KATERINA LUKASOVA

**Movimento ocular em crianças e adultos: estudo
comparativo com uso integrado de RMf e Eye Tracking**

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

Programa de Radiologia

Orientador: Prof. Dr. Edson Amaro Júnior

Co-orientador: Prof. Dr. João Ricardo Sato

(Versão Corrigida. Resolução CoPGr 5890, de 20 de dezembro de 2010.
A versão original está disponível na Biblioteca FMUSP)

**São Paulo
2012**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Lukasova, Katerina

Movimento ocular em crianças e adultos : estudo comparativo com uso integrado de RMf e Eye Tracking / Katerina Lukasova. -- São Paulo, 2012.

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

Orientador: Edson Amaro Júnior.

Co-orientador: João Ricardo Sato.

Descritores: 1.Imagem por ressonância magnética funcional 2.Movimentos oculares
3.Sacadas 4.Atenção 5.Crianças

USP/FM/DBD-300/12

Ao meu marido, Yvan Leonardo, pelo amor,
suporte e palavras de incentivo durante o
desenvolvimento desse projeto.

Agradecimentos

Ao meu marido e sua família por me apoiarem e me aguentarem durante todo esse tempo.

Aos meus pais e irmãos que mesmo longe sempre torceram por mim.

Ao meu orientador, professor Edson Amaro Júnior, que me guiou por esse trabalho com muita sabedoria e carinho.

Ao meu co-orientador, João Ricardo Sato, que contribuiu muito com a metodologia e as análises desse trabalho – obrigada pela paciência.

As amigas e colegas Mariana Penteado Nucci da Silva e Joana Bisol Balardin pela ajuda, inspiração e apoio, em todas as fases desse projeto.

Aos amigos e colegas Gilson Vieira, Khallil Taverna Chaim, Marcelo Camargo Batistuzzo, Paulo Rodrigo Bazán, Raymundo M. de Azevedo Neto, Ana Paula Valadares, Bruno Fraccino Pastorello, Thais Santos Contença e Arthur Felipe N. G. Borgonovi por formarem esse grupo maravilhoso, que sempre foi o meu porto seguro. Essa tese foi feita por todos vocês.

A Carlos Alberto Melo Moraes, António Cesário Monteiro da Cruz e Bernd Foerster, pela ajuda na implementação do *Eye tracker*.

À Lia de Melo Souza Neta pela atenção dedicada e ajuda em todos os trâmites administrativos desse projeto. Você foi o meu anjo de guarda.

À Dra. Claudia da Costa Leite e sua equipe de biomédicos e enfermagem que viabilizou a coleta de dados.

Aos adultos e crianças que participaram voluntariamente desse projeto.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pelo bolsa de doutorado concedida para o desenvolvimento deste projeto.

A DAAD (Deutscher Akademischer Austausch Dienst), pelo apoio financeiro durante estágio de curta duração na Alemanha.

Aos professores Tilo Kirchner e Jens Sommer que viabilizaram a minha estada na Alemanha.

Ao Raymundo M de Azevedo Neto pela cuidadosa revisão dessa tese.

Aos demais integrantes do LIM 44 cuja existência contribuiu com o presente projeto.

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

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver)* e *APA quinta edição*.

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

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

Sumário

	Lista de figuras	
	Lista de tabelas	
	Lista de abreviaturas	
	Lista de siglas	
	Resumo	
	Summary/Abstract	
1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	3
	2.1 Perspectiva histórica dos estudos de movimentos oculares.....	3
	2.2 Tipologia dos movimentos oculares.....	11
	2.3 Neurofisiologia e neuroanatomia dos movimentos oculares.....	16
	2.3.1 Processamento visual inicial	16
	2.3.2 Vias visuais centrais.....	22
	2.4 Princípios de <i>Eye tracking</i>	28
	2.5 Princípios da Ressonância Magnética funcional.....	31
	2.6 Movimentos oculares nos estudos de Ressonância Magnética funcional.....	40
	2.7 Ressonância Magnética funcional em crianças.....	46
	2.8 Motivação	54
	2.9 Hipóteses	56
3	OBJETIVOS	58
4	MÉTODOS	59
	4.1 Casuística	60
	4.1.1 Critérios de inclusão	61
	4.1.2 Critérios de exclusão	60
	4.2 Testes, escalas e questionários	63
	4.3 Desenho experimental	66
	4.3.1 Paradigma de Ressonância Magnética funcional	66
	4.3.2 Preparação para o exame	69
	4.3.3 Realização do exame	71
	4.4 Movimentos oculares	73
	4.4.1 Especificações do <i>Eye tracker</i>	73
	4.4.2 Parâmetros do registro de movimentos oculares.....	76
	4.5 Ressonância Magnética funcional	78
	4.5.1 Especificações da Ressonância Magnética.....	78
	4.5.2 Parâmetros de aquisição das imagens	78

4.6	Análise dos dados	80
4.6.1	Análise dos testes neuropsicológicos e questionários.....	80
4.6.2	Análise dos movimentos oculares	83
4.6.3	Análise de Ressonância Magnética.....	86
4.6.3.1	Pré-processamento.....	87
4.6.3.2	Processamento do nível 1.....	87
4.6.3.3	Remoção de artefatos.....	89
4.6.3.4	Processamento do nível 2.....	90
4.6.3.5	Processamento do nível 3.....	90
5	RESULTADOS.....	92
5.1	Casuística.....	92
5.1.1	Crianças	93
5.1.2	Adultos	93
5.2	Testes, escalas e questionários.....	95
5.3	Desenho experimental, instrumentação e análise de dados	100
5.4	Movimentos oculares	101
5.4.1	Movimentos oculares em crianças	101
5.4.2	Movimentos oculares em adultos	103
5.4.3	Movimentos oculares de crianças e adultos.....	105
5.5	Ressonância Magnética funcional	107
5.5.1	Ressonância Magnética funcional em crianças	107
5.5.2	Ressonância Magnética funcional em adultos	109
5.5.3	Ressonância Magnética funcional em crianças e adultos.....	111
6	DISCUSSÃO	118
6.1	Casuística	118
6.2	Testes, escalas e questionários.....	120
6.3	Desenho experimental, instrumentação e análise de dados	122
6.4	Movimentos oculares	124
6.4.1	Movimentos oculares em crianças	124
6.4.2	Movimentos oculares em adultos	126
6.4.3	Movimentos oculares de crianças e adultos	128
6.5	Ressonância Magnética funcional	130
6.5.1	Ressonância Magnética funcional em crianças	130
6.5.2	Ressonância Magnética funcional em adultos	131
6.5.3	Ressonância Magnética funcional em crianças e adultos.....	134
7	CONCLUSÃO	140
8	REFERÊNCIAS	142

Lista de Figuras

1 -	Fotocronografo de Dodge. O aparelho era usado para pacientes com transtornos psiquiátricos. A câmera era capaz de gravar movimentos oculares em 100 ciclos por segundo.....	8
2 -	Os registros oculares do Fotocronografo de Dodge eram projetados com a lâmpada numa superfície e redenhados a mão, numa escala maior.....	9
3 -	A relação velocidade/amplitude chamada de sequência principal. O gráfico mostra sacadas de 10 sujeitos saudáveis (pontos) e pacientes com doença Niemann-Pick (+), que manifestam alteração no movimento sacádico.....	13
4 -	Estruturas do tronco encefálico responsáveis pela geração da sacada.....	19
5 -	Regiões do córtex cerebral envolvidas na geração das sacadas.....	24
6 -	<i>Eye tracking</i> por meio de registro pupilar. Posicionamento dos LED infravermelhos no corpo do <i>Eye Tracker</i> e a imagem do reflexo da pupila escura.....	30
7 -	Esquema do desenho experimental. Desenho em Bloco (a); Relacionado ao Evento (b) e Misto (c).....	35
8 -	Modelo LATER de decisão sacádica.....	42
9 -	Representação gráfica do local da resposta BOLD em crianças e adultos.....	48
10 -	Fluxograma do desenho experimental.....	66
11 -	Paradigma de Sacada preditiva. Representação esquemática das 4 condições: Previsível (P), Previsível posição (PP), Previsível tempo (TP) e Imprevisível (I) com duração dos estímulos.....	69
12 -	Posicionamento do <i>Eye tracker</i> na bobina de RM.....	73
13 -	Sobreposição de duas imagens da pupila mostrando deslocamento gerado pela movimentação sutil de cabeça.....	75

14 -	Janelas de controle do programa <i>ViewPoint</i>	77
15 -	Fluxograma das fases de aquisição e análise dos dados do movimento ocular.....	83
16 -	Fluxograma de análise dos dados de RMf	86
17 -	Mapas de ativação gerados na análise dos componentes independentes e classificados como ativação artefato. Imagem 1) mostra artefato com formato de semi-anel; Imagem 2) mostra artefato com ativações em formato de manchas aleatoriamente espalhadas pela massa cinzenta.....	89
18 -	Distribuição das crianças e adultos por classe econômica.....	94
19 -	Distribuição das crianças e adultos de acordo com QI estimado pela Escala WISC-III e WAIS-III respectivamente.....	95
20 -	Distribuição das crianças e adultos de acordo com percentil obtido no teste Atenção Concentrada.....	96
21 -	Médias de Latência Sacádica (LatSac) ao longo do bloco em crianças. Os valores médios de LatSac para condição P, PP, TP e I.....	102
22 -	Médias de Latência Sacádica (LatSac) ao longo do bloco em adultos. Os valores médios de LatSac para condição P, PP, TP e I.....	104
23 -	Comparação das médias de Latência Sacádica (LatSac) entre crianças e adultos em todas as condições: Previsível (P), Posição previsível (PP), Tempo Previsível (TP) e Imprevisível (I).....	105
24 -	Imagens do grupo de crianças (N=14). Contraste das quatro condições de teste em relação à linha de base: Previsível (P), Posição previsível (PP), Tempo Previsível (TP) e Imprevisível (I).....	108
25 -	Imagens do grupo de adultos (N=14). Contraste das quatro condições de teste em relação à linha de base: Previsível (P), Posição previsível (PP), Tempo Previsível (TP) e Imprevisível (I).....	110
26 -	Imagens das comparações de grupos (N=14) crianças (vermelho) > adultos (azul); adultos > crianças. Contraste das condições de teste em relação à linha de base Previsível (P), Posição previsível (PP), Tempo Previsível (TP) e Imprevisível (I).....	112

27 -	Comparações de valores médios e de desvio padrão do sinal BOLD em crianças e adultos. Em cada condição são indicadas média de sinal em cada ROIs com diferença estatística entre os grupos (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$).....	114
28 -	Média de sinal BOLD em adultos e crianças para todas as condições: Previsível (P), Posição previsível (PP), Tempo Previsível (TP) e Imprevisível (I). O gráfico a esquerda mostra as médias das crianças. A direita mostra as médias dos adultos.....	115
29 -	Imagens da ativação correlacionada com LatSac de grupos (N=14) crianças (vermelho) e adultos (azul). Apenas na condição TP (Tempo previsível) foi identificada ativação.....	117

Figuras do anexo

Lista de Tabelas

1 -	Descrição dos principais tipos de movimentos oculares.....	12
2 -	Descrição dos fatores Posição e Tempo no paradigma de Sacadas Preditivas. As quatro condições geradas pela combinação dos fatores foram: condição Previsível (P), Posição previsível (PP), Tempo previsível (TP) e Imprevisível (I).....	67
3 -	Pesos para marcação dos itens da Escala Analógica de Humor. Os valores ponderados para cada item do teste são multiplicados por seu peso e depois são somados com outros item dos grupo: ansiedade, sedação física, sedação mental e outros.....	82
4 -	Desempenho no teste de Trilhas. Tempo médio de execução e desvio padrão em cada teste descrito como a função avaliada para os grupos de crianças e adultos. Os grupos foram comparados com teste-t para amostras independentes, o valor t e nível de significância são descritos na tabela.....	97
5 -	Escala Analógica de Humor. Valores médios dos quatro fatores.....	98
6 -	Valores médios e desvio padrão para sacada previsível na interação dos grupos de crianças e adultos.....	106

Lista de abreviaturas

ANOVA	Análise de covariância
BOLD	Contraste dependente do nível de oxigênio (<i>Blood Oxygenation Level Dependent</i>)
BET	Instrumento de extração do cérebro (<i>Brain Extraction Tool</i>)
CVF	Campo visual frontal
CVS	Campo visual suplementar
CVP	Campo visual parietal
DSMIV	Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais (<i>Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais</i>)
EDR	Efeito de distração remota (<i>Effect of remote distraction</i>)
EPI	Imagem eco-planar (<i>Echo-planar imaging</i>)
EAH	Escala analógica de humor
FLIRT	Ferramenta de registro linear
FLAIR	Imagem estrutural (<i>Fluid attenuation inversion recovery</i>)
FOV	Campo de visada (<i>Field of view</i>)
FRPP	Formação reticular pontinha paramediana
GCa	Giro do cíngulo anterior
GCp	Giro do cíngulo posterior
GLM	Modelo linear geral (<i>General linear model</i>)
ICA	Análise dos componentes independentes
INS	Ínsula
IRN	Núcleo de interposito do rafe
LatSac	Latência Sacádica
LEDs	Diodo emissor de luz (<i>Light Emitting Diodes</i>),
LATER	Método linear de limiar com taxa ergódica (<i>Linear Approach to Threshold with Ergodic Rate</i>)
LPs	Lóbulo parietal superior
LIP	Sulco lateral intraparietal (<i>Lateral intraparietal</i>)
M.I.N.I	Entrevista neuropsiquiátrica mínima.
MELODIC	Programa para ICA análise (<i>Multivariate exploratory linear optimized decomposition into independent components</i>)
MNI	<i>Montreal Neurological Institute</i>
MORL	Movimento ocular de rastreo lento
MS	Sequência principal (<i>Mean sequence</i>)
NO	Nistagmo optocinético
NEX	Número de excitações na aquisição RM
pré-CVS	Pré-campo visual frontal

PFDL	Córtex pré-frontal dorsolateral
PLi	Lóbulo parietal inferior
PU	Putame
riFLM	Núcleo rostral intersticial do fascículo longitudinal medial
RM	Ressonância magnética
RMf	Ressonância magnética funcional
ROI	Região de interesse
RVO	Reflexo vestibulo-ocular
SPAIR	Modo de aquisição de imagem (<i>Fast spin eco</i>)
SR	Razão sinal-ruído
TE	Tempo ao eco
TR	Tempo de repetição
TM	Área temporal medial.
TMS	Área temporal medial superior
QI	Quociente de inteligência
VBM	Morfometria baseada em <i>voxel</i> (<i>Voxel Based Morphometry</i>)

Lista de siglas

ABEP	Associação Brasileira de Empresas e Pesquisa
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CAPPesq	Comitê de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa da Diretoria Clínica
CInAPCe	Cooperação Interinstitucional de Apoio a Pesquisa sobre o Cérebro
DAAD	Deutscher Akademischer Austausch Dienst
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FMUSP	Faculdade de Medicina Universidade de São Paulo
HC	Hospital das Clínicas

Resumo

Lukasova K. Movimento ocular em crianças e adultos: estudo comparativo com uso integrado de RMf e Eye tracking [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2012.

OBJETIVO: Identificar áreas cerebrais ativadas durante tarefas de movimento ocular sacádico em crianças e adultos saudáveis. Por meio de registro de imagem com Ressonância Magnética funcional (RMf) e movimentos oculares com *Eye tracking* comparou-se a ativação neural em tarefas de sacadas guiadas externamente por um alvo e internamente pelo conhecimento prévio das características do movimento. **MÉTODOS:** Participaram do estudo 14 crianças saudáveis (7 meninos e meninas) com idade média de 11,1 (dp=1,2) e 14 adultos (9 homens e 5 mulheres) saudáveis com idade média de 23,9 (dp=3,3), todos destros. O paradigma de RMf incluiu tarefas de movimento sacádico em direção a um alvo. Foram apresentadas quatro condições: Previsível (P), Posição previsível (PP), Tempo previsível (TP) e Imprevisível (I). Durante a condição P, o alvo apareceu na tela em intervalos fixos de tempo (800 ms) e posição fixa, alternando entre dois marcos na linha horizontal. Na condição PP, a posição era fixa, o intervalo variado (400, 800 e 1200 ms). Na condição TP, o intervalo era fixo e o alvo aparecia em 5 posições no meridiano horizontal. Na condição I, posição e tempo eram variados. As aquisições BOLD foram realizadas em um sistema 3T (*Philips Achieva*) com uso integrado de *Eye tracker (MagConcept)*, Tempo de repetição foi de 2 s, Tempo de eco 30 s, *voxels* isotrópicos de 3 mm. A análise de imagem incluiu correção de movimentos, filtro temporal, normalização para espaço comum, remoção de artefatos e inferência paramétrica (FSL versão 4.1 - *FMRIB, Analysis Group, Oxford, UK*). **RESULTADOS:** Análise dos dados de movimento ocular de crianças e adultos mostrou um padrão similar de latência sacádica com aumento da mesma da condição P para PP e TP. Apenas em adultos foi encontrada diferença nas condições TP e I. Adultos mostraram latência sacádica significativamente menor que crianças. Na condição P, em adultos, foi observada redução contínua da latência ao longo do bloco, já em crianças a latência se estabilizou. Em relação à ativação neural, em ambos grupos foi encontrado efeito BOLD nas áreas do campo visual frontal, campo visual suplementar, lobo parietal superior e inferior, córtex visual primário, V5, ínsula anterior, núcleos da base e cerebelo. Em crianças foi observada ativação mais difusa no córtex frontal. Na comparação direta dos grupos, crianças mostraram efeito BOLD no giro do cíngulo anterior e posterior. Correlação entre latência e ativação em crianças foi encontrada no giro do cíngulo anterior, giro frontal superior medial, giro orbitofrontal e giro temporal inferior. Em adultos, a correlação foi encontrada nas áreas comuns do circuito sacádico. **CONCLUSÕES:** crianças mostraram um padrão sacádico similar aos adultos, porém com menor aproveitamento da informação antecipada do alvo. O padrão de ativação em crianças diferiu daquele encontrado em adultos. Crianças ativaram mais na linha fronto-parietal medial e orbitofrontal, o que pode ser atribuído à diferente modulação dos mecanismos inibitórios e atencionais.

Descritores: Imagem por Ressonância Magnética Funcional, Movimentos oculares, Sacadas, Atenção, Crianças.

Summary/Abstract

Lukasova K. Eye movements in children and adults: comparative study with the integrated use of fMRI and Eye tracking [thesis]. São Paulo:Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2012.

OBJECTIVE: identify brain activation patterns in children and adults during predictive saccade task. We used functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI) and Eye tracking to compare neural activation during saccades guided by external stimuli and internal monitoring of target movement properties. **METHODS:** the total of 11 children was assessed (9 boys and girls) with the mean age of 11.1 (SD = 1.2) and 14 adults (11 men and 5 women) with the mean age of 23.9 (SD=3.3). The fMRI paradigm was composed of different tasks for saccades generation. In total, four conditions were presented: Predictable (P), Position predictable (PP), Time predictable (TP) and Reflexive saccades (R). In P task, the target appeared in constants frequency oscillating between two positions. In PP, the target moved between constant positions with unpredictable timing (400, 800, 1200 ms). In TP, the frequency was constant but the target appeared in 5 different positions on horizontal meridian. In R, frequency and position were varied. The BOLD acquisitions were performed on 3T scanner (*Philips Achieva*) with integrated MRI compatible Eye tracker (*Magconcept*). Repetition time was 2 s, echo time 30 s and isotropic voxels 3 mm. Image analyses included a motion correction, time correction, artifacts removal, transformation of image into standard space and parametric analyses with FSL version 4.1 (*FMRIB, Analysis Group, Oxford, UK*). **RESULTS:** data analyses showed similar pattern of saccade latency in children and adults, with an increase in latency from P to PP and TP. The TP and R showed different latencies only in adults. Adults had significantly shorter latencies than children. In the P task, continuous reduction in latency was found along the block in adults only. The children showed latency stabilization. Regarding neural activation common to the both groups, the BOLD effect was found in the frontal eye field, supplementary eye field, superior and inferior parietal lobe, primary visual cortex, V5, anterior insula, basal ganglia and cerebellum. In children, diffuse activation was found in frontal cortex. In direct group comparison, the children showed BOLD effect in anterior and posterior cingulate gyrus. Correlations between saccade latency and activation were found in the anterior cingulate, frontal medial superior gyrus, orbitofrontal gyrus and inferior temporal gyrus. In adults, correlations were found in common saccadic circuitry. **CONCLUSIONS:** children showed a similar pattern of eye movements to adults, but with less efficiency in saccades guided by advanced knowledge of target movement. The activation patten differed between children and adults. Children activated more on medial line of frontoparietal cortex and orbitofrontal cortex. We attribute this pattern to the different processes of inhibitory and attention mechanisms in children.

Descriptors: Functional Magnetic Resonance Imaging; Eye movements, Saccades, Attention, Children.

1. INTRODUÇÃO

Ressonância Magnética funcional (RMf) é um método de mapeamento cerebral não invasivo capaz de medir alterações principalmente no nível de oxigênio do sangue no cérebro, conhecido também como efeito BOLD (*Blood Oxygenation Level Dependent*). O efeito BOLD faz parte das mudanças hemodinâmicas que envolvem volume e fluxo sanguíneo e ocorrem durante a ativação cerebral, embora ainda pouco compreendidas (Logothetis, 2008).

O uso de tecnologias adicionais compatíveis com RMf, que oferecem medidas comportamentais mais precisas, assegura a comparação de desempenho entre diferentes grupos etários e clínicos (Dowker, 2006). Uma dessas tecnologias é o *Eye tracking* que possibilita registro de movimentos oculares em tempo real durante a execução das tarefas. Em estudos de desenvolvimento, o registro de movimento ocular em conjunto com RMf tem sido feito para elucidar os mecanismos de maturação cognitiva, correlacionando-os com as mudanças neurais funcionais (Irving, Steinbach, Lillakas, Babu, & Hutchings, 2006; Velanova, Wheeler, & Luna, 2008).

Embora existam estudos brasileiros com *Eye tracking*, nenhum estudo foi realizado com uso conjunto de *Eye tracking* e RMf. Estudos dessa natureza são desafiadores, uma vez que exigem equipamentos de alta tecnologia e custo, porém, os resultados assim obtidos podem amplamente contribuir com o conhecimento sobre

funcionamento neural e movimentos oculares (Beatriz Luna, Velanova, & Geier, 2008; Munoz & Everling, 2004; Sweeney, Luna, Keedy, McDowell, & Clementz, 2007).

O presente estudo visou comparar crianças e adultos em um paradigma de movimentos oculares, a fim de investigar mudanças de comportamento e funcionamento neural, ocorridos em função do desenvolvimento. Espera-se que os resultados possam contribuir também com futuros estudos voltados para grupos clínicos específicos, tais como dislexia do desenvolvimento, autismo e esquizofrenia.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Perspectiva histórica dos estudos de movimentos oculares.

Apesar de a visão ter sido objeto de observação desde os primórdios da Grécia, o estudo mais detalhado dos movimentos oculares datam apenas do fim do século XVIII (Wade & Tatler, 2005). Antes disso, apenas as características observáveis do movimento ocular foram relatadas. Aristóteles (ca.384-322) notou que os olhos se movimentam em conjunto para lados e em direção oposta (convergência), mas jamais em movimento vertical oposto, um para cima e outro para baixo. Alhazem (aproximadamente 965-1039) realizou uma série de testes para mostrar que a visão central e periférica diferiam na sua qualidade e sugeriu que a visão binocular servia para se obter uma imagem unificada (Wade & Tatler, 2005).

Um dos pesquisadores que é considerado fundador da ciência moderna do movimento ocular é William Charles Wells (1757-1817), que já no século 18 realizava experimentos com pós-imagem. Pós-imagem é produzida pela estimulação breve ou prolongada de intensa fonte luminosa da retina. A imagem luminosa pode ser vista durante alguns segundos mesmo fechando os olhos ou desviando os para outro lugar (Wade & Tatler, 2005). Wells usava a chama de vela para estimular a pós-imagem na retina do sujeito e fazia uma série de testes com deslocamento do globo ocular. Em suas análises, William Wells percebeu que a pós-imagem se

movimentava junto com o movimento voluntário dos olhos e que, com olhos fixos, a imagem ficava imóvel, mesmo quando um dos globos oculares fora deslocado por pressão externa do dedo. Além disso, realizava estudos com o movimento ocular gerado pela rotação vertical do corpo (Wade, 2005). A questão central naquela época foi esclarecer o funcionamento e relação entre a musculatura ocular, mecânica do movimento e sensação.

As técnicas para gerar pós-imagem foram retomadas por Charles Bell (1774-1842) que analisou experimentalmente e descreveu o fenômeno em 1823, posteriormente chamado de propriocepção visual, traçando uma relação entre a função muscular e a sensação do direcionamento visual (Wade & Tatler, 2005). No mesmo ano, um fisiologista tcheco, Jan Evangelista Purkině (1787-1869), descreveu diferentes padrões de movimento ocular e os discutiu na perspectiva de patologias tais como estrabismo (desvio do movimento binocular) e vertigem. Atribui-se a ele a primeira descrição do nistagmo caracterizado como movimento ocular gerado para compensar a rotação da cabeça (Wade, 2002).

Os movimentos oculares eliciados pela vertigem eram frequente objeto de estudo naquela época. Em meados de 1875, E. Mach (1838-1925) desenvolveu uma cadeira giratória que possibilitava realizar observações precisas das consequências do movimento corporal na posição ocular (Wade & Tatler, 2005). Mach avançou na explicação da função vestibular dos canais semicirculares, controle de equilíbrio e vertigem. Observações foram realizadas também em surdos/mudos que, segundo ele, não sentiriam vertigem ao serem rotacionados e não mostraram os movimentos oculares típicos devido a lesão no ouvido interno. Essas hipóteses foram testadas por

William James (1842-1910) que abordou o assunto do movimento ocular e nistagmo optocinético gerado após a rotação corporal em cerca de 500 surdos/mudos. Aproximadamente 80% dos participantes relatou ausência da sensação de vertigem, o que confirmou a função dos canais semicirculares do ouvido interno no equilíbrio e nistagmo optocinético (Wade, 2002).

Nos estudos de nistagmo, alguns relatos já haviam descrito o padrão de movimento ocular brusco, descontínuo e intercalado com pausas breves, já naquele tempo chamadas de fixações. Esse tipo de movimento porém ainda não era relacionado com processamento visual e um caminho longo tinha que ser percorrido para que passasse a ser considerado um tipo de movimento específico, chamado de sacada.

H. L. Helmholtz (1821-1894) se preocupou em definir a geometria do movimento ocular e para tal inicialmente especificou a posição ereta da cabeça em relação à simetria entre seus dois lados e uma linha imaginária ligando os dois olhos. A posição ereta era encontrada quando o plano mediano alinhava-se na linha vertical e plano transversal na linha horizontal. Também passou a usar uma mordaça (inglês '*bite bar*') para imobilizar a cabeça do sujeito na posição ereta. Helmholtz então definiu posições primárias, secundárias e terciárias dos olhos e utilizou esse sistema de coordenadas para medir a rotação ocular. Em 1864 foi experimentalmente demonstrado por Helmholtz que os meridianos verticais de ambos os campos visuais não têm uma correspondência exata, assim como têm os campos visuais horizontais (Wade, 2005).

Em seus estudos, Helmholtz utilizou-se de achados anteriores de F. C. Donders (1818-1889) e J. B. Listing (1808-1882) que regiam os movimentos oculares. A lei de Donders afirma que dado um ponto de fixação, o grau da torção do olho para atingir essa posição é a mesma independente do caminho que o olho percorre à partir da posição primária. A lei de Listing por sua vez descreve os eixos em volta dos quais os olhos rotacionam à partir da posição primária. Esta lei diz que “a torção do olho será igual como se o olho fosse rotacionado em torno dos eixos perpendiculares ao ponto inicial e final da linha de fixação” (Wade & Tatler, 2005, página 125). Helmholtz confirmou a validade dessas leis e com uso do princípio de pós-imagem mediu a rotação com precisão de 0,5 grau visual. Os rápidos e descontínuos deslocamentos dos olhos, traduzidos do alemão como “*jerks*”, foram abordados por Helmholtz como fazendo parte do direcionamento da visão durante vertigem e não geravam grande interesse do estudioso. O interesse de Helmholtz não estava no movimento em si mas na geometria da posição ocular após o deslocamento gerado pela rotação da cabeça (Wade & Tatler, 2005).

A origem do termo sacada é atribuída ao cientista francês L. E. Javal (1839-1909), cujo interesse principal era o deslocamento ocular durante a leitura. O cientista francês descreveu os movimentos rápidos dos olhos, sacadas, durante a leitura como um deslizar contínuo da visão ao longo da linha do texto. A pós-imagem se mostrou inútil nos estudos de leitura e, por isso, as suas conclusões eram pouco intuitivas e careciam de medições precisas. Javal advogou pelo desenvolvimento das técnicas de medição ocular e ele mesmo tentou pôr em prática algumas técnicas mal sucedidas de registro ocular, como uso de pena afixada ao olho

cujo movimento era registrado numa camada fina de carvão ou registro da luz refletida por espelhinhos fixados nos olhos (Wade & Tatler, 2005).

Outros pesquisadores, tais como Mach, Brown e Breuer, diferenciaram nistagmo do movimento descontínuo de sacadas, mas sem se dar conta do real papel desses movimentos na visão (Wade & Tatler, 2005). E. Hering (1834-1918) foi um dos primeiros a descrever movimentos oculares com características de sacadas fora do contexto rotacional do nistagmo. Com um pequeno estetoscópio posicionado na pálpebra da pessoa durante a leitura, Hering ouviu uns sons bruscos que atribuiu a contração muscular durante o deslizar do olho na linha da leitura. Uma vez que o mesmo som encontrava-se ausentes durante as fixações, Hering concluiu, que os mesmos eram característicos de um movimento ocular típico de exploração visual (Wade, 2005).

O conhecimento sobre movimentos sacádicos só avançou com o desenvolvimento de equipamentos capazes de registrar a posição ocular ao longo do tempo. Essa tarefa foi posta para R. Dodge (1871-1942) que almejava ser filósofo e mudou-se para Alemanha a fim de melhorar o conhecimento da língua. Após participar de um seminário sobre a psicologia da leitura, no qual ouviu sobre a problemática do registro ocular, entusiasmou-se com o desafio e começou a trabalhar junto com B. Erdmann (1851-1921) em um equipamento para registrar o posicionamento ocular. Os esforços resultaram no Taquistoscópio de Erdmann-Dodge, construído com uso de tecnologia de fotografia para registrar a luz refletida do olho, e, posteriormente, com Fotocronógrafo de Dodge (Figura 1), que registrava o reflexo da córnea (Wade & Tatler, 2005).

Figura 1. Fotocronógrafo de Dodge. O aparelho era usado para pacientes com transtornos psiquiátricos. A câmera era capaz de gravar movimentos oculares em 100 ciclos por segundo. Tempo de reação continha erro de $<0,01$ e sacadas tinham imprecisão de registro de 3 graus (retirado do Compston, 2011)

As técnicas fotográficas de registro ocular, tiveram um impacto decisivo no avanço do conhecimento acerca das propriedades do movimento ocular (Wade & Tatler, 2005). Dodge, ao longo da sua carreira, classificou cinco tipos de movimentos oculares: sacadas, movimento ocular de rastreo lento, movimento compensatório, movimento reativo e convergência. Abriu uma nova dimensão para a ciência da visão ao perceber que, diferentemente do que se pensava, os olhos não eram integral e unicamente responsáveis pela formação da percepção visual. Sugeriu que, apesar da sensação de continuidade perceptual, a percepção não era formada continuamente e que havia uma supressão na entrada visual durante o movimento sacádico, hoje conhecida como supressão sacádica (Wade & Tatler, 2005).

Figura 2. A reprodução dos registros oculares do Fotocronografo de Dodge. Os registros eram projetados com a lâmpada numa superfície e redesenhados a mão, numa escala maior e classificados. O principal objetivo era estudar sacadas e movimento ocular em pacientes psiquiátricos cujas sacadas são mostrados na figura (retirado do Compston, 2011)

As contribuições de Dodge colocaram a ciência ocular em outro patamar. Diversas áreas, além do estudo dos movimentos oculares durante a leitura, passaram a usar os equipamentos de registro ocular (Figura 2). O comportamento ocular e o padrão de fixação-sacada passou a ser observado nas mais variadas tarefas e o interesse se voltou para os estudos da relação entre o movimento ocular e a cognição (Wade & Tatler, 2005).

No início do século XX, houve um rápido aperfeiçoamento da tecnologia de registro ocular. Estudos sobre movimento ocular e cognição mostraram que o primeiro é fortemente influenciado pelo segundo, como, por exemplo, pelo objetivo a

ser alcançado numa determinada tarefa (Yarbus, 1977 *apud* Wade & Tatler, 2005). Foram desenvolvidos equipamentos de rastreamento visual portáteis que possibilitaram registro ocular durante tarefas cotidianas (Wade & Tatler, 2005). Ademais, o desenvolvimento da computação possibilitou melhorar a precisão de registro e aperfeiçoar os métodos de análise de dados (Duchowski, 2007). Por outro lado, muitas das perguntas postuladas há quase um século atrás, no início da ciência moderna do movimento ocular, permanecem não respondidas. Os mecanismos dos movimentos oculares e a interação com a cognição continuam a ser desvendados. A seguir, será descrita a tipologia dos movimentos oculares, alguns dos conceitos já mencionados nessa breve introdução histórica.

2.2 Tipologia dos movimentos oculares

Os movimentos bruscos e descontínuos dos olhos, percebidos já por H. Helmholtz, são conhecidos como movimentos sacádicos, ou apenas sacadas. As sacadas são geradas para que um objeto de interesse visual seja colocado na fóvea, uma pequena região da retina (1mm diâmetro) com maior acuidade visual (Kandel, Schwartz & Jessell, 2000). A estabilização da imagem de um objeto na retina é chamada de fixação, sendo que sua duração média é de 200 – 300 ms (Wade & Tatler, 2005). O padrão de movimentos oculares durante a exploração visual de um objeto é caracterizado por uma série de sacadas e fixações.

Movimentos sacádicos fazem parte de cinco tipos de movimentos oculares cuja função é a exploração visual do mundo e/ou estabilização do mundo na retina durante o movimento da cabeça (Kandel, Schwartz & Jessell, 2000). Os cinco tipos são: sacadas, convergência, movimentos oculares de rastreo lento (seguimento ocular), nistagmo optocinético e reflexo vestibulo-ocular. Os movimentos são resumidos na Tabela 1 e brevemente abordados a seguir.

Tabela 1- Descrição dos principais tipos de movimentos oculares

Função	Tipo	Descrição
Manter a fóvea no alvo visual	Movimento sacádico	Movem a fóvea rapidamente em direção do alvo visual.
	Convergência ocular	Seguem o alvo que se aproxima movendo as fóveas em direção nasal.
	Movimento ocular de rastreo lento	Seguem o alvo em movimento.
Estabilizar olhos durante o movimento	Nistagmo optocinético	Estabilizam imagem na retina durante movimento contínuo de cabeça.
	Reflexo vestibulo-ocular	Estabilizam imagem na retina durante movimento brusco de cabeça.

Sacadas (inglês *Saccades*) são rápidos movimentos dos olhos cuja velocidade pode alcançar 600°/s (Wade & Tatler, 2005). A velocidade das sacadas é diretamente proporcional à amplitude de sacada, ou seja, quanto maior a amplitude da sacada, maior sua velocidade. A relação velocidade/amplitude é chamada de sequência principal (inglês: *main sequence* – *MS*; Figura 3) e garante curta duração mesmo em sacadas longas. A sequência principal pode ser representada pela curva exponencial, sendo que um desvio dessa curva indica possíveis problemas no controle sacádico característico de doenças que acometem o sistema visual (Leigh & Kennard, 2004).

Figura 3. A relação velocidade/amplitude chamada de sequência principal. O gráfico mostra sacadas de 10 sujeitos saudáveis (pontos) e pacientes com doença Niemann-Pick (+), que manifestam alteração no movimento sacádico. As curvas exponenciais da forma representam intervalo de predição (5 e 95%). Os pacientes mostram alteração na sequência principal (Adaptado do Leigh & Kennard, 2004)

As sacadas são reflexivas quando surgem como resposta automática dos olhos perante o deslocamento da imagem no campo visual. Os movimentos dirigidos deliberadamente para estímulos de interesse são chamados de volitivos.

Convergência ocular (inglês *Vergence*) é um movimento dos olhos em direção ao nariz, gerado pela aproximação de um objeto observado. Quando realizada sem um objeto visual, a convergência é relativamente lenta. Quando é associada a um movimento sacádico para um estímulo que se aproxima do observador, a convergência ganha velocidade.

Os **Movimentos oculares de rastreo lento** (MORL; inglês *Smooth Pursue Saccades - SPS*) são movimentos lentos e deslizantes dos olhos que acompanham o movimento do alvo visual. MORL não podem ser produzidos de forma voluntária

como as sacadas e a velocidade máxima chega a aproximadamente 100°/s, valor inferior a velocidade do movimento sacádico.

O reflexo optocinético é chamado também de **Nistagmo optocinético** (NO; inglês *Optokinetic Eye Nystagmus - OKN*), ou Nistagmo de ferrovia, uma vez que tipicamente ocorre em pessoas observando paisagem pela janela de um trem em movimento. O NO tem dois componentes: fase lenta e rápida. Na fase lenta, uma cena visual que se move em uma velocidade inferior a 30°/s é estabilizada na retina por meio de Movimentos oculares de rastreamento lento. Com velocidades acima de 30°/s, os olhos ficam para trás e a fase rápida do NO é executada, em forma de uma sacada de alcance que reposiciona a imagem na retina (Wade & Tatler, 2005). A velocidade máxima da sacada na fase rápida pode chegar a 500°/s. (Wade & Tatler, 2005).

Reflexo vestibulo-ocular (RVO; em inglês *Vestibulo-Ocular Reflex - VOR*) é um tipo de movimento ocular gerado para compensar o movimento brusco da cabeça. O deslocamento da cabeça geralmente ocorre no eixo horizontal ou vertical e é acompanhado pelo movimento contrário olhos, a fim de manter a imagem do objeto estacionário na retina. Para a execução desse movimento contralateral, conhecido também como *reflexo dos olhos de boneca*, o sistema óculo-motor recebe informação sobre a aceleração da cabeça do sistema vestibular no ouvido interno. O movimento ocular contralateral é reflexivamente ativado em uma latência menor que 16 milésimos de segundos e atinge aproximadamente a mesma velocidade angular que a velocidade rotacional da cabeça (Collewijn, Erkelens, & Steinman et al., 1985). Quando a rotação da cabeça é constante durante um período de tempo, como no caso da pessoa sentada em um carrossel, os mecanismos de RVO são impossibilitados,

uma vez que o sistema vestibular pára de enviar informação visual por adaptação de seus receptores ao movimento constante (Leigh & Kennard, 2004).

Diferentes tipos de movimentos oculares refletem a complexa evolução do sistema nervoso central, sendo que os movimentos oculares reflexivos são evolutivamente mais antigos do que movimentos oculares voluntários. A seguir, será abordada a neurofisiologia e neuroanatomia do sistema visual e vestibular que controlam os movimentos oculares.

2.3 Neurofisiologia e neuroanatomia dos movimentos oculares

Em seguida serão abordadas de forma breve as principais estruturas envolvidas na geração e controle dos movimentos sacádicos. Serão abordados o sistema vestibular, núcleos óculo-motores do tronco encefálico, cerebelo, colículos superiores, núcleos da base, córtex occipital, córtex temporal médio e inferior, lóbulo parietal superior e córtex frontal.

Nenhuma das regiões citadas nesse resumo responde isoladamente por uma propriedade restrita de movimento ocular. Ao contrário, como mostraram estudos com lesões em macacos e humanos, o sistema nervoso é capaz de se reorganizar em caso de uma das estruturas que fazem parte desse sistema seja acometida, fazendo com que outras estruturas assumam seu papel na geração de movimentos oculares (Leigh & Kennard, 2004).

2.3.1 Processamento visual inicial

Processamento da imagem visual se inicia a partir da luz refletida do objeto observado para a retina situada no fundo do globo ocular. É importante lembrar que a retina é uma porção do encéfalo separada durante o desenvolvimento fetal e como tal, contém um grupo de células neurais em organização laminar (Kandel, Schwartz & Jessell, 2000). Seus componentes estão estrategicamente organizados de maneira que esta estrutura anatômica representa uma adaptação integrada ao sistema visual central, e também à movimentação ocular.

Na retina encontram-se fotorreceptores, as células sensíveis à luz, que estão imersos no epitélio pigmentar. Fotorreceptores diferem de acordo com o formato do seu segmento externo que se assemelha ao cone ou bastonete. Os cones são responsáveis pela visão do dia, já os bastonetes são altamente sensíveis à luz, e portanto produzem a visão em ambientes sombrios com pouca iluminação (Kandel, Schwartz & Jessell, 2000). A distribuição dos cones e bastonetes na retina é heterogênea. Os cones se concentram na região central da retina em um raio de aproximadamente 10 graus formando a fóvea. Os bastonetes são ausentes na fóvea e se concentram principalmente na retina periférica. Os cones apresentam maior acuidade visual e são responsáveis pelo processamento das cores. Já os bastonetes tem melhor resolução temporal sendo capazes de responder as mudanças rápidas na imagem observada (Kandel, Schwartz & Jessell, 2000). As características dos fotorreceptores e outras particularidades do sistema vestibular não serão abordadas em profundidade nessa revisão, porém o sistema como todo, representa uma adaptação eficiente com a integração da movimentação visual.

A motricidade do olho é uma propriedade essencial, que possibilita, a todo o momento, posicionamento da imagem na fóvea para uma detalhada inspeção visual. No entanto, isso só é possível graças a uma constante interação entre as informações visuais vindas da retina central e periférica. As principais estruturas responsáveis pela geração da sacada são representadas na Figura 4 e serão descritas a seguir.

Os movimentos oculares são realizados por um conjunto de seis músculos extraoculares: músculo reto superior, inferior, medial, lateral e oblíquos superior e inferior. Os músculos são inervados pelos neurônios motores III (oculomotor), IV

(troclear) e VI (abducente) pares de nervos cranianos. Estes neurônios formam os núcleos localizados no mesencéfalo (III e IV) e ponte (VI) (Dantas, 2006). O funcionamento dos músculos extraoculares, em princípio, garante a estabilização da imagem retiniana e binocular, prevenindo assim borramento da imagem e visão dupla. Quando ocorrem mudanças na posição da cabeça ou do objeto observado, os nervos oculomotores acionam músculos extraoculares gerando algum dos tipos de movimentos oculares descritos acima. A frequência dos disparos dos neurônios motores extraoculares é proporcionalmente relacionada com a posição e velocidade dos olhos durante o movimento (Spender & Porter, 2001). O funcionamento dos neurônios motores oculares é caracterizado por duas fases: pulso e intervalo (em inglês *pulse - step*).

Pulso se refere ao momento de geração da sacada que necessita uma energia ampla e brusca para que seja superada a resistência dos tecidos envolta do globo ocular. Esse impulso é gerado pelos neurônios fásicos (em inglês *Burst neuron*) que descarregam em altas frequências antes e durante sacada. Registros de atividade elétrica em macacos mostraram intensa descarga desses neurônios aproximadamente 12 ms antes do início da sacada (Leigh & Kennard, 2004). No caso das sacadas horizontais, os neurônios fásicos estão situados na formação reticular pontina paramediana (FRPP) e projetam-se para o núcleo oculomotor contralateral, que aciona os músculos extraoculares. Já as sacadas verticais são geradas pela projeção das células fásicas do núcleo rostral intersticial do fascículo longitudinal medial (riFLM) para os núcleos oculomotor e troclear. Os neurônios motores inervam o

músculo reto superior possibilitando assim sacadas verticais e rolamento ocular (Büttner-Ennever, 2006).

Figura 4: Estruturas do tronco encefálico responsáveis pela geração da sacada. Os músculos extraoculares são inervados pelos neurônios motores que se projetam para núcleos oculomotores no mesencéfalo (III oculomotor e IV troclear (ausente na figura) e ponte (VI abducente). Comando sacádico é recebido da formação reticular pontinha paramediana (FRPP) no caso sacadas horizontais e do núcleo rostral intersticial do fascículo longitudinal (riFLM) em sacadas verticais. As células fásicas nesses núcleos são inibidas pelos neurônios de pausa no núcleo interposto do rafe e com cessar da inibição é gerado um sinal do tipo pulso que leva a sacada. O fim de sacada é mediado pelos núcleo vestibular medial e núcleo intersticial de Cajal que produzem sinal do tipo intervalo com descarga de menor frequência, porém constante (Imagem adaptada de Leigh & Kennard, 2004)

Com o fim do movimento sacádico, os músculos extraoculares mantêm-se contraídos para garantir a permanência na nova posição estabelecida, atuando assim contra o retorno natural do olho. Nesse momento, os neurônios motores descarregam em uma frequência menor porém constante a fim de manter a fixação dos olhos. A diferença na taxa de disparo em pulso inicial e final é chamada de *intervalo* sendo que a magnitude do intervalo define a amplitude da sacada (Kandel, Schwartz & Jessell, 2000).

A finalização da sacada é mediada pelas estruturas do tronco encefálico, tais como núcleo prepósito do hipoglosso, núcleo vestibular medial, núcleo intersticial de Cajal e cerebelo. Estes tem função de integradores, uma vez que o pulso sacádico (comando de velocidade) é transformado em sinal do tipo intervalo (comando de posição), que eleva a contração tônica dos músculos extraoculares, interrompendo o movimento e preparando a fixação dos olhos em uma nova posição.

A fixação dos olhos ocorre na inativação dos neurônios fásicos por meio da conexão inibitória com células de pausa (em inglês *pause cells*) que se situam no mesencéfalo e na linha mediana da ponte caudal (Dantas, 2008).

Estudos neurofisiológicos com macacos mostraram a importância do cerebelo na precisão da sacada que pode estar envolvido na mediação temporal da desaceleração do olho. Neurônios do núcleo fastigial mostraram uma atividade oscilatória relacionada com a desaceleração das sacadas na proximidade do alvo. Há indicativos de que a atividade inicial do núcleo fastigial contralateral à direção da sacada eleva a aceleração do olho, enquanto a atividade tardia do núcleo fastigial ipsilateral desacelera a mesma, precipitando a fixação. Na inibição química dos núcleos contralaterais, os macacos realizavam sacadas hipométricas (parando antes do alvo), já na inibição do núcleo ipsilateral, as sacadas se tornam hipermétricas (Robinson, Phillips, & Fuchs et al., 1993). Neurônios do núcleo fastigial recebem entrada do verme dorsal (lóbulo VII) e se projetam via pedúnculo cerebelar para as células fásicas do mesencéfalo. O cerebelo projeta-se para o córtex frontal e tálamo dorsomedial.

O processamento da direção do movimento faz parte do complexo conjunto das propriedades da motricidade ocular e será abordado a seguir. A direção da sacada é codificada pelos colículos superiores que são responsáveis pelo mapeamento espacial dos alvos no campo visual. Os colículos superiores têm estrutura laminar cuja camada superior recebe projeções diretas da retina e córtex visual primário e se projeta para o núcleo geniculado lateral do tálamo. As camadas mais profundas são multimodais e recebem informação somato-sensorial, que possibilita direcionamento das sacadas para estímulos de outras modalidades sensoriais, por exemplo, táteis (May, 2006).

Os colículos superiores atuam diretamente na orientação das sacadas por terem conjuntos de neurônios que correspondem à organização espacial da retina (Chalupa & Werner, 2004). Ao aparecer um alvo visual, são ativadas vias excitatórias aproximadamente 40 ms antes da sacada. Se apenas um alvo é apresentado no campo visual, a sacada se dá na direção do vetor resultante desta ativação. Em caso de dois ou mais alvos, mais campos receptivos são ativados e uma modulação lateral intercolicular é necessária para a escolha do destino final. Nesse caso, a ativação no local final aumenta gradualmente com a aproximação do disparar da sacada, enquanto outros locais receptivos mantêm, ou até reduzem, o nível da ativação. Nesse processo decisório estão envolvidos outras áreas corticais, uma vez que os colículos não processam características visuais dos estímulos (Kandel, Schwartz & Jessell, 2000).

Estudos das camadas coliculares mostraram um complexo sistema de conexões excitatórias e inibitórias com outras regiões, cuja descrição está fora do escopo desse trabalho. Muitas delas são complexas conexões com regiões oculares corticais cuja

ativação ou inibição pode mudar o curso da sacada (Sommer & Wurtz, 2006). As principais regiões oculares do córtex serão descritas na sequência.

2.3.2 Vias visuais centrais

A literatura científica a respeito da visão tem sido detalhada em estudos invasivos em modelos pré-clínicos e que se basearam na grande correlação anátomo-funcional entre os primatas (Leigh & Kennard, 2004). Ainda que esses modelos não sejam perfeitos, são os que mais se aproximam daquilo que sabemos dos estudos não invasivos sobre primatas humanos.

A informação visual chega ao córtex occipital via radiação óptica do núcleo geniculado lateral no tálamo. Aproximadamente 90% das fibras visuais são projetadas via núcleo geniculado para a área visual primária chamada também de córtex estriado (V1). Os 10% restantes se projetam para as áreas subcorticais como colículo superior, núcleo pulvinar e núcleos estriados. As fibras de V1, por sua vez, se projetam para áreas associativas, chamadas também de córtex extra-estriado (V2, V3, V3A e V4), e área temporal medial (TM) (Motter, 1994). As principais áreas abordadas a seguir são representadas na Figura 5.

O registro do estímulo no córtex visual primário ocorre aproximadamente entre 100 e 120 ms após a apresentação do estímulo. O processamento das características primárias no V1, V2 e V3 é substituído pelo processamento seletivo das características específicas. Os córtices estriado e extra-estriado respondem seletivamente para as características de cor, formato, movimento e profundidade. A

região V4 ademais responde aos estímulos alocados pela atenção. Aumento na ativação da área V4 foi detectado aproximadamente 150 ms após a apresentação do estímulo (Motter, 1994). Saindo do córtex visual primário, o processamento da visão ocorre em dois principais caminhos: via ventral e via dorsal.

A ativação seletiva é a principal característica da via ventral que se projeta para a porção inferior e ventral do lobo temporal (íntero-temporal). Os neurônios nessa região respondem, de preferência, às características específicas dos estímulos complexos, tais como faces, palavras e/ou objetos. A resposta é modulada pela aprendizagem, sendo que se observa redução na ativação para estímulos treinados ativamente e passivamente, apenas vistos repetitivamente no conjunto de outros estímulos (Kandel, Schwartz & Jessell, 2000). Estudos com macacos registraram atividade celular seletiva para estímulos treinados, aproximadamente 80 a 180 ms após a apresentação do estímulo, o que indica que os primeiros disparos neurais contêm informação suficiente para percepção categorial (Freedman, Riesenhuber, Poggio, & Miller, 2006).

Figura 5. Regiões do córtex cerebral envolvidas na geração das sacadas. As abreviações se referem as seguintes áreas: FRPP = formação reticular pontina paramediana, riFLM = núcleo rostral intersticial do fascículo longitudinal medial. (Adaptado do Leigh & Kennard, 2004, imagem cérebro - MRICron)

Atenção especial tem sido dada à região temporal medial (corresponde a V5) e temporal medial superior (TMS), localizadas na junção temporo-parieto-occipital. A região mostra ativação relacionada com movimento de baixa frequência e movimento ocular de rastreo lento. Em macacos, TM/TMS respondem pelo monitoramento do movimento dos próprios olhos e quando lesionadas observa-se piora no seguimento ocular e nistagmo optocinético (Dumoulin, Bittar, Kabani et al., 2000).

A via dorsal compreende dois grandes sistemas: áreas corticais situadas no lóbulo parietal superior e nas bordas do sulco intraparietal onde se situa área do campo visual parietal (CVP; em inglês *Parietal eye fiels*; PEF). Estas áreas apresentam projeções diretas para colículos superiores e conexões recíprocas com

córtex frontal. A função das áreas do lobo parietal está associada ao mapeamento visuoespacial do alvo em movimento e conversão de entradas sensoriais (giro pós-central) em comandos motores (McDowell, Dyckman, Austin, & Clementz, 2008). Em macacos, a área lateral intraparietal (LIP), correspondente ao CVP em humanos, mostra atividade relacionada com o planejamento sacádico e codificação da métrica das sacadas. Ademais, a LIP responde também pelas funções atencionais que monitoram as características dos objetos de interesse e/ou distratores. A ativação da LIP se correlacionou com objetos vinculados com a recompensa e diminuição na resposta ou até inibição quando o objeto apresentado era neutro, o que indica a importância do fator motivacional na geração da sacada (Peck, Jangraw, Suzuki, Efem, & Gottlieb, 2009)

Outras áreas relevantes para o movimento ocular encontram-se no córtex frontal e são chamados de Campo Visual Frontal (CVF) e o Campo Visual Suplementar (CVS). O CVF é, de acordo com a classificação de Brodman, localizado na região transicional entre BA6 e BA8. Blanke & Seek (2003) definiram sua localização na extremidade posterior do giro frontal médio e bordas do sulco pré-central, anterior ao córtex motor. O CVF tem densas projeções diretas para os colículos superiores, e indiretas, via núcleos da base, especificamente núcleos caudados e putame. A ativação do CVF interfere na atividade inibitória dos núcleos da base sobre os colículos superiores. O CVF também tem projeções para o verme dorsal e núcleo fastigial do cerebelo.

Estudos em macacos relataram que o uso da estimulação elétrica superficial ao CVF resulta na produção de sacadas com *sequência principal* (relação de amplitude

e velocidade) observada em sacadas volitivas (Lynch & Tian, 2006). Os registros de potenciais evocados mostraram atividade nos campos receptivos da CVF mesmo antes da geração da sacada. Por outro lado, lesão induzida por inativação química na porção anterior da CVF incapacitou a produção das sacadas, mas com rápida recuperação em poucos dias (Lynch & Tian, 2006).

O CVF tem ligação recíproca com o CVS e pré-CVS (campo visual pré-suplementar) que está localizado no giro frontal superior na parte dorsomedial anterior ao sulco pré-central. Apontado como uma extensão do CVF, o CVS mostra ativação correlacionada com geração da sacada em tarefas cognitivamente mais complexas e monitoramento de situações de conflito, como em tarefas de movimentos anti-sacádicos, na qual o movimento em direção ao estímulo deve ser inibido. Lesão na região do CVS gera um prejuízo temporalmente restrito da aprendizagem de novas sequências sacádicas (Müri, 2006).

Outras regiões, tais como giro do cíngulo anterior e posterior, córtex pré-frontal dorsolateral e pré-cúneo são áreas suplementares ao sistema visual ativadas em tarefas de movimentos anti-sacádicos, rastreo ocular lento, sacadas guiadas pela memória, busca visual e muitos outros. Seu envolvimento, embora ainda não plenamente mapeado, é atribuído as funções inibitórias, memória operacional, planejamento e monitoramento de erro (Leigh & Kennard, 2004). Uma vez que essas funções não são objeto do presente estudo, o complexo funcionamento dessas estruturas não será aprofundado aqui.

Pelo exposto, fica evidente que as estruturas são organizadas tanto submilimetricamente, em núcleos de pequenas dimensões localizadas no tronco

encefálico, como em macrosistemas corticais, envolvendo lobos cerebrais. A maior parte da informação a respeito de sistemas envolvidos na movimentação ocular que dispomos é proveniente de estudos com modelos pré-clínicos. Por outro lado, em humanos, a técnica mais utilizada para estudos neuro-anátomo-funcionais é a RMf, que permite a análise das estruturas, principalmente corticais, envolvidas na movimentação ocular. Em conjunto, a tecnologia de registro ocular permite traçar uma relação entre a estrutura e comportamento. O funcionamento da RMf e da técnica de registro ocular serão revisados a seguir.

2.4 Princípios de *Eye tracking*

Neste capítulo será brevemente retomada a estrutura do olho para explicar como é realizado o registro da sua posição pelo equipamento *Eye tracker*. Em seguida, serão brevemente abordados alguns desafios do uso conjunto de *Eye tracking* e RMf.

A estrutura do olho permite passagem de luz, como foi visto no capítulo anterior, que é em parte absorvida pela retina, e, em parte, é refletida para fora dele. Este reflexo de luz pela retina é conhecido como Reflexos de Purkinje e pode se formar na parte interna ou externa da córnea ou lente (Wade & Tatler, 2005). Os reflexos de olhos são comumente usados pelas tecnologias de movimento ocular.

Uma das maneiras mais comuns para registrar o movimento ocular é por meio de uma câmera de vídeo. Par tal, necessita-se apenas de um programa de computador para reconhecer a borda da pupila e calcular a sua posição. Essa técnica é conhecida como Registro pupilar (em inglês *Pupil tracking*) e é adequada para ambientes com luminosidade controlada e boa imobilização do participante. Esse tipo de monitoramento do formato pupilar é sensível aos erros de movimento de cabeça que causam deslocamentos na imagem. Para minimizar esse efeito, e permitir uma maior liberdade de movimento para os participantes monitorados com o *Eye tracker*, os pontos do reflexo de Purkinje são usados como referência estável. Geralmente são produzidos por uma fonte de luz infravermelha posicionada em algum local fixo no eixo periférico da visão do participante (Duchowski, 2007).

As coordenadas do reflexo são registradas e usadas como referência espacial para calcular a trajetória do olho. Essa técnica se chama Registro do brilho (em inglês *Glint-tracking*) e geralmente é usada em conjunto com o Registro pupilar (Wade & Tatler, 2005).

Para que o cálculo do brilho e pupila sejam precisos, o sistema deve ser calibrado para cada participante antes da tarefa. Na calibração, é apresentado um determinado número de pontos ao participante. A pessoa é orientada a seguir a sequência olhando sempre para o ponto, calibrando assim o sistema para as suas características pessoais, como formato e luminosidade da pupila naquele momento (Duchowski, 2007).

Existem outras técnicas que utilizam referências diferentes para estimar a posição do olho. Porém, a sua revisão não é objetivo deste projeto. No presente estudo foi usado o *Eye tracker* com rastreamento de pupila escura iluminada por meio de Diodo emissor de luz (LED). Esse método é mais robusto e exige restrição da cabeça, o que é também essencial na coleta de RMf (Figura 6) .

Figura 6. *Eye tracking* por meio de registro pupilar. Posicionamento dos LED infravermelhos no corpo do *Eye Tracker* e a imagem do reflexo da pupila escura

O maior desafio para o uso do *Eye tracker* no ambiente da RMf é a necessidade de eliminar possíveis interferências do campo magnético ou do pulso de radio frequência na imagem do olho. Em contrapartida, o *Eye tracker* não deve produzir interferência na imagem do cérebro. Para que isso não ocorra o equipamento deve ser blindado. Por fim, faz-se necessário conseguir sincronia entre registro dos movimentos oculares, neuroimagem e apresentação do paradigma comportamental. Satisfazendo-se todos esses pontos, a qualidade dos dados pode ser assegurada.

Com o desenvolvimento tecnológico, a resolução temporal do *Eye tracker* integrado ao RMf tem aumentado, o que possibilita estudar a dinâmica do comportamento ocular, como por exemplo a aceleração da sacada. Estudos integrados com tecnologias que permitem registro da atividade elétrica do cérebro em dimensão de milésimos de segundos serão futuramente de grande interesse.

2.5 Princípios de Ressonância Magnética funcional

Ressonância Magnética funcional (RMf) é uma técnica de imagem que possibilita a visualização da ativação fisiológica do cérebro sem fazer uso de contrastes. A RMf, portanto, é uma técnica não invasiva. A seguir, serão brevemente descritos os princípios desta técnica.

A máquina de RM é composta por um ímã supercondutor capaz de gerar campos magnéticos de alta intensidade. Núcleos de átomos com número ímpar de prótons possuem propriedade magnética, ou seja, são pequenos ímãs. Desta maneira, os objetos inseridos no interior do aparelho terão os seus núcleos de hidrogênio alinhados com o vetor do campo magnético. Assim, quando a pessoa é colocada no aparelho de RM os núcleos dos átomos de hidrogênios (prótons) são alinhados com este campo magnético (Huettel, Song, & McCarthy et al, 2009).

A par disso, estes núcleos apresentam outra propriedade: precessão. Trata-se de um movimento de torque que ocorre em condições normais por forças calóricas, caracterizado por uma constante (giromagnética), correspondente e específica de cada elemento da tabela periódica com número ímpar de prótons em seu núcleo (Huettel, Song, & McCarthy et al, 2009). No caso das imagens médicas, este elemento é o Hidrogênio, e sua constante giromagnética é de 42,587 MHz/T. Este conhecimento é a base para que consigamos trocar energia com o sistema: ou seja, para que consigamos induzir modificações nas propriedades de orientação dos núcleos de átomos de hidrogênio, e a partir da observação de fenômenos relacionados, a informação possa ser transformada em imagem.

Quando uma pessoa é posicionada num aparelho de RM, seus prótons tendem a se orientar de acordo com campo principal, sendo gerado um vetor resultante. Por meio de uma bobina de radiofrequência é emitido um pulso com frequência idêntica à da precessão do hidrogênio naquele campo. Isto faz com que o equilíbrio termodinâmico seja perturbado deslocando a orientação do vetor resultante dos *spins* para um campo perpendicular ao campo magnético principal (Huettel, Song, & McCarthy et al, 2009).

Assim que o pulso de radiofrequência é desligado, os prótons retornam lentamente ao seu estado inicial, liberando energia acumulada, e emitem um sinal de radiofrequência registrável, a partir do qual posteriormente será reconstruída uma imagem. Mas para que isso seja possível, a homogeneidade do campo deve ser alterada de modo controlado, para que haja localização espacial do sinal. Isso ocorre por meio de gradientes embutidos dentro do aparelho de RM que são ligados e desligados junto com o pulso de radiofrequência. Os gradientes causam uma heterogeneidade espacial controlada que possibilita definir como diferentes espaços contribuem com o sinal registrado (Huettel, Song, & McCarthy et al, 2009).

As características do sinal dependem da velocidade com a qual os prótons voltam ao seu estado de equilíbrio, conhecida como relaxação. A relaxação pode ser medida nos dois eixos x e y perpendiculares ao campo magnético principal. A relaxação pode ser representada por dois parâmetros, chamados de tempo T1 (relaxação longitudinal, ou *spin-rede*) e T2 (relaxação transversa, ou *spin-spin*), e representam a quantidade de tempo necessário para que a intensidade da emissão do sinal atinja determinado valor. O tempo de relaxamento em diferentes tecidos varia

de acordo com a quantidade de água, homogeneidade do campo local, temperatura e presença de macromoléculas (Huettel, Song, & McCarthy et al, 2009). São essas diferenças no sinal que possibilitam a formação de contraste entre as estruturas cerebrais na imagem.

Há dois critérios importantes para que o campo seja adequado para geração da imagem: intensidade do campo e uniformidade. A maior intensidade do campo magnético aumenta a razão sinal/ruído, melhorando a resolução espacial e de contraste da imagem. Em geral, são utilizados campos magnéticos na ordem de 1,5 a 17,4 Teslas (T). Atualmente, os campos mais potentes usados com crescente frequência em humanos são de 7T. A segunda propriedade, a uniformidade do campo no tempo e espaço, garante a não variância da imagem de acordo com a posição do objeto no campo magnético.

A Ressonância Magnética funcional baseia-se nas diferentes características do sangue oxigenado, com alto teor de oxihemoglobina, e pouco oxigenado com alto teor de desoxihemoglobina. Quando uma área do cérebro é ativada, aumenta o fluxo sanguíneo na área, efeito conhecido como acoplamento neurovascular. O aumento do volume depende da perfusão local, mas pouco se sabe sobre os mecanismos que geram o efeito do acoplamento (Jezzard, Matthews & Smith, 2001).

A oxihemoglobina produz sinal alto (imagem clara), já a desoxihemoglobina, que é paramagnética, gera imagens escuras cuja intensidade de brilho depende do efeito T2 (mais especificamente, T2*). Com maior fluxo de sangue para a área, a taxa de oxi/desoxihemoglobina aumenta, o que induz um sinal chamado de BOLD (*Blood Oxygenation Dependent Level*). Com estimulação neural, o efeito BOLD é

registrado após um tempo variável, que depende da natureza do estímulo, tecido cerebral e propriedades sanguíneas, vasculares e hemodinâmicas. Temporalmente, nota-se queda inicial do sinal, seguida pelo aumento gradual até atingir o pico, decaindo com o fim da estimulação a um nível inferior da intensidade observada antes dele (Huettel, Song, & McCarthy, 2009).

O efeito BOLD é registrado em imagens bi-dimensionais e a análise é realizada posteriormente. Pequenas mudanças no sinal, na ordem de 2 a 10% em campo de 3T, são detectadas e testadas estatisticamente para significância. Observa-se uma variação no sinal BOLD entre sujeitos, devido à baixa taxa de sinal e outros fatores vasculares e fisiológicos (Handwerker, Ollinger, & D'Esposito, 2004).

A fim de maximizar a razão Sinal Ruído (SR) para coleta da RMf são utilizados desenhos experimentais, baseados no conceito de pura inserção que propõe que o tempo de reação pode ser linearmente aumentado numa tarefa visual pelo número de distratores apresentados. Ainda de acordo com Sternberg (1969) [apud Koster (1969)] um processo cognitivo singular pode ser introduzido numa tarefa sem afetar os demais estágios da mesma. Embora questionável se os conceitos são válidos para a Neurofisiologia, uma vez que o processamento neural não é linear, a construção dos paradigmas utiliza-se da sua lógica (Hoffman & Logothetis, 2009).

Em relação ao desenho experimental no que diz respeito à forma, sequência e organização de apresentação dos estímulos, há três principais possibilidades (Figura 7). No desenho tradicional, em **Bloco**, os estímulos são apresentados em conjunto num curto período de tempo (época) de duração que pode variar, geralmente, entre 20 e 60 segundos (Amaro & Barker, 2006). O procedimento é útil em paradigmas

nos quais diferentes atributos de estímulo ou processo cognitivo geram ativação neural distinta, e que requeiram engajamento com maior duração temporal. No Bloco, avalia-se o estado mental ou condição de operação cerebral que altere a base de funcionamento por alguns segundos não sendo sensível às modificações mais rápidas (Amaro & Barker, 2006).

Figura 7. Esquema do desenho experimental. Desenho em Bloco (a); Relacionado ao Evento (b) e Misto (c). Os estímulos são apresentados em blocos (D) ou num intervalo fixo (F), sendo intercalados com épocas sem estímulos chamadas de Linha de base (E). No desenho misto, os blocos contém estímulos, apresentados em intervalos fixos ou randômicos (G)

Noutro tipo, **Relacionado ao Evento**, os estímulos são apresentados de forma individual, um de cada vez, o que possibilita identificar variações transientes de respostas comportamentais correlacionando-as com o efeito BOLD. Nesse tipo de desenho pode ser usado *Jittering*, variação temporal entre a apresentação dos estímulos. Desta maneira maximiza-se a imprevisibilidade e o efeito BOLD.

Por fim, o desenho **Misto** aplica conjuntos de estímulos individuais intercalados com conjuntos de condição controle (Amaro & Barker, 2006).

A análise de qualquer paradigma de RMf requer boa caracterização dos componentes de cada condição a ser ‘mapeada’. Assim, é fundamental a distinção clara de como cada momento experimental altera o comportamento. Em geral, o interesse é comparar duas condições, ou seja, analisar o contraste entre as duas condições. Isto é feito matematicamente. Se houver algum componente comum às duas condições, ele será indistinto na análise. Isto porque os procedimentos usados para análise dos dados são apenas inferências estatísticas baseadas em predição matemática da evolução do sinal BOLD (brilho da imagem) ao longo do tempo.

A análise dos dados é feita por diversos programas estatísticos como, por exemplo, *FSL*, *SPM*, *Brain Voyager*, *FreeSurfer* e outros. Inicialmente é realizado um pré-processamento no qual as imagens são corrigidas para movimento, diferenças no tempo de aquisição (correção temporal) e no formato (correção espacial). É feita suavização do sinal e diversos filtros são aplicados para que permaneça apenas o sinal relacionado com a estimulação da tarefa. O detalhamento de cada um destes filtros está fora do escopo desta tese, mas o leitor poderá encontrar mais informação a respeito em um trabalho de Worsley & Friston (1995).

O processamento e “extração da ativação” se dão por meio de análise estatística na qual é feita inferência, paramétrica ou não. O objetivo da análise é localizar pixels nas imagens bi-dimensionais que mostrem alteração no sinal associada à variação esperada pelo desenho experimental (Jezzard, Matthews & Smith, 2001). Os locais de ativação podem ser identificados para cada indivíduo, ou para um grupo de indivíduos. A análise de grupo pode ser feita com efeito fixo ou randômico. O efeito fixo considera a variação no sinal dentro do grupo, negligenciando a variação interpessoal. Efeito randômico leva em consideração a variação da ativação de cada sujeito e entre os sujeitos, aumentando assim poder de generalização dos resultados (Jezzard, Matthews & Smith, 2001).

Análise de grupos específicos, tais como adultos e crianças, pode requerer métodos específicos para melhor a comparabilidade dos dados. No caso de crianças pode haver necessidade de identificar o deslocamento indesejado da cabeça dentro do escâner e corrigir os artefatos gerados nos mapas de ativação. Um dos meios que os estudos têm apontados é uso dos componentes independentes de ativação para a identificação dos artefatos (Ghahremani et al. 2009; Kenner et al., 2010, Cole et al. 2010). Tohka e colaboradores (2008) elaboraram um método automatizado para classificação dos componentes como artefatos (programa FMRI ICA; www.poldracklab.org/software). Uma vez que o fMRI ICA trabalha dentro da lógica de máquinas inteligentes (em inglês *machine learning*), o programa é inicialmente alimentado com um conjunto de dados para treino. A seguir, por meio da classificação supervisionada, uma árvore de decisão é gerada a fim de identificar os componentes com mesmo padrão de ruído.

Tohka e colaboradores (2008) posteriormente avaliaram a precisão do programa comparando o resultado da classificação automática dos componentes com a manual, e obtiveram uma taxa de erro de 0,3 para o procedimento em bloco. Anderson e colaboradores (2011) estimaram a acurácia do mesmo método em 75%, mas alertaram para o fato que, embora o método fosse sensível para artefatos de movimento, alguns resíduos podiam permanecer, caso o movimento fosse correlacionado com a tarefa.

Com a análise concluída, a interpretação dos resultados de RMf é a fase mais desafiadora do processo. É necessário entender totalmente qual será a implicação de cada modificação comportamental induzida (ou não), ou seja, qual seria o efeito do paradigma na atividade cerebral considerando os limites da técnica. Essencialmente, as hipóteses neurofuncionais devem se limitar ao escopo da técnica. Não é raro que os resultados diverjam, em princípio, daqueles encontrados em estudos de Neuroanatomia e Neurofisiologia, obtidos com outras técnicas. De acordo com Logothetis e colaboradores (2008), isso se deve a diferenças nas “lentes de aumento” que cada neurocientista usa para responder sua questão de interesse. A resolução espacial de RMf envolve tamanho médio de voxel de 55mm^3 e esse contém aproximadamente 5,5 milhões de neurônios, 22km de dendritos e 220km de axônios. Sendo assim, analogias diretas entre os resultados da RMf, eletrofisiologia e estruturas submilimétricas podem ser pouco produtivas (Oeltermann, Ku, & Logothetis, 2007)

As técnicas recentes, com equipamentos de RM de campo ultra-alto, são capazes de produzir dados com tamanho médio de voxel de $0,42\text{ mm}^3$, ou seja, 130

vezes menor, o que equivale à 42 mil neurônios, suficiente para produzir informação à respeito de camadas corticais (Koopmans et al., 2011) ou de colunas neuronais no córtex visual (Goodyear & Menon, 2001). Desta maneira, cabe ao pesquisador limitar sua pergunta ao método que seja capaz de respondê-la. A seguir será feita uma breve revisão de como a RMf tem contribuído para o entendimento da participação de estruturas cerebrais em tarefas de movimentação ocular.

2.6 Movimentos oculares nos estudos de Ressonância Magnética funcional

Estudos de imagem funcional em conjunto com a análise de movimentos oculares têm se voltado em grande parte para o entendimento do funcionamento das sacadas reflexivas e voluntárias (volitiva) com a intenção de explorar um alvo visual. Sacadas volitivas envolvem, além do movimento sacádico, funções cognitivas como memória operacional, inibição ou aprendizagem. A seguir serão apresentados alguns estudos com as sacadas volitivas.

Sacadas preditivas são movimentos sacádicos, cujo tempo de reação é reduzido pelos fatores associados à modulação hierárquica entre áreas cerebrais. Este processo é conhecido na literatura inglesa como *top-down modulation*. Em nosso contexto, pode ser exemplificado pelo conhecimento antecipado de alguma característica do alvo (e/ou expectativas em relação ao aparecimento do alvo) influenciando a movimentação ocular. Nesses casos, as latências sacádicas são drasticamente reduzidas, encontrando-se na faixa de 0 a 100 ms (Isotalo, Lasker, & Zee, 2005).

A redução da reação sacádica é comumente reportada nos estudos de seguimento ocular que se utilizam do procedimento com intervalo (em inglês *Gap*), na qual a cruz central que é fixada pelo participante é apagada aproximadamente 200ms antes do aparecimento do estímulo alvo (Connolly, Goodale, Goltz, & Munoz, 2005). Normalmente, as latências podem chegar a 179 ms em participantes adultos. Já na condição sobreposta (em inglês *Overlap*), o tempo de reação mantém-se por volta de 213 ms (C Klein & Foerster, 2001).

O efeito da redução da latência sacádica tem sido reproduzido em vários estudos (Connolly, Goodale, Menon, & Munoz, 2002; Isotalo et al., 2005). Por exemplo, Isotalo e colaboradores (2005) introduziram uma pequena variação na instrução ativa “mova os olhos junto com ponto” e passiva “siga o ponto”. Para ambas instruções, os participantes reduziram a latência do movimento, passando a realizar sacadas preditivas, porém, a redução foi significativamente maior para a instrução ativa (Isotalo et al., 2005).

Na mesma linha de raciocínio, a latência sacádica pode ser modulada quando é introduzido um distrator. Estudos de atenção descreveram amplamente um fenômeno conhecido como Efeito de Distração Remota (EDR). Caso no momento da sacada for apresentado um estímulo que distraia a atenção, a latência da sacada aumenta. O EDR ocorre de maneira automática, independe das características do distrator e pode induzir erro na direção da sacada (Bompas & Sumner, 2009).

De acordo com o modelo LATER (*Linear Approach to Threshold with Ergodic Rate*), postulado por Carpenter (Oswal, Ogden, & Carpenter, 2007), as sacadas são geradas após um processo de decisão sacádica (Figura 8). Este processo envolve aumento gradual e constante no sinal neural até atingir um limiar, no qual a sacada é executada em direção ao alvo. O processo decisório representa aumento do tempo para a sacada, uma vez que determina a inclusão de período extra para entrada da informação visual com detalhes relevantes para a seleção do objeto que será fixado (Hutton, 2008).

Figura 8. Modelo LATER de decisão sacádica. Durante a fixação ocular da cruz o sinal de decisão sacádica (C) está no nível basal (A). Com surgimento do alvo na lateral, o sinal começa crescer numa taxa r até atingir o limiar sacádico (B) e uma sacada é gerada em direção do alvo com latência sacádica igual ao (D) (adaptado de Oswal et al., 2007)

Carpenter (Oswal et al., 2007) comparou a decisão sacádica a uma curva, sendo que a base dela e a taxa de crescimento podem ser moduladas pelas características da imagem observada. Por exemplo, um aumento no número de distratores, diminui a taxa de crescimento, prolongando a duração da decisão sacádica. Por outro lado, a inclusão de uma breve espera (janela) no paradigma, eleva o nível basal de prontidão do organismo, diminuindo o tempo da decisão sacádica. Ainda não há um modelo neurofisiológico para decisão sacádica, e os estudos estão sendo feito com uso da RMf (Curtis & Connolly, 2008).

Estudos de RMf com sacadas preditivas tipicamente trabalham com apresentação do estímulo em duas posições alternadas numa velocidade baixa e constante, aproximadamente 500 – 900 ms (Joiner & Shelhamer, 2006). O indivíduo

que observa os estímulos em movimento pode demorar entre 2 e 3 ciclos para ajustar o próprio movimento dos olhos e sincronizá-lo com o movimento do alvo. É nesta fase que se estabelece um monitoramento temporal e espacial interno, possibilitando a manutenção das sacadas preditivas. Pode-se afirmar que as sacadas preditivas desse tipo são geradas **internamente** pelo processo com modulação hierárquica (*top down*), enquanto as sacadas reflexivas – vistas adiante – são geradas **externamente** sem modulação hierárquica do processamento (do termo inglês *bottom up*) (Joiner & Shelhamer, 2006).

Na avaliação das sacadas reflexivas foi encontrada ativação em circuitos fronto-parieto-occipitais, já descritos anteriormente. Foram ativados bilateralmente o CVF, CVS, lóbulo parietal superior, lobo occipital, cíngulo posterior e cerebelo. Quando comparadas com sacadas preditivas (preditivas > reflexivas), a atividade foi localizada nas áreas bilaterais do lobo frontal no giro frontal superior, médio e inferior, CVS, cíngulo anterior e posterior, lóbulo parietal inferior esquerdo, tálamo dorsolateral e hipocampo bilateral. O padrão observado tem sido atribuído ao maior envolvimento da memória operacional, o que poderia ocasionado uma redução na ativação do CVF e aumento na ativação nos hipocampos, tálamo e cerebelo (Simó, Krisky, & Sweeney, 2005). Adicionalmente, os resultados mostraram um padrão de atividade diferente em região do CVF medial e lateral. Os autores hipotetisaram que o CVF medial estaria envolvido na geração das sacadas reflexivas, já o lateral mostraria ativação relacionada com as sacadas preditivas e de seguimento ocular lento (Simó, Krisky, & Sweeney, 2005; McDowell, Dyckman, & Austin, 2008).

A ativação no CVF ainda não é um achado consistente. Gagnon e colaboradores (2002) estudaram sacadas preditivas manipulando duas variáveis: frequência/posição e conhecido/desconhecido. Desta maneira foram geradas quatro condições diferentes: condição posição previsível; tempo previsível; tempo/posição previsível; imprevisível. O registro dos movimentos oculares em conjunto com a aquisição de RMf mostrou diferença significativa nas latências sacádicas entre as quatro condições. Latências sacádicas inferiores a 70 ms foram registradas na condição tempo/posição previsível, entre 70 e 120 ms na posição previsível, e superior a 120 ms nas condições tempo previsível e imprevisível. O registro ocular também mostrou efeito de previsibilidade no comportamento dos participantes.

No nível neural, foi identificado aumento na ativação do CVF e CVS em condição previsível comparada com sacadas reflexivas. Aumento de ativação em CVS e putames foram reportados para todas as condições com previsibilidade, seja essa temporal ou espacial, porém o mesmo não ocorreu na condição imprevisível. Quando somente o tempo era conhecido, a ativação foi maior no núcleo lentiforme e também no sulco intraparietal. Quando somente a direção era conhecida, a ativação foi maior no núcleo caudado. Com a repetição da condição com aspecto previsível foi observado aumento na ativação do sulco pré-central posterior ao CVF e no córtex frontal dorsomedial, mostrando uma possível relação com aprendizagem da tarefa (Gagnon, O'Driscoll, Petrides, & Pike, 2002).

Para resumir, existe um circuito proposto para movimentos baseados na entrada sensorial durante sacadas reflexivas, citado por vários estudos (McDowell et al., 2008; Simó, Krisky, & Sweeney, 2005). Este circuito envolve o lobo occipital,

lóbulo parietal superior e CVF medial. Uma modulação hierárquica durante sacadas preditivas ocasiona diminuição na ativação desse circuito e aumenta atividade em regiões envolvidas na sustentação visuomotora da tarefa. A sustentação visuomotora ativa o lóbulo parietal inferior, córtex pré-frontal, área pré-motora, cíngulo anterior, hipocampo, corpo estriado, tálamo dorsomedial e cerebelo (Sweeney et al., 2007).

Os achados não são conclusivos e as divergências podem ser fruto das diferenças nos paradigmas empregados. Futuros estudos devem esclarecer os mecanismos de interação do CVF e CVS durante as sacadas preditivas, assim como o papel da porção medial e lateral do CVF na geração das sacadas reflexivas. Um dos possíveis caminhos é avaliar as mudanças que ocorrem em função da maturação neural no processo da geração das sacadas reflexivas e volitivas. Para tal fim, os estudos com crianças são viáveis, já que a RMf é uma técnica não invasiva. A seguir serão apresentados estudos comportamentais e com RMf em crianças.

2.7 Ressonância Magnética funcional em crianças

Estudos de movimentos oculares mostraram mudanças nas propriedades de sacadas ao longo do desenvolvimento (Fischer, Biscaldi, & Gezeck, 1997; Irving et al., 2006; C Klein & Foerster, 2001). Crianças de 9 a 11 anos apresentaram 61% de erros, já os adultos de 20 a 25 apenas 17% de erros na tarefa de movimentos anti-sacádicos (sacada direcionada para o lado oposto ao movimento do alvo) (Klein & Foerster, 2001). Numa outra população, a porcentagem de erro diferenciou estatisticamente os grupos de crianças de 6 a 7, 10 a 11 anos e adultos de 18 a 20 anos. Em termos de porcentagem de erro, os adultos melhoraram aproximadamente 11% em relação às crianças mais novas (Christoph Klein, Foerster, Hartnegg, & Fischer, 2005).

Um efeito diferente foi observado para tempo de reação, expresso pela latência sacádica. Crianças de 6 a 7 anos mostraram latência sacádica significativamente maior do que as de 10 a 11 anos, sendo que a latência não diferenciou essas crianças dos adultos. No entanto, agrupando as sacadas de acordo com a latência na qual ocorreram em relação ao desaparecimento do ponto de fixação, as crianças realizaram um número maior de sacadas expressas (81 a 130 ms) na tarefa de sacada reflexiva. Os autores argumentaram que os resultados representam um efeito de maturação das estruturas neurais envolvidas no controle óculo-motor. Diferente funcionamento em crianças poderia ser esperado ao nível mais basal, por exemplo, controle de velocidade e amplitude sacádica, e no nível cognitivamente mais alto,

como controle de latência sacádica e precisão das sacadas (C Klein & Foerster, 2001).

Estudos *post-mortem* mostram que até a idade adulta, o cérebro apresenta mudanças estruturais, tais como mielinização e poda sináptica (Funahashi, Bruce, & Goldman-Rakic, 1993). Gogtay e colaboradores (2004) realizaram um estudo longitudinal, a fim de medir o volume da massa cerebral em crianças e jovens adultos de 4 a 21 anos. No total, 13 pessoas foram avaliadas a cada 2 anos através de RM. O mapeamento foi realizado durante o período de 8 a 10 anos e um total de 1976 modelos anatômicos foram gerados. Os achados mostraram que a maturação é hétero-crônica, ou seja, áreas primárias e filogeneticamente mais antigas amadurecem primeiramente. No córtex frontal a maturação precoce foi observada em áreas olfatórias e motoras primárias. O aumento no volume de massa cerebral do córtex pré-frontal ocorreu somente tardiamente, no final da adolescência. Em geral, esse padrão foi encontrado em outras áreas corticais com maturação inicial das áreas primárias seguido pelas áreas associativas do córtex pré-frontal, dorsolateral e temporal (Gogtay et al., 2004).

Em relação à função, o cérebro infantil por estar em processo de maturação, podendo apresentar variação na resposta BOLD, quando comparado com o adulto (Richter & Richter, 2003). De acordo com Amaro & Baker (2006), o efeito BOLD não deve ser tratado como uma medida simples de resposta neural, uma vez que outras variáveis, tais como volume e fluxo sanguíneo, afetam a sua dinâmica. Em crianças, observa-se menor pressão sanguínea, maior frequência de batimentos cardíacos, maior metabolismo de glicose e maior fluxo sanguíneo cerebral em massa

cinzenta (Gillard, Grandin, & Xu, 2001). Por outro lado, Kang e colaboradores (2003) avaliaram curso temporal e localização da resposta BOLD em comparação direta entre as crianças de 7 à 8 anos e adultos em tarefa motora e encontraram mínimas diferenças em abas as variáveis (Figura 9).

Figura 9. Representação gráfica do local da resposta BOLD em crianças e adultos. Em crianças (vermelho) e adultos (azul) resposta BOLD foi registrada no região de área motora suplementar do córtex frontal na sessão axial (A) e coronal (B) e no córtex occipital sessão axial (C) e coronal (D). A localização da ativação foi semelhante entre os grupos. (Adaptado do Kang et al., 2003)

Richter & Richter (2003) compararam resposta BOLD de 37 crianças e adultos de 7 a 61 anos no Teste do tabuleiro de xadrez (em inglês *Flickering checkboard*), na qual um estímulo em formato de um tabuleiro de xadrez fica piscando numa porção

do campo visual do participante. Esse é um paradigma clássico para estimulação do córtex visual. De acordo com os resultados do estudo, em áreas com maior ativação, a idade mostrou correlação positiva com o aumento no efeito BOLD. O achado principal foi em relação ao tempo de retorno do BOLD ao nível básico mostrando correlação com a idade em todas as áreas ativadas, com aumento no tempo de retorno de 30 a 40 ms por ano. A diferença foi significativa entre os grupos etários, sendo o retorno mais rápido em pessoas de 7 a 20 anos, seguidas pelo grupo de 21 a 27 anos e, por último, o grupo acima de 30 anos. Este resultado reflete mudanças na hemodinâmica ao longo do envelhecimento (Richter & Richter, 2003).

O padrão de ativação cerebral em crianças quando comparado com adultos confirma os achados histológicos sobre a maturação cerebral progressiva. Em tarefas que geram efeito BOLD no córtex pré-frontal, tais como inibição da resposta não desejada, os adultos exibem ativação nas regiões ventral e dorsolateral pré-frontal. Já as crianças com 12 anos de idade mostraram uma ativação mais difusa em outras áreas do córtex pré-frontal (Bunge, Dudukovic, Thomason, Vaidya, & Gabrieli, 2002; B Luna et al., 2001).

Durston & Casey, (2006) estudaram ativação cerebral durante a tarefa *Go-No-Go* adaptada para crianças usando personagens de quadrinhos. Foram avaliadas 24 crianças aos 9 anos e 11 anos de idade de ambos os sexos. Em tarefas *Go-No-Go* adaptadas para crianças, o sujeito era solicitado a responder apertando botão para um tipo de estímulos (corretos - *Go*) e inibir a resposta para outro tipo de estímulos (errados - *No Go*). Os estímulos eram apresentados numa sequência rápida exigindo do participante atenção para responder corretamente. Os resultados foram

comparados para os dois grupos etários e com os dados de outra amostra de crianças com idade média de 12 anos. Em ambas as comparações, os resultados mostraram alteração no padrão de ativação cortical. De 9 para 11 anos de idade, houve uma diminuição da ativação em áreas não correlacionadas com a tarefa, área dorsolateral pré-frontal, e aumentou a ativação no córtex pré-frontal inferior direito. Esse aumento na ativação foi correlacionado positivamente com a melhora no desempenho comportamental. Os achados foram confirmados também na análise transversal. Uma possível reorganização cortical foi apontada pelos autores como responsável pela mudança no padrão de ativação ao longo do desenvolvimento (Durston & Casey, 2006).

A correlação entre a ativação cortical e o desempenho comportamental é apontada como um fator de importância nos estudos de desenvolvimento, uma vez que o padrão de ativação é dependente de estratégia (Brown, Petersen, & Schlaggar, 2006; B J Casey, Davidson, & Rosen, 2002). O tipo de estratégia usada e o nível de elaboração da execução de cada sujeito mostrou ser melhor indicador da ativação cerebral (Moses, Roe, Buxton, Wong, Frank, & Stiles, 2002). A variável comportamental deve ser cuidadosamente tratada, tanto na elaboração metodológica como na análise dos dados, uma vez que o mesmo resultado pode ser atingido por via de diferentes processos cognitivos (Brown et al., 2005).

Outros recursos podem ser usados para diminuir o efeito dessa variável, tais como maior número de grupos etários para a comparação *Post Hoc*, tratamento de idade como variável contínua ou uso de paradigmas que permitam a avaliação do processo de aprendizagem em diferentes grupos etários (Durston & Casey, 2006).

Além disso, recomenda-se o uso de tecnologias e procedimentos adicionais compatíveis com RMf que ofereçam medidas comportamentais mais precisas (Dowker, 2006). *Eye tracking* é uma das técnicas que satisfaz essa exigência, podendo ser usado em conjunto com RMf.

Em estudo sobre movimentos sacádicos, Velanova e colaboradores (2009) avaliaram 98 sujeitos de 8 a 27 anos na tarefa de movimentos anti-sacádicos utilizando o registro de movimentos oculares. Os participantes foram agrupados em três grupos etários: 8-12 (com 35 participantes); 13-17 (com 35 participantes) e 18-17 (com 28 participantes). Os resultados confirmaram diminuição de erros sacádicos ao longo da adolescência. Em termos de ativação neural, maior efeito BOLD foi identificado em crianças quando comparadas com adolescentes e adultos, no córtex frontal direito, na região de CVF e lobo parietal. Adolescentes mostraram padrão e ativação similar daquele encontrado em adultos, embora ao nível comportamental cometeram significativamente mais erros (Velanova et al., 2009). As principais diferenças no padrão de ativação foram observadas na comparação do efeito BOLD ao longo dos blocos e dos eventos. Os resultados levantam uma questão acerca da diferença no funcionamento neural relacionado à habilidade e desempenho. Os autores discutiram que a habilidade inibitória esteja desenvolvida já no início da adolescência e até a idade adulta ocorre a prática dessa habilidade, que possibilita um desempenho comportamental consistente caracterizado por diferente padrão de ativação neural (Velanova et al., 2009).

Para concluir, os movimentos oculares são sensíveis às mudanças neurais das fases de maturação que podem ser definidas como: desenvolvimento, estabilização e

declínio (Irving et al., 2006). A mudança de fase é indissociável da maturação neurológica subjacente e esse fato pode ser explorado nos estudos com sujeitos saudáveis e populações clínicas específicas. O uso de movimentos oculares possibilitam o desenvolvimento de desenhos experimentais simples e, por terem propriedades passíveis de serem registradas pelo *Eye tracker* em conjunto com RMf, oferecem uma excelente oportunidade de esclarecer alguns dos aspectos de funcionamento cognitivo.

Em pessoas saudáveis, o registro de movimento ocular tem sido usado fora do ambiente de RMf há quase cem anos (*Editorial*, 2008). Em populações clínicas, por sua vez, seu uso é mais recente, mas de grande aplicabilidade em diversas patologias. Para exemplificar, há estudos com lesões das estruturas sub-corticais que alteram a dinâmica básica das fixações, sacadas ou convergências, e podem ser observadas em patologias como Niemann-Pick tipo C, paralisia supra-nuclear progressiva ou lesões cerebelares (Leigh & Kennard, 2004). Em quadros psiquiátricos, alterações dos movimentos oculares reflete prejuízo no processamento cognitivo e têm sido estudada em esquizofrenia (Holzman et al., 2000) e autismo (Takarae, Minshew, Luna & Sweeney, 2004). Ademais, o desenvolvimento tecnológico reduziu os custos associados à aquisição de equipamentos de alta precisão e velocidade de registro. Frente a isso, o uso conjunto dessa técnica e RMf torna-se uma realidade atual e atraente, eis que possibilita monitorar comportamento e atividade neural concomitantemente.

Até o momento da nossa proposta, em nenhum estudo brasileiro foram abordados de maneira conjunta os seguintes fatores:

- a) avaliação de sacadas preditivas em crianças
- b) coleta de dados de RMf integradas com a técnica de *Eye tracking*
- c) uso de aparelho de alto campo RM de 3T

2.8 Motivação

O uso de registro de movimentos oculares fora do ambiente RMf não é novo no Brasil. Nos últimos cinco anos, alguns estudos foram realizados com leitura de textos em crianças com dislexia (Lukasova, 2008), autismo (Orsati, Mecca, Schwartzman, & Macedo, 2009) e esquizofrenia (Lukasova, Zanini, Valois, Macedo G, & Macedo E, 2010). Embora de grande aplicabilidade, o procedimento do registro de movimentos oculares não foi ainda usado em conjunto com RMf no Brasil, uma vez que exige uso de um equipamento compatível com alto campo magnético. Esse equipamento foi adquirido pelo Departamento de Radiologia da Faculdade de Medicina de São Paulo dentro do projeto CInAPCe (Cooperação Interinstitucional de Apoio a Pesquisa sobre o Cérebro) com apoio da FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), o que viabilizou o desenvolvimento desta tese.

O presente estudo teve como propósito investigar os movimentos oculares em tarefas específicas com o uso conjunto de RMf e *Eye tracking*. O procedimento foi aplicado em estudo de populações saudáveis de adultos e em crianças. Verificamos as similaridades do padrão em crianças e adultos em um estudo de desenvolvimento, visando contribuir, desta forma, com a área de investigação voltada para a população clínica pediátrica. Optou-se pelo uso de tarefa de movimento ocular com sacadas previsíveis por ser um procedimento que avalia habilidades cognitivas altas, tais como previsibilidade. Com isso, pretendemos conhecer as diferenças no funcionamento neural e comportamental tendo em vista processos maturacionais que ocorrem até o fim da adolescência. Estas diferenças podem estar relacionadas,

inclusive, ao processo cultural de inserção da criança durante seu desenvolvimento. Neste contexto, também investigamos resultados gerados pelo procedimento em adultos do Brasil e Alemanha, avaliando a consistência dos dados coletados em ambientes culturalmente diferentes (Anexo A). De interesse secundário, pretendeu-se estabelecer uma base para estudos futuros com populações clínicas específicas, tais como dislexia do desenvolvimento, autismo e transtorno de atenção e hiperatividade (TDAH).

2.9 Hipóteses

O conhecimento prévio da direção e tempo do movimento do objeto alvo reduz latência do movimento sacádico. De acordo com Gagnon et al., (2002), o efeito do conhecimento prévio em sacadas, chamadas preditivas, acontece pela facilitação da supressão da fixação ante-sacádica e estabelecimento do estado generalizado de prontidão. Em questão de ativação cerebral, em sacadas preditivas, observa-se um aumento de ativação no córtex frontal, parietal e núcleos da base, quando comparado com sacadas reflexivas. Estas regiões apresentam processo de maturação mais tardio que as áreas visuais primárias.

Em relação à precisão de sacada, esta variável mostra-se relativamente constante durante o desenvolvimento com uma tendência ao movimento mais curto em pessoas acima de 50 anos. Já a latência sacádica mostra um decréscimo em pré-adolescentes, estabilidade na fase adulta aumentando novamente em pessoas acima de 60 anos (Irving, Steinbach, Lillakas, Babu, & Hutchings, 2006).

As diferenças na latência sacádica em crianças e idosos podem ser atribuídas aos processos neurais saudáveis de maturação e envelhecimento. Acredita-se que a maturação neural tardia dos lobos frontais afeta funções cognitivas relacionadas com atenção, funções executivas, inibição e memória operacional (Bunge, Dudukovic, Thomason, Valdy, & Gabrielli, 2002). Um padrão de ativação difusa encontrado em regiões do córtex frontal é atribuído aos processos compensatórios e tende a desaparecer em adultos (Velanova, Wheeler & Luna, 2009).

Frente ao postulado, foram formuladas hipóteses referentes ao estudo, que serão apresentadas à seguir:

Hipótese 1 – Crianças e adultos apresentam um padrão similar do movimento ocular, com menor latência sacádica em tarefas com o conhecimento prévio (sacadas preditivas). Em adição, a latência sacádica é maior em crianças quando comparadas a adultos.

Hipótese 2 – Crianças e adultos apresentam um padrão similar de ativação em tarefas com maior envolvimento sensorial (sacadas guiadas externamente). Por sua vez, nas tarefas com sacadas preditivas, há ativação compensatória mais difusa em crianças no córtex frontal, em função do maior envolvimento das áreas com maturação tardia.

Hipótese 3 - Crianças e adultos diferem no padrão de correlação entre latência sacádica e ativação, uma vez que as diferenças funcionais são dependentes dos processos maturacionais.

3. OBJETIVOS

O presente estudo teve como **objetivo geral** identificar as áreas cerebrais ativadas durante as tarefas de sacadas guiadas em crianças e adultos saudáveis.

O estudo teve os seguintes **objetivos específicos**:

1. Analisar os movimentos oculares em tarefas de sacadas guiadas externamente, *versus* tarefas de sacadas preditivas guiadas pelo conhecimento prévio em crianças e em adultos.
2. Analisar a resposta BOLD em tarefas de sacadas guiadas externamente, *versus* tarefas de sacadas preditivas guiadas pelo conhecimento prévio em crianças e adultos.
3. Correlacionar os desempenhos comportamentais com a resposta BOLD em crianças e adultos.

4. MÉTODOS

O presente estudo foi realizado com desenho prospectivo, unicêntrico e observacional. O projeto foi devidamente aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo sob o número 0279/08 em 25 de junho de 2008 (Anexo B). O estudo teve apoio financeiro à pesquisadora responsável em forma de bolsa de estudo da CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

4.1 Casuística

O estudo foi realizado com duas populações de interesse: crianças e adultos. O recrutamento dos voluntários adultos foi realizado por anúncio via eletrônica e contato pessoal. O recrutamento de crianças foi realizado por meio de carta de apresentação e explicação escrita para os pais ou responsáveis legais. A amostra de adultos foi obtida da população de alunos da Universidade Cruzeiro do Sul, de São Paulo. A amostra de crianças foi obtida da população de crianças de escolas do ensino fundamental de São Paulo. Todos os participantes eram voluntários saudáveis recebendo apenas ajuda de custo para o transporte. No caso dos participantes crianças, a participação foi ainda premiada com um diploma.

A amostra-alvo selecionada para o estudo foi composta de 19 crianças com idade entre 9 e 12 anos, e 20 adultos com idade entre 20 e 30 anos. Em ambos os grupos procurou-se parear o número de mulheres e homens.

4.1.1 Critérios de inclusão

1. Nível de inteligência indicado pelo Quociente de Inteligência estimado dentro ou acima da média (acima do percentil 25).
2. Nível de atenção e resistência à distração avaliado pela prova de Atenção Concentrada.
3. Destros segundo a escala de Edinburgh.
4. Visão normal ou corrigida com óculos compatíveis com aparelho de RM.
5. Entrevista com a mãe, no caso da criança, a fim de verificar ausência de distúrbio de sono, prematuridade, impulsividade, tiques e transtornos relacionados com a atenção (Transtorno de atenção e hiperatividade) .

4.1.2 Critérios de exclusão

1. Histórico de doenças psiquiátricas avaliados pela escala M.I.N.I (Mini International Neuropsychiatric Interview).
2. Antecedentes de doenças neurológicas, casos de epilepsia, neurocirurgias, traumas cranianos ou outras alterações avaliadas pela entrevista estruturada.
3. Histórico de evasão escolar, repetências ou distúrbios de aprendizagem.
4. Histórico de consumo de drogas ou medicamentos que pudessem afetar a motricidade ocular.

-
5. Voluntários com contraindicação ao exame de ressonância magnética, tais como cliques metálicos, implantes, etc.
 6. Presença de processos patológicos ou alterações neurais nas imagens estruturais.
 7. Outras condições que pudessem ser julgadas como problemáticas para a inclusão no experimento.

4.2 Testes, escalas e questionários:

Todos os participantes foram avaliados por meio de escalas, questionários e testes neuropsicológicos. As avaliações ocorreram no mesmo dia, antes da coleta dos dados de RMf.

Foram aplicados os seguintes testes neuropsicológicos, escalas e questionários:

1. Escala de Inteligência Wechsler para crianças WISC-III (Wechsler, 2002) e para adultos WAIS-III (Wechsler, 2004). A nota de corte para ambos os grupos foi um QI abaixo do percentil 25.
2. Teste de Atenção Concentrada AC (Cabraia, 2003). O teste avalia a capacidade do sujeito manter a concentração durante um tempo determinado para a realização da tarefa.
3. Teste de Trilhas [versão Delis-Kaplan (Delis, Kaplan, & Kramer, 2001)]. Este teste avalia de maneira mais ampla as funções executivas e é sensível às alterações no funcionamento mesmo em populações com alto funcionamento cognitivo. O teste contém 5 tarefas descritas a seguir: (I) Monitoramento visual - requer cancelamento de número /3/ distribuído entre distratores; (II) Sequência de números - conectar números espalhadas entre os distratores na ordem crescente; (III) Sequência letras - conectar as letras espalhadas entre os distratores na ordem alfabética; (IV) Alteração número-letra – conectar na sequencia

os números intercalando com letras; (V) Velocidade motora - conectar pontos seguindo uma linha guia.

4. Questionário para Critério de Classificação Econômica Brasil (CCBE; Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa, ABEP, 2010) (Anexo C). O critério classifica o participante em uma das 8 classes econômicas, por meio da avaliação de sua escolarização, ou dos pais, e posse de itens. Os critérios foram elaborados com base no levantamento Sócio-Econômico realizado pelo do IBOPE, em de 2008.
5. Inventário de Edimburgo (Oldfield, 1971), um questionário estruturado de lateralidade (Anexo D).
6. Escala Analógica de Humor (EAH, em inglês *Visual Analog Mood Scale*, Zuardi e Karniol, 1981) (Anexo E). A escala é composta por 16 itens de dois estados emocionais opostos, por exemplo, forte-fraco. O participante marca o estado emocional sentido naquele momento da avaliação numa linha de 10 centímetros que representa uma escala. Os itens são agrupados em 4 fatores: Ansiedade, Sedação física, Sedação mental e Outros sentimentos. Devido ao alto fator de introspecção exigido, EAH foi aplicada apenas em adultos antes e depois da coleta dos dados RMf.
7. M.I.N.I Plus 5.0.0 (*Mini International Neuropsychiatric Interview*, versão brasileira Amorim, 2002). M.I.N.I é uma entrevista diagnóstica breve (15 minutos), estruturada para a identificação dos principais

transtornos psicóticos e de humor. M.I.N.I foi aplicado apenas em adultos. Em crianças, foi realizada uma entrevista com os pais ou responsáveis legais para levantamento do histórico de desenvolvimento, estado de saúde e desempenho escolar.

8. Entrevista Pós-exame RMf (Anexo F). No final da coleta de dados foram realizadas perguntas estruturadas sobre a dificuldade sentida ao longo do procedimento, desconforto e condições gerais da avaliação.

4.3 Desenho experimental

Figura 10. Fluxograma do desenho experimental

4.3.1 Paradigma de Ressonância Magnética funcional

Nesse item será descrito o paradigma de movimento ocular realizado pelos participantes dentro da RMf.

O **paradigma de Sacadas preditivas** foi preparado com um desenho em bloco. No procedimento Sacadas preditivas, o participante foi solicitado a seguir com os olhos um ponto movendo-se na linha horizontal. O movimento do ponto foi variado em dois fatores: Posição e Tempo. O fator Posição teve duas condições. Na primeira, o ponto podia aparecer em 5 posições diferentes, já na segunda condição, o ponto se movia alternadamente entre 2 posições apenas. O fator Tempo definia o movimento do estímulo como constante ou com frequência variada. Os fatores foram distribuídos em 4 condições diferentes (Tabela 2).

Tabela 2 - Descrição dos fatores Posição e Tempo no paradigma de Sacadas preditivas. As quatro condições geradas pela combinação dos fatores foram: condição Previsível (P), Posição previsível (PP), Tempo previsível (TP) e Imprevisível (I)

		TEMPO	
		Constante /alvo se move na mesma velocidade/	Variado /alvo se move em três velocidades diferentes/
POSIÇÃO	Constante /alvo alterna entre duas posições/	Previsível (condição P)	Posição previsível (condição PP)
	Variada /alvo alterna entre cinco posições/	Tempo previsível (condição TP)	Imprevisível (condição I)

Na condição **Previsível (P)**, o ponto alternava entre duas posições com duração de exposição de cada estímulo de 800 ms. Portanto, o movimento era previsível e induzia ao seguimento ocular, por meio das sacadas antecipatórias.

Na condição **Posição previsível (PP)**, o ponto alternava entre duas posições com duração de exposição do estímulo variada e pseudo-randomizada de 400, 800 ou 1200 ms. Nessa condição, apenas o local de aparecimento do estímulo era previsível.

Na condição **Tempo previsível (TP)**, o ponto alternava entre cinco posições diferentes com duração constante de exposição do estímulo de 800 ms. As cinco posições eram geradas na linha horizontal, a partir do ponto central 2,5° e 5° para esquerda e direita. Para manter a amplitude de sacada constante, o ponto se movimentava sempre apenas uma posição para esquerda ou direita, tendo assim 50% de previsibilidade em detrimento de 100% de previsibilidade na condição previsível.

Por fim, na condição **Imprevisível (I)**, o ponto aparecia em cinco posições diferentes com duração de exposição do estímulo variável de 400, 800 ou 1200ms. As sacadas geradas por esse tipo de estímulo eram de seguimento.

O número de exposições do ponto foi balanceado entre as condições, sendo o estímulo apresentado 25 vezes em cada condição que formava um bloco. O diâmetro do ponto era de $0,4^\circ$ e todos os estímulos eram de cor preta projetados no fundo cinza para diminuir o cansaço visual.

Os blocos eram intercalados com a condição Linha de base (FIX) na qual uma cruz central foi apresentada e o participante foi instruído a executar uma fixação. O diâmetro da cruz, cores e a luminosidade da tela foram constantes durante o procedimento.

A ordem dos blocos foi pseudo-randomizada e mantida igual para todos os participantes, com cada condição sendo repetida três vezes ao longo do procedimento. Cada bloco durou 20 s, com duração total do paradigma de 488 s. A fim de aumentar o poder estatístico de cada condição, o procedimento foi apresentado duas vezes em aquisições separadas por uma aquisição estrutural para permitir descanso. No total foram adquiridos 480 volumes. A ordem dos blocos está descrita na Figura 11.

Figura 11. Paradigma de Sacada Preditiva. As 4 Paradigma de Sacada predictiva. Representação esquemática das 4 condições: Previsível (P), Previsível posição (PP), Previsível tempo (TP) e Imprevisível (I) com duração dos estímulos. Cada bloco durou 20 segundos sendo intercalado com condição Linha de base

A fim de manter os aspectos motivacionais inalterados, a instrução dada foi voltada para o aspecto do movimento: “Sincronize os seus olhos com o movimento do ponto da melhor maneira que você conseguir”

4.3.2 Preparação para o exame

No dia da coleta, o participante e/ou seu responsável legal eram levados para uma sala particular para realização da entrevista inicial, explicação detalhada do estudo e assinatura do Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo G). No caso de

crianças, era ainda apresentado um enredo lúdico para as tarefas, dizendo-se que a criança participaria de um jogo espacial sendo ela um astronauta, cujo objetivo é realizar uma série de tarefas e ganhar um certificado. Completada a instrução, os pais ou responsável legal eram convidados, com o consentimento da criança, a aguardarem na recepção. Todo o procedimento era realizado pelo mesmo pesquisador (KL), para possibilitar a formação de um vínculo de confiança.

Inicialmente eram aplicados testes neuropsicológicos, escalas, questionários e foi realizado treino da tarefa de Sacadas preditivas. O treino era realizado na sala de instrumentação já com o uso conjunto do *Eye tracker*, onde o participante era instruído sobre o uso do equipamento e subsequentemente era realizada sua calibração. O procedimento reduzido da tarefa de Sacada Preditiva era iniciado junto com o registro do movimento ocular. Após a tentativa, o registro de movimento ocular era reproduzido para a verificação de erros na execução. Caso necessário, as instruções eram retomadas e um novo treino realizado.

A instrução era reforçada a respeito da importância de fixar a cruz central nas fases de repouso e permanecer sem movimento de cabeça durante a coleta. Outras informações relevantes à coleta e ao ambiente do RMf eram providenciadas. A avaliação e o treino duravam em média 60 minutos.

Após essa fase inicial, o participante era levado para a realização da entrevista da enfermagem e troca de roupa. Caso o participante tivesse algum grau de miopia, óculos compatíveis com RM eram providenciados.

4.3.3 Realização do exame

O participante era posicionado em cima da mesa de RM numa posição confortável com pernas e braços estendidos. A cabeça era apoiada com almofadas em uma posição horizontal de 3 a 5 centímetros abaixo do *Eye Tracker* fixado na bobina de crânio. Em alguns participantes, principalmente crianças, foi necessário usar espumas embaixo dos ombros e tórax para assegurar a posição horizontal da cabeça. Todos os participantes foram solicitados a se acomodar da melhor maneira possível.

Para prevenir qualquer lesão de ouvido devido ao barulho gerado pelo pulso de radiofrequência, os participantes usaram protetor auricular de espuma moldável da Nextcare 3M com potencial de abafar 27dB. Além do protetor foi usado um fone de ouvido compatível com RM.

Acertada a posição, a cabeça do participante era imobilizada com uma fita crepe na região frontal da cabeça e duas almofadas fixadas entre as têmporas e a bobina. Em seguida, era acertada posição do *Eye Tracker* na bobina para que a pupila ocupasse a parte central superior do espaço visual da câmera. Finalizando-se o posicionamento, a mesa era deslocada para o interior do equipamento alcançando o isocentro do magneto.

Após verificar-se que tudo estava bem com o participante, o pesquisador responsável e o biomédico dirigiram-se para fora da sala de RM. As luzes foram apagadas e o participante permaneceu apenas com a iluminação gerada pelo vídeo projetor e as telas do procedimento.

Os exames foram realizados na sequência fixa, iniciando se com Sacada Previsível 1ª aquisição, *Axial FLAIR*, Sacada Previsível, 2ª aquisição e VBM (*Voxel Based Morphometry*). Caso ocorresse algum problema na aquisição, devido ao movimento do participante, artefatos ou outros problemas técnicos, a aquisição da imagem era repetida. Entre cada aquisição foi mantido contato verbal com o participante, a fim de assegurar seu bem estar, e para retomada das instruções de cada tarefa. O tempo médio de permanência do participante dentro do escâner foi de 40 minutos. Após o exame foram aplicados questionários finais.

4.4 Movimentos oculares

4.4.1 Especificações do *Eye tracker*

Os dados de movimento ocular foram coletados com *Eye tracker* (HCET01, *Mag Design & Engeneering*, EUA), adaptado para o uso com RMf. O equipamento é composto por uma microcâmera compatível com RMf posicionada na bobina de crânio em uma distancia de 3 a 5 centímetros à frente do olho do participante. A Figura 12 mostra o posicionamento do *Eye Tracker* em relação ao olho do participante dentro da sala de RM.

Figura 12. Posicionamento do *Eye tracker* na bobina de RM. A câmera foi posicionada de tal forma a não obstruir a visão do espelho no qual foi projetado o paradigma. Após o posicionamento a cabeça do sujeito foi imobilizada com almofadas

O sinal da câmera foi levado através de um cabo até o painel de penetração do qual é levado, já fora da sala de ressonância, ao computador para processamento. Ambos, o corpo da câmera e o cabo de sinal, contêm blindagem para impedir a interferência no campo magnético. A microcâmera com resolução de 320x240 pixels, gerando um sinal numa velocidade de 30 frames/60 campos por segundo.

A luz infravermelha foi gerada por dois LEDs (*Light Emitting Diodes*), acoplados no corpo da câmera. Os LEDs iluminavam a pupila gerando uma imagem do tipo *pupila escura*. Por meio da caixa de controle, situada fora da sala de RM, foi possível ajustar a intensidade da iluminação dos LED assim como o ganho do sinal/ruído da imagem.

As imagens da pupila foram processadas pelo software *ViewPoint* (versão 5, *Arrington Research*, EUA), que por meio de um algoritmo detectou o contorno da pupila e posicionou um círculo em sua volta. Assumiu-se que a pupila tem formato circular quando o eixo óptico do olho coincide com o eixo óptico da câmera. Após a rotação do olho durante uma sacada, o formato da pupila transformou-se numa elipse cujos parâmetros dependeram do ângulo da rotação. Os parâmetros foram estimados durante a fase de calibração, na qual o participante fixou pontos apresentados em posições estratégicas na tela do computador. O número de pontos foi definido pelo pesquisador responsável e pôde variar de 6 a 64 pontos. Para correção de um movimento não desejado da cabeça do participante durante o procedimento, causando um deslocamento da pupila não relacionado ao movimento sacádico, foi usada a função correção de movimento (em inglês *slip correction*), que realizou o reposicionamento da grade de calibração a nova posição pupilar (Figura 13)

Figura 13. Sobreposição de duas imagens da pupila mostrando deslocamento gerado pela movimentação sutil de cabeça. Nesses casos usou-se procedimento de correção de movimento

Para a coleta, foi usado um computador IBM-PC Compatível localizado ao lado da sala da RM. O procedimento foi apresentado de um segundo computador localizado na sala de console, de onde a imagem foi projetada por meio de uma janela blindada e um vídeo-projetor para a tela de acrílico dentro da sala de RM. O procedimento foi apresentado no programa E-Prime 1.1 (*Psychology Software Tools, Inc.*, EUA) instalado no computador do sistema Eloquence Invivo screen (1024 x 768, Phillips, Holanda).

Ambos os computadores em que estavam instalados os programas *E-prime* e *ViewPoint* foram conectados por meio de conexão Ethernet com IP exclusivo, a fim de possibilitar sincronia entre a apresentação de estímulos e aquisição de dados de movimento ocular.

4.4.2 Parâmetros do registro de movimentos oculares

Os dados de movimento ocular foram coletados numa resolução 320x240 pixels com um frequência de aquisição de 60Hz. A resolução espacial do registro ocular foi de 1°.

A calibração foi realizada com 16 pontos e a especificação dos melhores parâmetros luminosos da pupila foi feita antes de cada coleta. Ademais, um ajuste manual, de acordo com as características de cada participante foi realizado referente ao tamanho de pupila, contraste e densidade dos pontos para o contorno da pupila.

Para reduzir a quantidade de dados processados pelo *ViewPoint*, um quadrado foi traçado em volta da pupila a fim de delimitar apenas uma área de interesse. Durante a coleta, a posição da pupila era monitorada pelo pesquisador responsável e caso precisasse, a remoção do movimento era executada durante as fases de fixação da Linha de base. Outras propriedades também foram monitoradas durante o procedimento por meio das janelas de controle (Figura 14).

Figura 14. Janela de controle do programa *ViewPoint*. As janelas possibilitam controle da imagem pupilar, parâmetros luminosos e monitoramento do movimento ocular durante a coleta dos dados

Os dados do movimento ocular, tais como Tempo Total; Tempo Delta (dependente da frequência de registro); X_Gaze (posição da pupila no eixo X); Y_Gaze (posição da pupila no eixo Y); ROI (região de interesse) foram salvos e analisados posteriormente.

4.5 Ressonância Magnética funcional

4.5.1 Especificações da Ressonância Magnética

Todos os exames foram realizados no aparelho de Ressonância Magnética no Instituto de Radiologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP). A Ressonância Magnética, série Achieva 3.0 T X (Philips – Holanda) é de alto campo magnético de 3 Teslas. Na aquisição foi usada bobina de crânio de 8 canais.

4.5.2 Parâmetros de aquisição das imagens

As imagens de localização consistiam em sequência *Survey* e Sagital 3D para angulação da imagem nas comissuras anterior e posterior.

Imagens estruturais, *Axial FLAIR (Fluid Attenuation Inversion Recovery)* foram adquiridas a fim de excluir participantes com lesões estruturais incidentais. Os parâmetros de aquisição foram: TE = 130 ms, TR = 11000 ms, tempo de inversão (TI) 2800 ms, espessura de imagem 5 mm, número de fatias 24, campo de visão FOV (*field of view*) = 230, matriz de aquisição 328 X 172, 1 NEX (número de excitações). Recursos adicionais foram *fast spin eco* e *fat supression* (SPAIR). O tempo total de aquisição foi de 3 min 18 segundos.

Imagens funcionais foram adquiridas com a sequência T2 imagem ecoplanar (EPI-BOLD) para o cérebro inteiro no plano comissural Anterior-Posterior. As

aquisições sensíveis ao efeito BOLD foram realizadas com TR = 2000 ms, TE = 30 ms, FOV = 240 mm, *flip angle* de 90°, 3 mm de espessura de fatia, 40 fatias. A aquisição das fatias foi ascendente sem intervalo entre as fatias, tamanho de voxel 3 x 3 x 3mm e matriz de 80 x 77 pixels. Os primeiros quatro volumes foram desprezados referentes ao decaimento do sinal. O número total de volumes e duração da aquisição foi de 240 volumes/488 s em Sacadas preditivas.

Imagens volumétricas VBM (*Voxel Based Morphometry*) foram coletadas para o co-registro das imagens funcionais. Os parâmetros de aquisição foram: TR= 7000 ms, TE= 3200 ms, FOV 240x240, *flip angle* de 8°, matriz 240 x 240, espessura do corte de 1 mm com o total de 180 cortes incluindo todo cérebro. O tempo total de aquisição 5 minutos e 58 s.

4.6 Análise dos dados

4.6.1 Análise dos testes neuropsicológicos e questionários

As pontuações na Escala de Inteligência WISC-III e WAIS-III foram corrigidas de acordo com o manual do teste. Em crianças foi calculado o QI (Quociente de Inteligência) estimado Verbal e de Execução a partir da pontuação obtida em 4 provas verbais (Dígitos, Vocabulário, Semelhanças e Aritmética) e em 4 provas não verbais (Completar de figuras, Arranjo de figuras, Cubos e Códigos). Em adultos, o QI foi estimado com base nas duas provas, Matrizes e Vocabulário.

No Teste de Atenção Concentrada AC foi gerado percentil, a partir da pontuação ponderada de acordo com a formula apresentada no manual do teste; $\text{pontuação ponderada} = \text{pontuação total} - (\text{Erros} + \text{Omissões})$. Os valores de percentil foram extraídos da tabela normativa brasileira do manual do teste.

No Teste de Trilhas (Delis-Kaplan) foi computado tempo total de execução para as 5 tarefas. Uma pontuação composta foi gerado pela soma do tempo de execução na tarefa II e III. Pontuação de contraste foi computado por meio de subtração do tempo das demais tarefas (I, II, III, V e composta) da tarefa IV (alteração número letra). Foram isolados os componentes fundamentais das funções executivas, tais como busca visual (subtração IV-I), sequenciamento de números (IV-II), sequenciamento de letras (IV-III), velocidade motora (IV-V) e flexibilidade cognitiva [IV-(II+III)]. Os tempos médios foram comparados estatisticamente para os grupos com teste teste-t para amostras independentes

O Inventário de Edinburgo (Oldfield, 1971) estima o Índice de Lateralidade (I.L.). Os participantes marcam sua lateralidade de preferência para 12 atividades, tais como escrever, chutar bola, desenhar e outras. Em caso de preferência absoluta para um lado, devem-se assinalar duas cruzes para tal lado, em caso de não-preferência, assinala-se uma cruz para cada lado. Os resultados são obtidos somando-se um ponto para cada cruz assinalada e aplicando-se seguinte fórmula $I.L. = (D - E) / (D + E)$. I.L. de 1 a 0 indica destros e de 0 a -1, caracteriza canhotos.

O teste M.I.N.I. Plus 5.0.0 (Mini International Neuropsychiatric Interview, versão brasileira Amorim, 2002) é uma entrevista estruturada que por meio das respostas do participante é conduzida até uma possível classificação diagnóstica de acordo com Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSMIV) ou a conclusão de ausência de transtornos psicóticos de humor.

As marcações na Escala Analógica de Humor (EAH, em inglês *Visual Analog Mood Scale*, Zuardi e Karniol, 1981) foram medidas para cada linha da esquerda para direita. O valor ponderado dos Itens 4, 6, 8, 9, 10, 12, 14, 16 foi computado da seguinte forma: valor ponderado = 10 - medida obtida. Para os itens 1,2,3,5,7,11,13,15 o valor ponderado foi calculado seguinte maneira: valor ponderado = medida obtida. Em seguida, cada valor ponderado foi multiplicado por seu respectivo peso, descritos na Tabela 3. Por final, os fatores foram calculados a partir das fórmulas:

Tabela 3 - Pesos para marcação dos itens da Escala Analógica de Humor. Os valores ponderados para cada item do teste são multiplicados por seu peso e depois são somados com outros item dentro dos grupo: ansiedade, sedação física, sedação mental e outros

Item	Peso	Item	Peso
1	0,77782	9	0,79269
2	0,79684	10	0,79314
3	0,58922	11	0,59093
4	0,69263	12	0,78759
5	0,64236	13	0,69215
6	0,75456	14	0,70477
7	0,56842	15	0,72303
8	0,74407	16	0,64888

Fator de Ansiedade = soma dos itens com (pesados) 2+8+10

Fator sedação Física = som dos itens (pesados) 9+12+6+4+16+5+3

Fator de sedação Mental = 1+11

Fator outros= 15+14+13+7

A variação dos valores de cada Fator da marcação colhida Pré-exame foi comparada com o valor do Pós-exame.

A Entrevista Pós-Exame foi composta por sete perguntas sobre a dificuldade sentida no exame. As respostas das perguntas 1, 3 e 5, com conteúdo qualitativo, foram agrupadas pela palavra chave. Por exemplo, na pergunta “Teve alguma coisa que o incomodou durante o exame?”, a resposta dada pelo participante, “Em alguns momentos senti dor nas pernas” foi assinalada ao grupo “Incômodo em uma parte do

corpo”. As Respostas 2 e 4 foram do tipo SIM/NÃO. Respostas 6 e 7 eram quantitativas, do tipo escala 0 (ruim) a 10 (excelente).

4.6.2 Análise dos movimentos oculares

A análise dos dados de movimento ocular seguiu o fluxograma apresentado na Figura 15.

Figura 15. Fluxograma das fases de aquisição e análise dos dados do movimento ocular

Os registros de movimento de cada participante foram salvos e processados para a extração das variáveis de interesse. Os dados foram pré-processados por rotinas escritas na linguagem de programação R (a programação foi realizada por pesquisador GV, colaborador do projeto).

A primeira fase de pré-processamento consistiu em identificar as piscadas existentes em todos os registros. Piscada do olho foi definida como oclusão da pupila pela pálpebra do olho que resultou na perda da referência do formato pupilar. Nos

dados do software *Viewpoint* foram identificadas marcação com aumento progressivo nos valores posicionais no eixo X e Y seguidos pela perda de registro. Esse padrão foi possível identificar uma vez que o *Viewpoint* define o espaço visual (onde os estímulos são projetados), como um quadrado nos eixos X/Y com valor mínimo 0 e máximo 1. Assim, os registros acima de 1 foram marcados como piscadas e classificados com valor “*Não existente*” para a segunda fase de processamento.

Na segunda fase de pré-processamento, utilizou-se a técnica conhecida como *Tukey's smoother* para suavizar pequenas irregularidades do registro mantendo o formato geral da curva. O movimento ocular no eixo X em cada instante de tempo n ocorre quando a diferença entre a posição ocular no instante n e a posição no instante $n-1$ é maior que o limiar fixado de 0,03. O limiar fixado representa o deslocamento de 1° no campo visual do participante. Para verificar se efetivamente ocorreu uma mudança no local de fixação, consistente no tempo, ou seja, se o olho saiu de uma posição para se fixar em outra, como exigia a tarefa apresentada, comparou-se a média dos registros no eixo X dentro de aproximadamente 90 ms antes e depois do deslocamento ($\Delta = 6$ pontos no eixo X). Por final, todos os dados marcados como movimento foram revistos visualmente por avaliadores treinados (ISP e FL), cegos aos objetivos do paradigma. Os avaliadores verificaram a precisão da marcação e decidiram se a sacada começou antes ou depois do aparecimento do estímulo. Foram marcadas as últimas sacadas antes do aparecimento do estímulo ou as primeiras após o aparecimento do estímulo. Todas as marcações foram novamente revistas pelo pesquisador responsável.

A partir das marcações foram computadas as seguintes variáveis:

1. Latência Sacádica (LatSac) tempo médio entre apresentação do estímulo e iniciação da sacada em sua direção. Para a extração das sacadas estabeleceu-se uma janela em volta do estímulo de -500 ms antes à 500 ms depois da apresentação do estímulo. Sacadas com latência de -500 a 120 ms foram consideradas previsíveis, de 121 à 500 foram marcadas como sacadas normais (Gagnon et al., 2002). Sacadas com latência acima de 500 ms e abaixo de -500 ms foram consideradas erros, recebendo marcação de Sacadas tardias/precipitadas.
2. Porcentagem de Sacadas previsíveis e tardias/precipitadas.

4.6.3 Análise de Ressonância Magnética

Inicialmente foram examinadas as imagens estruturais por um médico neuroradiologista, a fim de identificar participantes com alguma possível alteração neurológica. Nenhum dos participantes teve que ser excluído por causa das alterações estruturais ou de sinal de imagem julgadas como não representativas de variações comuns para a faixa etária.

Em seguida foram processadas as imagens de Ressonância Magnética funcional seguindo-se o fluxograma apresentado na Figura 16.

Figura 16. Fluxograma de análise dos dados de RMf

4.6.3.1 Pré-processamento

O processamento e a análise das imagens funcionais foram realizados pelo programa estatístico FSL versão 4.1 (*FMRI*B, Analysis Group, Oxford, UK, <http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/>). As imagens EPI de cada aquisição foram pré-processadas pelos seguintes procedimentos: correção de movimento, suavização espacial com um filtro Gaussiano de 5 mm para aumento da relação sinal ruído, correção do tempo de aquisição entre as fatias, remoção de *voxels* em estruturas extra-encefálicas, filtro temporal passa-alto com tempo máximo de passagem de 60 s para controlar os limites de oscilação do sinal BOLD associada à estimulação.

4.6.3.2 Processamento do nível 1

Os mapas de ativação individuais de cada uma das aquisições foram obtidos por um modelo linear geral (GLM). As respostas produzidas pelo paradigma foram detectadas pela análise da série temporal de cada *voxel*, que, por hipótese, é a convolução da função estímulo com a função da resposta hemodinâmica canônica dada pela função *Gamma* (tempo para o pico 6s, desvio padrão 3s). Os estímulos compreenderam cada um dos blocos de condição P, PP, TP, I e Linha de base. A diferença média de sinal entre as condições experimentais foi avaliada por contrastes: para cada condição ativa (P; PP; TP; I > Linha de base).

A imagem T2 EPI de cada sujeito foi registrada na imagem estrutural e posteriormente no espaço padrão MNI 152 (Montreal Neurological Institute)

utilizando-se a ferramenta de registro linear (FLIRT). Antes do registro, todas as imagens estruturais foram previamente processada para a extração da caixa craniana com programa BET 2 versão 2.1 (Brain Extraction Tool; Smith, 2002).

A partir dos mapas de ativação foi extraída a variável referente ao deslocamento da cabeça durante a aquisição, e a mesma foi comparada entre os grupos de crianças e adultos. Em seguida foram automaticamente identificados os componentes independentes de ativação (ICA - *Independent Component Analyses*) no mapa individual de cada sujeito. A ICA não usa nenhum modelo pré-definido de ativação e os mapas são gerados com base na decomposição das séries temporais do sinal em conjuntos de mapas de componentes estatisticamente independentes. Os sinais em 4D são representados como uma matrix de 2D com vetores de tempo e espaço e são decompostos em mapas com associado curso temporal. Para tal fim, foi usada decomposição linear multivariada. No programa FSL versão 4.1, a decomposição é feita de forma automatizada pelo programa MELODIC 3.1 (Multivariate Exploratory Linear Optimized Decomposition into Independent Components; *FMRIB, Analysis Group, Oxford, UK*), que procura componentes não-Gaussianos relativos para os efeitos de sessão única. Os componentes são organizados em ordem decrescente de variância explicada (Backman, Tracey, Noble, & Smith, 2000).

Durante essa fase de processamento, a análise com MELODIC foi realizada para adicionais 9 dados de crianças e adultos, destinados ao treino do software. Essas aquisições não faziam parte do estudo principal por serem aquisição teste ou foram abortadas antecipadamente.

4.6.3.3 Remoção de artefatos

No presente estudo foi usado FMRI ICA para classificação dos componentes de ruído. Inicialmente foram preparados os dados de treino do programa e para tal foram usados os 18 mapas (9 crianças e adultos) dos dados não incluídos no estudo principal. Os componentes foram classificados manualmente pela autora do estudo (K.L.) de acordo com os critérios de classificação manual descritos por Kelly e colaboradores (2011). Dentro dos componentes descritos, foram selecionados 2 componentes com especificação precisa e padrão visual claro. Um componente foi caracterizado pelo formato de anel ou semi-anel em volta de cabeça (Figura 17) Segundo autores, nesse tipo de artefato 85% dos voxels ativados são localizados na periferia da caixa craniana. O segundo componente teve como característica as ativações difusas em forma de pontos espalhados randomicamente (Figura 17).

Figura 17. Mapas de ativação gerados na análise dos componentes independentes e classificados como ativação artefato. Imagem 1) mostra artefato com formato de semi-anel; Imagem 2) mostra artefato com ativações em formato de manchas aleatoriamente espalhadas pela massa cinzenta

O programa FMRI ICA foi treinado com os componentes identificados manualmente e em seguida os dados pré-processados dos sujeitos desse estudo foram analisados com FMRI ICA – identificador. O programa, de forma automática, identificou os componentes com características de artefato e para cada sujeito gerou um arquivo de saída com os esses dados. Na sequência, os componentes de artefato foram alimentados no programa FSL versão 4.1 que realizou a limpeza do artefatos e gerou um nova mapa de ativação para cada sujeito.

4.6.3.4 Processamento do nível 2

Os mapas de ativação para aquisição 1 e 2 foram comparados a fim de se avaliar o efeito de aprendizagem e idade. Os efeitos de aprendizagem e de grupo (idade) foram avaliados com um teste ANOVA (efeito randômico) de 2 fatores (IDADE x AQUISIÇÃO). Após a análise, os mapas de ativação das aquisições 1 e 2 foram integrados por meio da análise de grupo de efeito fixo.

4.6.3.5 Processamento do nível 3

As análises de grupo foram realizadas considerando-se tanto a variabilidade entre os sujeitos quanto entre as sessões (efeito randômico). Diferenças nas ativações entre os grupos foram avaliadas por contrastes com teste-t para amostras independentes (crianças>adultos; adultos>crianças). Para controle de resultados falso positivos, foram considerados significativos os *clusters* compostos de *voxels*

sobreviventes ao limiar de $Z=2,3$ corrigidos para comparações múltiplas ao nível de significância de $p<0,05$. A localização anatômica das áreas cerebrais ativadas foi representada no sistema de coordenadas MNI e confirmada por inspeção visual de um neurorradiologista (EAJ e PRA).

Para uma melhor descrição da alteração no sinal BOLD nas áreas de interesse (ROIs), para cada sujeito foram extraídas as séries temporais e computado o sinal médio para cada condição (P, PP, TP e I). Uma análise de ANOVA multivariável foi realizada, a fim de comparar a variação do sinal entre os grupos. As localizações das ROIs foram especificadas com base na ativação em um estudo com adultos (Anexo A) bilateralmente em região de CVF, CVS, lóbulo parietal superior e inferior, ínsula anterior, putames e cerebelo. Para região do cíngulo anterior e posterior foi usada a localização da ativação encontrada no presente estudo.

Por fim, foi feita uma análise de correlação da LatSac com o sinal BOLD em cada um dos grupos. Os valores médios da latência em cada condição foram inseridos na análise GLM como uma covariável para cada sujeito. Foram gerados os mapas de ativação com mesmo limiar de $Z=2,3$ e corrigidos para comparações múltiplas ao nível de significância de $p<0,05$. Em seguida, foram construídas as ilustrações com os mapas das ativações no software *MRICron* para uma melhor visualização dos resultados (www.mricron.com, versão 12/2009).

Definição de trabalho para a descrição dos resultados na seção 5.5: Para facilitar a compreensão e leitura dos resultados, será utilizado termo “atividade” e “ativação, que deverá ser entendida, quando referente aos resultados de estudos de RMf, como a resposta hemodinâmica positiva, ou efeito BOLD.

5. RESULTADOS

5.1 Casuística

Os participantes adultos e crianças foram em maior parte recrutados entre alunos e filhos dos alunos da faculdade Universidade Cruzeiro do Sul onde o pesquisador responsável leciona, com localização nos bairros da Liberdade, Anália Franco e São Miguel Paulista da cidade de São Paulo. Adicionalmente, alguns participantes foram recrutados entre parentes e amigos dos colegas pesquisadores. Os participantes foram agendados após uma conversa informal, na qual foram averiguados fatores como motivação para participar do estudo, estado de saúde geral, disponibilidade de tempo e experiências prévias com pesquisa e RM. Como contrapartida da participação voluntária foi entregue um relatório breve com os resultados da avaliação neuropsicológica. Todo o processo de seleção, recrutamento, agendamento e devolutiva foi realizado pela pesquisadora responsável (KL).

5.1.1 Crianças

De um total de 19 crianças avaliadas, foram selecionadas 14 para análise de dados, destas 7 eram meninos e 7 meninas. A idade média era de 11,1 ($dp=1,2$) anos e a escolaridade média do grupo foi de 6 anos ($dp=1,5$). Todas as crianças eram destros, com Índice de Lateralidade médio $I.L=0,86$ (valor mínimo $I.L=0,58$).

Uma criança do sexo feminino foi excluída por apresentar índice de lateralidade $I.L=-0,4$, pontuando como canhota (max. destro $I.L=1$; canhoto $I.L=-1$). Quatro outras crianças foram excluídas devido às falhas no registro de movimento ocular em uma das aquisições.

A distribuição de classificação econômica representada na Figura 18 se deu da seguinte maneira: 36% das famílias pertenciam à classe B1, 15% à classe A1, 14% à classe C1, B2 e A2; 7% à classe C2.

A entrevista com os pais não levantou nenhum dado referente ao histórico de desenvolvimento, estado de saúde ou desempenho escolar incompatível com os Critérios de Inclusão e Exclusão. Todas as crianças tinham visão normal ou corrigida com óculos compatíveis com aparelho de RM.

5.1.2 Adultos

De um total de 20 adultos foram analisados os dados de 14 sujeitos, destes sendo 9 homens e 5 mulheres. A idade média era de 23,9 ($dp=3,3$) anos. Todos os participantes foram classificados como destros, com $I.L=0,79$ (mínimo $I.L=0,5$).

Do total dos sujeitos avaliados, 3 foram descartados por perda nos dados de movimento ocular em uma das aquisições. Outros 3 foram aleatoriamente selecionados a fim de parear os grupos de adultos e crianças em relação ao seu tamanho.

A Classificação econômica dos participantes representada na Figura 18 mostrou que 29% dos participantes pertencendo à classe B1 e C1, 21% à classe A2; 14% à classe B2 e 7% à classe C2.

Figura 18. Distribuição das crianças e adultos por classe econômica

Todos os adultos tinham visão normal ou corrigida com óculos compatíveis com aparelho de RM. A entrevista estruturada M.I.N.I não acusou nenhum participante com transtorno psicótico de humor.

5.2 Testes, escalas e questionários

A pontuação das crianças na Escala de Inteligência WISC-III foi convertida em QI estimado, para habilidades de Execução e Verbais. A distribuição se deu da seguinte forma: QI estimado de Execução que mostrou 36% das crianças estavam na média, 36% na média superior, 7% na superior e 21% na muito superior; QI estimado Verbal mostrou que 36% das crianças estavam na média, 14% na média superior, 21% na superior e 29% na muito superior.

O QI estimado em adultos pela Escala de Inteligência WAIS-III classificou 21% dos adultos na média, 50% na média superior e 29% superior. Todos os participantes ultrapassaram a nota de corte de percentil 25. Dados de ambos os grupos estão na Figura 19.

Figura 19. Distribuição das crianças e adultos de acordo com QI estimado pela Escala WISC-III e WAIS-III respetivamente

As pontuações no Teste de Atenção Concentrada (AC) estão representadas na Figura 20 para crianças e adultos, de acordo com os percentis alcançados. O resultado mostrou que 4 (31%) crianças e 2 (14%) adultos pontuaram abaixo do percentil 25, o que significa que seu desempenho foi igual ou superior à 25% da amostra de padronização do teste. Em crianças, a maioria (40%) pontuou entre os percentil entre 25 e 49. A maioria dos adultos pontuou entre os percentis 77 e 99.

Figura 20. Distribuição das crianças e adultos de acordo com percentil obtido no teste Atenção Concentrada

No teste trilhas (Delis-Kaplan), os resultados mostraram que as crianças levaram mais tempo para execução das tarefas do que adultos em todas as condições puras (I, II, III, IV, V e composta). Na pontuação de subtração, maior tempo de execução foi encontrado apenas na busca visual (subtração IV-I), sequenciamento de números (IV-II) e velocidade motora (IV-V). Não foi encontrada diferença no sequenciamento de letras (IV-III) e flexibilidade cognitiva [IV-(II+III)]. Os dados estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 - Desempenho no teste de Trilhas. Tempo médio de execução e desvio padrão em cada teste descrito como a função avaliada para os grupos de crianças e adultos. Os grupos foram comparados com teste-t para amostras independentes, o valor t e nível de significância estão descritos na tabela

Função cognitiva	Crianças	Adultos	t [1,26]	p
	tempo (s)	tempo (s)		
Monitoramento visual	28,23 (10,10)	18,20 (05,00)	11,11	<0,01
Sequencia números	48,56 (14,44)	29,74 (10,32)	15,72	<0,01
Sequencia letras	53,21 (22,35)	28,83 (07,43)	15,00	<0,01
Alteração número letras	100,18 (32,48)	60,75 (28,22)	11,75	<0,01
Velocidade motora	37,19 (10,80)	17,63 (05,80)	35,61	<0,01
Busca visual	75,89 (37,66)	42,55 (25,01)	7,61	0,01
Sequenciamento números	55,56 (32,21)	31,01 (26,02)	4,92	0,04
Sequenciamento letras	50,91 (28,54)	31,91 (24,90)	3,52	0,07
Velocidade motora	66,93 (37,55)	43,12 (23,02)	4,09	0,05
Flexibilidade cognitiva	2,35 (26,63)	2,18 (24,58)	0,00	0,99

A Pontuação na Escala Analógica de Humor estimou fatores indicando Ansiedade, Sedação Física, Sedação Mental e Outros. A escala foi aplicada apenas em adultos (N=14), porque as crianças mostraram dificuldade de compreender todos os itens da escala. Por meio de Teste t-pareado foram comparados índices gerados pelas respostas dos participantes imediatamente Antes (pré) e Depois (pós) do exame de Ressonância Magnética funcional. O índice do fator Ansiedade e Outros não mostrou variação entre as coletas, já uma variação estatisticamente significativa foi encontrada nos índices de Sedação Física e Mental, com aumento de ambos os itens na avaliação pós-exame. Os resultados estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5 - Escala Analógica de Humor. Valores médios dos quatro fatores

Fator	Pré-exame	Pós-exame	<i>t</i>	<i>p</i>
Ansiedade	7,30 (3,97)	6,44 (4,44)	1,68	0,12
Sedação Física	14,01 (11,02)	19,51 (10,07)	2,00	<0,05
Sedação Mental	3,73 (2,23)	6,50 (2,25)	3,97	<0,01
Outros	6,15 (3,98)	7,25 (4,38)	1,25	0,24

A Entrevista Pós-Exame, realizada logo após a coleta de dados na Ressonância Magnética funcional, foi respondida por 11 crianças e 12 adultos.

Perguntadas sobre como se sentiram de forma geral, 6 crianças responderam “bem/interessante”; uma relatou “sono”; 2 “vontade de mexer” e uma relatou “dor no ouvido”. Na questão se voltariam a fazer o exame todas responderam que “Sim”. Quanto à dificuldade das tarefas, 1 criança apontou como a mais difícil a tarefa de Sacada Preditiva e 10 crianças indicaram outras tarefas que faziam parte da coleta. Sobre a qualidade dos estímulos, 11 crianças responderam “Sim” os visualização clara dos mesmos. Quanto ao incômodo durante exame, 3 crianças relataram incômodo em uma parte do corpo, tal como perna, pescoço ou costas; 2 incômodo com barulho; uma com sono, uma com sede, uma com vontade de urinar. O nível de incômodo pela posição foi avaliado por 4 crianças com nota de 6 à 9; duas crianças por nota 1 à 5 e 3 pontuaram 0 para incômodo. A impressão geral do exame, foi avaliada por 8 crianças com nota 10 (excelente), 2 crianças com nota 9 e uma criança deixou de avaliar esse item.

Entre os adultos, para o item como se sentiram de forma geral, 7 responderam “bem/tranquilo”; 3 relataram “sono”; um se disse “preocupado” e um “entediado”.

Na questão se voltariam a fazer o exame, 11 participantes responderam que “Sim” e um respondeu “Não”. Quanto à dificuldade das tarefas, 4 adultos julgaram mais difícil a tarefa de Sacadas preditivas, 7 adultos relataram outras tarefas do protocolo e um não respondeu esse item. Sobre a qualidade dos estímulos, 7 adultos responderam “Sim” e 5 não responderam esse item. Quanto ao incômodo durante o exame, 2 adultos relataram incômodo com barulho; 5 com posição; um com sono e 5 não responderam ao item. O nível de incômodo pela posição foi avaliado por 4 pessoa com nota de 6 à 9; 4 pessoas atribuíram nota de 1 à 5 e 1 pessoa não sentiu incômodo atribuindo 0. A Impressão geral do exame foi avaliada por 5 adultos com nota 10, 5 atribuíram nota 8 ou 9, um nota 7 e um nota 1.

5.3 Desenho experimental, instrumentação e análise de dados

O controle de qualidade do aparelho feito realizado semanalmente pelo físico responsável do departamento de Radiologia e não acusou nenhuma ocorrência no período da coleta.

A comparação do movimento de cabeça entre os grupos durante a aquisição confirmou maior deslocamento das crianças. Os resultados da comparação está descrito com mais detalhes no Anexo H.

Durante o processo de remoção dos artefatos foram identificados em média mais artefatos no grupo de crianças, o que já era esperado em função do maior movimento apresentado por este grupo. Após a remoção, os mapas de ativação apresentaram algumas diferenças que, devemos ressaltar, podem ter sido ocasionadas tanto pela remoção dos artefatos, como pela exclusão de alguns sujeitos.

Em ambos os grupos o padrão foi similar, com menores clusters de ativação (menor valor Z). A diferença na ativação foi encontrada principalmente na região do giro frontal superior porção anterior bilateral, giro frontal inferior bilateral e lóbulo parietal inferior esquerdo. Ademais diferenças foram localizadas bilateralmente na ínsula, tálamo e junção temporo-parieto-occipital.

Outra consideração refere-se a cobertura amostral cerebral que foi incompleta em alguns adultos devido a tamanho do cérebro. Nesses casos, principalmente os dados do lobo cerebelar posterior são incompletos o que foi levado em consideração na discussão dos resultados.

5.4 Movimentos oculares

Os registros de movimentos oculares foram pré-processados para crianças e adultos conforme descrito no item seção 4.6.3.1.2. Os resultados serão descritos na sequência para crianças, adultos e por fim a comparação entre os grupos.

5.4.1 Movimentos oculares em crianças

A comparação entre as aquisições 1 e 2 não mostrou diferença significativa para nenhuma das condições ($p > 0,5$; $m_{run1} = 278,85\text{ms}$; $m_{run2} = 285,61\text{ms}$). Os dados foram integrados e foram obtidos valores médios de LatSac.

Na comparação entre as condições, foi observado um padrão de aumento da LatSac da P para PP e TP [$P(m_P = 198,52$; $dp = 61,49) < PP(m_{PP} = 264,54$; $dp = 48,45) < TP(m_{TP} = 334,90$; $dp = 17,27)$; $p < 0,001$]. Não foi encontrada diferença entre as condições TP e I [$TP < I(m_I = 333,88$; $dp = 16,13)$; $p = 0,74$].

A comparação por meio do teste ANOVA para tipo de sacada por condição mostrou mais sacadas normais ($> 50\%$) em todas as condições, mesmo em condição previsível (P). Os dados estão descritos na Tabela 6 na seção 5.4.3. A porcentagem de sacadas antecipadas/tardias foi menor que 3% em ambos os grupos e foram descartadas para as análises subsequentes.

A comparação do padrão de latência ao longo do bloco mostrou diferença entre os o início e o fim. Houve redução na LatSac para as condição P e PP à partir do 2º ponto. Na condição P, LatSac se estabilizou e se manteve em volta de 200 ms até o

fim do bloco, sem diferença significativa entre os pontos iniciais e finais (teste-t pontos 7, 8 e 25; $p>0,05$). Na condição PP, LatSac oscilou e continuou decrescendo até o fim do bloco, porém também sem diferença significativa entre os pontos 7, 8 e 25 ($p>0,1$). Não houve variação na latência para as condições TP e I. Os valores médios de LasSac estão descritos na Figura 21.

Figura 21. Médias de Latência Sacádica (LatSac) ao longo do bloco em crianças. Os valores médios de LatSac para condição P, PP, TP e I

5.4.2 Movimentos oculares em adultos

Para adultos foram comparados dados das aquisições 1 e 2 com teste ANOVA multivariável, porém não foi encontrada diferença significativa em nenhuma das condições ($p > 0,5$; $m_{run1} = 233,94\text{ms}$; $m_{run2} = 233,62\text{ms}$). Frente a este resultado, foram obtidos valores médios para LatSac .

Na comparação das condições foi observado padrão de aumento da LatSac da condição P para PP e TP [$P(m_P = 80,96$; $dp = 61,87) < PP(m_{PP} = 227,25$; $dp = 52,68) < TP(m_{TP} = 307,55$; $dp = 21,19)$; $p < 0,001$]. Da condição TP para I também houve um aumento estatisticamente significativo [$TP < I(m_I = 318,87$; $dp = 14,77)$; $p = 0,01$].

A comparação do tipo de sacada por condição mostrou mais sacadas normais ($> 50\%$) em todas as condições, menos na condição P, na qual os adultos realizaram mais sacadas previsíveis. Os dados estão descritos na Tabela 6 na seção 5.4.3.

O padrão de LatSac média para os estímulos ao longo do bloco mostraram padrão similar àquele encontrado na análise de crianças. Houve redução na LatSac para as condições P e PP a partir do 2º ponto. Diferentemente das crianças, os tempos de LatSac na condição P continuaram decrescendo até o fim do bloco.

O resultado do teste-t pareado mostrou diferença significativa entre os pontos 7 e 25 ($t[1,13]=3,78$; $p=0,002$) e apenas uma tendência para os pontos 8 e 25 ($p<0,01$). O LatSac na condição PP oscilou em volta de 250ms e continuou decrescendo até o fim do bloco com diferença entre as médias nos pontos 8 e 25 ($t[1,13]=3,62$; $p=0,003$) e tendência entre 7 e 25 ($p<0,01$). Não houve variação na latência para as condições TP e I ao longo do bloco. Os valores médios de LasSac estão descritos na Figura 22.

Figura 22. Médias de Latência Sacádica (LatSac) ao longo do bloco em adultos. Os valores médios de LatSac para condição P, PP, TP e I

5.4.3 Movimentos oculares de crianças e adultos

As médias para LatSac foram comparadas entre os grupos de crianças e adultos com uma ANOVA com fatores grupo e condição. Foi encontrada uma diferença na LatSac entre os grupos ($F[1,26]=18,95$; $p<0,001$) e entre os grupos nas condições P ($F[1,26]=25,43$; $p<0,001$), TP ($F[1,26]=14,01$; $p<0,01$) e I ($F[1,26]=6,6$; $p<0,05$). Apenas uma tendência estatística para a diferença foi encontrada entre os grupos na condição PP ($F[1,26]=3,8$; $p<0,06$). Os valores médios estão descritos no Figura 23 e Tabela 6.

Figura 23. Comparação das médias de Latência Sacádica (LatSac) entre crianças e adultos em todas as condições: Previsível (P), Posição previsível (PP), Tempo Previsível (TP) e Imprevisível (I)

A comparação do tipo de sacada em cada condição mostrou diferença apenas para condição P na qual os adultos emitiram maior número de sacadas previsíveis quando comparadas com as crianças. Os valores médios estão descritos na Tabela 6.

Tabela 6 - Valores médios e desvio padrão para sacada previsível na interação dos grupos de crianças e adultos

Medida (N=28)	Grupo			
	Crianças	Adultos	F	p
Latência Sacádica (ms)	282,96 (30,14)	233,66 (29,92)	18,95	0,001
Sacadas Previsíveis (%) condição P	20,33 (23,46)	67,86 (15,88)	38,58	0,001
Sacadas Previsíveis (%) condição PP	8,33 (11,20)	13,69 (11,83)	1,51	0,23
Sacadas Previsíveis (%) condição TP	0,59 (1,51)	0,00 (0)	2,17	0,15
Sacadas Previsíveis (%) condição I	0,30 (1,1)	0,00 (0)	1,00	0,33

Para concluir, assim como na análise anterior, os resultados mostraram menor LatSac em adultos do que em crianças. Os adultos mostraram aprendizagem ao longo do procedimento para as condições P e PP. Por sua vez, as crianças mantiveram um desempenho constante. Os adultos mostraram menor LatSac em condições P, PP e I. Na condição TP, a diferença não atingiu nível estatisticamente significativo. Apenas adultos emitiram mais sacadas previsíveis do que normais na condição previsível. A seguir serão descritos os resultados de RMf.

5.5 Ressonância Magnética funcional

As análises de grupo foram realizadas a partir das imagens individuais das 14 crianças e 14 adultos. Os efeitos BOLD das análises baseadas em cluster e seus respectivos locais anatômicos são descritas a seguir.

Inicialmente será descrita a atividade neural em condições puras, P, I, PP e TP, em relação à condição base. Em seguida será descrita atividade neural em ROIs e por final a correlação entre LatSac e ativação neural em ambos os grupos.

5.5.1 Ressonância Magnética funcional em crianças

Análise das condições puras P, I, PP, TP > condição base

Na análise para a condição P, foi encontrada ativação no CVF direito, giros orbitofrontais e giro reto bilateral. Ademais, foi encontrada ativação no córtex visual primário e occipital V5 bilateral. Na condição PP, a ativação foi encontrada em CVS, CVF, lóbulo parietal superior e inferior bilateral, junção temporo-parieto-occipital, lobo occipital e região V5, putames, tálamo e cerebelo bilateral. Na condição TP novamente foi encontrada ativação bilateralmente no CVF, CVS, lóbulo parietal superior e inferior, mas também nos giros reto e orbitofrontais, cíngulo anterior, giro frontal superior medial, giro temporal inferior bilateral, lobo occipital, corpo estriado e cerebelo. Na condição I, ativação foi encontrada em CVF direito, mas não esquerdo. Ademais foi encontrada ativação no córtex visual primário.

As imagens mostrando a atividade nas áreas de interesse para cada condição estão representadas na Figura 24. As imagens com sobreposição dos mapas estatísticos limiarizados em todas as fatias para cada condição, juntamente com a descrição das coordenadas dos locais com a ativação máxima estão no Anexo I (I.1 - I.4)

Figura 24. Imagens do grupo de crianças (N=14). Contraste das quatro condições de teste em relação à linha de base: Previsível (P), Posição previsível (PP), Tempo Previsível (TP) e Imprevisível (I). As colunas mostram representações tridimensionais: lateral direita (a), lateral esquerda (b), secção inferior em nível de $Z=-29$ (c) e $Z=-9$ (d), secção média em nível de $Z=2$ (e) e secção superior em nível de $Z=42$ (f). Principais áreas identificadas para todas as condições foram marcadas com círculo vermelho por colunas a) junção temporo-parieto-occipital, lóbulo parietal inferior; b) giro temporal inferior; c) cerebelo; d) córtex frontal basal, lobo occipital (V1, V2, V3), tálamo; e) área visual V5, putame; f) campo visual suplementar, campo visual frontal [cluster $Z>2,3$; $p<0,05$; escala de ativação $Z=2,3$ (mínimo - vermelho) a $4,0$ (máximo - amarelo); cérebro modelo MNI152]

5.5.2 Ressonância Magnética funcional em adultos

Análise das condições puras P, I, PP, TP > condição base

Para cada condição serão descritos os resultados da análise dos dados. Ativação em regiões comuns à todas as condições foi encontrada em CVF, CVS, giro frontal inferior direito, lóbulo parietal superior, putame, córtex visual primário e cerebelo.

Na condição P, a ativação no córtex frontal se restringiu ao CVF e CVS, ínsula anterior, tálamo direito e região V5. Na condição PP, a ativação estendeu para pré-CVS, córtex frontal dorsal e ventro-lateral, giros orbitofrontais e giro reto bilateral. Ademais foram ativados núcleos da base, tálamo, ínsula anterior e cerebelo. Na condição TP, a ativação foi localizada adicionalmente na ínsula direita, giro angular no hemisfério direito e tálamo no hemisfério esquerdo. Na condição I, a ativação no lóbulo parietal inferior direito e ínsula anterior direita.

As imagens mostrando atividade nas áreas de interesse para cada condição estão representadas na Figura 25. As imagens com sobreposição dos mapas estatísticos em todas as fatias para cada condição, juntamente com a descrição das coordenadas dos locais com a ativação máxima estão no Anexo J (J.1 - J.4)

Figura 25. Imagens do grupo de adultos (N=14). Contraste das quatro condições de teste em relação à linha de base: Previsível (P), Posição previsível (PP), Tempo Previsível (TP) e Imprevisível (I). As colunas mostram representações tridimensionais: lateral direita (a), lateral esquerda (b), secção inferior em nível de $Z=-29$ (c) e $Z=-9$ (d), secção média em nível de $Z=2$ (e) e secção superior em nível de $Z=42$ (f). Principais áreas identificadas para todas as condições foram marcadas com círculo vermelho por colunas a) giro frontal inferior opercular, junção temporo-parieto-occipital; b) lóbulo parietal superior; c) cerebelo d) córtex frontal orbitário e frontal inferior; tálamo e) núcleo estriado; ínsula anterior f) pré-CVF, lóbulo parietal superior [cluster $Z>2,3$; $p<0,05$; escala de ativação da figura $Z=3,2$ (mínimo - vermelho) a $4,0$ (máximo - amarelo); cérebro modelo MNI152]

5.5.3 Ressonância Magnética funcional em crianças e adultos

A análise ANOVA 2 (IDADE) x 2 (AQUISIÇÃO) mostrou ativação para fator IDADE em todas as condições. Não foi encontrada ativação para fator AQUISIÇÃO e para interação IDADE x AQUISIÇÃO. Frente a estes resultados, os dados das duas aquisições foram integrados e analisados com GLM para a comparação de dois grupos independentes (teste-t não pareado) em todas as condições: crianças > adultos e adultos > crianças. A seguir serão descritos os resultados.

Comparação crianças > adultos

Nas condições P, TP e I foi encontrado um foco de maior ativação nas crianças comum às três condições na região do giro do cíngulo posterior estendendo-se para o pré-cúneo. Outras áreas de maior ativação foram identificados em P e TP nos giros frontais superiores porção medial, bilateralmente na região dos polos frontais e cíngulo anterior rostral. Na condição TP, os locais de maior ativação tiveram predominância à esquerda no sulco frontal superior, giro frontal inferior opercular, lóbulo parietal superior e giro do cíngulo anterior e posterior. Também foi encontrada maior ativação no giro temporal médio e amígdala. Na condição PP, nenhuma diferença na ativação foi identificada nessa comparação. As ativações são mostradas na Figura 26. As imagens com sobreposição dos mapas estatísticos

limiarizados em todas as fatias para cada condição, juntamente com a descrição das coordenadas dos locais com a ativação máxima estão no Anexo K (K.1 - K.3)

Figura 26. Imagens das comparações de grupos (N=14) crianças (amarelo-vermelho) > adultos (verde-azul); adultos > crianças. Contraste das quatro condições de teste em relação à linha de base: Previsível (P), Posição previsível (PP), Tempo Previsível (TP) e Imprevisível (I). As colunas mostram representações tridimensionais: lateral direita (a), lateral esquerda (b), secção inferior em nível de Z=-29 (c) e Z=-9 (d), secção média em nível de Z=2 (e) e secção superior em nível de Z=42 (f). Principais áreas identificadas para todas as condições foram marcadas com círculo vermelho por colunas a) giro frontal inferior opercular; b) giro temporal inferior; região visual V5; c) giro do cíngulo anterior e posterior, pré-cúneo; d) amígdala; córtex frontal basal; junção temporo-parieto-occipital; e) giro frontal superior medial, núcleo estriado; f) giro do cíngulo posterior [cluster $Z > 2,3$; $p < 0,05$; escala de ativação da figura $Z = 2,3$ (mínimo – vermelho/azul) a $4,0$ (máximo – amarelo/verde); cérebro modelo MNI152]

Comparação adultos > crianças

Em todas as condições, os adultos apresentaram mais ativação bilateral no CVF lateral e córtex occipital. Nas condições P, PP e I foram mais ativados CVS, lóbulo

parietal superior e inferior, junção temporo-parieto-occipital, giro do cíngulo anterior e núcleos da base. Em PP foi encontrada maior ativação em giro frontal médio e inferior direito, giro lingual bilateral, tronco encefálico e cerebelo. Na condição I houve ativação no cerebelo e ínsula anterior.

As imagens mostrando atividade para cada condição estão representadas na Figura 26. As imagens com sobreposição dos mapas estatísticos limiarizados em todas as fatias para cada condição, juntamente com a descrição das coordenadas dos locais com a ativação máxima estão no Anexo L (L.1 - L.4)

Análise do sinal BOLD em áreas de interesse (ROI)

O sinal BOLD foi comparado nas principais áreas de interesse: CVS, CVF, lóbulo parietal superior e inferior, giro do cíngulo anterior e posterior, ínsula, putames e cerebelo. Os resultados serão descritos a seguir.

Em todas as condições, as comparações de sinal BOLD entre os grupos mostraram maior ativação para adultos nas regiões de interesse. Vale a pena chamar a atenção para o sinal médio na região do giro do cíngulo posterior cuja ativação foi encontrada na comparação crianças > adultos, exceto no PP. Nas figuras abaixo pode se observar que o sinal é de fato negativo nos adultos e positivo ou próximo a zero nas crianças no cíngulo posterior esquerdo. Adicionalmente, na condição TP, o giro do cíngulo anterior mostra sinal positivo em crianças e negativo em adultos, enquanto em outras condições o sinal se mantém em um nível semelhante em ambos os grupos. As áreas que mostraram ativação na comparação de adultos > crianças, tais como CVS, CVF lateral e medial, lóbulo parietal superior e inferior, ínsula

anterior, putames e cerebelo mostraram sinal positivo em adultos e uma variação em crianças. Na condição P, TP e I foi encontrado sinal negativo no cerebelo apenas para as crianças. Na condição I, a insula anterior também apresentou sinal negativo em crianças embora não atingiu nível estatisticamente significativo. Uma variação foi ainda observada na região de CVF direito com sinal negativo na condição P e I em crianças. Os valores médios do sinal BOLD são mostrados na Figura 27.

Figura 27. Comparações de valores médios e de desvio padrão do sinal BOLD em crianças e adultos. Em cada condição são indicadas média de sinal em ROIs com diferença estatística entre os grupos (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$). Gráficos representam: Previsível (A), Posição previsível (B), Tempo previsível (C), Imprevisível (D). [Abreviações: lóbulo parietal superior (LPS)], lóbulo parietal inferior (PLI), giro do cíngulo anterior (GCA), giro do cíngulo posterior (GCp), insula (INS), putames (PU), esquerdo (E), direito (D).]

Um diferente padrão de ativação entre adultos e crianças foi encontrado em função da condição e está representado na Figura 28. Em crianças, o sinal mostrou o seguinte padrão: a média do sinal aumentou no sulco intraparietal posterior direito ($F_{3,52}=3,44$; $p=0,023$) em relação às condições P e PP e no sulco intraparietal anterior direito ($F_{3,52}=3,32$; $p=0,027$) em relação as condições P e I. Decaimento no sinal foi encontrado na condição I no CVF esquerdo ($F_{3,52}=2,88$; $p=0,045$) em relação às condições PP e TP e no CVS direito ($F_{3,52}=6,81$; $p=0,001$) em relação à todas as condições.

Figura 28. Média de sinal BOLD em crianças (a esquerda) e adultos (a direita) para todas as condições: Previsível (P), Posição previsível (PP), Tempo Previsível (TP) e Imprevisível (I). [Abreviações: lóbulo parietal superior (LPs), lóbulo parietal inferior (PLi), giro do cíngulo anterior (GCa), giro do cíngulo posterior (GCp), ínsula (INS), putame (PU), esquerdo (E), direito (D).]

Em adultos, o aumento no sinal BOLD foi observado na condição PP em relação às outras condições. O sinal foi maior estatisticamente na região de CVF direito ($F_{3,52}=3,42$; $p=0,024$) em relação às condições TP e I, ínsula anterior esquerda ($F_{3,52}=5,42$; $p=0,003$) em comparação com as demais condições, ínsula anterior direita ($F_{3,52}=3,11$; $p=0,034$) em relação a P e I. No putame direito ($F_{3,52}=3,74$; $p=0,017$) o sinal foi maior em relação à todas as condições e no esquerdo ($F_{3,52}=3,14$; $p=0,033$) somente em relação à condição I. No cerebelo esquerdo ($F_{3,52}=4,35$; $p=0,008$) o sinal foi maior em relação à todas as condições. Interessantemente, o sinal se tornou negativo na região do giro do cíngulo posterior esquerdo, mas não no direito em todas as condições. O mesmo achado não foi encontrado em crianças. Os dados estão descritos na Figura 28 .

Correlação da LatSac com sinal BOLD

A análise da interação entre o comportamento e ativação foi realizada. A covariação da média LatSac com o sinal BOLD em ambos os grupos não produziu nenhuma ativação nas condições P, PP e I. Na condição TP, a correlação da LatSac em crianças gerou ativação bilateralmente no giro frontal superior medial com extensão para a borda do cíngulo anterior, giro orbitofrontal e giro reto bilateral, CVF direito, lóbulo parietal inferior, pré-cúneo, junção temporo-parieto-occipital, lobo occipital, cúneo, e bordas do giro temporal médio e inferior. Em adultos, a ativação foi encontrada em regiões visuais descritas anteriormente, tais como CVF,

CVS, giro frontal inferior, lóbulo parietal superior e inferior, núcleo estriado, córtex occipital (V1 – V5) e cerebelo.

As imagens mostrando atividade nas áreas de interesse para cada condição estão representadas na Figura 29. As imagens com sobreposição dos mapas estatísticos limiarizados em todas as fatias para cada condição, juntamente com a descrição das coordenadas dos locais com a ativação máxima estão no Anexo M (M.1 - M.2)

Figura 29. Imagens da ativação correlacionada com LatSac de grupos (N=14) crianças (amarelo-vermelho) e adultos (verde-azul). Apenas na condição TP (Tempo previsível) foi identificada ativação. As colunas mostram representações tridimensionais: lateral direita (a), lateral esquerda (b), secção sagital em nível Y=-11(c), secção axial inferior em nível de Z=-9 (d), secção média em nível de Z=-1 (e) e secção superior em nível de Z=38. Principais áreas identificadas para as condições foram marcadas com círculo vermelho por colunas a) junção temporo-parieto-occipital, área visual V5; b) giro frontal inferior; c) cúneo, giro frontal superior medial, giro do cíngulo anterior; pré-cúneo; d) giro reto, giro temporal inferior; e) núcleo estriado, área visual V5; f) CVF, lóbulo parietal superior e inferior [cluster $Z > 2,3$; $p < 0,05$; escala de ativação da figura $Z = 2,3$ (mínimo – vermelho/azul) a 4,0 (máximo – amarelo/verde); cérebro modelo MNI152]

6. DISCUSSÃO

6.1 Casuística

O intuito do presente trabalho foi identificar áreas cerebrais ativadas em tarefas de movimento ocular em crianças e adultos.

Para minimizar a variabilidade entre os sujeitos de cada grupo foram escolhidas amostras restritas em critérios como idade, escolaridade e lateralidade. No quesito idade, as crianças formaram um grupo com idade média de 11 anos, tendo 9 anos a mais nova e 12 a mais velha. A idade média dos adultos foi de 24 anos, com o mais novo tendo 20 e o mais velho 38 anos. Estudos mostram que crianças a partir dos 7 a 8 anos de idade são passíveis de comparações diretas com adultos em paradigmas de RMf. Kang e colaboradores (2003) avaliaram o efeito BOLD de 16 crianças e adultos em 7 regiões cerebrais distintas e compararam a localização da ativação e o seu curso temporal. Na comparação direta dos dois grupos não foram encontradas diferenças significativas na localização e intensidade do efeito BOLD. O procedimento de comparação direta adotado aqui foi o mesmo utilizado em outros estudos (Rosano, Sweeney, Melchitzky, & Lewis, 2003; Scherf, Sweeney, & Luna, 2006; Velanova et al., 2009).

O índice de lateralidade indicou que todos os adultos e crianças eram destros. A composição homogênea dos grupos em relação à lateralidade é um meio para

assegurar similaridades na organização neural dos sistemas envolvidos no movimento sacádico. Embora até o momento não tenham sido apontadas regiões com lateralização relacionada com sacadas, manter os grupos experimentais homogêneos em relação a essa questão é um dos cuidados básicos que deveriam ser tomados no desenho experimental.

No quesito de nível econômico, a distribuição das crianças e adultos foi similar mostrando distribuição normal com maior número de pessoas nas classes B2 e C2.

6.2 Testes neuropsicológicos e questionários

A avaliação de QI estimado por meio de testes de inteligência WISC e WAIS mostrou que todos os participantes, crianças e adultos, pontuaram na maioria no nível médio, médio superior ou muito superior. A distribuição em níveis foi diferente entre crianças e adultos, sendo que algumas crianças pontuaram no nível muito superior, mas nenhum adulto foi encontrado nessa faixa. Uma vez que o paradigma não apresenta alta complexidade cognitiva, essa diferença possivelmente não produziu efeito sobre os dados. O efeito do baixo QI sobre ativação neural foi mostrado no estudo de Horn e colaboradores (2003) que encontraram correlação entre baixo QI e desempenho na tarefa GO-NO-GO em pessoas impulsivas.

A avaliação de atenção sustentada por meio do teste AC identificou que 14% dos adultos e 31% das crianças obtiveram desempenho no nível inferior. Um nível adequado de atenção é crucial para o estudo com movimentos oculares uma vez que as variáveis medidas, como latência sacádica e precisão do movimento são altamente sensíveis à distração. Também por esse motivo os paradigmas de movimentos oculares são usados em estudos de Transtorno de Atenção e Hiperatividade (Rommelse, Van der Stigchel, & Sergeant, 2008). O Teste AC tem padronização para a população brasileira, porém uma das limitações é a falta da descrição da amostra utilizada na elaboração das tabelas de referência, e portanto não é possível discutir a adequação do instrumento ao perfil dos nossos sujeitos.

A avaliação no D-Kefs Trilhas mostrou diferenças entre crianças e adultos e estas foram mais evidentes nas funções básicas componentes das funções executivas

tais como velocidade, busca visual, sequenciamento de números. Em sequenciamento de letras e flexibilidade mental, os grupos mostraram desempenho similar. Wodka e colaboradores (2008) utilizaram o mesmo instrumento para avaliar crianças com e sem o Transtorno de Atenção e Hiperatividade. Desempenho no teste Trilhas foi similar entre os grupos, mas diferenciou entre os subtipos de TDAH. Funções básicas tais como busca visual, sequenciamento de números e sequenciamento de letras se mostraram mais prejudicados em crianças do tipo inatento.

O resultado da escala analógica foi realizado apenas com adultos, pelos motivos explicitados no método. Este resultado mostra diferenças na sedação física e sedação mental antes e após realização da coleta. O resultado encontrado era esperado, uma vez que a duração da coleta e a impossibilidade de se movimentar induzem cansaço na pessoa e afetam o seu engajamento na tarefa. Zang & Li (2010) avaliaram a ativação relacionada com engajamento na tarefa e identificaram redução da ativação com maior engajamento na tarefa. Ademais, a variação na ativação foi em 10 % responsável pela variação da ativação do córtex frontal modulando recursos atencionais, entre outros. Os dados do presente estudo são limitados pois apenas o grupo de adultos respondeu a escala. Outras medidas, tais como movimento ocular, devem ser usadas para averiguar melhor o efeito do cansaço no engajamento.

6.3 Desenho experimental, instrumentação e análise de dados

Um desafio encontrado no presente estudo referiu-se ao posicionamento dos participantes. O pesquisador responsável, com auxílio de um biomédico, posicionou cada participante na mesa do equipamento de RM com a cabeça na posição horizontal, há uma distância de 3 a 5cm da bobina de crânio, a fim de padronizar distancia do olho e câmera do *Eye tracker*. Todos os participantes foram imobilizados com espumas e fitas adesiva de papel. Apesar desses procedimentos, as crianças apresentaram maior deslocamento da cabeça do que os adultos. Em função disso, foi utilizado um protocolo para a remoção dos artefatos de movimento.

A metodologia de remoção seguiu um procedimento descrito na literatura (Tohka et al., 2008) e utilizado em outros estudos previamente publicados (Ghahremani, Monterosso, Jentsch, Bilder, & Poldrack, 2010; Kenner et al., 2010; Ghahremani et al., 2010; Xue et al., 2009). Essa metodologia ainda não é consolidada, sendo que a discussão sobre a sua vantagem e desvantagem poderia ser descrita em um trabalho à parte. A necessidade de se usar algum tratamento para os artefatos de sinal de diversas origens vem trazendo esse tema de discussão e gerando o impulso na busca de novos métodos mais automatizados, que diminuiriam o fator de decisão subjetiva dos pesquisadores (Anderson et al., 2011; Cole, Smith, & Beckmann, 2010; Wang & Peterson, 2008; Worsley et al., 2002).

A remoção de artefatos afetou o padrão de ativação encontrado nos mapas do cérebro, diminuindo o valor Z dos clusters. A redução no valor Z dos cluster é coerente com achados do Tohka e colaboradores (2008) que avaliou o método usado

no presente estudo e encontrou maior redução do sinal em massa cinzenta mas maior redução ainda em massa branca. Um aumento no sinal foi registrado no córtex frontal ventral, temporal e no tálamo. Esse achado discorda dos resultados do presente estudo, já que o córtex frontal e tálamo foram regiões com redução na ativação em crianças e adultos. Por outro lado, pode-se hipotetizar que, ausência de ativação nessas regiões ocorreu pois os clusters, anteriormente já pequenos, não alcançaram nível estatisticamente significativo após a remoção de artefatos. Tohka e colaboradores (2008) também notaram uma redução na quantidade dos clusters significativos na análise de grupo reportando ativações mais robustas.

Outra ferramenta usada no presente estudo foi o *Eye Tracker*. O registro de movimento ocular em conjunto com RMf possibilita, além do controle comportamental, coletar dados para realizar correlação com a atividade neural, o que por sua vez auxilia na identificação das estruturas neurais responsáveis pelo comportamento. No uso conjunto de RMf e *Eye tracking* foram relatadas relações entre frequência das sacadas corretivas e amplitude da ativação, mas não entre ativação e amplitude de sacada (Haller, Fasler, Ohlendorf, Radue, & Greenlee, 2008). O resultado mostra que o preciso registro do movimento ocular pode trazer benefício para compreensão do funcionamento neural em humanos.

6.4 Movimentos oculares

6.4.1 Movimentos oculares em crianças

O presente estudo encontrou diferenças na latência sacádica em crianças, com o tempo de reação menor na condição P, seguido pela PP e TP. Não houve diferença na latência entre as condições TP e I. Os resultados indicam que o conhecimento prévio de “onde” e “quando” o alvo aparecerá influencia positivamente no planejamento sacádico em crianças. O conhecimento isolado da informação “quando” não reduziu a latência sacádica em crianças e estes executam os movimentos com padrão similar às sacadas reflexivas. O resultado é coerente com os achados de Bucci e colaboradores (2006) que avaliaram 15 crianças de 7 anos em tarefa de sacadas para um alvo. A latência sacádica foi menor em um procedimento no qual o alvo aparecia após um breve intervalo de tempo que possibilitava planejamento da sacada em direção previamente conhecida. Esse achado indica a presença de mecanismos automáticos em crianças para a produção das sacadas expressas e redução na latência em sacadas preditivas com antecipação da informação espacial.

A redução na latência sacádica ao longo do bloco na condição de sacadas preditivas atingiu o valor mínimo por volta de 200 ms e se manteve estável. Da mesma forma, as sacadas com posição previsível mostraram também diminuição na latência, porém com padrão irregular ao longo do bloco. Trata-se de um achado original, já que até o momento não encontramos dados na literatura sobre o padrão de

aprendizagem motora relacionada com sacadas preditivas em crianças. Comparando esses achados com estudos em adultos que mostram latências abaixo de 120 ms em sacadas preditivas, sugerimos que as crianças se beneficiam assim como os adultos da informação antecipada sobre o alvo da sacada e conseguem reduzir o tempo de reação sacádica. Por outro lado, quando exigidas a produzirem um comportamento constante e repetitivo integrando continuamente as informações antecipadas na geração da sacada, o desempenho das crianças adquire um padrão diferente daquele observado em adultos. Esse fato poderia ser explicado em conjunto com os achados da Velanova e colaboradores (2008) que encontraram um padrão diferente no desempenho e ativação neural em adolescentes e adultos ao avaliarem movimentos anti-sacádicos. Os autores argumentaram que as habilidades exigidas pela tarefa são desenvolvidas logo no início da adolescência, porém o desempenho ao longo da tarefa continua melhorando, até a idade adulta. Para nós, também durante execução das sacadas preditivas, a habilidade de antecipar o movimento do objeto está atuando, mas o bom desempenho não é sustentado durante um tempo prolongado pelas crianças de até 12 anos. Acreditamos que outros estudos de desenvolvimento devem atentar a essa achado e averiguar sua ocorrência em paradigmas focados em outras funções cognitivas.

6.4.2 Movimentos oculares em adultos

Assim como para as crianças, em adultos o conhecimento prévio de “onde” e “quando” também teve efeito sobre latência sacádica que aumentou da condição P, seguida pelas condições PP e TP. Em adultos, houve diferença na latência entre as condições TP e I, o que condiz com achados do Gagnon e colaboradores (2002). Ao avaliarem 17 adultos foram relatados resultados de menor latência (<70ms) na condição tempo/posição previsível, seguida pela posição previsível (70 à 120ms), e por final, tempo previsível e imprevisível (>120ms). O mesmo padrão foi encontrado em estudo da Lukasova e colaboradores (Anexo A) que avaliou o padrão de movimentos oculares em diferentes grupos do Brasil e Alemanha. Independente da cultura e condições de coleta, o mesmo paradigma produziu padrão similar de latência nas quatro condições de previsibilidade.

Os resultados indicam que os adultos conseguem tirar proveito da informação temporal isolada para reduzir a latência de início da sacada, quando comparada com sacadas reflexivas. A análise das latências ao longo do bloco mostrou um padrão de latências irregulares em condições com apenas uma variável conhecida antecipadamente. Por sua vez, em condições com propriedades temporais e espaciais constantes, sacadas preditivas e reflexivas, o padrão das latências sacádicas foi regular. Ambos os padrões podem ser discutidos na perspectiva do conceito da decisão sacádica, em que sacadas reflexivas são mediadas pelo sistema vestibular, sistema de geração sacádica e de retroalimentação para a correção do movimento (Leigh & Kennard, 2004). Em sacadas preditivas, a decisão sacádica é mediada pelo

sistema vestibular, sistema de geração sacádica, retroalimentação e também pelo *relógio interno* de alta precisão e flexibilidade para ajustar o padrão do ritmo ao movimento do alvo (Joiner & Shelhamer, 2006). O *relógio interno* refere-se à capacidade de estimar as propriedades espaciais e temporais do movimento com base nas dicas visuais ou auditivas do estímulo. Em sacadas nas quais apenas uma das variáveis é conhecida antecipadamente, o *relógio interno* deve modular o processo da decisão sacádica, porém com menor eficiência, já que não dispõe de todas as informações relevantes. Essa limitação pode gerar um padrão de latência irregular.

No presente estudo foi encontrado um padrão de resposta ocular constante e coerente com outros estudos. Um padrão consistente de resposta é um importante pré-requisito para o uso do procedimento em populações clínicas específicas neurológicas e psiquiátricas (Rommelse, Stigchel, & Sergeant, 2008; Takarae, Minschew, Luna & Sweeney, 2004). Para esse tipo de população, paradigmas fatoriais são bem vistos, uma vez que abrem possibilidade de comparar o padrão do comportamento em relação ao grupo controle, mas também em relação a modificação das variáveis dentro da tarefa (Church, Petersen, & Schlaggar, 2010).

6.4.3 Movimentos oculares de crianças e adultos

As comparações entre crianças e adultos mostraram diferenças entre os grupos para latência sacádica e porcentagem de sacadas previsíveis. A latência sacádica foi maior em crianças, alcançando a maior diferença entre os grupos na condição previsível. Tarefa previsível requer mecanismos cognitivos refinados de monitoramento interno contínuo, como já foi mencionado a cima. Esses mecanismos podem estar imaturos em crianças.

Eenshuistra e colaboradores (2007) avaliaram crianças, adolescentes e adultos em um paradigma de sacadas reflexivas e movimentos anti-sacádicos. A latência sacádica foi maior em crianças de 8 anos, diminuindo aos 12 anos e mais ainda na fase adulta. Maior diferença entre os grupos foi encontrada em movimentos anti-sacádicos. Por sua vez, para as sacadas reflexivas, as latências diferiram pouco. Ademais, a manipulação das variáveis que aumentavam exigências do processamento cognitivo na geração da sacada geraram maior efeito em crianças. Foi argumentado que maior exigência dos recursos cognitivos afeta a latência sacádica de forma mais evidente em crianças.

Esses resultados ressaltam a importância de uma cuidadosa avaliação do procedimento em estudos de desenvolvimento, já que o aumento na dificuldade pode ter efeitos diferentes em crianças e adultos. Nesses casos, recomendam-se análises complementares com formação de grupos por idade e pelo nível do desempenho comportamental. Adicionalmente, as análises de regressão para covariar o efeito da

idade e do desempenho podem ser também empregadas (Church et al., 2010). A seguir serão discutidos os resultados da RMf.

6.5 Ressonância Magnética funcional

6.5.1 Ressonância Magnética funcional em crianças

A discussão dos resultados das crianças será feita tendo em mente o baixo número de estudos existentes com essa população. Os resultados aqui obtidos, a partir da comparação direta entre crianças e adultos, são únicos para esse tipo de tarefa e, ao nosso conhecimento, não há correspondentes na literatura científica.

As análises mostraram uma rede neural comum a todas as condições com ativação em CVF e córtex occipital. Outras áreas mais frequentemente encontradas foram: CVS, córtex orbitofrontal, lóbulo parietal superior e inferior, junção temporo-parieto-occipital, núcleos da base e cerebelo.

Nas condições com monitoramento externo do alvo, as crianças ativaram áreas envolvidas no monitoramento ocular, tais como occipital V5, região TM/TMS e sulco intraparietal, entre outros. Esse padrão de ativação se mostrou mais difuso, mas coincidiu em grande parte com a ativação encontrada em adultos executando sacadas com maior dependência do estímulo externo. Os resultados similares foram encontrados por Luna e colaboradores (2001) que avaliaram a ativação em tarefas de movimentos anti-sacádicos. Os adultos exibiram ativação na região ventral e dorsolateral pré-frontal, já as crianças com 12 anos de idade mostraram ativação dispersa em outras áreas do córtex pré-frontal (Bunge et al., 2002; B Luna et al., 2001). Os movimentos anti-sacádicos exigem do sujeito inibição da sacada em prol de uma nova direção do movimento e aproximam-se portanto dos nossos

procedimentos nas quais apenas uma parte da informação visual é conhecida antecipadamente.

Na condição com maior exigência no monitoramento interno do estímulo (tarefa previsível), a atividade foi localizada principalmente na linha medial do cérebro, em áreas do córtex visual primário e córtex orbitofrontal medial. O padrão frontal da ativação diferiu daquele encontrado em adultos (Durstun et al., 2006). Casey e colaboradores (2001) avaliaram crianças em um desenho longitudinal aos 9 e 11 anos de idade. Numa tarefa do tipo *Go No-Go* apenas a ativação no córtex ventral pré-frontal mostrou variação com a idade e se correlacionou com o monitoramento de erro. A mesma variação não foi observada no córtex motor primário, o que indica um curso temporal diferente na maturação dos sistemas sensório-motor e associativo.

Os principais achados da ativação neural gerada pelos movimentos oculares em crianças foram o padrão mais difuso em sacadas guiadas externamente e ativação orbitofrontal em sacadas preditivas. Ambos podem ser indicativos de mecanismos compensatórios empregados no monitoramento ou prevenção de erro.

6.5.2 Ressonância Magnética funcional em adultos

O padrão de ativação em adultos foi co-localizado nas seguintes áreas: bilateralmente CVF, CVS, lóbulo parietal superior e inferior, lobo occipital, ínsula anterior, núcleos da base e cerebelo. Essas estruturas fazem parte do circuito visual responsável pela geração das sacadas volitivas descrito anteriormente por outros

estudos (Kirchner, Barbeau, Thorpe, Régis, & Liégeois-Chauvel, 2009; Konen, Kleiser, Wittsack, Bremmer, & Seitz, 2004; Leigh & Kennard, 2004). Muri (2006) sugeriu envolvimento do CVF, CVS, lobo parietal e occipital no planejamento visuo-espacial e dos núcleos da base e cerebelo na execução das sacadas.

Estudos com pacientes com lesão localizada no CVF mostraram aumento na latência sacádica em movimentos voluntários. Já quando a lesão estava localizada no lobo parietal, houve aumento da latência em sacadas reflexivas produzidas pelo abrupto aparecimento do estímulo periférico (Leigh & Kennard, 2004). Segundo a revisão da literatura, CVF e CVS têm papel crucial no monitoramento visuo-espacial e iniciação da sacada volitiva (McDowell et al., 2008). Os resultados obtidos no presente estudo estão consoantes com esses achados, visto que a ativação em regiões frontais e parietais foi encontrada em todas as tarefas, mas com pequenas variações na ativação relacionadas com as especificidades temporais e espaciais do estímulo. Os resultados das condições serão discutidos a seguir.

O achado mais característico da condição previsível foi a diminuição na ativação em regiões da circuitaria visual nas áreas CVS, CVF e córtex parietal. Diferentemente do esperado, a ativação em CVF não se mostrou especificamente ligada a execução das sacadas preditivas. Simó e colaboradores (2005) encontraram redução na ativação em CVF relacionada com o alta previsibilidade do estímulo, porém a relação não foi linear.

Connolly e colaboradores (2005) variaram o intervalo entre apresentação do estímulo e indicação da posição final. Foi encontrada correlação inversa entre o efeito BOLD em CVF e a duração do intervalo após o qual era apresentada a

indicação espacial. Ademais, a comparação com o curso temporal das sacadas mostrou ativação em CVF mesmo na ausência do movimento ocular. Para os autores, o CVF estaria envolvido no planejamento e prontidão do movimento ocular mediando decisão de “como” e “quando” agir, formando planos motores de ação (Connolly et. al., 2005). Nesta perspectiva parece coerente, que um movimento horizontal rítmico com a informação prévia de “onde” e “quando” tenha reduzido a ativação em CVF na tarefa P.

Nas condições com monitoramento predominantemente externo do alvo, houve ativação nas regiões do sistema sacádico descrito previamente em procedimentos de sacadas reflexivas, movimento ocular lento e outros (Konen et al., 2004; Leigh & Kennard, 2004; McDowell et al., 2008). Ativação foi encontrada em todas as áreas já citadas anteriormente: CVF, CVS, giro frontal superior, médio e inferior, lóbulo parietal superior e inferior, córtex occipital, ínsula anterior, núcleos da base e cerebelo.

Um achado interessante foi a ativação do cíngulo anterior em tarefa previsível e posição previsível em adultos. O cíngulo anterior é frequentemente associado com inibição do comportamento como ocorre em tarefas de movimentos anti-sacádicos (Beatriz Luna et al., 2008). Pode-se inferir que o monitoramento interno da decisão sacádica, aspecto em comum a ambas as tarefas, pode ter gerado a ativação nessa região ligada a iniciação voluntária, memória operacional e inibição.

Os principais achados da análise de atividade neural em adultos foram relacionados com a diminuição da ativação na circuitaria do sistema visual sacádico em condição previsível e a confirmação das áreas frequentemente encontradas em

outros estudos de movimento ocular. Assim como na discussão dos achados de movimento ocular, podemos afirmar também que em relação a ativação neural, o padrão encontrado é consistente e constante, frente ao paradigma utilizado. Paradigmas que produzem um padrão robusto de ativação, tais como paradigma de movimentos anti-sacádicos, são frequentemente aproveitados em diversos experimentos clínicos e multicêntricos (Reilly, Lencer, Bishop, Keedy, & Sweeney, 2008)

6.5.3 Ressonância Magnética funcional em crianças e adultos

A comparação direta das crianças e adultos mostrou maior ativação em crianças na região do córtex frontal basal, giro do cíngulo anterior e posterior, giro frontal médio e inferior, giro frontal superior medial, lóbulo parietal inferior, pré-cúneo, giro temporal médio e inferior. Esse padrão de ativação foi encontrado principalmente na condição tempo previsível (mas também em I e PP), o que indica que a tarefa com monitoramento interno de tempo e externo de posição é mais sensível para os estudos de desenvolvimento.

Como já foi mencionado, a condição TP requer a manutenção da ativação do sistema sacádico e visuo-motor em prol da sacada iminente, uma vez que o momento do início das sacadas é invariável mas a direção é desconhecida. A sacada é liberada com o surgimento do alvo, à direita ou esquerda, tendo a direção parcialmente previsível nas posições medianas e totalmente previsível nas extremidades do movimento. Desta maneira a tarefa exige uma precisa colaboração entre regiões

responsáveis pela decisão e inibição sacádica, modulada externamente pela posição do alvo. No presente estudo, foi encontrada menor latência sacádica em adultos que reduziram o tempo de reação na condição TP, mas sem gerar sacadas preditivas. Já para o grupo de crianças, houve um aumento da taxa de sacadas preditivas, mas a latência média não diferiu daquela encontrada nas sacadas imprevisíveis. Argumentamos com base neste resultado, que as crianças apresentaram menor eficiência na inibição da liberação das sacadas gerando respostas “*antes da hora*”, em forma de sacadas preditivas. Os adultos, por outro lado, conseguiram manter a prontidão do sistema sacádico, até a liberação voluntária da resposta gerada pelo aparecimento do alvo.

Se esse argumento for coerente, deveria existir sobreposição das áreas correlacionadas com a latência sacádica e aquelas encontradas na comparação das crianças e adultos na condição TP. Os resultados da correlação em crianças mostraram ativação na região do córtex orbitofrontal, giro do cíngulo anterior, giro frontal superior medial, lóbulo parietal inferior, pré-cúneo e giro temporal inferior. Mostra-se plausível argumentar que essas são as regiões possivelmente responsáveis pela decisão e inibição sacádica em crianças.

Algumas dessas regiões, tais como giro do cíngulo anterior, cúneo, pré-cúneo e regiões do córtex frontal são frequentemente reportadas nos estudos com tarefas Go No-Go e movimentos anti-sacádicos (McDowel, 2004). Booth e colaboradores (2003) avaliaram crianças de 9 a 12 anos e adultos de 20 a 30 nessa tarefa e identificaram maior ativação em crianças na região medial do giro frontal superior,

médio e inferior. Ativação foi encontrada também no giro do cíngulo posterior, ínsula, giro parahipocampal e amígdala.

Por outro lado, Velanova e colaboradores (2008) compararam a ativação de crianças, adolescentes e adultos em tarefas de movimentos anti-sacádicos e não encontraram diferenças na circuitaria básica visuo-motora de sacadas. Idade se relacionou com menor ativação em crianças na região do cíngulo anterior dorsal e maior ativação no córtex dorsolateral pré-frontal. Maior ativação frontal foi atribuída aos mecanismos inibitórios ineficientes do giro do cíngulo. Ademais, foi argumentado que a produção dos movimentos anti-sacádicos em adultos ativa redes de áreas suplementares antero-posteriores auxiliares à circuitaria visuo-motora primária. Já em crianças, em função da maturação neural tardia das áreas secundárias, ocorre a ativação frontal que é compensatória (Velanova et al., 2008).

Os nossos resultados estão apenas parcialmente de acordo com essa conclusão. Maior ativação do córtex frontal encontrada em crianças foi localizada principalmente na linha medial do córtex frontal. Dependendo da condição, os adultos ativaram mais do que as crianças o córtex frontal dorsolateral (condição PP), junto com giro lingual e cerebelo. Argumentamos que fatores adicionais contribuem para um padrão diferente de ativação criança/adulto em tarefas de movimento sacádico. Além disso, as regiões posteriores, tal com pré-cúneo e lóbulo parietal inferior, cuja ativação foi encontrada no presente estudo, são reportadas em paradigmas de inibição (Karatekin, 2007; Reuter, Kaufmann, Bender, Pinkpank, & Kathmann, 2009). Sugerimos que um dos fatores que poderiam modular tanto o desempenho quanto a ativação nas sacadas, é a atenção.

No presente estudo analisamos a média do sinal BOLD em regiões de interesse e encontramos um aumento consistente no lóbulo parietal superior direito inespecífico à condição. Esse aumento foi encontrado em adultos. Por sua vez, as crianças não mostraram aumento consistente no sinal BOLD entre as condições. O lóbulo parietal superior é um dos componentes da rede atencional, junto com o cíngulo anterior, córtex pré-frontal dorso e ventrolateral, corpo estriado, tálamo e cerebelo (Bush, 2011).

A ativação é consistentemente encontrada no córtex parietal predominantemente direito em paradigmas que requerem maior planejamento sacádico, tais como sacadas mnemônicas, ao passo que, a ativação em parietal esquerdo é relatada em tarefas de decisão temporal da sacada (Cotti, Rohenkohl, Stokes, Nobre, & Coull, 2011; Konen & Kastner, 2008; Konen et al., 2004). Um padrão diferente do sinal no córtex parietal superior direito e a atividade correlacionada com a latência sacádica no parietal inferior bilateral indicam um nível diferente do monitoramento atencional temporo-espacial em crianças e adultos do nosso estudo.

O nível atencional pode ser discutido também frente à ativação localizada no giro do cíngulo posterior em crianças em 3 das 4 condições. A análise do comportamento do sinal nessa região mostrou deativação correspondente em adultos nessas condições. Em outras palavras, enquanto os adultos deativaram o cíngulo posterior durante realização das tarefas, em crianças a ativação se manteve no nível basal ou acima dele.

O cíngulo posterior faz parte da rede de ativação basal (em inglês *Default mode network*), uma rede formada por regiões corticais que apresentam uma flutuação mínima na atividade neural mesmo na ausência da tarefa. Deativação é relacionada com melhor desempenho na tarefa (Raichle & Snyder, 2007). Hayden e colaboradores (2009) estudaram a rede basal em macacos registrando a descarga neural na área correspondente ao cíngulo posterior. Redução na atividade neural foi correlacionada positivamente com o aumento da atenção. Concluiu-se que o aumento na atividade hemodinâmica (efeito BOLD) na região do cíngulo posterior evidencia lapsos de atenção ou falhas em codificar eficientemente estímulo ambiental. Frente a isso mostra-se plausível argumentar que o sinal negativo encontrado no presente estudo em adultos nas condições P, TP e I é representativo de um envolvimento atencional mais eficiente ou uma melhor sustentação da mesma ao longo da tarefa. Vale lembrar que a região do pré-cúneo, vizinha do cíngulo posterior, também mostrou ativação maior em crianças e interação entre latência sacádica e o grupo.

Os principais achados do presente estudo indicam um diferente envolvimento atencional e decisório de crianças e adultos nas tarefas de movimentos sacádicos com efeitos observados no padrão de comportamento e na ativação neural. A porção medial do córtex frontal, cíngulo posterior, córtex parietal inferior, cúneo e pré-cúneo são as regiões cuja atividade foi relacionada com processos atencionais e, possivelmente, ações compensatórias empregadas pelas crianças na execução do movimento sacádico.

Devemos lembrar que, devido a impossibilidade de parearmos os grupos pelo nível de desempenho, não se pode afirmar que os resultados aqui discutidos

representam o fator essencialmente do desenvolvimento. Ademais, os dados de avaliação atencional indicaram diferenças nas funções executivas básicas como velocidade, busca visual e sequenciamento. Frente a isso, futuros estudos devem investigar se o padrão neuropsicológico, neurológico e comportamental (movimentos oculares) aqui reportado é típico em crianças na pré-adolescência sendo, portanto, indicador de um desenvolvimento típico com maturação neurológica tardia e contínua reorganização funcional neural.

Deve-se também levar em consideração que o procedimento de remoção dos artefatos não dispõe ainda de uma metodologia consolidada e embora a possibilidade é remota, em hipótese, pode ter gerado variáveis desconhecidas não controladas na análise.

Por último devemos mencionar a questão anatômica de crianças e adultos. Embora tivemos todo o cuidado em devidamente registrar as imagens funcionais nas estruturais de cada sujeito, as comparações entre os grupos foram feitas no espaço MNI baseado num cérebro adulto e estão, por tanto, sujeitas a imprecisões. Ademais em relação aos achados da ativação em cerebelo deve se manter cautela, uma vez que a sua cobertura durante aquisição foi incompleta em uma parte dos adultos.

Estas são limitações gerais e específicas do presente estudo. Futuros trabalhos devem levá-las em consideração.

7. CONCLUSÃO

Este estudo teve como conclusões:

1. Foi comparado movimento ocular em tarefa com maior *versus* menor envolvimento sensorial em crianças e adultos. Foi encontrado mesmo padrão em crianças e adultos com aumento na latência sacádica com maior dependência nos indicadores externos de movimento. Em tarefa preditiva, adultos mostraram uma redução contínua na latência sacádica indicando melhor aproveitamento da informação ‘onde’ e ‘quando’. Na sacadas com tempo previsível, apenas adultos mostraram redução na latência sacádica indicando melhor aproveitamento da informação temporal do estímulo.

2. Foi realizada comparação da ativação gerada pelo movimento ocular em tarefa com maior *versus* menor envolvimento sensorial em crianças e adultos. Foram encontradas diferenças no padrão de ativação, sendo que as crianças ativam regiões fronto-parietais situadas na linha medial do cérebro em tarefa previsível e regiões similares ao adultos, porém mais difusas em tarefas com menor envolvimento sensorial. Ademais, houve diferenças na ativação em áreas ligadas a memória operacional e atenção independente da condição, indicando diferentes processos

atencionais e/ou de monitoramento contínuo ao longo da tarefa em crianças e adultos.

3. Foi avaliada correlação entre latência sacádica e ativação sendo que crianças mostraram ativação correlacionada na área do córtex orbitofrontal, giro do cíngulo anterior, giro frontal superior medial, lóbulo parietal inferior, pré-cúneo e giro temporal inferior. Considerando que a correlação foi encontrada apenas na condição de tempo previsível, acreditamos que estas áreas são ativadas frente à necessidade de inibir liberação sacádica precipitada ou, também, de corrigir a posição ocular em resposta ao movimento do alvo.

8. REFERÊNCIAS

Amaro, E. Jr., Barker, G. J. (2006). Study design in fMRI: basic principles. *Brain Cogn*, 60(3), 220-32.

Amorim, P. (2002). Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevista breve para diagnóstico de transtornos mentais. *Rev Bras Psiquiatr*, 22, 106-15.

Anderson, E. J., Jones, D. K., O’Gorman, R. L., Leemans, A., Catani, M., & Husain, M. (2011). Cortical Network for Gaze Control in Humans Revealed Using Multimodal MRI. *Cerebral cortex*, 22, 765-775.

Beckmann, C. F., Tracey, I., Noble, J. A., & Smith, S. M. (2000) Combining ICA and GLM: A hybrid approach to FMRI analysis. In *Sixth Int. Conf. on Functional Mapping of the Human Brain*, page 643.

Blanke, O., & Seeck, M. (2003) Direction of saccades and smooth eye movements induced by electrical stimulation in the human frontal eye field: effect of orbital position. *Exp. Brain Res*, 150, 174-183.

Bompas, A., & Sumner, P. (2009). Temporal dynamics of saccadic distraction. *Journal of Vision*, 9, 1-14.

Booth, J. R., Burman, D. D., Meyer, J. R., Lei, Z., Trommer, B. L., Davenport, N. D., Li, W., et al. (2003). Neural development of selective attention and response inhibition. *NeuroImage*, 20(2), 737-51.

Brown, T. T., Lugar, H. M., Coalson, R. S., Miezin, F. M., Petersen, S. E., & Schlaggar, B. L. (2005). Developmental changes in human cerebral functional organization for word generation. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 15(3), 275-90.

Brown, T. T., Petersen, S. E., & Schlaggar, B. L. (2006). Does human functional brain organization shift from diffuse to focal with development? *Developmental science*, 9(1), 9-11.

Bucci, M. P., Kapoula, Z., Yang, Q., Brémond-Gignac, D., & Wiener-Vacher, S. (2004). Speed-accuracy of saccades, vergence and combined eye movements in children with vertigo. *Experimental Brain Research*, 157(3), 286-295.

Bunge, S. A., Dudukovic, N. M., Thomason, M. E., Vaidya, C. J., & Gabrieli, J. D. E. (2002). Immature frontal lobe contribution to cognitive control in children: evidence from fMRI, *33*, 301–311.

Büttner-Ennever, J. A. (2006). The extraocular motor nuclei: organization and functional neuroanatomy. *Progress in Brain Research*, *151*(05), 51004-5.

Bush, G. (2011). Cingulate, frontal, and parietal cortical dysfunction in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biological psychiatry*, *69*(12), 1160–7.

Casey, B. J., Davidson, M., & Rosen, B. (2002). Functional magnetic resonance imaging: basic principles of and application to developmental science. *Dev sci*, *5*, 301–309.

Casey, B. J., Durston, S., & Fossella, J. (2001). Evidence for a mechanistic model of cognitive control. *Clinical Neuroscience Research*, *1*(4), 267–282.

Chalupa, L. M., Werner, J. S. (2004) *The Visual Neurosciences*. Massachusetts:Institute of Technology.

Church, J., Petersen, S. E., & Schlaggar, B. L. (2010). The “Task B problem” and other considerations in developmental functional neuroimaging. *Human brain mapping*, *31*(6), 852–62.

Cole, D. M., Smith, S. M., & Beckmann, C. F. (2010). Advances and pitfalls in the analysis and interpretation of resting-state FMRI data. *Frontiers in systems neuroscience*, *4* (8), 1- 15.

Collewijn, H., Erkelens, C. J., & Steinman, R. M. (1995). Voluntary binocular gaze-shifts in the plane of regard: Dynamics of version and vergence. *Vision Research*, *35*, 3335–3358.

Compston A. (2011). From the archives. *Brain*, *134*, 1580-1584.

Connolly, J. D., Goodale, M. a, Goltz, H. C., & Munoz, D. P. (2005). fMRI activation in the human frontal eye field is correlated with saccadic reaction time. *Journal of neurophysiology*, *94*(1), 605–11.

Connolly, J. D., Goodale, M. a, Menon, R. S., & Munoz, D. P. (2002). Human fMRI evidence for the neural correlates of preparatory set. *Nature neuroscience*, *5*(12), 1345–52.

Cotti, J., Rohenkohl, G., Stokes, M., Nobre, A. C., & Coull, J. T. (2011). Functionally dissociating temporal and motor components of response preparation in left intraparietal sulcus. *NeuroImage*, *54*(2), 1221–30.

Curtis, C. E., & Connolly, J. D. (2008). Saccade preparation signals in the human frontal and parietal cortices. *Journal of neurophysiology*, 99(1), 133–145.

Dantas, A. M. (2008). Nomenclatura anatômica em oftalmologia Anatomical nomenclature in ophthalmology, 1887(2), 446–458.

Delis DC, Kaplan E, Kramer JH. (2001) *Delis-Kaplan executive function system: examiner's manual*. São Antônio: The Psychological Corporation.

Dowker, A. (2006). What can functional brain imaging studies tell us about typical and atypical cognitive development in children? *Journal of physiology, Paris*, 99(4-6), 333–41.

Dumoulin, S., Bittar, R., Kabani, N., Baker, J. R., Goulher, G., Pike, G., Evans (2000) A new neuroanatomical landmark for reliable identification of human area V5/MT: a quantitative analysis of sulcal patterning. *Cereb. Cortex*, 10, 454-463.

Durston, S., & Casey, B. J. (2006). (Response) A shift from diffuse to focal cortical activity with development : the authors' reply. *Developmental science*, 9(1), 1–20.

Durston, S., Davidson, M. C., Tottenham, N., Galvan, A., Spicer, J., Fossella, J. a, & Casey, B. J. (2006). A shift from diffuse to focal cortical activity with development. *Developmental science*, 9(1), 1–8.

Duchowski, A. T. (2007) *Eye tracking methodology: theory and practice*. London: Springer.

Editorial: Klein, C., Ettinger, U. (2008). A hundred years of eye movements research in psychiatry. *Brain and cognition*, 68, 215-218.

Eenshuistra, R. M., Ridderinkhof, K. R., Weidema, M. a, & van der Molen, M. W. (2007). Developmental changes in oculomotor control and working-memory efficiency. *Acta psychologica*, 124(1), 139–58.

Fischer, B., Biscaldi, M., & Gezeck, S. (1997). On the development of voluntary and reflexive components in human saccade generation. *Brain research*, 754(1-2), 285–97.

Freedman, D. J., Riesenhuber, M., Poggio, T., & Miller, E. K. (2006). Experience-dependent sharpening of visual shape selectivity in inferior temporal cortex. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 16(11), 1631–44.

Funahashi, S., Bruce, C. J., & Goldman-Rakic, P. S. (1993). Dorsolateral prefrontal lesions and oculomotor delayed-response performance: evidence for mnemonic “scotomas”. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 13(4), 1479–97.

- Gagnon, D., O'Driscoll, G. a, Petrides, M., & Pike, G. B. (2002). The effect of spatial and temporal information on saccades and neural activity in oculomotor structures. *Brain : a journal of neurology*, 125(Pt 1), 123–39.
- Ghahremani, D. G., Monterosso, J., Jentsch, J. D., Bilder, R. M., & Poldrack, R. a. (2010). Neural components underlying behavioral flexibility in human reversal learning. *Cerebral cortex*, 20(8), 1843–52.
- Gaillard, W. D., Grandin, C. B., Xu, B. (2001). Developmental aspects of pediatric fMRI: considerations for image acquisition, analysis, and interpretation. *Neuroimage*. 13(2):239-49.
- Gogtay, N., Giedd, J. N., Lusk, L., Hayashi, K. M., Greenstein, D., Vaituzis, a C., Nugent, T. F., et al. (2004). Dynamic mapping of human cortical development during childhood through early adulthood. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(21), 8174–9.
- Haller, S., Fasler, D., Ohlendorf, S., Radue, E. W., & Greenlee, M. W. (2008). Neural activation associated with corrective saccades during tasks with fixation, pursuit and saccades. *Experimental brain research. Experimentelle Hirnforschung. Expérimentation cérébrale*, 184(1), 83–94.
- Handwerker, D. a, Ollinger, J. M., & D'Esposito, M. (2004). Variation of BOLD hemodynamic responses across subjects and brain regions and their effects on statistical analyses. *NeuroImage*, 21(4), 1639–51.
- Hayden, B. Y., Smith, D. V., & Platt, M. L. (2009). Electrophysiological correlates of default-mode processing in macaque posterior cingulate cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(14), 5948–53.
- Hoffman, K. L., & Logothetis, N. K. (2009). Cortical mechanisms of sensory learning and object recognition. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 364(1515), 321–9.
- Holzman, P. S. (2000) Eye movements and the search for the essence of schizophrenia. *Brain Research Reviews*, 31, 350–356
- Horn, N. R., Dolan, M., Elliot, R., Woodruff, P. W. (2003). Response inhibition and impulsivity: an fMRI study. *Neuropsychologia*, 41(14), 1959-66.
- Horn, J. D. V., & Toga, A. W. (2009). NIH Public Access, 22(4), 370–378.
- Huettel, S. A., Song, A. W., McCathy, G. (2009). *Functional magnetic resonance imaging*. Ed. Sinauer.

- Hutton, S. B. (2008). Cognitive control of saccadic eye movements. *Brain and cognition*, 68(3), 327–40.
- Irving, E. L., Steinbach, M. J., Lillakas, L., Babu, R. J., & Hutchings, N. (2006). Horizontal saccade dynamics across the human life span. *Investigative ophthalmology & visual science*, 47(6), 2478–84.
- Isotalo, E., Lasker, a G., & Zee, D. S. (2005). Cognitive influences on predictive saccadic tracking. *Experimental brain research. Experimentelle Hirnforschung. Expérimentation cérébrale*, 165(4), 461–9.
- Jezzard, P., Matthews, P. M., Smith SM. (2001). *Functional MRI: an introduction to methods*. Oxford: Oxford Press.
- Joiner, W. M., & Shelhamer, M. (2006). An internal clock generates repetitive predictive saccades. *Experimental brain research. Experimentelle Hirnforschung. Expérimentation cérébrale*, 175(2), 305–20.
- Kang, H. C., Burgund, E. D., Lugar, H. M., Petersen, S. E., & Schlaggar, B. L. (2003). Comparison of functional activation foci in children and adults using a common stereotactic space. *NeuroImage*, 19(1), 16–28.
- Kandel, E. R., Schwartz, J. H., Jessell, T. M. (2000). *Principles of neural science* (4/e). New York: McGraw-Hill.
- Karaketin, C. (2007) Eye tracking studies of normative and atypical development. *Developmental Review*, 27, 283-348.
- Kelly, R. E. Jr., Alexopoulos, G. S., Wang, Z., Gunning, F. M., Murphy, C. F., Morimoto, S. S., Kanellopoulos, D., Jia, Z., Lim, K. O., Hoptman, M. J. (2010). Visual inspection of independent components: defining a procedure for artifact removal from fMRI data. *Journal of Neuroscience Methods*, 189, 233-245.
- Kenner, N.M., Mumford, J.A., Hommer, R.E., Skup, M., Lelbenluft, E., & Poldrack, R.A. (2010). Inhibitory motor control in response stopping and response switching. *J Neurosci*, 30(25), 8512-8518.
- Kirchner, H., Barbeau, E. J., Thorpe, S. J., Régis, J., & Liégeois-Chauvel, C. (2009). Ultra-rapid sensory responses in the human frontal eye field region. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 29(23), 7599–606.
- Klein, C, & Foerster, F. (2001). Development of prosaccade and antisaccade task performance in participants aged 6 to 26 years. *Psychophysiology*, 38(2), 179–89.

- Klein, Christoph, Foerster, F., Hartnegg, K., & Fischer, B. (2005). Lifespan development of pro- and anti-saccades: multiple regression models for point estimates. *Brain research. Developmental brain research*, 160(2), 113–23.
- Konen, C. S., & Kastner, S. (2008). Two hierarchically organized neural systems for object information in human visual cortex. *Nature neuroscience*, 11(2), 224–31.
- Konen, C. S., Kleiser, R., Wittsack, H.-J., Bremmer, F., & Seitz, R. J. (2004). The encoding of saccadic eye movements within human posterior parietal cortex. *NeuroImage*, 22(1), 304–14.
- Leigh, R. J., & Kennard, C. (2004). Using saccades as a research tool in the clinical neurosciences. *Brain : a journal of neurology*, 127(Pt 3), 460–77.
- Logothetis, N. K. (2008). What we can do and what we cannot do with fMRI. *Nature*, 453(7197), 869–78.
- Lukasova, K., Zanin, L. L., Valois, M. C., Macedo, G. C., Macedo, E. C. (2010). Analysis of exploratory eye movements in patients with schizophrenia during visual scanning of projective tests figures. *J. bras. psiquiatr*, 59(2), 119-125.
- Lukasova, K. (2008). *Alterações fonológicas e motoras na dislexia de desenvolvimento* [dissertação]. São Paulo: Universidade Presbiteriana Mackenzie.
- Lukasova, K., Sommer, J., Nucci-da-Silva, M., Vieira, G., Blanke, M., Bremmer, F., Sato, J. R., Kirchner, T., & Amaro, E. Jr. (submitted). Converging Evidence on the Predictability Pattern in Saccadic fMRI Task: Cross-population Replication Study. *Neuroimage*.
- Luna, B, Thulborn, K. R., Munoz, D. P., Merriam, E. P., Garver, K. E., Minshew, N. J., Keshavan, M. S., et al. (2001). Maturation of widely distributed brain function subserves cognitive development. *NeuroImage*, 13(5), 786–93.
- Luna, Beatriz, Velanova, K., & Geier, C. F. (2008). Development of eye-movement control. *Brain and cognition*, 68(3), 293–308.
- Lynch, J. C., Tian, R. (2006). Cortico-cortical networks and cortico-subcortical loops for the higher control of eye movements. *Progress Brain Res*, 151, 461-672.
- Sommer, M. A., & Wurtz, R. H. (2001). Colliculus Movement, Memory, and Vision to the Superior FEF. *J Neurophysiol*, 85, 1673-1685.
- May, P. J. (2006). The mammalian superior colliculus: laminar structure and connections. *Progress in Brain Research*, 151, 321-78.

- McDowell, J. E., Dyckman, K. a, Austin, B. P., & Clementz, B. a. (2008). Neurophysiology and neuroanatomy of reflexive and volitional saccades: evidence from studies of humans. *Brain and cognition*, 68(3), 255–70.
- Moses, P., Roe, K., Buxton, R.B., Wong, E.C., Frank, L.R., & Stiles, J. (2002). Functional MRI of global and local processing in children. *Neuroimage*, 16, 415–424.
- Motter, B. C. (1994). Neural correlate of atentional selection for color or luminance in extrastriate area V4, *J. Neurosci*, 14, 2178-2189.
- Munoz, D. P., & Everling, S. (2004). Look away: the anti-saccade task and the voluntary control of eye movement. *Nature reviews. Neuroscience*, 5(3), 218–28.
- Müri, R. M. (2006). MRI and fMRI analysis of oculomotor function. *Progress in Brain Research*, 151. 503-26.
- Oeltermann, A., Ku, S.-P., & Logothetis, N. K. (2007). A novel functional magnetic resonance imaging compatible search-coil eye-tracking system. *Magnetic resonance imaging*, 25(6), 913–22.
- Oldfield, R. C. (1971). The assessment and analyses of handedness: The Edinburgh Inventory. *Neuropsychology*, 9 97-113.
- Orsati, F. T., Mecca, T., Schwartzman, J. S., Macedo, E. C. (2009). Percepção de faces em crianças e adolescentes com Transtorno Invasivo do Desenvolvimento. *Paideia*, 19(44) 349-35.
- Oswal, A, Ogden, M., & Carpenter, R. H. S. (2007). The time course of stimulus expectation in a saccadic decision task. *Journal of Neurophysiology*, 97(4), 2722–2730.
- Peck, C. J., Jangraw, D. C., Suzuki, M., Efem, R., & Gottlieb, J. (2009). Reward modulates attention independently of action value in posterior parietal cortex. *Journal of Neuroscience*, 29(36), 11182–11191.
- Price, C. J., & Friston, K. J. (1997). Cognitive conjunction: a new approach to brain activation experiments. *Neuroimage*, 5, 261–270.
- Raichle, M. E., Snyder, A. Z. (2007). A default mode of brain function: a brief history of an evolving ideia. *Neuroimage*, 37, 1083-1090.
- Reilly, J. L., Lencer, R., Bishop, J. R., Keedy, S., & Sweeney, J. A. (2008). Pharmacological treatment effects on eye movement control. *Brain and cognition*, 68(3), 415–35.

- Reuter B., Kaufmann, C., Bender, J., Pinkpank, T., & Kathmann, N. (2009) Neural correlates for volitional generation and inhibition saccades. *J Cogn Neurosci*. 22(4), 728- 738.
- Richter, W., & Richter, M. (2003). The shape of the fMRI BOLD response in children and adults changes systematically with age. *NeuroImage*, 20(2), 1122–31.
- Robinson, F. R., Straube, A., Fuchs, A. (1993). Role of the caudal fastigial nucleus in saccade generation. II. Effects of muscimol inactivation. *J Neurophysiol*, 70(5), 1741-1758.
- Rommelse, N. N. J., Van der Stigchel, S., & Sergeant, J. a. (2008). A review on eye movement studies in childhood and adolescent psychiatry. *Brain and cognition*, 68(3), 391–414.
- Rosano, C., Sweeney, J. a, Melchitzky, D. S., & Lewis, D. a. (2003). The human precentral sulcus: chemoarchitecture of a region corresponding to the frontal eye fields. *Brain research*, 972(1-2), 16–30.
- Scherf, K. S., Sweeney, J. a, & Luna, B. (2006). Brain basis of developmental change in visuospatial working memory. *Journal of cognitive neuroscience*, 18(7), 1045–58.
- Simó, L. S., Krisky, C. M., & Sweeney, J. a. (2005). Functional neuroanatomy of anticipatory behavior: dissociation between sensory-driven and memory-driven systems. *Cerebral cortex*, 15(12), 1982–91.
- Smith, S. M. (2002). Fast robust automated brain extraction. *Human Brain Mapping*, 17(3), 143-155.
- Sommer, M. A, & Wurtz, R. H. (2006). Influence of the thalamus on spatial visual processing in frontal cortex. *Nature*, 444(7117), 374–7.
- Spender, R. F., Porter, J. D. (2001). Biological organization of the extraocular muscles. *Progress in Brain Research*, 151
- Sternberg, S. (1969). The discovery of processing stages: Extensions of Donders's method. In Koster, W. G. *Attention and performance II*. Amsterdam: North-Holland.
- Sweeney, J. J. A. J. A., Luna, B., Keedy, S. K. S. K. S., McDowell, J. E. J. E., & Clementz, B. a B. A. (2007). fMRI studies of eye movement control: investigating the interaction of cognitive and sensorimotor brain systems. *Neuroimage*, 36(Suppl 2), T54–T60..

Takarae, Y., Minshew, N. J., Luna, B., Sweeney, J. A. (2004). Atypical involvement of frontostriatal systems during sensorimotor control in autism. *Psychiatry Res*, 156(2), 117-27.

Tohka, J., Foerde, K., Aron, A. R., Tom, S. M., Toga, A. W., & Poldrack, R. A. (2008). Automatic independent component labeling for artifact removal in fMRI. *NeuroImage*, 39(3), 1227-45.

Velanova, K., Wheeler, M. E., & Luna, B. (2008). Maturation changes in anterior cingulate and frontoparietal recruitment support the development of error processing and inhibitory control. *Cerebral cortex*, 18(11), 2505-22.

Velanova, K., Wheeler, M. E., & Luna, B. (2009). The maturation of task set-related activation supports late developmental improvements in inhibitory control. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 29(40), 12558-67.

Wade, N. J., Tatler, B. W. (2005). *The moving tablet of the eye*. New York:Oxford Press.

Wade, N. J. (2005). *Perception and Illusion: Historical perspectives*. Dordrecht: Springer.

Wade, N. J. (2002). *Destined for distinguished oblivion*. Dordrecht: Springer.

Wang, Z., & Peterson, B. S. (2008). Partner-Matching for automated identification of reproducible ICA Components from fMRI datasets: algorithm and validation. *Hum Brain Map*, 29(8), 875-893.

Wodka, E. L., Loftis, C., Mostofsky, S. H., Prahme, C., Larson, J. C. G., Denckla, M. B., & Mahone, E. M. (2008). Prediction of ADHD in boys and girls using the D-KEFS. *Archives of clinical neuropsychology : the official journal of the National Academy of Neuropsychologists*, 23(3), 283-93.

Worsley, K. J., Liao, C. H., Aston, J., Petre, V., Duncan, G. H., Morales, F., & Evans, a C. (2002). A general statistical analysis for fMRI data. *NeuroImage*, 15(1), 1-15.

Xue, G., Lu, Z., Levin, I. P., Weller, J. a, Li, X., & Bechara, A. (2009). Functional dissociations of risk and reward processing in the medial prefrontal cortex. *Cerebral cortex*, 19(5), 1019-27.

Zang, S., Li, Ch. (2010). A neural measure of behavioral engagement: Task -residual low frequency blod oxygenation level dependent activity in the precuneus. *Neuroimage*, 49(2), 1911-1918.

9. Anexos

Anexo A Artigo submetido:

Converging Evidence on the Predictability Pattern in Saccadic fMRI Task: Cross-population Replication Study

Katerina Lukasova¹, Jens Sommer², Mariana Penteado Nucci-da-Silva¹, Gilson Vieira^{1,3}, Marius Blanke⁵, Frank Bremmer⁵, João Ricardo Sato⁴, Tilo Kircher², Edson Amaro Jr¹

¹NIF/LIM44, Departamento de Radiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil.

²Department of Psychiatry, Philipps-University Marburg, Germany.

³Bioinformatics Graduate Program, University of São Paulo

⁴Center of Mathematics, Computation and Cognition, Universidade Federal do ABC, São Paulo, Brazil.

⁵Department of Neurophysics, Philipps-University Marburg, Germany.

Abstract

Consistency in replicating functional magnetic resonance imaging (fMRI) results has been identified as an important question for further use of fMRI technique in clinical practice. We assessed whether the same pattern of brain response and eye movements could be replicated in identical fMRI designs in culturally different groups and MR systems. 45 healthy adults from Brazil and Germany performed predictive saccade tasks under four conditions in a block design paradigm. In each condition, a target appeared on a horizontal meridian with varying levels of predictability: place/time predictable (PRED), place predictable (pPRED), time predictable (tPRED) and place/time unpredictable (SAC). The behavioral results showed similar patterns among groups and tasks for saccade latency and type. Latencies increased with decreased predictability of the target and the anticipation error rate was highest when the advanced target's position but not the onset time was available. We compared the hemodynamic response in each condition and group and found a similar pattern of activation in the lateral portion of the frontal eye field, supplementary eye field, posterior part of superior parietal lobe, putamen and cerebellum. Correlation of signal change indicated high correlation ($p < 0.01$) between the groups in PRED and tPRED conditions. We showed that patterns of eye movements and neural activation produced by saccade generation tasks are reproducible when the task context is kept constant. These findings indicate that oculomotor paradigms produce robust task related activation suitable for multi-site cross-population studies.

Keywords: Saccades, Eye movements, Predictability, Replication, Multi-centric study, Cross-population study.

Abbreviations:

BOLD = blood oxygen level dependent; SEF = supplementary eye field, FEF_L = frontal eye field lateral, FEF_M = frontal eye field medial, IPS = intraparietal sulcus; SPL = superior parietal lobe; MT/V5 = medial temporal area V5; PIVC = parieto-insular vestibular cortex, OL = occipital lobe, DLPFC = dorsolateral prefrontal cortex; VPC = ventrolateral premotor cortex; Pu = putamen; Cer = cerebellum

1. Introduction

Saccades are rapid movements that dislocate the line of sight over successive locations of interest (Leigh and Kennard, 2004). The dynamic properties of saccadic eye movements and underlying oculomotor circuitry in humans have been investigated in studies using functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI) techniques and integrated eye-trackers. These studies described important neural circuits responsible for visual behavior in tasks, ranging from simple reflexive saccades to cognitively more demanding antisaccades (Curtis and Connolly, 2008; McDowell et al., 2008). Recent reviews of saccade studies called attention to the effect of context, in which the tasks are presented, on behavior and brain activity (McDowell et al., 2008). Study design differences in stimulus type, number, order of trials and instructions are thought to be responsible for variability in the pattern of saccade-related activation (Isotalo et al., 2005; Konen and Kastner, 2008; Taylor and Hutton, 2009). Other variables related to instrumentation, population sample and type of analysis may also have an influence on results (Brown et al., 2011).

This scenario constitutes an important issue when large samples are adopted for meta-analyses or multi-center studies. Paradoxically, moving the subjects across MR scanner sites is required in order to investigate the sources of bias when analyzing multicenter datasets. Since this practice is location restrictive and in most cases limited to healthy subjects, we propose a more efficient setting to assess replicability of paradigms. Accordingly, the aim of our current study was to assess whether an identical fMRI design can generate a similar pattern of brain response in culturally different groups of healthy subjects scanned in the same and in different MR systems. For this purpose, we chose predictive saccade tasks since this procedure allows manipulation of task properties related to spatial and temporal predictability thus generating sensory and volitional responses (Gagnon et al., 2002; Konen et al., 2004; Simó et al., 2005).

In predictive eye tracking, oscillatory saccades are generated between alternately appearing targets in fixed positions and at constant frequency. Manipulation of frequency and/or target's position produces different patterns of eye movements (Hutton, 2008) and neural activation (McDowell et al., 2008). Some studies reported increased activation in the frontal eye field (FEF) correlated with higher predictability of target's position (Gagnon et al., 2002), while others found deactivation in FEF and involvement of memory related circuits (Simó et al., 2005). The goal of this study was to describe the pattern of eye movements and neural activation associated with a predictive saccade paradigm replicated in different samples of healthy subjects scanned in varying experimental settings. We hypothesize that predictive tracking produces a constant activation pattern independent of the cultural or environmental setting, as long as the same paradigm context of trial presentation is maintained (McDowell et al., 2008). Thus, our belief is

that the source of result discrepancies reported in studies of saccadic eye movements is not instrumentation or population dependent, but rather, experimental setup dependent.

2. Material and methods

In this study we compared populations in two countries (Brazil and Germany), using two eye-tracking and MR systems, while maintaining the same stimulus presentation, task instructions and data processing. Ethics Committees of University of Sao Paulo in Brazil and University of Marburg in Germany approved the study prior to the data acquisitions conducted between 2010 and 2011. All subjects were volunteers and gave written informed consent. Relevant to our study, all subjects were instructed by the same researcher that collected the data in both countries (K.L.).

2.1 Subjects

A total of 45 subjects were examined. The experiments were conducted in two studies (1 and 2), one in each country. In Study 1 we investigated the influence of population sampling, assessed in two groups (BR1 and BR2) under the same experimental conditions, i.e., same MR scanner and Eye tracker. In Study 2 (GE), data were acquired in a different MR environment and on different subjects, while the stimulus presentation and task instruction were maintained identical. Study groups were selected as follows:

Study 1 Brazil (BR): Thirty right-handed subjects participated in the study. Subjects were recruited among graduate and post-graduate students. They were divided into two groups: BR1 and BR2. Six females and nine males with the mean age of 24.27 (SD=2.85) years were allocated to BR1 and thirteen females and two males participated in BR2 (mean age of 22.27; SD=2.95 years).

Study 2 Germany (GE): Fifteen right-handed subjects, seven females and eight males, with the mean age of 25.40 (SD=2.29) years participated in this study. Subjects were also recruited among graduate and post-graduate students.

2.2 Experimental Paradigms

A standard fMRI block design was used to present four experimental saccadic tasks: predictable (PRED), position predictable (pPRED), time predictable (tPRED) and reflexive saccades (SAC). Each run was composed of 24 blocks of 20 seconds duration each. The four experimental conditions were presented three times, alternated with twelve control fixation blocks conditions and a control fixation task. The order of experimental blocks presentation was pseudo-randomized (avoiding repetitions of control and experimental conditions) and the same order was kept constant for all participants. Participants of BR1 went through the same paradigm presentation twice (Run1 and Run2), separated by approximately 30 minutes of structural acquisitions. Other groups performed the task in one run only.

In all experimental tasks, the target was a black spot (0.4° of visual angle) on a grey background presented in different horizontal positions in total of 25 trials per block. The position and duration of the target appearance varied depending on the experimental task: in the PRED condition it appeared at constant intervals of 0.8 s from left to right over 5° of visual angle (2.5° from the central position); in pPRED the

position was the same as in PRED but the display time varied randomly (0.4; 0.8; 1.2 s). In tPRED the time was kept constant (0.8 s) but the target could appear at one of five different positions on the horizontal meridian, always shifting only by 2.5° to the right or to the left. The predictability of the target's position was thus decreased to 50%, except for extreme left and right positions with 100% predictability. The proportion of middle and extreme target's positions was approximately 7:1. In SAC, the position of the saccade target was of low predictability, the same as in tPRED task and additionally, the time of the target display was randomized (0.4; 0.8; 1.2 s). To secure close matching among the task's variables, the same three versions of pseudo randomized sequences of target positions and timing were used in tPRED-SAC and pPRED-SAC respectively. To avoid giving any clue of the upcoming task, in all conditions the targets onset position was from the center. The task's design is displayed in Figure 1.

Figure 1. Schematic depiction of task trials (A) and run (B). (A) displays time and position specifications of trials in each task: PRED, pPRED, tPRED, SAC. (B) shows the sequence and duration of blocks within a run. Each task was repeated 3 times within a run in pseudo-randomized order.

2.3 Image acquisition

Imaging data acquisition was performed in 2 different sites, each equipped with 3T MR systems. Quality assurance protocols using standardized phantoms are performed in both sites on a regular basis to guarantee scanner performance. Foam padding was used to minimize head movement.

Study 1

Imaging was performed on a 3 Tesla MR system (Achieva, Philips Medical System, The Netherlands) with an eight channel head receive coil. Single shot echo

planar imaging (EPI) with sensitivity-encoded (SENSE) for blood oxygen level-dependent (BOLD) contrast (T_2^*) was used with parameters [repetition time (TR)=2000ms, echo time (TE)=30ms, flip angle=90°, slice thickness=3.0mm, gap=0, matrix=64×64, in-plane resolution 3×3mm²]. 40 slices covering the whole head were acquired with anterior commissure – posterior commissure (AC-PC) orientation in ascending order. The first 4 volumes were discarded to allow stabilization of magnetization.

The stimuli were projected by LCD video projector on a screen positioned at the subjects' feet and reflected on the overhead mirror placed on the head coil. Eye movements were registered with an integrated MRI compatible Eye Tracker (30fr/60fd; Mag Design and Engineering) and processed by *ViewPoint* software (Arrington Research, EUA). All the subjects were trained before the scanner session and were equally instructed to: "move your eyes as closely as you can with the target" (Isotalo et al., 2005). With the subjects positioned in the scanner, the instruction was repeated and a 12-point calibration was run immediately before the data acquisition.

Study 2

Measurements were performed on a 3 Tesla MR system (Trio, A Tim System 3T, Siemens, Erlangen, Germany) with a 12 channel head matrix receive coil. Functional images were acquired using T_2^* weighted single shot echo planar imaging (EPI) sequence with parameters [parallel imaging factor of 2 (GRAPPA), TE=30ms, TR=2000ms, flip angle 90°, slice thickness 3.0mm and 0.3mm gap, matrix 64×64, in-plane resolution 3×3mm², bandwidth 2232Hz/pixel, EPI factor of 64 and an echo spacing of 0.53ms]. Whole head coverage data from 37 slices oriented parallel to the AC–PC lines were gathered in ascending order.

Eye movements were registered with an integrated MRI compatible *EyeLink®* 1000 (500Hz; SR Research) and stored for off-line analyses. As in Study 1, all the subjects were trained before the scanner session and received the same instruction. A calibration routine was run immediately before the data acquisition.

2.4 Image processing

All functional images from Study 1 and Study 2 were processed with FSL 4.1 (Analysis Group, FMRIB, Oxford, UK; www.fmrib.ox.ac.uk). A total of 240 brain images (volumes) was acquired in each run. Image preprocessing included a motion correction MCFLIRT (Jenkinson et al., 2002), spatial smoothing using a Gaussian kernel (FWHM=5mm), highpass temporal filtering (60s) and spatial normalization to standard space (12DoF affine transform). Preprocessed data were analyzed using a general linear model (GLM) with semi-parametric estimation of residuals autocorrelation (FILM; Woolrich et al., 2001). The group activation maps were generated using the mixed-effects model (FLAME) that takes into account cross session/subject variances and allows generalization of the results to wider population. The statistics images were thresholded using cluster determined by Z -voxel>3.4 in group-level analyses. The corrected cluster significance was set to 5% (Worsley et al., 2002). All images were registered on a standard reference image from MNI152 (Smith, 2004).

Regions with significant BOLD signal increase in each task relative to the control fixation condition were identified and functional regions of interest (ROI) were set in a 12mm sphere kernel around the voxel-max of the most significant clusters. The ROIs were set in the supplementary eye field (SEF), frontal eye field lateral

(FEFI), frontal eye field medial (FEFm), intraparietal sulcus anterior (IPSa), superior parietal lobe (SPL), medial temporal area (MT/V5), parieto-insular vestibular cortex (PIVC), occipital lobe (OL), putamen (Pu) and cerebellum (Cer). Only ROIs active in at least 3 of the 4 tasks regardless of the group were selected for analyses. These regions are frequently reported in other studies as active in saccade generation tasks (Zu Eulenburg et al., 2012). ROI coordinates in MNI space set in the voxel-max of the GE group defined the ROIs for the BR1 and BR2 groups and the BR2 voxel-max were used for ROIs of GE (Kriegeskorte et al., 2009).

The mean signal change (%) and time series averaged for all voxels within ROI were extracted with the Featquery tool (Analysis Group, FMRIB, Oxford, UK; www.fmrib.ox.ac.uk) and averaged between the subjects for the left and right hemisphere. The first two volumes of each run related to the task's transition were excluded.

2.5 Eye tracking group analyses

The data from Study 1 were processed with a home-made script written in R (www.r-project.org). Initially, eye blinks were excluded, the Tukey's smoother (Tukey, 1977) was used for small drift correction and fixation was identified with a dispersion-based algorithm for eye position within a minimum displacement of 1° degree of visual angle and a temporal threshold of 90ms (Salvucci and Goldberg, 2000). In study 2, fixations were identified by the EyeLink® Software (SR Research) with a velocity threshold of 22 deg/sec and an acceleration threshold of 4000 deg/sec.

The first saccade within a time window of -300/+500 relative to the target's appearance was considered. If directed to the target, saccades were considered correct and marked according to the latency as predictive (-300 to 70ms), express (71ms to 120ms) or normal (>120ms) (Gagnon et al., 2002). If directed to the opposite side of the target, or triggered out of the time window, a saccade was considered an error. All detected events were double-checked by the experimenter (K.L.) to avoid misclassification.

Differences in mean saccade latency, saccade type and error were tested for each group with a one-way ANOVA and Bonferroni *Post Hoc* analyses. To evaluate the effect of learning on the dependent variables, BR1Run1 and BR1Run2 were compared with paired *t*-tests.

2.6 fMRI group analyses

Since the main interest of this study was on reproducibility of behavioral and neural patterns, the mean signal change was tested by General linear model analysis with a Task as the main factor. In case of positive main effect, *Post hoc* analyses were run with Bonferroni correction. All analyses were run separately for each group and results were plotted in graphs for better pattern display.

To illustrate the pattern of signal change among the main functional regions identified in GLM analyses, Spearman's correlation analyses of time series was performed for the time series within each group. The seed-region was set in FEFI, since its activity is consistently reported by saccade generation studies (Leigh and Kennard, 2004; Munoz and Everling, 2004; Connolly et al., 2005). The interaction was tested among FEFI and ROIs located ipsi and contralaterally. The resulting correlational coefficients were finally tested for between group correlations.

3. Results

3.1 Subjects description

The groups were compared with ANOVA for gender and age differences. The main effect was found for gender [$F(2,42)=4.43$, $p=0.02$] and age [$F(2,42)=37.76$, $p=0.04$]. *Post Hoc* analyses found significant differences for gender in BR1 to all the other groups [(BR2 ($p=0.09$); GE ($p=0.02$)] and age between BR1 and GE ($p=0.01$).

3.2 Behavioral measures

In eye movement analyses, we found increased saccade latency from PRED < pPRED < tPRED < SAC in all the groups [(BR1Run1: $F(3,59)=91.19$; BR1Run2: $F(3,55)=72.45$; BR2: $F(3,51)=31.95$; GE: $F(3,59)=58.95$; all $p<0.001$]. *Post hoc* analyses showed shorter saccadic latencies in PRED compared to other conditions in all groups ($p<0.001$) and pPRED to tPRED only in groups BR1Run1 ($p=0.004$) and BR1Run2 ($p=0.019$). Shorter latencies in tPRED compared to SAC tasks did not reach statistical difference in any of the groups (Figure 2).

Figure 2. Mean saccade latency for all conditions and groups. Saccades latencies increased from PRED < pPRED < tPRED < SAC. The overall pattern was similar across the groups. Statistical significance is marked for between conditions within groups' ANOVA comparisons ($***p<0.001$; $**p<0.01$; $*p<0.05$).

Comparisons of saccade type distribution in each task, showed similar patterns across the groups. In all groups, predictive and express saccades were more frequent in PRED compared to the other conditions. Normal saccades were more frequent in SAC and tPRED relative to PRED conditions and also in SAC compared to pPRED, in all groups. Normal saccades were also more frequent in tPRED compared and pPRED but reached statistical significance only in groups BR1Run1 ($p=0.010$) and BR1Run2 ($p=0.018$).

Error rate pattern was slightly different among the groups. In all groups, error rate was highest in pPRED task, ranging between 5 to 9 percent of all the trials. In BR2 and GE, the error rate was low in other conditions, but in BR1Run1 the

difference was significant only in comparison to tPRED ($p=0.023$) and in BRRun2 only to PRED condition ($p=0.004$). Additionally, comparisons of BR1 Run1 and Run2 showed a decrease in error rate with repetition of PRED task ($t=2.22$, $p=0.045$), but no learning effect was found for saccadic latency. The results are displayed in Figure 3.

Figure 3. Saccades type distribution and error rate for each condition and group. Saccades were defined according to the latency, relative to the target onset, as: Predictive (-300 to 70ms); Express (71 to 120ms) and Normal (121 to 500ms). Error rate was calculated from saccades directed to the wrong side or those with latencies outside the time windows. Statistical significance is marked for between conditions within groups' ANOVA comparisons (** $p<0.001$; ** $p<0.01$; * $p<0.05$).

1.1 fMRI measures

Initially, the head displacement of subjects during acquisition is reported for absolute and relative means. Displacement was calculated on based on the head position at each time point relative to the previous time point (absolute mean) or to the reference image (relative mean). One-way ANOVA analyses of all the groups did not show a significant main effect neither for absolute ($F(3,58)=74.817$, $p=0.50$), nor for relative displacement ($F(3,58)=1.162$, $p=0.33$).

The activation for each task (PRED, pPRED, tPRED, SAC) relative to the Fixation is described for each experimental group. The overlay of activation for all the groups is displayed in Figure 4. The coordinates of all activated regions are described in Supplementary material (Table 1- 4).

Figure 4. Axial sections show overlays of mean group activations for each task compared with fixation baseline. In all tasks activation was found in precentral sulcus, frontal gyrus medial portion corresponding to SEF, superior parietal lobe, occipital lobe and striatum. Tasks were characterized by decrease in activation in PRED condition and increased activation with recruitment of extra areas in pPRED. Statistical images were thresholded using cluster determined by $Z\text{-voxel} > 3.4$ and (corrected) cluster significance threshold of $p = 0.05$. The MNI coordinates of all activated clusters are described in Supplementary material (Table 1).

In all tasks and groups, a pattern of similar activation was detected bilaterally at the precentral gyrus, in an area corresponding to the lateral frontal eye field (FEFI) and supplementary eye field (SEF). Bilateral activation of the superior parietal lobe (SPL) was consistently found in the posterior parts. Furthermore, extensive activation was found in the occipital lobe. Additional regions activated specifically in relation to the task vs. baseline are described below.

PRED task yielded activation in putamen bilaterally in groups BR1Run1, BR2, GE and mostly in left putamen in BR1Run2. Only in one group, BR1Run1, did the activation in visual cortex extended into MT/V5. The activation in SPL was reduced in all the groups and only in GE group was additional foci of activation found in right supramarginal gyrus and cerebellum.

The pPRED task elicited bilateral activation in the FEF extending from the lateral to medial and ventral (VPC) portion of precentral gyrus. Additionally, dorsolateral pre-frontal cortex (DLPFC) and anterior insula were largely activated in BR1Run1, GE and to smaller extent in BR1Run2, BR2. Bilateral activation of IPS involved its anterior segment and extended further into parietal-insular vestibular cortex (PIVC). Furthermore, activation of bilateral area MT/V5, putamen, thalamus and cerebellum was also present.

tPRED and SAC tasks yielded a similar pattern of activation with additional foci in medial FEF and in a more anterior part of the IPS. Activation was also detected in the bilateral putamen in the tPRED task and to lesser extent in the SAC task (groups BR1Run1 and GE). Most groups activated area MT/V5 bilaterally in the SAC task but not in the tPRED task. In both tasks, only GE activated right PIVC. Cerebellum activation was found left in BR1Run1 and right in GE and was elicited mainly by SAC task.

1.2 Analyses of activation pattern across tasks and groups

Repeated measures GLM analysis showed a main task effect in the FEF_I, FEF_m, SEF, IPS_a, SPL, putamen and cerebellum.

For all the groups, the signal reached its peak in FEF_I, SEF and cerebellum during the pPRED task and decreased significantly while the PRED task was performed. In putamen and PIVC, a similar pattern was found in the three groups except BR1Run2, indicating a possible influence of repetition of the task on these regions activation.

In the parietal regions and FEF_m, the signal decreased in PRED compared to the other tasks activation. Additionally, in GE group SPL showed peak activation in tPRED task decreasing or keeping constant in pPRED and SAC.

For other regions, no consistent pattern of signal change along the tasks and groups was observed. In MT/V5 and OL the main effect was consistently found for all the tasks only in BR2. The mean signal change is described in Figure 5 and Table 1

Figure 5 and Table 1. Mean BOLD signal change. The signal change and standard deviation from the main Regions of Interest for all groups and tasks: a) *PRED*; b) *pPRED*; c) *tPRED*; d) *SAC*. Repeated measures ANOVA for within group analyses are reported in Table 1 with F value the task effect, p -value and *Post Hoc* interactions with * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

The correlations of the signal change in FEF1 to the ipsi and contra lateral ROIs were tested between groups with Spearman analyses. Two conditions, PRED and tPRED showed high correlation among all groups. In pPRED, correlation was found between BR1Run1 - BR1Run2 and BR1Run1 – BR2, but not for BR – GE. In SAC condition, all groups showed correlations, except BR1Run1-GE. The results are described in Table 2.

Table 2. Between groups Spearman correlation (*R*) and significance level for functional connectivity of seed region placed in FEF1 with other consistently activated regions ipsi and contralateral: SEF, FEFm, anterior IPS, SPL, medial temporal/V5, parieto-insular vestibular cortex, occipital lobe, putamen and cerebellum.

Groups	PRED		pPRED		tPRED		SAC	
	<i>R</i>	<i>p</i>	<i>R</i>	<i>p</i>	<i>R</i>	<i>p</i>	<i>R</i>	<i>p</i>
BR1Run1-BR1Run2	0.452	0.006	0.559	<0.001	0.526	0.001	0.416	0.012
BR1Run1-BR2	0.566	<0.001	0.390	0.019	0.467	0.004	0.438	0.007
BR1Run1-GE	0.341	0.042	0.137	0.425	0.473	0.004	0.158	0.356
BR2-GE	0.384	0.021	0.318	0.059	0.530	<0.001	0.557	<0.001

4. Discussion

In this study, predictive eye tracking tasks were replicated in different groups from two countries. We found similar patterns of eye movements and neural activation demonstrating good reproducibility, when stimulus variables are kept constant, regardless of subject group, MR scanner type and eye-tracking system.

4.1 Behavioral measures

Advanced knowledge of timing and stimulus position decreased saccadic latency and this pattern was consistently found in all groups. The benefit of advanced information on saccade latency was also reported by other studies (Gagnon et al., 2002; Konen et al., 2004; Hutton, 2008). The overall pattern of saccade type distribution was similar among the groups. Predictive saccades were more frequently executed in PRED task and a higher proportion of normal saccades was found in tPRED and SAC conditions. Gagnon and collaborators (2002), using tasks with predictable saccades in an fMRI setting, reported a similar distribution of saccade types along the conditions. They found a higher number of predictive and express saccades in PRED and pPRED tasks relative to conditions with timing knowledge only or no advanced information available.

It is important to note that the similarity reported by our study refers to the pattern of saccade latency and type generated by the tasks' conditions and does not apply to direct comparisons of mean latencies among the groups. Saccade latencies

found in this study varied slightly among the groups and were substantially longer compared to the other studies with similar paradigms (Gagnon et al., 2002; Konen et al., 2004). A variability can be attributed to a different Interstimulus Interval (ISI) and to variation of reaction time of each subject (Joiner and Shelhamer, 2006).

All groups showed higher error rates (6 to 9%) in pPRED compared to the other tasks. In pPRED tasks, the subjects performed saccades between two known positions and the errors were mainly anticipated saccades with latencies below -300ms. The error rate in other tasks varied among the groups, but in all of them it was lower than 5%. Other studies reported between 7 to 8% of errors although different tasks and saccades classification make comparisons difficult (Grosbras et al., 2001; Konen et al., 2004).

Differences were found among groups regarding age and gender. We argue that these inhomogeneities had no impact on the data, since eye tracking study found stable reflexive saccadic latency for age between 20 to 30 (Fischer et al., 1997; Irving et al., 2006) and no gender effect was found in teenage performance (Salman et al., 2006).

4.2 fMRI measures

A pattern of hemodynamic brain response was common to all tasks and groups: fronto-parietal cortex, specifically the FEF lateral, SEF, SPL, OL and basal ganglia showed overlapping activation among the experimental groups. These areas are consistently reported by other studies and compose a basic neuronal circuitry associated with saccades generation (Leigh and Kennard, 2004; Sweeney et al., 2007; McDowell et al., 2008). The activation pattern changed, as additional neural regions were recruited in function of different predictability conditions. The results are discussed below.

In the PRED task with advance knowledge of stimuli timing and position, the neural activity in the medial FEF and parietal cortex decreased compared to the other tasks and stable activity was found in the SEF, FEFI, visual cortex and putamen. This pattern was consistent in all the groups and was yet more evident in replication of the task in BR1 Run2 compared to Run1. In the replication of the run, we found further activation decrease in the parietal cortex, putamen and sustained activation in FEFI and SEF. Based on these results, we argue that reduced fronto-occipito-striatal activation reflects internally generated predictive behavior and is consistently found among different subjects. Differences, such as the increase in activation of fronto-parietal circuits found in other studies, may be attributed to methodological variations of stimulus presentation. From our point of view, this applies especially to longer ISI which require the withholding of an upcoming saccade up to the target onset. This can consequently lead to build up activation in the saccade generation system. Longer ISI may also result in additional recruitment of a region involved in an inhibitory function (Gagnon et al., 2002; Floyer-Lea and Matthews, 2004; Simó et al., 2005; Herdman and Ryan, 2007).

In the position predictable task, the pattern was characterized by an overall increase in neural activity in all groups. Activation was consistently found in the SEF, lateral and medial FEF, parietal cortex, PIVC, anterior insula, visual cortex, putamen, thalamus and cerebellum. We also found activation in the ventrolateral premotor cortex (VPC) and DLPFC, although not consistently in all the groups. A similar activation pattern was found in the study of Konen and collaborators (2004). Their predictable task, similar to our pPRED, generated enhanced activity in the FEF, SEF, VPC, DLPFC, IPS, precuneus, anterior insula and striatum, when

compared to the fixation task. Our results indicate the complexity of timing factor that determines saccade release or error monitoring may be responsible for larger activation and recruitment of additional neural regions. Variation in activation pattern among subjects can be thus expected especially in frontal lobes.

In tPRED and SAC, saccades produced a similar behavioral and neural pattern. Basic saccade generation circuitry comprising the SEF, lateral and medial FEF, SPL, visual cortex and putamen were activated in these tasks in all groups. This pattern is more characteristic of reflexive saccade generation and has been described in other studies (Sweeney et al., 2007; Curtis and Connolly, 2008; Nagel et al., 2008; Petit et al., 2009).

The signal change in the main regions of interest was similar among the groups and was task dependent. The predictive task with advanced position knowledge but reduced external monitoring of target (PRED task) elicited a decrease in overall activation in the FEFm and oculomotor areas in parietal cortex. On the other hand, advanced knowledge of the target incoming position dependent on external monitoring (pPRED task), resulted in an increased signal in these regions together with a higher signal in SEF. These results are in accordance with other studies that show an increase in preparatory activity related to sensory motor transformation of planned saccades and an increase in the attention required for the top-down processing (Grosbras et al., 2001; Ford et al., 2005; Medendorp et al., 2006). Konen et al (2004) manipulated properties of the saccadic eye movement generation task and identified task specific regions in IPS separating the regions in its posterior segment more related to goal-directed eye-movements and its more anterior part involved in the attention processing of the fine tuning of saccades.

Functional correlation of FEFm with the other main ROIs areas showed similar patterns among all the groups in conditions PRED and tPRED. In pPRED and SAC, we also noted the same pattern, mainly between BR groups but not for BR and GE groups. A closer inspection of the group functional connectivity pattern showed between-group differences in fronto-parietal connectivity. While the GE group showed higher interaction between the FEFm and anterior part of IPS, in BR the connection was with the posterior part of SPL. Considering that the mean signal changes were similar for the regions among the groups, these differences are possibly related to a variation in the temporal course of the BOLD signal within the blocks. Further studies are necessary to elucidate this question.

4.1 Conclusions

The populations from which our two samples were drawn are different. Moreover, the data were collected in different MR scanner models and different general environmental settings. From multi-site reliability studies, it is known that a between-site factor compared to a between-subject factor is responsible for smaller proportion of the total variation in the signal change (Costafreda et al., 2007; Friedman et al., 2008). For comparisons of outcomes from different studies there is a need for paradigms that generate robust activation (Brown et al., 2011). The results of this study suggest that saccade generation tasks produce activation pattern independent of the setting and are a good candidate for multi-site studies investigating different models of cognitive control. Also, we believe that the source of variation in activated circuitry found in fMRI saccade studies is not instrumentation or population dependent, but rather, experimental setup or task demand dependent.

In conclusion, this study showed that patterns of eye movements and neural activation produced by saccade generation tasks are reproducible when the task properties are kept constant and the behavior is carefully on-line monitored. These results indicate that oculomotor tasks may produce robust task dependent activations suitable for multi-site cross-population studies considering that other variables related to quality of signal acquisition are accounted for. Further studies are encouraged to investigate whether this study design can lead to replication of activation pattern in different tasks.

5. Acknowledgements:

This work was supported by a joint grant from CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) and DAAD (Deutscher Akademischer Austausch Dienst). The authors are also grateful to FAPESP-Brazil for financial support and to Carlos Alberto Melo Moraes and Antonio Cesario Monteiro da Cruz Junior for technical support.

Anexo B Carta da aprovação do projeto pela Comissão de Ética **APROVAÇÃO**

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 25/06/2008, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **0279/08**, intitulado: "**MOVIMENTO OCULAR EM CRIANÇAS E ADULTOS: ESTUDO COMPARATIVO COM USO INTEGRADO DE RMF E EYE TRACKING.**" apresentado pelo Departamento de **RADIOLOGIA E RADIOTERAPIA**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: **Prof. Dr. Edson Amaro Júnior**

Pesquisador (a) Executante: **Katerina Lukasova**

CAPPesq, 27 de Junho de 2008

Prof. Dr. Eduardo Massad
Presidente da Comissão de
Ética para Análise de Projetos
de Pesquisa

Anexo C Questionário para Critério de Classificação Econômica Brasil

Questionário para classificação sócio-econômica

a) Instrução do chefe da família

- ___ analfabeto / primário completo
 ___ primário completo / ginásial incompleto
 ___ ginásial completo / colegial incompleto
 ___ colegial completo / superior incompleto
 ___ superior completo

b) Itens de conforto familiar - critério ABA

Itens de posse	Não tem ☐	Quantidade possuída					
		1	2	3	4	5	6 e+
televisor							
rádio (excluindo o do carro)							
banheiro							
automóvel							
empregada mensalista							
aspirador de pó							
máquina de lavar roupa							

c) Itens de conforto Familiar - critério ABIPENE

Itens de posse	Não tem ☐	Quantidade possuída					
		1	2	3	4	5	6 e+
automóvel							
televisor em cores							
rádio (excluindo o do carro)							
banheiro							
empregada mensalista							
aspirador de pó							
máquina de lavar roupa							
vídeo cassete ou DVD							
geladeira comum ou c/ freezer							

Anexo D Inventário de Edinburgo

Questionário de Lateralidade

Indique a preferência do uso das mãos nas seguintes atividades, colocando + na coluna apropriada.

Se você usa esta mão na maioria das vezes, mas algumas vezes pode usar a outra mão, assinale apenas uma +.

Se você utilizar sempre esta mão, assinale ++. Ou seja, marque ++ se você utiliza a outra mão somente se for forçado.

Se não houver preferência por qualquer uma das mãos, assinale + nas duas colunas.

Algumas atividades requerem as duas mãos, neste caso, a questão é em relação à parte da atividade explicitada entre parênteses.

Tente responder todas as questões e somente deixe em branco caso você não tenha absolutamente nenhuma experiência com o objeto da tarefa descrita.

		Direita	Esquerda
1	Escrever		
2	Desenhar		
3	Arremessar		
4	Tesoura		
5	Escova de dente		
6	Faca (sem garfo)		
7	Colher / garfo		
8	Vassoura		
9	Acender um fósforo		
10	Abrir uma caixa (tampa)		
11	Qual o pé você usa para chutar?		
12	Qual o olho você usa, se forçado a usar somente um?		

I.L.

Decil

Anexo E Escala analógica de Humor (EAH)

V A M S - P R E

INSTRUÇÕES: Avalie como você se sente agora em relação aos itens abaixo e marque cada linha com um traço vertical no ponto que melhor descreve seus sentimentos. O centro de cada linha indica como você habitualmente se encontra e as extremidades indicam o máximo de cada condição.

ALERTA	_____	SONOLENTO
CALMO	_____	AGITADO
FORTE	_____	FRACO
CONFUSO	_____	COM IDÉIAS CLARAS
ÁGIL	_____	DESAJEITADO
APÁTICO	_____	DINÂMICO
SATISFEITO	_____	INSATISFEITO
PREOCUPADO	_____	TRANQUILO
RACIOCÍNIO DIFÍCIL	_____	PERSPICAZ
TENSO	_____	RELAXADO
ATENTO	_____	DISTRAÍDO
INCAPAZ	_____	CAPAZ
ALEGRE	_____	TRISTE
HOSTIL	_____	AMISTOSO
INTERESSADO	_____	DESINTERESSA DO
RETRAÍDO	_____	SOCIÁVEL

Anexo F Entrevista Pós-exame de Ressonância Magnética funcional**ENTREVISTA PÓS-EXAME RMF**

1. Como você se sentiu de uma forma geral?

2. Você voltaria para fazer o exame?

Tempo de resposta () < 2 seg () > 2 seg

3. Qual tarefa achou mais difícil de fazer?

4. Viu os estímulos claramente?

5. Teve alguma coisa que o incomodou durante o exame?

6. Sentiu dor ou sensação desconfortável pela posição? Pontuar de 0 a 10.

7. Dê uma nota de 0 (ruim) a 10 (excelente) para a sua impressão do exame.

Entrevistador(a): _____

Anexo G Rosto da Carta do Consentimento Livre e Esclarecido

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO: Nº: APTO:
BAIRRO: CIDADE:
CEP: TELEFONE: DDD (.....)
2. RESPONSÁVEL LEGAL
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.):
DOCUMENTO DE IDENTIDADE: SEXO: M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO: Nº: APTO:
BAIRRO: CIDADE:
CEP: TELEFONE: DDD (.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA:
MOVIMENTO OCULAR EM CRIANÇAS E ADULTOS: ESTUDO COMPARATIVO COM USO INTEGRADO DE RMF E EYE TRACKING
- PESQUISADOR: Prof. Dr. Edson Amaro Júnior
CARGO/FUNÇÃO: Médico Assistente INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 78604
UNIDADE DO HCFMUSP: Radiologia e Radioterapia
3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:
RISCO MÍNIMO ☒	RISCO MÉDIO ☐
RISCO BAIXO ☐	RISCO MAIOR ☐
4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 24 meses

Anexo H Comparação de movimento de cabeça durante a aquisição de RMf em crianças e adultos

Na comparação de grupos distintos como adultos e crianças é importante que se mantenha controle das variáveis que podem introduzir artefatos nas imagens de ativação, tais como movimento da cabeça. Para avaliar o deslocamento médio da cabeça em ambos os grupos, foi feita comparação do movimento absoluto e relativo. O movimento absoluto é o deslocamento médio de todos os volumes adquiridos ao longo da coleta em relação ao volume de referencia. No programa FSL, o volume de referencia é o volume da metade da aquisição ($\Sigma_n/2$). O deslocamento relativo é deslocamento do volume x_n em relação ao volume y_{n-1} .

A comparação de grupos do movimento absoluto e relativo por meio do teste t das amostras independentes mostrou diferença significativa para o movimento absoluto, sendo que as crianças realizaram mais movimento absoluto do que adultos ($t=4,96$, $p<0,001$) na aquisição 1 e 2 ($t=3,07$, $p<0,01$). Não foi encontrada diferença significativa para deslocamento relativo em nenhuma das comparações ($p>0,05$). Os valores referentes ao movimento estão descritos na Figura 1.

Figura 1. Valores médios e desvio padrão de deslocamento de cabeça de crianças e adultos durante a aquisição de MRf. Comparação de deslocamento absoluto e relativo na primeira (Absoluto 1; Relativo 1) e segunda (Absoluto 2; Relativo 2) aquisição mostrou diferença, com maior movimento em crianças no deslocamento absoluto ($p < 0.05$).

Anexo I.1 Imagens de crianças na condição Previsível > Linha de base

Figura 2. Contraste da condição P em relação à linha de base. Imagens resultantes de análise de grupo de crianças (N=14) baseada em cluster determinado pelo $Z > 2,3$ e corrigido pelo nível de significância $p < 0,05$

Tabela 1 - Regiões com ativação máxima de crianças na condição P em relação à linha de base

REGIÃO CEREBRAL	LADO	BA	TAM	Z	MNI		
					X	Y	Z
Pólo occipital (V1, V2)	D/L	17/18	4638	5,06	16	-92	-22
Cerebelo	D/L	-	*	*	6	-70	-24
Giro reto	D/L	11	992	3,69	4	52	-18
Córtex frontal basal	D/L	10	*	*	4	62	-16
Giro pré-central (CVF)	D	6	522	3,96	50	0	44

* - ativação com extensão do cluster anterior

BA – área de Brodmann

TAM – tamanho do cluster com efeito BOLD em *voxels*

Z – nível de significância estatística do estimando do efeito BOLD do determinado *cluster*

MNI – coordenadas nos eixos X, Y e Z no espaço definido pelo Atlas de *Montreal Neurological Institute* (Mazziotta et. al., 2001)

Anexo I.2 Imagens de crianças na condição Posição previsível > Linha de base

Figura 3. Contraste da condição PP em relação à linha de base. Imagens resultantes de análise de grupo de crianças (N=14) baseada em cluster determinado pelo $Z > 2,3$ e corrigido pelo nível de significância $p < 0,05$

Tabela 2 - Regiões com ativação máxima de crianças na condição PP em relação à linha de base

REGIÃO CEREBRAL	LADO	BA	TAM	Z	MNI		
					X	Y	Z
Pólo occipital (V1, V2)	D/L	17/18	4424	5,14	18	-88	-4
Cerebelo	D/L	-	*	*	0	-74	-26
Giro frontal superior (CVS)	D/L	8	3606	5,30	8	4	5.3
Giro pré-central (CVF)	D/L	6	*	*	40	-6	50
Junção temporo-parieto-occipital	D	40	2118	4,20	56	-36	18
Lobo temporal posterior	D/L	39	814	4,28	50	-52	12
Córtex occipital lateral (V5)	D	19	*	*	46	-74	0
Tronco encefálico	D/L	-	750	3,81	6	-24	-6
Núcleo estriado	D/L	-	*	*	16	-8	2

* - ativação com extensão do cluster anterior

BA – área de Brodmann

TAM – tamanho do cluster com efeito BOLD em *voxels*

Z – nível de significância estatística do estimando do efeito BOLD do determinado *cluster*

MNI – coordenadas nos eixos X, Y e Z no espaço definido pelo Atlas de *Montreal Neurological Institute* (Mazziotta et. al., 2001)

Anexo I.3 Imagens de crianças na condição Tempo previsível > Linha de base

Figura 4. Contraste da condição TP em relação à linha de base. Imagens resultantes de análise de grupo de crianças (N=14) baseada em cluster determinado pelo $Z > 2,3$ e corrigido pelo nível de significância $p < 0,05$.

Tabela 3 - Regiões com ativação máxima de crianças na condição I em relação à linha de base

REGIÃO CEREBRAL	LADO	BA	TAM	Z	MNI		
					X	Y	Z
Pólo occipital (V1, V2)	D/L	17/18	15392	5,19	18	-88	5.19
Cerebelo	D/L	-	*	*	0	-74	-26
Giro pré-central (CVF)	D/L	6	11531	5,13	42	4	56
Giro do cíngulo anterior	D/L	24	*	*	6	46	167
Giro orbitofrontal	D/L	10	*	*	4	62	-16
Área septal/ região sublentiforme	D/L	25	1270	4,11	18	8	-16
Núcleo estriado	D/L	-	*	*	20	8	4
Giro temporal médio	D/L	21	625	4,34	64	-38	-18
Junção temporo-parieto-occipital	D	40	*	*	56	-36	18
Lóbulo parietal superior	D/L	7	*	*	10	-68	54

* - ativação com extensão do cluster anterior

BA – área de Brodmann

TAM – tamanho do cluster com efeito BOLD em *voxels*

Z – nível de significância estatística do estimando do efeito BOLD do determinado *cluster*

MNI – coordenadas nos eixos X, Y e Z no espaço definido pelo Atlas de *Montreal Neurological Institute* (Mazziotta et. al., 2001)

Anexo I.4 Imagens de crianças na condição Imprevisível > Linha de base

Figura 5. Contraste da condição Imprevisível em relação à linha de base. Imagens resultantes de análise de grupo de crianças (N=14) baseada em cluster determinado pelo $Z > 2,3$ e corrigido pelo nível de significância $p < 0,05$.

Tabela 4 - Regiões com ativação máxima de crianças na condição I em relação à linha de base

REGIÃO CEREBRAL	LADO	BA	TAM	Z	MNI		
					X	Y	Z
Pólo occipital (V1, V2)	D/L	17/18	2692	4,36	18	-92	-4
Cerebelo	D/L	-	*	*	6	-70	-24
Giro pré-central/Giro frontal médio	D	6	537	3,81	40	0	42

* - ativação com extensão do cluster anterior

BA – área de Brodmann

TAM – tamanho do cluster com efeito BOLD em *voxels*

Z – nível de significância estatística do estimando do efeito BOLD do determinado *cluster*

MNI – coordenadas nos eixos X, Y e Z no espaço definido pelo Atlas de *Montreal Neurological Institute* (Mazziotta et. al., 2001)

Anexo J.1 Imagens de adultos na condição Previsível > Linha de base

Figura 6. Contraste da condição P em relação à linha de base. Imagens resultantes de análise de grupo de adultos (N=14) baseada em cluster determinado pelo $Z > 2,3$ e corrigido pelo nível de significância $p < 0,05$

Tabela 5 - Regiões com ativação máxima de adultos na condição P em relação à linha de base

REGIÃO CEREBRAL	LADO	BA	TAM	Z	MNI		
					X	Y	Z
Pólo occipital (V1, V2)	D/L	17/18	13940	6,02	8	-90	-8
Cerebelo	D/L	-	*	*	30	-72	-26
Córtex occipital lateral (V5)	D/L	19	*	*	46	-72	-4
Junção temporo-parieto-occipital	D/L	40	*	*	60	-46	26
Núcleos da base	D/L	-	12760	5,35	22	6	4
Ínsula anterior	D/L	13	*	*	36	16	2
Lóbulo parietal superior	D/L	7	2772	5,42	36	-58	56
Lóbulo parietal inferior	D/L	7	*	*	48	-48	48
Giro frontal superior (CVS)	D/L	8	*	*	8	4	5.3
Giro pré-central (CVF)	D/L	6	*	*	40	-6	50

* - ativação com extensão do cluster anterior

BA – área de Brodmann

TAM – tamanho do cluster com efeito BOLD em *voxels*

Z – nível de significância estatística do estimando do efeito BOLD do determinado *cluster*

MNI – coordenadas nos eixos X, Y e Z no espaço definido pelo Atlas de *Montreal Neurological Institute* (Mazziotta et. al., 2001)

Anexo J.2 Imagens de adultos na condição Posição previsível > Linha de base

Figura 7. Contraste da condição PP em relação à linha de base. Imagens resultantes de análise de grupo de adultos (N=14) baseada em cluster determinado pelo $Z > 2,3$ e corrigido pelo nível de significância $p < 0,05$

Tabela 6 - Regiões com ativação máxima de adultos na condição PP em relação à linha de base

REGIÃO CEREBRAL	LADO	BA	TAM	Z	MNI		
					X	Y	Z
Giro pré-central (CVF)	D/L	6	69415	5,8	50	-4	42
Giro frontal superior (CVS)	D/L	10	*	*	2	1	52
Giro frontal superior anterior (pré-CVS)	D/L	8/9	*	*	2	38	38
Giro frontal inferior	D/L	45	*	*	48	14	20
Giro frontal superior lateral	D/L	8/9	*	*	30	52	20
Giro orbitofrontal	D/L	10	*	*	30	44	-16
Área septal/ região sublentiforme	D/L	25	*	*	24	8	-16
Insula anterior	D/L	13	*	*	36	16	2
Núcleos da base	D/L	-	*	*	22	6	4
Tronco encefálico/tálamo	D/L	-	*	*	6	-24	-6
Pólo occipital (V1, V2)	D/L	17/18	*	*	8	-90	-8
Cerebelo	D/L	-	*	*	30	-72	-26
Córtex occipital lateral (V5)	D/L	39	*	*	46	-72	-4
Junção temporo-parieto-occipital	D	11	*	*	60	-46	26
Lóbulo parietal superior	D/L	7	2772	5,42	36	-58	56

Lóbulo parietal inferior	D/L	40	*	*	48	-48	48
Giro temporal inferior	D/L	20	*	*	52	-26	-12

* - ativação com extensão do cluster anterior

BA – área de Brodmann

TAM – tamanho do cluster com efeito BOLD em *voxels*

Z – nível de significância estatística do estimando do efeito BOLD do determinado *cluster*

MNI – coordenadas nos eixos X, Y e Z no espaço definido pelo Atlas de *Montreal Neurological Institute* (Mazziotta et. al., 2001)

Anexo J.3. Imagens de adultos na condição Tempo previsível > Linha de base

Figura 8. Contraste da condição TP em relação à linha de base. Imagens resultantes de análise de grupo de adultos (N=14) baseada em cluster determinado pelo $Z > 2,3$ e corrigido pelo nível de significância $p < 0,05$.

Tabela 7 - Regiões com ativação máxima de adultos na condição TP em relação à linha de base

REGIÃO CEREBRAL	LADO	BA	TAM	Z	MNI		
					X	Y	Z
Pólo occipital (V1, V2)	D/L	17/18	14019	5,83	10	-92	-8
Cerebelo	D/L	-	*	*	14	-78	-22
Giro pré-central (CVF)	D/L	6	7682	4,88	38	-6	42
Giro frontal superior (CVS)	D/L	8	*	*	2	1	52
Giro frontal inferior	D	45	*	*	54	2	24
Giro do cíngulo anterior	D/L	24	*	*	10	10	40
Córtex occipital lateral (V5)	D/L	19	761	4,65	48	-76	-4
Junção temporo-parieto-occipital	D	39	*	*	58	-42	18
Lóbulo parietal superior	D/L	7	*	*	22	-68	48
Lóbulo parietal inferior	D/L	39	*	*	48	-48	48
Núcleos da base	D/L	-	706	4,45	22	-2	10
Insula anterior	D	13	*	*	36	24	-2

* - ativação com extensão do cluster anterior

BA – área de Brodmann

TAM – tamanho do cluster com efeito BOLD em *voxels*

Z – nível de significância estatística do estimando do efeito BOLD do determinado *cluster*

MNI – coordenadas nos eixos X, Y e Z no espaço definido pelo Atlas de *Montreal Neurological Institute* (Mazziotta et. al., 2001)

Anexo J.4 Imagens de adultos na condição Imprevisível > Linha de base

Figura 9. Contraste da condição I em relação à linha de base. Imagens resultantes de análise de grupo de adultos (N=14) baseada em cluster determinado pelo $Z > 2,3$ e corrigido pelo nível de significância $p < 0,05$

Tabela 8 - Regiões com ativação máxima de adultos na condição I em relação à linha de base

REGIÃO CEREBRAL	LADO	BA	TAM	Z	MNI		
					X	Y	Z
Pólo occipital (V1, V2)	D/L	17/18	11297	5,83	10	-90	-8
Cerebelo	D/L	-	*	*	28	-66	-32
Giro pré-central (CVF)	D/L	6	6446	5,44	48	2	46
Giro frontal superior (CVS)	D/L	8	*	*	4	8	46
Giro frontal inferior	D	45	*	*	54	2	24
Giro do cíngulo anterior	D/L	24	*	*	8	14	40
Córtex occipital lateral (V5)	D/L	19	2056	4,72	48	-74	0
Lóbulo parietal superior	D/L	7	*	*	22	-64	56
Lóbulo parietal inferior	D/L	39	*	*	32	-52	46
Núcleos da base	D/L	-	814	4,26	22	6	6
Insula anterior	D	13	*	*	38	18	6

* - ativação com extensão do cluster anterior

BA – área de Brodmann

TAM – tamanho do cluster com efeito BOLD em *voxels*

Z – nível de significância estatística do estimando do efeito BOLD do determinado *cluster*

MNI – coordenadas nos eixos X, Y e Z no espaço definido pelo Atlas de *Montreal Neurological Institute* (Mazziotta et. al., 2001)

Anexo K.1 Imagens de crianças > adultos na condição Previsível

Figura 10. Contraste da condição P, comparação entre crianças > adultos. Imagens resultantes de análise de grupo de adultos (N=14) baseada em cluster determinado pelo $Z > 2,3$ e corrigido pelo nível de significância $p < 0,05$

Tabela 9 - Regiões com ativação máxima na contraste de crianças > adultos na condição P

REGIÃO CEREBRAL	LADO	BA	TAM	Z	MNI		
					X	Y	Z
Giro do cíngulo posterior	D/L	6	1140	3,55	0	-56	36
Pré-cúneo	D/L	7	*	*	0	-64	40
Giro do cíngulo anterior	D/L	24	783	3,44	6	44	-6
Córtex frontal superior medial	D/L	10	*	*	0	62	-10

* - ativação com extensão do cluster anterior

BA – área de Brodmann

TAM – tamanho do cluster com efeito BOLD em *voxels*

Z – nível de significância estatística do estimando do efeito BOLD do determinado *cluster*

MNI – coordenadas nos eixos X, Y e Z no espaço definido pelo Atlas de *Montreal Neurological Institute* (Mazziotta et. al., 2001)

Anexo K.2 Imagens de crianças > adultos na condição Tempo previsível

Figura 11. Contraste da condição TP, comparação entre crianças > adultos. Imagens resultantes de análise de grupo de adultos (N=14) baseada em cluster determinado pelo $Z > 2,3$ e corrigido pelo nível de significância $p < 0,05$

Tabela 10 - Regiões com ativação máxima na contraste de crianças > adultos na condição TP

REGIÃO CEREBRAL	LADO	BA	TAM	Z	MNI		
					X	Y	Z
Giro do cíngulo anterior	L	24	4600	3,79	10	40	24
Giro frontal superior medial	D/L	6	*	*	0	62	2
Giro do cíngulo posterior	D/L	23	3360	4,23	6	-38	42
Pré-cúneo	D/L	7	*	*	0	-64	34
Giro temporal inferior	D/L	20	2798	4,22	66	-38	-18
Lóbulo parietal inferior	D/L	40	1897	3,90	50	-70	26

* - ativação com extensão do cluster anterior

BA – área de Brodmann

TAM – tamanho do cluster com efeito BOLD em voxels

Z – nível de significância estatística do estimando do efeito BOLD do determinado cluster

MNI – coordenadas nos eixos X, Y e Z no espaço definido pelo Atlas de *Montreal Neurological Institute* (Mazziotta et. al., 2001)

Anexo K.3 Imagens de crianças > adultos na condição Imprevisível

Figura 12. Contraste da condição I, comparação entre crianças > adultos. Imagens resultantes de análise de grupo de adultos (N=14) baseada em cluster determinado pelo $Z > 2,3$ e corrigido pelo nível de significância $p < 0,05$

Tabela 11 - Regiões com ativação máxima na contraste de crianças > adultos na condição I

REGIÃO CEREBRAL	LADO	BA	TAM	Z	MNI		
					X	Y	Z
Giro do cíngulo posterior	D/L	23	934	3,51	6	-48	36

* - ativação com extensão do cluster anterior

BA – área de Brodmann

TAM – tamanho do cluster com efeito BOLD em *voxels*

Z – nível de significância estatística do estimando do efeito BOLD do determinado *cluster*

MNI – coordenadas nos eixos X, Y e Z no espaço definido pelo Atlas de *Montreal Neurological Institute* (Mazziotta et. al., 2001)

Anexo L.1 Imagens de adultos > crianças na condição Previsível

Figura 13. Contraste de adultos > crianças na condição P. Imagens resultantes de análise de grupo de adultos (N=14) baseada em cluster determinado pelo $Z > 2,3$ e corrigido pelo nível de significância $p < 0,05$

Tabela 12 - Regiões com ativação máxima na contraste de adultos > crianças na condição P

REGIÃO CEREBRAL	LADO	BA	TAM	Z	MNI		
					X	Y	Z
Córtex Occipital Lateral (V5)	D/L	19	2056	4,72	48	-74	0
Giro lingual	L	18	1691	4,03	14	-66	2
Giro frontal inferior	D/L	45	1669	4,19	62	4	26
Giro pré-central (CVF)	D/L	6	*	*	62	2	30
Giro frontal superior (CVS)	D/L	8	*	*	4	8	46
Lóbulo parietal inferior	L	40	1192	3,69	48	-42	54
Lóbulo parietal superior	D/L	7	814	4,21	26	-64	56
Putame	D	-	520	2,32	4	6	24

* - ativação com extensão do cluster anterior

BA – área de Brodmann

TAM – tamanho do cluster com efeito BOLD em *voxels*

Z – nível de significância estatística do estimando do efeito BOLD do determinado *cluster*

MNI – coordenadas nos eixos X, Y e Z no espaço definido pelo Atlas de *Montreal Neurological Institute* (Mazziotta et. al., 2001)

Anexo L.2 Imagens de adultos > crianças na condição Posição previsível

Figura 14. Contraste de adultos > crianças na condição PP. Imagens resultantes de análise de grupo de adultos (N=14) baseada em cluster determinado pelo $Z > 2,3$ e corrigido pelo nível de significância $p < 0,05$.

Tabela 13 - Regiões com ativação máxima na contraste de adultos > crianças na condição PP

REGIÃO CEREBRAL	LADO	BA	TAM	Z	MNI		
					X	Y	Z
Giro pré-central (CVF)	D/L	6	34692	4,7	62	2	30
Giro frontal superior (CVS)	D/L	8	*	*	4	8	46
Giro frontal inferior	D/L	45	*	*	54	2	24
Núcleos da base	D/L	-	*	*	22	6	6
Insula anterior	D/L	13	*	*	40	20	0
Cerebelo	D/L	-	*	*	28	-66	-32
Córtex occipital lateral (V5)	D/L	19	*	*	48	-74	0
Lóbulo parietal superior	D/L	7	*	*	32	-58	56
Cúneo	D/L	18/19	*	*	12	-88	22
Lóbulo parietal inferior	D/L	40	*	*	44	-34	38

* - ativação com extensão do cluster anterior

BA – área de Brodmann

TAM – tamanho do cluster com efeito BOLD em voxels

Z – nível de significância estatística do estimando do efeito BOLD do determinado cluster

MNI – coordenadas nos eixos X, Y e Z no espaço definido pelo Atlas de *Montreal Neurological Institute* (Mazziotta et. al., 2001)

Anexo L.3 Imagens de adultos > crianças na condição Tempo previsível

Figura 15. Contraste de adultos > crianças na condição Tempo previsível. Imagens resultantes de análise de grupo de adultos (N=14) baseada em cluster determinado pelo $Z > 2,3$ e corrigido pelo nível de significância $p < 0,05$

Tabela 14 - Regiões com ativação máxima no contraste de adultos > crianças na condição TP

REGIÃO CEREBRAL	LADO	BA	TAM	Z	MNI		
					X	Y	Z
Giro pré-central (CVF)	L	6	492	3,41	46	-4	42
Córtex occipital lateral (V5)	D	19	468	3,13	28	-74	28

* - ativação com extensão do cluster anterior

BA – área de Brodmann

TAM – tamanho do cluster com efeito BOLD em *voxels*

Z – nível de significância estatística do estimando do efeito BOLD do determinado *cluster*

MNI – coordenadas nos eixos X, Y e Z no espaço definido pelo Atlas de *Montreal Neurological Institute* (Mazziotta et. al., 2001)

Anexo L.4 Imagens de adultos > crianças na condição Imprevisível

Figura 16. Contraste de adultos > crianças na condição Imprevisível. Imagens resultantes de análise de grupo de adultos (N=14) baseada em cluster determinado pelo $Z > 2,3$ e corrigido pelo nível de significância $p < 0,05$

Tabela 15 - Regiões com ativação máxima no contraste de adultos > crianças na condição I

REGIÃO CEREBRAL	LADO	BA	TAM	Z	MNI		
					X	Y	Z
Giro pré-central (CVF)	L	6	2607	4,12	48	-4	42
Giro frontal superior (CVS)	D/L	8	*	*	6	6	46
Pólo occipital (V1, V2)	D/L	17/18	2095	4,06	30	-62	-6
Cerebelo	D/L	-	*	*	34	-60	-26
Lóbulo parietal inferior	D/L	40	1229	3,67	36	-46	50
Córtex occipital lateral (V5)	D/L	19	1293	3,93	42	-82	8
Lóbulo parietal superior	D/L	7	1001	3,98	26	-66	54
Núcleos da base	D/L	-	819	3,51	20	4	6
Giro frontal inferior	D/L	45	524	3,21	8	24	64
Giro do cíngulo anterior	D/L	24	*	*	8	18	38

* - ativação com extensão do cluster anterior

BA – área de Brodmann

TAM – tamanho do cluster com efeito BOLD em voxels

Z – nível de significância estatística do estimando do efeito BOLD do determinado cluster

MNI – coordenadas nos eixos X, Y e Z no espaço definido pelo Atlas de *Montreal Neurological Institute* (Mazziotta et. al., 2001)

Anexo M.1 Imagens de correlação LatSac e sinal BOLD em crianças na condição Tempo previsível

Figura 17. Contraste da correlação da LatSac e sinal BOLD em crianças. Imagens resultantes de análise de grupo de crianças (N=14) baseada em cluster determinado pelo $Z > 2,3$ e corrigido pelo nível de significância $p < 0,05$

Tabela 16 - Regiões com ativação máxima na correlação LatSac e sinal BOLD em crianças em TP

REGIÃO CEREBRAL	LADO	BA	TAM	Z	MNI		
					X	Y	Z
Pólo occipital (V1, V2)	D/L	17/18	4199	5,44	0	-86	-2
Giro temporal inferior	D/L	20	1718	4,06	58	-32	-22
Giro do cíngulo anterior	D/L	-24	1396	4,10	10	40	24
Lóbulo parietal superior	D/L	7	1168	3,74	42	-40	52
Giro reto	D/L	10/11	1135	4,37	14	56	-18
Lóbulo parietal inferior	D/L	40	1069	3,66	54	-64	36
Giro pré-central (CVF)	D/L	6	971	3,60	24	-8	34
Pré-cúneo	D/L	7	*	*	8	-66	48

* - ativação com extensão do cluster anterior

BA – área de Brodmann

TAM – tamanho do cluster com efeito BOLD em *voxels*

Z – nível de significância estatística do estimando do efeito BOLD do determinado *cluster*

MNI – coordenadas nos eixos X, Y e Z no espaço definido pelo Atlas de *Montreal Neurological Institute* (Mazziotta et. al., 2001)

Anexo M.2 Imagens de correlação LatSac e sinal BOLD em adultos na condição Tempo previsível

Figura 18. Contraste da correlação da LatSac e sinal BOLD em adultos. Imagens resultantes de análise de grupo de adultos (N=14) baseada em cluster determinado pelo $Z > 2,3$ e corrigido pelo nível de significância $p < 0,05$

Tabela 17 - Regiões com ativação máxima na correlação LatSac e sinal BOLD em adultos em TP

REGIÃO CEREBRAL	LADO	BA	TAM	Z	MNI		
					X	Y	Z
Lóbulo parietal superior	D/L	7	22115	6,12	26	-66	54
Lóbulo parietal inferior	D/L	40	*	*	36	-46	50
Junção temporo-parieto-occipital	D/L	40	*	*	46	-46	8
Insula anterior	D	13	*	*	36	30	2
Tálamo	D	-	*	*	8	16	0
Giro pré-central (CVF)	L	6	13363	5,08	40	-6	42
Giro frontal superior (CVS)	D/L	8	*	*	6	6	46
Giro frontal inferior	D/L	20	*	*	8	24	64
Giro do cíngulo anterior	D/L	24	*	*	8	12	38
Núcleos da base	D/L	-	1334	5,08	20	10	4
Pólo occipital (V1, V2)	D/L	17/18	*	*	30	-62	-6
Cerebelo	D/L	-	*	*	34	-60	-26
Córtex occipital lateral (V5)	D/L	19	*	*	46	-66	4

* - ativação com extensão do cluster anterior

BA – área de Brodmann

TAM – tamanho do cluster com efeito BOLD em *voxels*

Z – nível de significância estatística do estimando do efeito BOLD do determinado *cluster*

MNI – coordenadas nos eixos X, Y e Z no espaço definido pelo Atlas de *Montreal Neurological Institute* (Mazziotta et. al., 2001).