um escore $Z \geq 5$, e um tamanho de cluster $> 250 \text{ mm}^3$, bicaudal

Tabela 10 – Mudanças do FSCr em pacientes, comparando com controles, a 110% de intensidade da EMT

Região	AB	Lado	Coordenadas x, y, z	Extensão (mm^3)	Z^c
Globo pálido		Esquerdo	-11, -6, -4	258	-6.02
Giro do cíngulo posterior	29	Esquerdo	-2, -46, 12	321	7.65
Giro do cíngulo posterior	30	Direito	16, -54, 8	308	9.67

Giro do cíngulo posterior	23	Direito	4, -30, 26	274	5.78
Giro do cíngulo posterior	30	Direito	4, -62, 12	270	5.75
Cerebelo		Direito	2, -50, -4	289	5.67

AB: Área de Brodmann

Z^c – escores Z: um número positivo indica um aumento do FSC e um número negativo indica uma diminuição do FSC.

Para todos os resultados da tabela, $p < 0.00003$ para um escore $Z \geq 5$, e um tamanho de cluster $> 250 \text{ mm}^3$, bicaudal

Tabela 11 – Mudanças do FSCr em pacientes, comparando com controles, em repouso

Região	AB	Lado	Coordenadas x, y, z	Extensão (mm^3)	Z^c
Giro do cíngulo anterior	24	Direito	8, 28, 10	252	-6.05
Giro do cíngulo anterior	32	Direito	12, 24, 22	262	-5.23

Giro do cíngulo posterior	29	Direito	4, -46, 12	279	7.03
Giro do cíngulo posterior	30	Direito	14, -54, 14	278	6.86
Tálamo		Esquerdo	-10, -22, 4	265	6.76
Estriado	Caudado	Direito	10, 8, 12	280	7.80

AB: Área de Brodmann

Z^c – escores Z: um número positivo indica um aumento do FSC e um número negativo indica uma diminuição do FSC.

Para todos os resultados da tabela, $p < 0.00003$ para um escore $Z \geq 5$, e um tamanho de cluster $> 250 \text{ mm}^3$, bicaudal

Além dos valores obtidos na análise estatística, para inspeção visual das áreas ativadas, as imagens da PET foram sobrepostas às imagens obtidas na RMI (Figura 8).

Figura 8: Mudanças no FSCr em Pacientes versus controles nas intensidades de 90%, 100% e 110% do LM. O giro do cíngulo anterior (CA), tálamo (Ta) e região pregenual do giro do cíngulo (PG) apresentaram diminuição do FSC em pacientes. O giro do cíngulo posterior (CP) e a região parietal apresentaram aumento do FSC. Esta última não apresentou áreas de ativação superiores a 250mm^3 , entretanto. O Z indicado nesta figura indica o plano de corte da imagem e o “Z scores” indicado na legenda logo acima (4.0 a 7 e -4.0 a -7) indica os valores máximos e mínimos, obtidos através da divisão de cada voxel da imagem pelo desvio padrão médio da condição.

5. DISCUSSÃO

Pacientes deprimidos apresentaram um padrão de conectividade distinto dos controles. O conceito de conectividade empregado neste estudo é o conceito de conectividade funcional, que é a correlação temporal entre eventos neurofisiológicos remotos, em contraste com a conectividade efetiva, que é a influência de um sistema neural sobre outro. Dito de outra forma, é a distinção entre o funcional, em oposição à correlação causal. A conectividade funcional é simplesmente a covariância entre diferentes sistemas cerebrais, sem implicações obrigatoriamente causais (Friston et al., 1993). Adicionalmente, a atividade de duas regiões teoricamente conectadas pode sofrer a influência de outros fatores, como a modulação por uma terceira área fora do campo de visão do experimento, não previsto inicialmente.

Circuitos frontais-subcorticais estão implicados na fisiopatologia do TDM (Mayberg, 1997; Soares e Mann, 1997). Estudos utilizando neuroimagem funcional evidenciam hipofrontalidade, assim como anormalidades no fluxo sanguíneo e metabolismo da glicose em várias regiões do sistema límbico (Mayberg et al, 1994; Soares et al, 1997). Em adição ao comprometimento regional em áreas cerebrais fundamentais para estes circuitos, taxas aumentadas de hiperintensidades cerebrais difusas em áreas corticais e subcorticais também tem sido consistentemente relatadas em pacientes portadores de Depressão Maior (Soares et al., 1997; Strakowski et al., 2000),

embora mais frequentemente em bipolares e unipolares idosos, podendo estar envolvidas em sua fisiopatologia.

Foi encontrada uma resposta diminuída do FSC no CPFDL em pacientes, na intensidade de 100% da EMT, conforme esperado segundo a literatura (Gonul et al., 2004; Fitzgerald et al., 2006), que evidenciou uma diminuição da atividade nesta área durante um episódio depressivo.

Uma explicação possível para o fato de não termos encontrado nenhuma mudança do FSC no CPFDL, nas intensidades de 90% e 110% do LM, pode estar relacionada ao fato de estudos prévios com diferentes intensidades de estimulação terem estimulado o córtex motor primário, e não o CPFDL (Bohning et al., 1999; Bestmann et al., 2005; Fox et al., 2006). As intensidades escolhidas neste estudo podem não ser as ideais para estimular o CPFDL, pois não foi encontrada uma correlação entre a estimulação do CPFDL esquerdo com EMT, nas intensidades de 90%, 100% e 110%, e as estruturas que compõem o modelo neuroanatômico da depressão, em termos de aumento ou diminuição do FSC nas diferentes intensidades.

A mesma explicação pode ser válida para as mudanças do FSC do tálamo direito (diminuição do FSC em 100% do LM) e globo pálido (diminuição do FSC em 90% e 110% do LM), em que as alterações foram circunscritas a algumas intensidades de estimulação, mas não a outras. Adicionalmente, todas as modificações em regiões remotas podem ter sofrido influência da resposta diminuída do CPFDL à EMT.

Dentre os estudos prévios estimulando o CPFDL esquerdo com EMT, Barret e cols utilizaram EMT a 10 Hz, sobre o CPFDL de indivíduos saudáveis, demonstraram um aumento do FSC da área perigenual do giro do cíngulo anterior, ínsula, tálamo, giro

parahipocampal e núcleo caudado (Barret et al., 2004). Regiões cerebrais seguindo o padrão oposto incluíram o giro frontal médio, amígdala e lobos parietais inferiores e superiores. Speer e cols aplicaram a EMT a 1 Hz sobre o CPFDL esquerdo em voluntários saudáveis e encontrou uma correlação positiva do FSC no giro do cíngulo anterior ipsilateral, cerebelo, ínsula contralateral e córtex motor primário e uma correlação inversa no CPF contralateral, lobo temporal médio ipsilateral, área parahipocampal em ambos os lados e giro temporal médio posterior (Speer et al., 2003). Ohnishi e cols utilizaram EMT a 100% do LM, aplicado ao CPFDL direito, observaram que durante a estimulação houve um aumento significativo do FSC no giro do cíngulo anterior direito e giro pré-frontal médio (Ohnishi et al., 2004). Após a EMT, o FSC estava aumentado no estriado ventral esquerdo, áreas pré-frontais ventrais e córtex pré-frontal medial direito. No estriado ventral o FSC estava aumentado durante a EMT, e ainda mais aumentado após a EMT. Nenhum destes estudos utilizou intensidades variáveis da EMT, mantendo somente uma intensidade fixa, estudando somente controles saudáveis. O estudo de Ohnishi demonstra um efeito da EMT sobre o FSC que perdura após o término da estimulação. Isto pode auxiliar-nos na compreensão da ausência de diferenças entre as intensidades em nosso estudo, pois sugere que cada estimulação pode ter causado um efeito acumulativo sobre a estimulação seguinte. Como cada paciente recebeu a estimulação de dada intensidade em ordem aleatória (randomizada – exceto pelo primeiro, segundo e terceiro scans – transmissão, n-back e repouso), o efeito de cada intensidade pode ter sido anulado pelo desenho do estudo.

Adicionalmente, a estimulação foi realizada em um único dia. Estudos sobre a fisiopatologia do TDM foram habitualmente realizados em um único dia (Fox et al.,

1997; Paus et al., 1997). Estudos abordando a EMT como tratamento utilizaram a EMT em diferentes dias, o que provavelmente aumenta o efeito da estimulação (Gershon et al., 2003). Estudos abordando tratamento da Depressão e outras patologias utilizaram um numero maior de dias e sessões de aplicação da TMS (Paus et al., 1999). Este estudo foi realizado com um único dia de estimulação, pois os pacientes precisavam entrar em tratamento o mais rápido possível, o que somente seria possível após a conclusão do protocolo.

Em estudos com pacientes deprimidos, Nahas e cols utilizaram EMT/SPECT sobre o córtex pré-frontal esquerdo, por cinco dias, verificaram um aumento da atividade cortical na área diretamente sob a estimulação e no lobo frontal médio direito e uma diminuição da atividade no giro do cíngulo anterior, uncus esquerdo e ínsula esquerda (Nahas et al, 2001). Verificaram também que o FSC no local estimulado foi inversamente correlacionado com o aumento da distância do escalpo para o córtex, e que EMT rápida produz mais alterações que a EMT lenta. Embora tenha estudado pacientes deprimidos, este estudo incluiu pacientes com depressão unipolar e bipolar e não apresentou um grupo controle.

Mudanças do FSC durante um episódio depressivo no giro do cíngulo anterior são consistentemente relatadas na literatura (Mayberg et al., 1997, Mayberg et al., 2000, Drevets, 2000, Videbech et al., 2002, Holthoff et al., 2004). O giro do cíngulo anterior está envolvido no controle de comportamentos emocionais e afetivos, percepção da dor e seleção de resposta (Mayberg et al., 1997). O CPF DL envia (e recebe) densas conexões com o giro do cíngulo anterior e, em menor extensão, com o giro do cíngulo posterior (Preuss e Goldmann Rakic, 1989; Petrides e Pandia, 1999). Estudos anatômicos e

funcionais tem consistentemente apontado para anormalidades na região anterior do giro do cíngulo (Mayberg et al., 1994; Drevets, 2000). Conforme esperado, nós encontramos uma resposta diminuída nesta área, embora apenas na intensidade de 90% do LM

De forma inesperada, o giro do cíngulo posterior foi a única área com aumento do FSC bilateralmente, em todas as intensidades de estimulação. O CPF DL também é conectado com o giro do cíngulo posterior (Petrides e Pandia, 1999). Mayberg e cols. (1997) demonstraram uma diminuição do metabolismo de glicose em pacientes deprimidos nesta área, que acredita-se estar envolvida no processamento visual espacial e sensoriomotor. Em outro estudo, a mesma autora verificou que esta diminuição do metabolismo é reversível com o tratamento com fluoxetina (Mayberg et al., 2000). Drevets e cols. (2002) encontraram um metabolismo de glicose aumentado antes do tratamento embora outros autores (Kennedy et al., 2001; Holthoff et al., 2004) não encontraram alterações nesta área. Há, portanto, uma heterogeneidade nesta área em relação a alterações do FSC ou do metabolismo de glicose. Paus e cols. (2001) aplicaram a EMT no CPF DL em oito voluntários saudáveis, demonstrando uma modulação da atividade cerebral no circuito frontal-giro do cíngulo, também verificada em nosso estudo. O nosso estudo é o primeiro estudo demonstrando alterações particularmente relevantes nesta área.

Outra hipótese para termos encontrado diferenças proeminentes no giro do cíngulo posterior bilateralmente nos pacientes estudados pode ter sido o desenho de nosso estudo. A maioria dos estudos prévios não contou com grupo controle, comparando os indivíduos estudados antes e após a estimulação. O nosso estudo comparou pacientes e controles, nas intensidades de 90%, 100% e 110% do LM, estimulando o CPF DL. A

principal análise do estudo em questão foi a comparação entre os diferentes grupos, e não entre os grupos em si. Um dos motivos de termos sido restritivos em nossa análise estatística ($p < 0.00003$ e $Z > 5$) foi a tentativa de sermos mais específicos nas áreas com mudança do FSC, focando a diferença entre os grupos. Pacientes deprimidos e pessoas saudáveis se comportam de forma distinta frente a situações que causam medo ou ansiedade. Como parte do consentimento informado, foi explicado a todos os pacientes do estudo o procedimento ao qual ele seria submetido, que envolveria radiação ionizante e que poderia causar dor ou um leve desconforto. Circuitos específicos estão envolvidos no reconhecimento de estímulos que causam medo e o desencadeamento da resposta de medo (Kim et al., 1993). Fredrikson e cols. (1995) em um estudo com estímulo condicionado, encontraram aumento do FSC no giro do cíngulo posterior e anterior, além do córtex parietal bilateral. Em nosso estudo foi examinada uma amostra bem definida de pacientes com TDM recorrente, com um posicionamento preciso da EMT sobre o CPFDL, conforme descrito anteriormente, sendo realizadas aplicações sucessivas de EMT, em um mesmo dia, diferentemente de estudos prévios que estudaram somente as diferenças em repouso, ou verificaram alterações antes e após tratamento medicamentoso.

Uma limitação de diversos estudos anteriores se relaciona ao pobre direcionamento de áreas cerebrais específicas para a estimulação com EMT. Em parcela considerável dos estudos, o aparelho de EMT foi mantido manualmente durante a estimulação, sem o uso de um robô para um direcionamento mais acurado. Adicionalmente, em praticamente todos os estudos, o posicionamento do aparelho de EMT no CPFDL foi definido simplesmente apontando para um ponto 5 cm anterior ao chamado “*hot spot*” (local utilizado para a determinação do limiar motor). É possível que estudos com

direcionamento mais preciso, em que o CPFDL seja estimulado com maior precisão, encontrem evidências de efeitos terapêuticos mais pronunciados (Lancaster et al., 2004), embora isto ainda tenha que ser determinado à medida que os estudos evoluam.

O uso do braço robótico permite maior acurácia no posicionamento do aparelho de EMT. A maior parte dos estudos foi realizada com o aparelho sendo posicionado no local de forma manual, ou sem o uso de um robô (Fox et al., 1997; Paul et al., 1997, Gershon et al., 2003), o que prejudica o direcionamento da estimulação. Ao realizarmos previamente a RMI, definindo o local preciso do CPFDL em cada paciente, e ajustando o robô para estimular aquela área precisa, nos asseguramos da estimulação do local preciso (Figura 9). Visto a variabilidade interindividual da localização do CPFDL (Rajkowska et al., 1995), a localização desta área deve ser definida individualmente.

Figura 9: Posicionamento do aparelho de EMT e foco de ativação do CPFDL em um controle

Outro aspecto relevante foi que a amostra de pacientes estudados contava com sete pacientes com transtornos ansiosos associados ao quadro depressivo. Destes, três possuíam Transtorno de Estresse Pós-Traumático (TEPT), um tinha Transtorno de Ansiedade Generalizada (TAG), um com Fobia Social (FS), outro com Transtorno Obsessivo Compulsivo e TAG associados e um com FS e TEPT associados.

Estudos de imagem e funcionais estabeleceram um circuito neural envolvido no TEPT, com ênfase no papel da amígdala, assim como suas interações com o córtex pré-frontal ventro-medial e hipocampo (Rauch et al., 1997; a, b). Estas áreas não apresentaram alterações significativas do FSC em nosso estudo, enfraquecendo a possibilidade de influência desta patologia nos resultados obtidos. Os outros transtornos de ansiedade listados (TOC e FS) apresentam alterações funcionais em áreas como o giro de cíngulo anterior, córtex órbito-frontal (Rauch et al., 1997) e o tálamo. É possível que tais pacientes tenham influenciado os resultados finais do estudo. Entretanto, estes pacientes não foram excluídos da amostra original, mediante a alta taxa de comorbidade entre transtornos ansiosos e depressivos na população geral (Rauch et al., 1997). Da mesma forma, parte significativa dos estudos sobre ansiedade não consideraram a depressão maior como critério de exclusão (Baxter., 1994).

Não foram encontradas áreas com alteração do FSC maiores do que 250mm³ na região parietal. Entretanto, foram verificadas diversas áreas menores que este volume com aumento do FSC nesta área, em acordo com estudos prévios (Mayberg, 2003, 2007). Embora não tenha atingido o nível de significância mínimo para a análise, na inspeção visual esta área evidencia considerável aumento (Figura 8).

Este estudo encontrou um aumento do FSC em todas as intensidades na vermis cerebelar direita. O cerebelo possui conexões com o tronco cerebral e regiões límbicas (Berton e Torello, 1982). Bench e cols. (1992) verificaram que o aumento do FSC nesta área durante um episódio depressivo foi relacionado com um maior prejuízo cognitivo. O cerebelo modula emoções e cognições, sendo componente acessório do modelo neuroanatômico da depressão (Schmahmann et al., 1998). Videbech e cols (2002)

encontraram um aumento do FSC em pacientes deprimidos. Holthoff e cols. (2004) demonstraram uma diminuição do metabolismo de glicose nesta área após a remissão do quadro depressivo.

Algumas características da amostra estudada merecem atenção especial. Dos 17 pacientes deprimidos, um deles (paciente 1) relatou ter apresentado 30 episódios depressivos durante a vida, o primeiro aos 7 anos de idade. Posterior ao episódio depressivo foi checado com esta paciente (via telefone) se ela confirmava este número de episódios, e ela manteve o seu relato. Entretanto, tendo-se em vista que ela tinha, à época do procedimento, 21 anos de idade, ela pode ter confundido recaída com recorrência. Todavia, se retirarmos os seus dados da análise, no que tange ao número médio de episódios, a média cai de 9,3 episódios/paciente para 8 episódios/paciente, continuando alta. Devido ao fato desta paciente destacar-se sensivelmente da amostra, uma possibilidade aventada foi realizar a análise das imagens separadamente. Entretanto, mediante dificuldades técnicas do programa utilizado na análise (MIPS-UTHSCSA), esta análise não foi possível. Outra paciente (paciente 8) apresentou uma pontuação de 38 na escala de Hamilton. Ao retirarmos esta paciente da análise, a média de pontuação na escala cai apenas um ponto, de 22,2 para 21,2. A paciente 4 apresentou o primeiro episódio depressivo aos 59 anos de idade, estando passando pelo segundo episódio aos 61 anos, à época do exame. Esta paciente possui um perfil distinto dos outros, por ter o primeiro episódio em uma idade avançada. Alterações cerebrovasculares são mais comuns e esperadas nesta idade (Soares e Mann, 1997), podendo acarretar alterações mais proeminentes nos exames de neuroimagem. Todavia, todas as ressonâncias magnéticas realizadas foram inspecionadas visualmente para a exclusão de alterações

estruturais significativas. Por outro lado, um aspecto positivo desta discreta heterogeneidade da amostra, foi aproximá-la da população clínica, em que vários pacientes não se encaixam nos critérios habituais da pesquisa, mas que necessitam igualmente serem estudados.

Quanto à anestesia local, este pode ser um procedimento questionável, pois os pacientes sentiram muita dor durante a injeção, podendo tê-los sensibilizado para a dor/incômodo que muitos deles sentiram durante a EMT. Isto pode ter influenciado no resultado do estudo, principalmente em relação à ativação do giro do cíngulo posterior, pois Fredrikson e cols. (1995) encontraram aumento significativo do FSC no giro do cíngulo posterior, além do giro do cíngulo anterior e córtex parietal em um estudo com estímulo condicionado. Dois dos participantes não toleraram todas as sessões de EMT devido a dores intensas na região retro-orbital esquerda, sendo excluídos do estudo. Aparentemente, a anestesia local não foi útil para estes participantes. Outros indivíduos não relataram nenhuma dor, somente um leve incômodo durante o procedimento, especialmente na intensidade de 110% do LM. Acreditamos que estas diferenças se deveram ao posicionamento distinto da EMT: aparentemente, quanto mais próximo o dispositivo estiver da região orbital, mais dor ele sentirá durante o procedimento.

Uma vantagem importante no conjunto EMT/PET é o fato da EMT não ser um estímulo cognitivo, não dependendo do engajamento do indivíduo na tarefa, não sofrendo a influência da atenção ou performance em seus resultados.

Os mecanismos precisos envolvidos durante e após a estimulação estão ainda sendo elucidados. Há várias variáveis da EMT que devem ainda ser melhor definidas, como a

intensidade apropriada para cada área cerebral, a frequência e o local de estimulação de estimulação (Gershon et al., 2003).

Neste estudo foi utilizado um aparelho de EMT em forma de “B”. Este formato possibilita a criação de um campo elétrico intenso na interseção dos dois círculos, possibilitando uma estimulação mais precisa do ponto escolhido (Figura 4).

O estado atual do conhecimento sugere que o fluxo sanguíneo aumenta no região estimulada pela EMT de uma forma dose-dependente quando o aparelho é posicionado em M1 (*hot spot*) e a estimulação ocorre acima do limiar motor. No entanto, em estudo realizado estimulando o córtex pré-frontal, Speer e cols (2003) encontraram uma diminuição do fluxo sanguíneo nesta área. Todavia, este estudo utilizou uma medida muito grosseira para a definição do córtex pré-frontal, simplesmente posicionando o aparelho 5 cm adiante de M1. Isto pode ter causado o recrutamento de feixes de neurônios inibitórios, ao invés de feixes de neurônios excitatórios.

Em relação à intensidade da EMT, Fox e cols. (2006) utilizaram três diferentes intensidades de estimulação, a 75%, 100% e 125% e observaram que o potencial de amplitude motor evocado aumentou, não linearmente, com o aumento da intensidade do estímulo, assim como o aumento hemodinâmico do fluxo sanguíneo, visualizado pela TEP com $H_2^{15}O$. Regiões remotas demonstraram padrões diferentes da intensidade de resposta, interpretada como refletindo níveis variáveis de atividade neuronal. Outro estudo (Bestmann et al., 2005), utilizando RMF, com EMT a 3 Hz, aplicada a 90% e 110% do LM, sobre o CPFDL esquerdo verificou uma resposta mais intensa à intensidade mais alta de EMT. Komssi e cols. (2004) demonstraram que a amplitude de resposta à EMT aumenta de acordo com a intensidade do estímulo. Bohning e cols.

(1999) em um estudo com RMF e EMT a 80% e 110% do LM sobre o córtex motor, demonstraram que na intensidade mais alta a EMT causou maior ativação que na intensidade mais baixa, tanto local quanto remotamente. Nosso estudo não demonstrou que intensidades mais altas foram acompanhadas de aumento do fluxo sanguíneo cerebral no local estimulado e em regiões distantes do cérebro. Conforme discutido anteriormente, estes estudos estimularam o córtex motor, e não o CPFDL. Estudos posteriores são necessários para a definição do LM mais apropriado para estimulação do CPFDL. Outra explicação possível para a ausência de diferenças entre as diferentes intensidades se deve ao fato de termos utilizado uma ordem pseudo-randomizada de estimulação (tabela 7), não havendo uma ordem fixa entre as diferentes intensidades. Estudos prévios mostram a ocorrência de alterações do FSC mesmo após a EMT já ter sido concluída. Ohnishi e cols (2004) demonstraram que, após a conclusão da EMT, alterações tardias continuam ocorrendo. Desta forma, como a ordem das diferentes intensidades de estimulação foi aleatória, é possível que a estimulação anterior tenha afetado a seguinte, interferindo no resultado final de cada intensidade.

Em nosso estudo, a frequência da estimulação foi fixada em 3 Hz. Este valor foi escolhido por ser, provavelmente, uma frequência estimuladora (e não inibitória), sem causar uma estimulação excessiva das regiões adjacentes, como uma estimulação de 10 Hz poderia causar, pois foi buscada sensibilidade, mas também especificidade. Desta forma, preferiu-se variar a intensidade do estímulo, na expectativa de encontrarmos uma variação crescente do FSC, em pacientes comparados a controles, em intensidades crescentes. Entretanto, os resultados obtidos não confirmaram esta hipótese, conforme anteriormente descrito.

Foi sugerido (Kimbrell et al, 1999) que EMT de alta frequência (20 Hz) aumenta o fluxo sanguíneo global absoluto e EMT a 1 Hz diminui o FSC e, portanto, a atividade cerebral em pacientes deprimidos. Os autores deste estudo também sugeriram que a EMT para o tratamento da depressão pode depender do metabolismo cerebral pré-tratamento, em que pacientes com diminuição do metabolismo pré-frontal esquerdo, anterior ao tratamento, se beneficiariam melhor do tratamento com EMT. O nosso estudo foi realizado em uma única frequência de estimulação, a 3 Hz.

A análise estatística utilizada neste estudo foi baseada no programa MIPS, desenvolvido na Universidade do Texas. A determinação dos locais ativados pelo conjunto EMT/PET obedece a uma série de condições. Fox e Mintum (1989) desenvolveram o programa que executa a análise de mudança da distribuição (*change distribution analysis*), que consiste na subtração da média das imagens de cada grupo, obtidas em uma dada condição, pelo grupo de comparação. O programa utilizado realizou um teste *t* pixel a pixel, através da comparação da distribuição dos valores de ativação para as duas condições distintas, durante o curso do experimento. Isto fornece um mapa *t* (isto é, uma imagem em que cada pixel – ou grupo de pixels, como neste estudo – representa a estatística do teste *t* de Student, para a comparação da condição do teste, em determinado local). Através do uso do valor de *p* estabelecido (ou nível de significância alfa), os valores *t* são convertidos em valores *z* (distribuição gaussiana, média 0 e variância 1)(a distribuição dos dados neste estudo seguiu aproximadamente a distribuição normal) para a obtenção de mapas *z*. Esta é a base para o mapeamento paramétrico estatístico (*statistical parametric maps – SPM*). Regiões do SPM com valores altos ou

baixos são interpretadas como ativações regionais, possibilitando a localização das áreas cerebrais com mudanças durante uma tarefa ou condição específica.

O principal objetivo de nosso estudo foi a comparação entre os pacientes e controles, em cada diferente intensidade, ficando as demais análises prejudicadas pelos valores restritivos de Z e p atingidos.

As regiões cerebrais mais comumente alteradas na depressão, apesar da variabilidade inter-estudo do padrão das regiões cerebrais envolvidas em mudanças de FSC e mudanças metabólicas, são o CPFDL, córtex órbito-frontal, tálamo, hipocampo e giro do cíngulo anterior. (Soares e Mann, 1997; Drevets, 2001; Mayberg, 2003). A falta de consistência nos estudos pode dever-se à heterogeneidade dos grupos de pacientes, em termos de expressão dos sintomas e a diferentes questões metodológicas. Em nosso estudo nós utilizamos a PET com água radioativa, devido à sua curta meia-vida, que possibilitou sessões sucessivas de EMT. Conforme exposto anteriormente, os estudos prévios com diferentes intensidades de estimulação focaram o córtex motor. Este foi o primeiro estudo focando o CPFDL desta forma.

6. CONCLUSÕES

1. O CPFDL esquerdo de pacientes apresentou uma resposta diminuída à EMT, em comparação a controles, somente na intensidade de 100% do LM, enquanto esperávamos que isto ocorresse em todas as intensidades.
2. Dentre as estruturas do modelo neuroanatômico da depressão descrito, o giro do cíngulo anterior (90%), o tálamo direito (100%) e o globo pálido esquerdo (90% e 110%) apresentaram uma resposta diminuída à estimulação do CPFDL esquerdo com EMT em pacientes.
3. De forma inesperada, o giro do cíngulo posterior apresentou aumento do FSCr em pacientes bilateralmente em todas as intensidades de estimulação.
4. Apesar de ser controversa a sua inclusão no modelo neuroanatômico da depressão, o cerebelo direito apresentou aumento do FSCr em todas as intensidades de estimulação, em pacientes comparados a controles.
5. Não houve uma correlação positiva entre a estimulação do CPFDL esquerdo com EMT nas intensidades de 90%, 100% e 110% do LM e as estruturas que compõem o modelo neuroanatômico da depressão.
6. As intensidades de EMT utilizadas no CPFDL (90%, 100% e 110% do LM) não apresentaram diferenças significativas entre si, em relação à alteração do FSC nas áreas do modelo neuroanatômico da depressão.

7. Pacientes com depressão maior podem apresentar um limiar mais alto para a estimulação com EMT do CPFDL esquerdo, e uma resposta córtico-límbica distinta à EMT, quando comparados aos controles.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

Alexander GE, Crutcher MD (1990) Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends Neurosci.* Jul;13(7):266-71.

Auer DP, Putz B, Kraft E, Lipinski B, Schill J, Holsboer F. (2000) Reduced glutamate in the anterior cingulate cortex in depression: an in vivo proton magnetic resonance spectroscopy study. *Biol Psychiatry.* Feb 15;47(4):305-13.

Bandettini PA, Wong EC, Hinks RS, Tikofsky RS, Hyde JS. (1992) Time course EPI of human brain function during task activation. *Magn Reson Med.* 1992 Jun;25(2):390-7.

Barbas H. Complementary roles of prefrontal cortical regions in cognition, memory, and emotion in primates. (2000) *Adv Neurol.*;84:87-110.

Barker AT, Jalinous R, Freeston, IL. (1985). Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet* 1:1106-1107.

Barrett J, Della-Maggiore V, Chouinard PA, Paus T. (2004) Mechanisms of action underlying the effect of repetitive transcranial magnetic stimulation on mood: behavioral and brain imaging studies. *Neuropsychopharmacology* 29(6):1172-89.

Baxter LR Jr, Schwartz JM, Phelps ME, Mazziotta JC, Guze BH, Selin CE, Gerner RH, Sumida RM. (1989) Reduction of prefrontal cortex glucose metabolism common to three types of depression. Arch Gen Psychiatry. Mar;46(3):243-50.

Baxter LR. (1994) Positron emission tomography studies of cerebral glucose metabolism in obsessive compulsive disorder. J Clin Psychiatry. Oct;55 Suppl:54-9.

Bench CJ, Friston KJ, Brown RG, Scott LC, Frackowiak RS, Dolan RJ. (1992) The anatomy of melancholia – focal abnormalities of cerebral blood flow in major depression. Psychol Med. 22:607-615.

Berman KF, Weinberger DR (1991). Functional localization in the brain schizophrenia. American Psychiatric Press Review of Psychiatry, Vol 10. Edited by Tasman A, Goldfinger SM. Washington, DC, American Psychiatric Press, pages 24-59.

Berton GG, Torello MW. (1982). The paleocerebellum and the integration of behavioral function. Physiology and Psychology, 10, 1-12.

Bestmann S, Baudewig J, Siebner HR, Rothwell JC, Frahm J. (2005). BOLD MRI responses to repetitive TMS over human dorsal premotor cortex. Neuroimage 15;28(1):22-9.

Biver F, Goldman S, Delvenne V, Luxen A, De Maertelaer V, Hubain P, Mendlewicz J, Lotstra F. (1994) Frontal and parietal metabolic disturbances in unipolar depression. Biol Psychiatry. Sep 15;36(6):381-8.

Bohning DE, Shastri A, McConnell KA, Nahas Z, Lorberbaum JP, Roberts R, Teneback C, Vincent DJ, George MS. (1999) A combined TMS/fMRI study of intensity-dependent TMS over motor cortex. *Biol Psychiatry* 15;45(4):385-94.

Bremner JD, Narayan M, Anderson ER, Staib LH, Miller HL, Charney DS. (2000) Hippocampal volume reduction in major depression. *Am J Psychiatry*. Jan;157(1):115-8.

Caetano SC, Hatch JP, Brambilla P, Sassi RB, Nicoletti M, Mallinger AG, Frank E, Kupfer DJ, Keshavan MS, Soares JC. (2004) Anatomical MRI study of hippocampus and amygdala in patients with current and remitted major depression. *Psychiatry Res*. Dec 15;132(2):141-7.

Caetano SC, Sassi R, Brambilla P, Harenski K, Nicoletti M, Mallinger AG, Frank E, Kupfer DJ, Keshavan MS, Soares JC. (2001) MRI study of thalamic volumes in bipolar and unipolar patients and healthy individuals. *Psychiatry Res*. Dec 30;108(3):161-8.

Caetano SC, Kaur S, Brambilla P, Nicoletti M, Hatch JP, Sassi RB, Mallinger AG, Keshavan MS, Kupfer DJ, Frank E, Soares JC. (2006). Smaller cingulate volume in unipolar depressed patients. *Biol Psychiatry*. 15;59(8):702-6.

Campbell S, Marriott M, Nahmias C, MacQueen GM. (2004) Lower hippocampal volume in patients suffering from depression: a meta-analysis. *Am J Psychiatry*. Apr;161(4):598-607.

Chang JY. (2004). Brain stimulation for neurological and psychiatric disorders, current status and future direction. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 309:1-7.

Coffey CE, Wilkinson WE, Weiner RD, Parashos IA, Djang WT, Webb MC, Figiel GS, Spritzer CE. Quantitative cerebral anatomy in depression. A controlled magnetic resonance imaging study. *Arch Gen Psychiatry*. 1993 Jan;50(1):7-16.

Dannon PN., Dolberg OT., Schreiber S, Grunhaus L. (2002). Three and six-month outcome following courses of either ECT or rTMS in a population of severely depressed individuals-preliminary report. *Biol Psychiatry* 51, 687-90.

Drevets WC, Ongur D, Price JL. (1998). Neuroimaging abnormalities in the subgenual prefrontal cortex - implications for the pathophysiology of familial mood disorders. *Molecular Psychiatry* 3, 220-226.

Drevets WC, Videen TO, Price JL, Preskorn SH, Carmichael ST, Raichle ME. (1992) A functional anatomical study of unipolar depression. *The Journal of Neuroscience* 12 (9): 3629-3641.

Drevets WC. (2000). Neuroimaging studies of mood disorders. *Biol Psychiatry* 48: 813-829.

Drevets WC. (2001). Neuroimaging and neuropathological studies of depression: implications for the cognitive-emotional features of mood disorders. *Curr Opin Neurobiol* 11(2):240-9.

Drevets WC, Bogers W, Raichle ME. (2002) Functional anatomical correlates of antidepressant drug treatment assessed using PET measures of regional glucose metabolism. *Eur Neuropsychopharmacol*. Dec;12(6):527-44.

Elkis H, Friedman L, Wise A, Meltzer HY. (1995) Meta-analyses of studies of ventricular enlargement and cortical sulcal prominence in mood disorders.

Comparisons with controls or patients with schizophrenia. Arch Gen Psychiatry. Sep;52(9):735-46

First MB, Spitzer RL, Gibbon, Miriam and Williams, Janet BW. (2002)

Structured Clinical Interview for DSM-IV-TR Axis I Disorders – Non-patient Edition (SCID-I/NP, 11/2002 revision) Biometrics Research Department, New York State Psychiatric Institute, New York.

First MB, Spitzer RL, Gibbon, Miriam and Williams, Janet BW. (2002)

Structured Clinical Interview for DSM-IV-TR Axis I Disorders – Patient Edition (SCID-I/P, 11/2002 revision) Biometrics Research Department, New York State Psychiatric Institute, New York.

Fitzgerald PB, Oxley TJ, Laird AR, Kulkarni J, Egan GF, Daskalakis ZJ. (2006)

An analysis of functional neuroimaging studies of dorsolateral prefrontal cortical activity in depression. Psychiatry Res. Nov 22;148(1):33-45. Epub 2006 Oct 5.

Fox PT, Ingham RJ, Mayberg HS, George M, Martin C, Ingham J, Robey J, Jerabek P. (1997) Imaging human cerebral connectivity by PET during TMS. Neuroreport 8, 2787-2791.

Fox PT, Mintun M, Reiman E, Raichle ME. (1988). Enhanced detection of focal brain responses using inter-subject averaging and change-distribution analysis of subtracted PET images. J Cereb Blood Flow Metab 8:642-653.

Fox PT, Mintun M. (1989). Noninvasive functional brain mapping by change-distribution analysis of averaged PET images of H215O tissue activity. J of Nuc Med 30:141-149.

Fox PT, Narayana S, Nitin T, Sandoval H, Fox EP, Kochunov P, Lancaster JL. (2004) Column-based model of Electric Field Excitation of Cerebral Cortex. *Human Brain Mapping* 22: 1-16.

Fox PT, Narayana S, Tandon N, Fox ST, Sandoval H, Kochunov P, Capaday C, Lancaster JL. (2006) Intensity modulation of TMS-induced cortical excitation: primary motor cortex. *Human Brain Mapping* 27(6):478-87.

Fox PT, Perlmutter JS, Raichle ME (1985) Stereotactic localization for positron emission tomography. *J Cereb Blood Flow Metab* 9:141-153.

Fredrikson M; Wik G; Fischer H. (1995) Andersson, J. Affective and attentive neural networks in humans: a PET study of Pavlovian conditioning. *Neuroreport*. Dec 29;7(1):97-101.

Friston KJ, Frith CD, Liddle PF et al. (1993) Functional connectivity: the principal-component analysis of large (PET) data sets. *J Cereb Blood Flow Metab*. 13:5-14.

Friston KJ, Frith CD, Liddle PF, Dolan RJ, Lammertsma AA, Frackowiak RS. (1990) The relationship between global and local changes in PET scans. *J Cereb Blood Flow Metab*. 10(4):458-66.

Fuster JM. (2002) Frontal lobe and cognitive development. *J Neurocytol*. Mar-Jun;31(3-5):373-85.

Garcia-Toro M, Salva J, Daumal J, Andres J, Romera M, Lafau O, Echevarria M, Mestre M, Bosch C, Collado C, Ibarra O, Aguirre I. High (20-Hz) and low (1-Hz) frequency transcranial magnetic stimulation as adjuvant treatment in medication-resistant depression. *Psychiatry Res*. 2006 Jan 30;146(1):53-7. Epub 2005 Dec 13.

George MS, Nahas Z, Molloy M, Speer AM, Oliver NC, Li XB, Arana GW, Risch SC, Ballenger JC. (2000) A controlled trial of daily left prefrontal cortex TMS for treating depression. *Biol Psychiatry* 48, 962-70.

Gershon AA, Dannon PN, Grunhaus L. (2003) Transcranial Magnetic Stimulation in the Treatment of Depression. *Am J Psychiatry* 160:835-845.

Gonul AS, Kula M, Bilgin AG, Tutus A, Oguz A. (2004) The regional cerebral blood flow changes in major depressive disorder with and without psychotic features. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. Sep; 28(6):1015-21.

Goodwin GM. Depression and associated physical diseases and symptoms. *Dialogues Clin Neurosci*. 2006;8(2):259-65.

Hamilton M. (1960). A rating scale for depression. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 23, 56-62.

Haraldsson HM, Ferrarelli F, Kalin NH, Tononi G. (2004) Transcranial Magnetic Stimulation in the investigation and treatment of schizophrenia: a review. *Schizophr Res*. Nov 1;71(1):1-16.

Heller L, van Hulsteyn DB. (1992) Brain Stimulation using electromagnetic sources: theoretical aspects. *Biophys J* 63:129-138.

Holthoff VA, Beuthien-Baumann B, Zundorf G, Triemer A, Ludecke S, Winiecki P, Koch R, Fuchtnier F, Herholz K. (2004) Changes in brain metabolism associated with remission in unipolar major depression. *Acta Psychiatr Scand*. Sep;110(3):184-94.

Husain MM, McDonald WM, Doraiswamy PM, Figiel GS, Na C, Escalona R, Boyko OB, Nemeroff CB, Krishnan KR.(1991) A magnetic resonance imaging study of putamen nuclei in major depression. *Psychiatry Res.* Oct;40(2):95-9

Kennedy N, Foy K (2005) The impact of residual symptoms on outcome of major depression. *Curr Psychiatry Rep.* Dec;7(6):441-6.

Kennedy SH, Evans KR, Kruger S, Mayberg HS, Meyer JH, McCann S, Arifuzzman AI, Houle S, Vaccarino FJ. (2001) Changes in regional brain glucose metabolism measured with positron emission tomography after paroxetine treatment of major depression. *Am J Psychiatry.* Jun;158(6):899-905.

Kessler RC, Berglund P, Demler O, Jin R, Koretz D, Merikangas KR, Rush J, Walters EE, Wang PS. (2003) The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). *JAMA.* Jun 18;289(23):3095-105.

Kim JJ, Rison RA, Fanselow MS. (1993) Effects of amygdala, hippocampus, and periaqueductal gray lesions on short- and long-term contextual fear. *Behav Neurosci.* Dec;107(6):1093-8.

Kimbrell A, Little, JT, Dunn RT, Frye MA, Greenberg BD, Wassermann EM, Repella JD, Danielson AL, Willis MW, Benson BE, Speer AM, Osuch E, George MS, Post RM. (1999) Frequency dependence of antidepressant response to left prefrontal repetitive transcranial magnetic stimulation as a function of baseline cerebral glucose metabolism. *Biol Psychiatry* 15;46(12):1603-13.

Kimbrell TA, Ketter TA, George MS, Little JT, Benson BE, Willis MW, Herscovitch P, Post RM. (2002) Regional cerebral glucose utilization in patients

with a range of severities of unipolar depression. *Biol Psychiatry*. Feb 1;51(3):237-52

Komssi S, Kahkonen S, Ilmoniemi RJ. (2004) The effect of stimulus intensity on brain responses evoked by transcranial magnetic stimulation *Hum Brain Mapp* 21(3):154-64.

Krishnan KR, McDonald WM, Escalona PR, Doraiswamy PM, Na C, Husain MM, Figiel GS, Boyko OB, Ellinwood EH, Nemeroff CB. (1992) Magnetic resonance imaging of the caudate nuclei in depression. Preliminary observations. *Arch Gen Psychiatry*. Jul;49(7):553-7.

Kumar A, Bilker W, Jin Z, Udupa J. (2000) Atrophy and high intensity lesions: complementary neurobiological mechanisms in late-life major depression. *Neuropsychopharmacology*. Mar;22(3):264-74.

Kusumakar V, MacMaster FP, Gates L, Sparkes SJ, Khan SC. (2001) Left medial temporal cytosolic choline in early onset depression. *Can J Psychiatry*. Dec;46(10):959-64.

Lacerda AL, Keshavan MS, Hardan AY, Yorbik O, Brambilla P, Sassi RB, Nicoletti M, Mallinger AG, Frank E, Kupfer DJ, Soares JC. (2004) Anatomic evaluation of the orbitofrontal cortex in major depressive disorder. *Biol Psychiatry*. Feb 15;55(4):353-8.

Lafer B, Renshaw PF, Sachs GS (1997) Major depression and the basal ganglia. *Psychiatr Clin North Am*.20(4):885-96.

Lancaster JL, Fox PT, Downs H, Nickerson DS, Hander TA, El Mallah M, Kochunov PV, Zamarripa F. (1999) Global spatial normalization of human brain using convex hulls. *J Nucl Med.* 40(6):942-55.

Lancaster JL, Narayana S, Wenzel D, Luckemeyer J, Roby J, Fox P. (2004). Evaluation of an image-guided, robotically positioned transcranial magnetic stimulation system. *Hum Brain Mapp.* 22(4):329-40.

Lancaster JL, Woldorff MG, Parsons LM, Liotti M, Freitas CS, Rainey L, Kochunov PV, Nickerson D, Mikiten SA, Fox PT. (2000). Automated Talairach atlas labels for functional brain mapping. *Hum Brain Mapp.* 10(3):120-31.

Lenze EJ, Sheline YI. (1999) Absence of striatal volume differences between depressed subjects with no comorbid medical illness and matched comparison subjects. *Am J Psychiatry.* Dec;156(12):1989-91.

Liotti M, Mayberg HS. (2001) The role of functional neuroimaging in the neuropsychology of depression. *J Clin Exp Neuropsychol.* Feb;23(1):121-36.

Manji, HK, Drevets, WC, Charney, DS (2001). The cellular neurobiology of depression. *Nat Med.* May;7(5):541-7.

Mayberg H. (2002) Depression, II: localization of pathophysiology. *Am J Psychiatry.* Dec;159(12):1979.

Mayberg HS, Brannan SK, Mahurin RK, Jerabek PA, Brickman JS, Tekell JL, Silva JA, McGinnis S, Glass TG, Martin CC, Fox PT. (1997) Cingulate function in depression: a potential predictor of treatment response. *NeuroReport* 8, 1057-1061.

Mayberg HS, Brannan, SK, Tekell JL, Silva JA, Mahurin RK, McGinnis S, Jerabek PA(2000) Regional metabolic effects of fluoxetine in major depression: serial changes and relationship to clinical response. *Biol Psychiatry*. Oct 15;48(8):830-43.

Mayberg HS, Liotti M, Brannan SK, McGinnis S, Mahurin RK, Jerabek PA, Silva JA, Tekell JL, Martin CC, Lancaster JL, Fox PT. (1999) Reciprocal limbic-cortical function and negative mood: converging PET findings in depression and normal sadness. *Am J Psychiatry*. May;156(5):675-82.

Mayberg HS. (2007) Defining the neural circuitry of depression: toward a new nosology with therapeutic implications. *Biol Psychiatry*. Mar 15;61(6):729-30).

Mayberg HS. (1994). Frontal lobe dysfunction in secondary depression. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. Fall;6(4):428-42.

Mayberg HS. (1997) Limbic-cortical dysregulation: a proposed model of depression. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci*. 9, 471-481.

Mayberg HS.(2003) Modulating dysfunctional limbic-cortical circuits in depression: towards development of brain-based algorithms for diagnosis and optimised treatment. *Br Med Bull*.;65:193-207.

Mega MS, Cummings JL. (1994) Frontal-subcortical circuits and neuropsychiatric disorders. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. Fall;6(4):358-70.

Mintun M, Fox PT, Raichle ME. (1989). A highly accurate method of localizing regions of neuronal activity in the human brain with PET. *J Cereb Blood Flow Metab* 9:96-103.

Monkul ES, Malhi GS, Soares JC (2003). Mood disorders - review of structural MRI studies. *Acta Neuropsychiatrica* 15, 368-380.

Morecraft RJ, Van Hoesen GW. (1993) Frontal granular cortex input to the cingulate (M3), supplementary (M2) and primary (M1) motor cortices in the rhesus monkey. *J Comp Neurol.* Nov 22;337(4):669-89

Murata T, Kimura H, Omori M, Kado H, Kosaka H, Iidaka T, Itoh H, Wada Y. (2001) MRI white matter hyperintensities, (1)H-MR spectroscopy and cognitive function in geriatric depression: a comparison of early- and late-onset cases. *Int J Geriatr Psychiatry.* Dec;16(12):1129-35.

Murray CJ, Lopez AD. (1997) Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study. *Lancet.* May 17;349(9063):1436-42.

Murray CJ, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: (1997) Global Burden of Disease Study. *Lancet.* May 24;349(9064):1498-504.

Nahas Z, Tenenback CC, Kozel A, Speer AM, DeBrux C, Molloy M, Stallings L, Spicer KM, Arana G, Bohning DE, Risch SC, George MS. (2001) Brain effects of TMS delivered over prefrontal cortex in depressed adults: role of stimulation frequency and coil-cortex distance. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 13, 459-70.

Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, Gold SJ, and Monteggia LM. (2002) Neurobiology of depression. *Neuron* 34, 13-2.

- Nierenberg AA, Gray SM, Grandin LD. (2001) Mood disorders and suicide. *J Clin Psychiatry*.62 Suppl 25:27-30.
- Ohnishi T, Matsuda H., Imabayashi E, Okabe S, Takano H, Arai N, Ugawa Y. (2004) RCBF changes elicited by rTMS over DLPFC in humans. *Supplements of Clinical Neurophysiology* 57: 715-720.
- Parashos IA, Tupler LA, Blitchington T, Krishnan KR. (1998) Magnetic-resonance morphometry in patients with major depression. *Psychiatry Res*. Nov 9;84(1):7-15.
- Pascual-Leone A, Rubio B, Pallardo F, Catala MD. (1996) Rapid-rate transcranial magnetic stimulation of left dorsolateral prefrontal cortex in drug-resistant depression. *Lancet* 348, 233-7.
- Pascual-Leone A, Valls-Solé J, Wassermann EM, Hallett M. (1994) Responses to rapid-rate transcranial magnetic stimulation of the human motor cortex. *Brain*. Aug;117 (Pt 4):847-58.
- Paus T, Alamancos MAC, Petrides M. (2001) Cortico-cortical connectivity of the human mid-dorsolateral frontal cortex and its modulation by repetitive transcranial magnetic stimulation. *European Journal of Neuroscience* 14(8):1405-1411.
- Paus T, Barret J. (2004) Transcranial magnetic stimulation (TMS) of the human cortex: implications for repetitive TMS treatment of depression. *J Psychiatry Neurosci* 29(4): 268-279.
- Paus T, Jech R, Thompson CJ, Comeau R, Peters T, Evans AC. (1997) Transcranial magnetic stimulation during positron emission tomography: a new

method for studying connectivity of the human cerebral cortex. *J Neurosci* 17:317-3184.

Paus T. (1999) Imaging the brain before, during, and after transcranial magnetic stimulation. *Neuropsychologia* 37, 219-24.

Petrides M, Pandya DN. (1984) Projections to the frontal cortex from the posterior parietal region in the rhesus monkey. *J Comp Neurol.* Sep 1;228(1):105-16.

Petrides M, Pandya DN. (1999) Dorsolateral prefrontal cortex: comparative cytoarchitectonic analysis in the human and the macaque brain and corticocortical connections patterns. *Eur. J. Neurosci.*, 11, 1011 – 1036.

Phillips ML, Drevets WC, Rauch SL, Lane R. (2003). Neurobiology of emotion perception I: The neural basis of normal emotion perception. *Biol Psychiatry.* Sep 1;54(5):504-14.

Post RM, Kimbrel TA, Frye M. (1997) Implications of kindling and quenching for the possible frequency dependency of rTMS. *CNS Spectrums: The International Journal of Neuropsychiatric Medicine* 2;54-60.

Preuss TM, Goldman-Rakic PS. (1989) Connections of the ventral granular cortex of macaques with perisylvian premotor and somatosensory areas: anatomical evidence for somatic representation in primate frontal association cortex. *J. Comp. Neurol.*, 282, 293-316.

Raichle ME, Martin WR, Herscovitch P, Mintun MA, Markham J. (1983) Brain blood flow measured with intravenous H₂(15)O. II. Implementation and validation. *J Nucl Med.* 24(9):790-8.

Rajkowska G, Goldman-Rakic PS. (1995). Cytoarchitectonic definition of prefrontal areas in the normal human cortex: II. Variability in locations of areas 9 and 46 and relationship to the Talairach Coordinate System. *Cereb Cortex*. Jul-Aug;5(4):323-37.

Rajkowska G, Halaris A, Selemon LD. (2001) Reductions in neuronal and glial density characterize the dorsolateral prefrontal cortex in bipolar disorder. *Biol Psychiatry*. May 1;49(9):741-52.

Rauch SL, Savage CR, Alpert NM, Fischman AJ, Jenike MA. (1997) The functional neuroanatomy of anxiety: a study of three disorders using positron emission tomography and symptom provocation. *Biol Psychiatry*. Sep 15;42(6):446-52.

Rauch SL, Shin LM. (1997) Functional neuroimaging studies in posttraumatic stress disorder. *Ann N Y Acad Sci*. Jun 21;821:83-98.

Renshaw PF, Lafer B, Babb SM, Fava M, Stoll AL, Christensen JD, Moore M, Yurgelun-Todd DA, Bonello CM, Pillay SS, Rothschild AJ, Nierenberg A, Rosenbaum JF, Cohen BM. (1997) Basal ganglia choline levels in depression and response to fluoxetine treatment: an in vivo proton magnetic resonance spectroscopy study. *Biol Psychiatry*. Apr 15;41(8):837-43.

Rosa MA, Odebrecht M, Rigonatti SP, Marcolin MA. (2004) Transcranial magnetic stimulation: review of accidental seizures. *Rev Bras Psiquiatr*. Jun;26(2):131-4. Epub 2004 Oct 27.

Rumi DO, Gattaz WF, Rigonatti SP, Rosa MA, Fregni F, Rosa MO, Mansur , Myczkowski ML, Moreno RA, Marcolin MA. (2005) Transcranial magnetic

stimulation accelerates the antidepressant effect of amitriptyline in severe depression: a double-blind placebo-controlled study. *Biol Psychiatry*. Jan 15;57(2):162-6.

Schildkraut JJ. (1965) The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry*. 1965 Nov;122(5):509-22.

Schmahmann JD, Sherman JC. (1998) The cerebellar cognitive affective syndrome. *Brain* 1998; 121: 561-579.

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

Soares JC, Mann JJ. (1997) The functional neuroanatomy of mood disorders. *J Psychiat Res* 31 (4) 393-432.

Speer AM, Willis, MW, Herscovitch P, Daube-Witherspoon M, Shelton JR, Benson, BE, Post RM, Wassermann EM. (2003) Intensity-dependent regional cerebral blood flow during 1-Hz repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in healthy volunteers studied with H215O positron emission tomography: II. Effects of prefrontal cortex rTMS. *Biol Psychiatry* 54(8):826-32.

Stanley JA. (2002) In vivo magnetic resonance spectroscopy and its application to neuropsychiatric disorders. *May*;47(4):315-26.

Strakowski SM, DelBello, MP, Adler C, Cecil DM, Sax KW. (2000) Neuroimaging in bipolar disorder. *Bipolar Disord* 2, 148-64.

Talairach J, Tournoux P. (1988) *Co-planar Stereotaxic Atlas of the Human Brain*. NY: Thieme.

- Uranova NA, Vostrikov VM, Orlovskaya DD, Rachmanova VI. (2004) Oligodendroglial density in the prefrontal cortex in schizophrenia and mood disorders: a study from the Stanley Neuropathology Consortium. *Schizophr Res.* Apr 1;67(2-3):269-75.
- Videbech P, Ravnkilde B, Pedersen TH, Hartvig H, Egander A, Clemmensen K, Rasmussen NA, Andersen F, Gjedde A, Rosenberg R. (2002) The Danish PET/depression project: clinical symptoms and cerebral blood flow. A regions-of-interest analysis. *Acta Psychiatr Scand.* Jul;106(1).
- Videbech P. (1997) MRI findings in patients with affective disorder: a meta-analysis. *Acta Psychiatr Scand.* Sep;96(3):157-68.
- Wassermann EM, Wedegaertner FR, Ziemann U, George MS, Chen R. (1998) Crossed reduction of human motor cortex excitability by 1-Hz transcranial magnetic stimulation. *Neurosci Lett.* Jul 10;250(3):141-4.
- Wassermann EM. (1998) Risk and safety of repetitive transcranial magnetic stimulation: report and suggested guidelines from the International Workshop on the Safety of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation, June 5-7, 1996. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* Jan;108(1):1-16.
- Weinberger DR. (1993) A connectionist approach to the prefrontal cortex. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* Summer;5(3):241-53.
- Wise TN, Fishbain DA, Holder-Perkins V. (2007) Painful physical symptoms in depression: a clinical challenge. *Pain Med.* 2007 Sep;8 Suppl 2:S75-82.

Woods RP, Cherry SR, Mazziotta, JC. (1992) Rapid automated algorithm for aligning and reslicing PET images. *Journal of Computer Assisted Tomography* 16, 620-33.

Woods SW. (2000) The economic burden of bipolar disease. *J Clin Psychiatry*. 61 Supp 13:38-41.