Claudinei Eduardo Biazoli Junior

Inferência do tempo de atividade neural a
partir do efeito BOLD em ressonância
magnética funcional

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências
(versão corrigida, o original encontra-se
na Biblioteca da FMUSP)

Programa de Radiologia
Orientador: Prof. Dr. Edson Amaro Júnior

São Paulo

2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Biazoli Junior, Claudinei Eduardo

Inferência do tempo de atividade neural a partir do efeito BOLD em ressonância magnética funcional / Claudinei Eduardo Biazoli Junior. -- São Paulo, 2010.

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

Programa de Radiologia.

Orientador: Edson Amaro Júnior.

Descritores: 1.Imagem por ressonância magnética funcional 2.Redes nervosa/fisiologia 3.Modelo de balão 4.Córtex pré-frontal dorsolateral 5.Giro do cíngulo 6.Giro fusiforme 7.Tomada de decisões 8.Tristeza 9.Emoções 10.Lateralidade funcional

USP/FM/DBD-525/10

Para Aline,
e para minha família.

Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Edson Amaro Junior, pela oportunidade de desenvolver esse trabalho, pelo apoio constante e por seu entusiasmo contagiante pela pesquisa em neuroimagem funcional.

Ao Prof. João Ricardo Sato, atualmente professor da Universidade Federal do ABC, na prática co-orientador e co-autor desse trabalho, auxiliou-me em todas as etapas de sua elaboração, das primeiras idéias à versão final da tese.

Ao Prof. Dr. Michael J Brammer, do Kings College de Londres, pelo auxílio na elaboração do manuscrito e pelos comentários e críticas sempre pertinentes.

Ao Dr. Ellison Fernando Cardoso que colheu os dados de ressonância magnética funcional e auxiliou-me na análise e interpretação dos resultados.

Ao Prof. Dr. Koichi Sameshima, que participou da banca de qualificação desse trabalho, cuja leitura crítica e atenta da tese contribui sobremaneira para seu aprimoramento.

À Dra. Paula Ricci, também membro da banca de qualificação, pela inestimável contribuição na discussão e esclarecimento dos pontos mais críticos do trabalho e de suas possíveis aplicações futuras.

Aos Drs. Douglas Galante do Instituto de Astronomia e Geofísica e Fábio Rodrigues do Instituto de Química da USP, cientistas moleculares e grandes amigos, que mesmo atuando em astrobiologia e química orgânica, me ajudaram a compreender melhor os modelos do efeito BOLD.

A Claudécir Ricardo Biazoli, pesquisador do Instituto de Física Gleb Wataghin da UNICAMP e também meu tio, que fez correções valiosas de alguns conceitos desenvolvidos aqui.

A Lia Melo, secretária de pós-graduação do InRad, sempre muito acolhedora e atenciosa.

A todos os meus colegas pesquisadores e pós-graduandos do Laboratório de Neuroimagem Funcional (NIF/LIM-44), pelas discussões e conversas que, quando não contribuíram diretamente para esse trabalho, me ensinaram muito.

Ao apoio financeiro da CAPES e do CNPq.

*O tempo para nós é um problema, um problema trepidante e
exigente, talvez o mais vital da metafísica...
O tempo propõe outras dificuldades.
Uma delas, talvez a maior, a de sincronizar o tempo individual
de cada pessoa com o tempo geral da matemática...*

História da Eternidade, Jorge Luis Borges

Normalização Adotada

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

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

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

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

Sumário

Lista de Abreviaturas, Símbolos e Siglas

Notação utilizada

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Summary

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	OBJETIVOS.....	4
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	6
3.1	Histórico e estrutura dos experimentos de RMf	6
3.1.1	<i>Breve histórico geral</i>	6
3.1.2	<i>O surgimento da RMf</i>	11
3.1.3	<i>A técnica de RMf</i>	13
3.2	O efeito BOLD: linearidade e seus desvios	16
3.2.1	<i>O efeito BOLD</i>	16
3.2.2	<i>Linearidade do efeito BOLD e seus desvios</i>	20
3.3	Bases físicas do efeito BOLD	25
3.3.1	<i>Aquisição de imagens por RM</i>	27
3.3.2	<i>Contrastes e física do efeito BOLD</i>	30
3.4	Bases fisiológicas do efeito BOLD	37
3.4.1	<i>Do estímulo à atividade neural: correlação com o efeito BOLD</i>	40
3.4.2	<i>A relação entre atividade neural e fluxo sanguíneo cerebral</i>	46
3.4.3	<i>Variação local do volume sanguíneo cerebral</i>	51
3.4.4	<i>O metabolismo cerebral</i>	54
3.4.5	<i>O papel do astrócito na atividade neural</i>	61
3.5	Integrando física e fisiologia: modelagem matemática do efeito BOLD	65
3.6	Integração de modelos mecanísticos à análise de dados em RMf	79
3.7	Tempo de processamento neural.....	83
3.8	Bases teóricas da aplicação do modelo	85
3.8.1	<i>Bases neurais da tristeza</i>	85
3.8.2	<i>Percepção de faces tristes e tomada de decisão</i>	89

4	MATERIAIS E MÉTODOS	93
4.1	Modelo do efeito BOLD e tempo de processamento neural.....	93
4.2	Integração à análise de dados: rotinas de estimação	103
4.2.1	<i>Algoritmo genético</i>	104
4.2.2	<i>Método direto de estimação de parâmetros</i>	106
4.3	Simulações	108
4.4	Aplicação	110
4.4.1	<i>Desenho experimental</i>	110
4.4.2	<i>Processamento da imagem e estimação dos parâmetros</i>	112
5	HIPÓTESES	114
6	RESULTADOS	116
6.1	Modelo do efeito BOLD e tempo de processamento neural.....	116
6.2	Simulações	119
6.3	Aplicação	125
7	DISCUSSÃO.....	134
7.1	Modelos do efeito BOLD.....	134
7.2	Rotinas de estimação.....	137
7.3	Aplicação	140
7.4	Perspectivas.....	145
8	CONCLUSÕES.....	150
9	REFERÊNCIAS	151

APÊNDICES

Apêndice I	Modelo do efeito BOLD em R
Apêndice II	Modelo do efeito BOLD em C
Apêndice III	Simulações da rotina de estimação baseada em GA
Apêndice IV	Simulações da rotina de estimação do MD
Apêndice V	Aplicação do GA ao experimento de reconhecimento de faces
Apêndice VI	Aplicação do MD ao experimento de reconhecimento de faces

Lista de Abreviaturas, Símbolos e Siglas

AMPA	Receptor de glutamato tipo amino-metil-isoxazol-propionato
ASL	<i>Arterial Spin Labeling</i>
ATP	Trifostato de adenosina (<i>adenosine triphosphate</i>)
B	Campo Magnético
BOLD	Dependente do nível de oxigenação do sangue (<i>Blood Oxygenation Level Dependent</i>)
CBF	Fluxo Sanguíneo Cerebral (<i>Cerebral Blood Flow</i>)
CBV	Volume Sanguíneo Cerebral (<i>Cerebral Blood Volume</i>)
CMRO ₂	Taxa Metabólica de Consumo de Oxigênio (<i>Cerebral Metabolic Ratio of Oxygen</i>)
CMRglu	Taxa Metabólica de Consumo de Glicose (<i>Cerebral Metabolic Ratio of Glucose</i>)
CO ₂	Dióxido de Carbono
COX	Ciclo-oxigenase
dACC	Porção Dorsal do Giro do Cíngulo Anterior (<i>Dorsal Anterior Cingulate Cortex</i>)
DLPFC	Córtex Pré-Frontal dorsolateral (<i>Dorsal Lateral Prefrontal Cortex</i>)
EEG	Eletroencefalograma
E(f(t))	Taxa de Extração de Oxigênio
EPI	Imagem ecoplanar (<i>Echoplanar Image</i>)
f(t)	Fluxo sanguíneo cerebral regional normalizado
f _{out} (t)	Fluxo sanguíneo de saída regional normalizado
FDG	¹⁸ F-2-fluor-2-desoxi-D-glicose
FG	Giro Fusiforme (<i>Fusiform Gyrus</i>)
g	Fator de Landé

G	Gradiente de campo
GA	Algoritmo Genético (<i>Genetic Algorithm</i>)
GABA	Ácido gama-amino-butírico
GABA _A	Sub-tipo A do receptor de GABA
Gd(DTPA)	Ácido Dietilenotriaminopentacético Gadolíneo
GLM	Modelo Linear Geral (<i>General Linear Model</i>)
GRE	Eco de Gradiente (<i>Gradient Echo</i>)
HRF	Função de Resposta Hemodinâmica (<i>Hemodynamic Response Functions</i>)
Hz	Hertz
I	Imagem
LI	Modelo de sobreposição de funções logísticas inversas (<i>Logit Inverse functions</i>) da HRF
LFP	Potencial de Campo Local (<i>Local Field Potential</i>)
m	Massa do próton
M	Magnetização
m(t)	Consumo metabólico de oxigênio normalizado
MD	Método Direto de estimação de parâmetros
MEG	Magnetoencefalografia
ms	milisegundos
MUA	Atividade Multiunitária (<i>Multiunity activity</i>)
NIRS	<i>Near-infrared spectroscopy</i>
NMDA	Receptor de glutamato tipo N-metil-D-aspartato
NO	Óxido nítrico
NOs	NO- sintase
O ₂	Oxigênio Molecular

PEP	Potencial pós-sináptico excitatório (<i>postsynaptic excitatory potential</i>)
PET	Tomografia por Emissão de Póstron (<i>Positron Emission Tomography</i>)
PIP	Potencial pós-sináptico inibitório (<i>postsynaptic inhibitory potential</i>)
rCBF	Fluxo Sanguíneo Cerebral regional
rCBV	Volume Sanguíneo Cerebral regional
rCMRO ₂	Taxa Metabólica de Consumo de Oxigênio regional
RF	Rádio-frequência
RM	Ressonância Magnética
RMf	Ressonância Magnética funcional
q	Carga do próton
q(t)	Conteúdo de desoxi-hemoglobina normalizado
s	segundos
S	Sinal
SA	<i>Simulated Annealing</i>
t	tempo
T	Tesla
T ₁	Tempo de relaxação longitudinal
T ₂	Tempo de relaxação transversa
TE	Tempo de eco
TPN	Tempo de processamento neural
TR	Tempo de Repetição
u(t)	Atividade neural ou estímulo
v(t)	Volume sanguíneo cerebral regional normalizado
VASO	<i>Vascular Space Occupancy</i>

α	Coeficiente de Grubb
β	Coeficiente de Correlação
τ	Tempo de Processamento Neural (TPN)
γ	Razão giromagnética
χ	Susceptibilidade Magnética
ω	Frequência
ω_p	Frequência de ressonância

Notações utilizadas

X_0	Valor no repouso ou linha de base
x	Valor normalizado sobre a linha de base
$\mathbf{X}$	Matriz
$\mathbf{x}$	Vetor
x	Escalar
$\mathbf{x} \cdot \mathbf{x}$	Produto escalar
$\mathbf{x} \times \mathbf{x}$	Produto vetorial
$x(t) * y(t)$	Convolução
$\frac{d^n x}{dy^n}$ ou $x^{(n)}(y)$	n-ésima derivada de x com relação a y

Lista de Figuras

Figura 1 -	Características básicas da curva de resposta hemodinâmica	18
Figura 2 -	Exemplo de sequência de pulsos para aquisição de imagem por ressonância magnética	29
Figura 3 -	Estrutura tridimensional da hemoglobina.....	35
Figura 4 -	Diagrama dos mecanismos de geração do efeito BOLD.....	39
Figura 5 -	Principais mecanismos de controle do fluxo sanguíneo cerebral local	50
Figura 6 -	Modelo do tempo de processamento neural	94
Figura 7 -	Dinâmicas do modelo de oscilador harmônico (A) e efeitos da variação dos parâmetros sobre a curva BOLD (B).....	97
Figura 8 -	Simulações com LI/SA.....	102
Figura 9 -	Método de estimativa de parâmetros baseado no GA	105
Figura 10 -	Rotina de estimação baseada no MD.....	107
Figura 11 -	Desenho experimental – Reconhecimento de gênero em faces neutras, pouco tristes ou muito tristes	111
Figura 12 -	Soluções do modelo biofísico do efeito BOLD.....	118
Figura 13 -	Resultados das simulações de comparação entre o TPN e medidas do modelo LI/SA.....	118
Figura 14 -	Simulações do método de estimativa baseado em GA.....	120
Figura 15 -	Simulações do método direto de estimativa dos parâmetros.....	124
Figura 16 -	Resultados da aplicação: Tempo de processamento neural (TPN) ..	129
Figura 17 -	Curvas BOLD obtidas pelo GA.....	131
Figura 18 -	Séries temporais reais e estimadas pelo MD	132
Figura 19 -	Resultados da estimativa da HRF pelo LI/SA.....	133

Lista de Tabelas

Tabela 1 -	Valores dos parâmetros fixos do modelo	99
Tabela 2 -	Resultados das simulações – GA.....	121
Tabela 3 -	Regiões com correlação positiva significativa com a tarefa	125
Tabela 4 -	Valores das estimativas dos parâmetros hemodinâmicos – GA.....	126
Tabela 5 -	Parâmetros Hemodinâmicos em Faces Neutras – Método direto.....	126
Tabela 6 -	Parâmetros Hemodinâmicos em Faces Pouco Tristes – Método direto.....	127
Tabela 7 -	Parâmetros Hemodinâmicos em Faces Muito Tristes – Método direto.....	127

Resumo

Biazoli Jr CE. *Inferência do tempo de atividade neural a partir do efeito BOLD em ressonância magnética funcional* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2010. 161 p.

A inferência do curso temporal da atividade neural a partir do efeito BOLD é um importante problema, ainda em aberto. A forma da curva BOLD não reflete diretamente as características temporais da atividade eletrofisiológica dos neurônios. Nessa tese, é introduzido o conceito de tempo de processamento neural (TPN) como um dos parâmetros do modelo biofísico da função de resposta hemodinâmica (HRF). O objetivo da introdução desse conceito é obter estimativas mais acuradas da duração da atividade neural a partir do efeito BOLD, que possui alto grau de não-linearidade. Duas formas de estimar os parâmetros do modelo do efeito BOLD foram desenvolvidas. A validade e aplicabilidade do conceito de TPN e das rotinas de estimação foram avaliadas por simulações computacionais e análise de séries temporais experimentais. Os resultados das simulações e da aplicação foram comparados com medidas da forma da HRF. O experimento analisado consistiu em um paradigma de tomada de decisão na presença de distratores emocionais. Espera-se que o TPN em áreas sensoriais primárias seja equivalente ao tempo de apresentação de estímulos. Por outro lado, o TPN em áreas relacionadas com a tomada de decisão deve ser menor que a duração dos estímulos. Além disso, o TPN deve depender da condição experimental em áreas relacionadas ao controle de distratores emocionais. Como previsto, os valores estimados do TPN no giro fusiforme foram equivalentes à duração dos estímulos e o TPN no giro do cíngulo dorsal variou com a presença de distrator emocional. Observou-se ainda lateralidade do TPN no córtex pré-frontal dorsolateral. As medidas da forma da HRF obtidas por um método convencional não detectaram as variações observadas no TPN.

Descritores: 1.Imagem por ressonância magnética funcional 2.Redes nervosa/fisiologia 3.Modelo de Balão 4.Córtex pré-frontal dorsolateral 5.Giro do cíngulo 6.Giro fusiforme 7.Tomada de decisões 8.Tristeza 9.Emoções 10.Lateralidade funcional

Summary

Biazoli Jr CE. *Inference of neural activity time from BOLD effect in functional magnetic resonance imaging* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2010. 161 p.

The extraction of information about neural activity dynamics related to the BOLD signal is a challenging task. The temporal evolution of the BOLD signal does not directly reflect the temporal characteristics of electrical activity of neurons. In this work, we introduce the concept of neural processing time (NPT) as a parameter of the biophysical model of the hemodynamic response function (HRF). Through this new concept we aim to infer more accurately the duration of neuronal response from the highly nonlinear BOLD effect. We describe two routines to estimate the parameters of the HRF model. The face validity and applicability of the concept of NPT and the estimation procedures are evaluated through simulations and analysis of experimental time series. The results of both simulation and application were compared with summary measures of HRF shape. We analysed an experiment based on a decision-making paradigm with simultaneous emotional distracters. We hypothesize that the NPT in primary sensory areas is approximately the stimulus presentation duration. On the other hand, the NPT in brain areas related to decision-making processes should be less than the stimulus duration. Moreover, in areas related to processing of an emotional distracter, the NPT should depend on the experimental condition. As predicted, the NPT in fusiform gyrus is close to the stimulus duration and the NPT in dorsal anterior cingulate gyrus depends on the presence of an emotional distracter. Interestingly, the estimated NPTs in the dorsolateral prefrontal cortex indicate functional laterality of this region. The analysis using standard measures of HRF did not detect the variations observed in our method (NPT).

Descriptors: 1.Functional magnetic resonance imaging 2.Neural network/physiology 3.Balloon Model 4.Dorsal lateral prefrontal cortex 5.Cingulate gyrus 6.Fusiform gyrus 7.Decision-making 8.Sadness 9.Emotion 10.Functional laterality

Capítulo 1

Introdução

Em experimentos de Ressonância Magnética funcional (RMf), a atividade eletrofisiológica de conjuntos de neurônios não é medida diretamente. Geralmente, estes experimentos medem a variação do nível de oxigenação sanguínea local ou efeito BOLD (*Blood Oxygenation Level Dependent*). Assim, em experimentos de RMf, a atividade neural é inferida a partir das mudanças no metabolismo e na hemodinâmica regionais por ela geradas.

A amplitude e a forma do efeito BOLD variam entre as diferentes áreas cerebrais para o mesmo estímulo ou tarefa, e também variam na mesma área cerebral na dependência de características do estímulo como duração e contraste. Além disso, o efeito BOLD é não-linear e o seu grau de não-linearidade varia espacialmente no encéfalo. Se por um lado essas variações espaciais do efeito BOLD dificultam a análise linear dos dados de RMf por outro tornam possível a inferência de variações fisiológicas das atividades neural, hemodinâmica ou metabólica e, em especial, a inferência do curso temporal da atividade neural.

A estratégia atualmente utilizada para inferir-se a duração da atividade neural a partir do efeito BOLD baseia-se na suposição de que a forma da função de resposta hemodinâmica (HRF) reflete diretamente parâmetros neurais. Hipoteticamente, a largura da HRF correlaciona-se com a duração da atividade neural. Essa suposição, no entanto, não leva em consideração as contribuições hemodinâmicas e metabólicas para a gênese do efeito BOLD. A modelagem matemática dos mecanismos do efeito

BOLD pode ser uma forma mais acurada de inferir a atividade neural a partir do efeito BOLD.

A modelagem matemática do processo complexo que desencadeia o efeito BOLD é um campo de investigação ativa. O modelo mais influente e discutido nessa literatura foi proposto por Richard Buxton e colaboradores em 1998, e foi denominado modelo de balão (*balloon model* - Buxton, et al. 1998). Mas esse modelo não se aplica a todo o processo de geração do efeito BOLD. Ele prediz uma curva BOLD para uma dada variação de fluxo sanguíneo regional, e não para uma dada ativação neural ou mesmo para um determinado estímulo. Diversos modelos foram propostos para explicar os demais elos da cadeia de fenômenos responsável pela produção do efeito BOLD (Buxton, et al. 2004; Friston, et al. 2000).

Para a aplicação de modelos matemáticos do efeito BOLD à análise de dados, formula-se o problema de determinação da curva BOLD de forma inversa, isto é, o problema passa a ser determinar qual modelo ou quais parâmetros de um modelo melhor se adequam a um sinal BOLD observado (Buckner 2003). A solução desse problema hemodinâmico inverso exige um método para a estimação dos parâmetros de um modelo. Esse tipo de formulação é objeto de vasta literatura especializada e ainda não há uma solução consensual ou indubitavelmente mais adequada para o problema hemodinâmico inverso (Vakorin, et al. 2007).

Para a estimativa mais acurada da duração da atividade neural a partir do efeito BOLD ou tempo de processamento neural (TPN) é proposto, na presente tese, um modelo matemático no qual o TPN é um parâmetro independente de contribuições hemodinâmicas e metabólicas. Além disso, duas formas de estimação

dos parâmetros do modelo matemático do efeito BOLD são propostas. Simulações computacionais foram realizadas para a análise empírica do modelo e das rotinas de estimação dos parâmetros. O modelo e as rotinas de estimação dos parâmetros foram também aplicados a dados de experimentos de RMf de tomada de decisão simples em faces com diferentes conteúdos emocionais. Um modelo bem estabelecido de medida da forma da HRF, que é a maneira usual para a inferência da duração da atividade neural a partir do efeito BOLD, foi comparado ao modelo do TPN utilizando simulações e análise dos dados experimentais.

No terceiro capítulo, os aspectos pertinentes à modelagem matemática do efeito BOLD encontrados na literatura são abordados. Dado o caráter multidisciplinar desta tese, algumas seções certamente são de menor interesse para o especialista em análise de dados de RMf. Para esses especialistas sugere-se as seções introdutórias centrais para o entendimento desta tese, que incluem: 3.2.2 – Linearidade do efeito BOLD e seus desvios; 3.2.4 – Bases Fisiológicas do efeito BOLD; 3.3 – Integrando física e fisiologia: Modelagem matemática do efeito BOLD; 3.4 – Integração de Modelos Mecanísticos à Análise de dados em RMf; 3.5 – Bases teóricas da aplicação dos modelos. Em especial, a seção 3.7 resume o estado atual da inferência da duração da atividade neural e suas limitações que motivaram a elaboração desse trabalho.

Capítulo 2

Objetivos

O objetivo principal dessa tese é desenvolver uma forma de inferir a duração da atividade neural a partir do efeito BOLD. Atualmente essa inferência baseia-se em um pressuposto provavelmente falso de que a duração do efeito BOLD, medida como a largura da HRF, reflete diretamente a duração da atividade neural. Para uma medida mais acurada da duração da atividade neural utilizando RMf faz-se necessário a utilização de um modelo biofísico da geração do efeito BOLD no qual essa medida possa ser derivada diretamente. Assim, para atingir o objetivo geral, os seguintes objetivos específicos são necessários:

- 1 - Desenvolver um modelo biofísico do efeito BOLD no qual o tempo de processamento neural seja um parâmetro independente, separado de contribuições metabólicas e hemodinâmicas para a geração do sinal.
- 2 – Desenvolver, testar e comparar formas de estimação dos parâmetros e variáveis do modelo biofísico do efeito BOLD e, entre estes, de estimação do tempo de processamento neural (TPN). Em outras palavras, desenvolver soluções numéricas para o chamado problema hemodinâmico inverso (Buckner 2003).
- 3 – Validar o modelo e os métodos de estimativa e, simultaneamente, responder a uma questão empírica relevante, pela aplicação desses a dados experimentais. Os dados foram previamente obtidos por Ellison Cardoso (2008). A questão empírica é

o estudo do TPN na circuitaria nervosa envolvida no processamento do conteúdo de tristeza em faces durante a execução de uma tarefa de identificação de gênero. As hipóteses neuroanatômicas e funcionais dessa aplicação são apresentadas no quinto capítulo.

4 – Comparar as estimativas do tempo de processamento neural no contexto de um modelo biofísico do efeito BOLD com o modelo atualmente aceito para a inferência da duração da atividade neural em RMf.

Capítulo 3

Revisão da Literatura

3.1 - Histórico e estrutura dos experimentos de RMf

3.1.1 – Breve histórico geral

A análise historiográfica ou filosófica das neurociências constituem, por si só, um campo de investigação autônomo. A exposição de um breve contexto histórico do desenvolvimento da neurociência, no entanto, é imprescindível para a análise esclarecida dos objetivos e aplicabilidade dos experimentos de RMf.

As investigações iniciais sobre os fundamentos da sensibilidade, motricidade voluntária e das capacidades intelectuais humanas basearam-se na idéias lançadas por Aristóteles (M. R. Bennett 2003). A concepção aristotélica de *psiche*, que englobava as relações entre os órgãos e suas funções e entre o corpo e suas capacidades, só foi suplantada pela noção cartesiana de mente no século XVII (Kandel 2000b).

A questão central que se colocava nas investigações experimentais iniciais da ação humana era a de como se dava a contração muscular nos movimentos voluntários. O próprio Aristóteles abordou essa questão experimentalmente, concluindo que os vasos sanguíneos eram responsáveis por iniciar a contração muscular. No século III d.C. , experimentos conduzidos por Galeno levaram-no a concluir que os nervos que emergiam tanto da medula espinhal quanto do cérebro eram necessários para iniciar a contração muscular. Dessa forma, Galeno mudou a

sede das funções perceptivas que Aristóteles havia atribuído ao coração para o cérebro. Ao observar que não havia correlação aparente entre as convoluções cerebrais e as capacidades intelectuais, Galeno afirmou que o sistema ventricular era a sede do pensamento. Iniciava-se, assim, a doutrina da localização ventricular das funções mentais, que perduraria por pelo menos um milênio (Bennett 2007).

No século XVII, a revolução que se observou em quase todos os campos do conhecimento não poupou o estudo dos fenômenos relacionados aos seres vivos. A partir de então, as explicações teológicas dos fenômenos naturais foram gradualmente substituídas por explicações mecanicistas (Hankins 1985). Esse movimento histórico culminou com a argumentação de Descartes de que as atividades do corpo deveriam ser explicadas em termos puramente mecânicos, rompendo radicalmente com a tradição aristotélica. Na visão cartesiana, não fazia mais sentido a doutrina milenar da localização das funções psíquicas nos ventrículos, simplesmente porque essas funções eram de substância distinta e, portanto, não poderiam estar localizadas no cérebro. Mas a mente se comunicaria com a matéria por meio do cérebro. Na metade do século XVII Descartes havia substituído a doutrina ventricular por sua doutrina interacionista.

Segundo o filósofo Thomas Hankins, a biologia ainda não havia se caracterizado como ciência, distinta da filosofia, no final do século XVIII (Hankins 1985). Apesar disso, as idéias que dariam origem a teoria da evolução e a outros campos, como a fisiologia, surgiram durante o Iluminismo (Sober 2000). A filosofia mecanicista, bem sucedida nas ciências físicas no século XVII, parecia insuficiente para explicar os fenômenos da vida. No entanto, a filosofia mecanicista tornou impossível o retorno à metodologia aristotélica. Nesse contexto, era inevitável a

procura por novas teorias e métodos de investigação que, em última análise, culminariam com a criação da biologia propriamente dita, durante o século XIX.

No início do século XIX, Franz Joseph Gall postulou que as faculdades mentais humanas estavam localizadas em áreas particulares e restritas do cérebro. Além disso, Gall propôs que um maior desenvolvimento de funções particulares e, em consequência das áreas que as continham, levaria a proeminências nas partes do crânio correspondentes. As diferenças individuais nas funções mentais poderiam ser assim determinadas pela forma dos ossos do crânio. Dessa forma, Gall fundava a *frenologia* (Kaitaro 2001; Kandel 2000b; Kandel 2000c). Essa perspectiva foi logo atacada, e a reação radical a escola frenológica baseou-se na asserção de que os processos mentais não poderiam ser reduzidos a atividades de diferentes regiões cerebrais e, portanto, qualquer processo mental recrutaria todas as regiões cerebrais. Essa visão foi denominada teoria de campo-agregado do cérebro (Kandel 2000a).

Na segunda metade do século XIX, os novos paradigmas da ciência biológica repercutiam no estudo dos sistema nervoso. A composição celular e organização do tecido nervoso foram descritas por Camillo Golgi e Santiago Ramón y Cajal, que demonstraram que o sistema nervoso consistia em uma rede discreta, formada por células individuais (Kandel 2000c). Rapidamente os neurônios foram considerados os elementos funcionais do sistema nervoso. Em 1850, o fisiologista e físico alemão Hermann von Helmholtz, demonstrou que a atividade elétrica de um neurônio afeta a atividade da célula adjacente de modo previsível (Kandel 2000b). Fortalecia-se a chamada teoria do connexionismo celular.

Em 1861, Pierre Paul Broca descreveu o caso de um paciente capaz de entender a linguagem escrita e falada mas não de falar, mesmo sem déficits do aparelho fonador. Ao exame pós-morte desse paciente, Broca observou uma lesão da região posterior do lobo frontal esquerdo. A descoberta de Broca representou uma reformulação da frenologia e iniciou grande esforço no sentido de identificar regiões corticais associadas a comportamentos específicos. Em 1876 Karl Wernicke descreveu um tipo de afasia contrário ao estudado por Broca: seus pacientes apresentavam a fala preservada, mas eram incapazes de compreender a linguagem falada ou escrita. Dessa vez, a lesão foi identificada na porção posterior do lobo temporal esquerdo. Wernicke propôs que as funções mentais mais básicas estavam localizadas em áreas específicas do cérebro mas funções mais complexas resultavam de interconexões entre diversas áreas funcionais (Kaitaro 2001; Kandel 2000c).

Apesar do acúmulo de evidências em favor da existência de áreas cerebrais funcionalmente distintas, a teoria de campo-agregado dominou o pensamento experimental e a prática clínica na primeira metade do século XX (Kandel 2000a). Paralelamente, o desenvolvimento de meios experimentais simples para o estudo do aprendizado e da memória no início do século passado, em particular por Ivan Pavlov, levou a criação de uma escola rigorosamente empírica da psicologia denominada *behaviorismo*. Na década de 1950 o *behaviorismo* atingiu o ápice de seu desenvolvimento com os trabalhos de J. B. Watson e B. F. Skinner. Os *behavioristas* defendiam que o estudo do comportamento deveria focar-se em seus aspectos observáveis, sendo os processos mentais irrelevantes ou mesmo inexistentes. A psicologia cognitiva surgiu na década de 1960 como resposta a proposta radical do

behaviorismo, e defendia que o conhecimento sobre os processos mentais são passíveis de abordagem científica.

Segundo Kandel (2000c), a neurociência é uma abordagem de estudo da atividade mental que emergiu da síntese entre a psicologia cognitiva, neuropsicologia, fisiologia do sistema nervoso, da neuroimagem e da modelagem matemática e computacional. A concepção propriamente neurocientífica da localização das funções mentais no cérebro surgiu dessa síntese. Na formulação de Luria, os processos mentais não podem ser prescritos a faculdades isoladas e indivisíveis e, portanto, não podem ser *funções* diretas de um determinado grupo de células nem podem estar *localizadas* em uma área cerebral particular (Luria 1973).

Similar à visão de Luria, Kandel afirma que a difícil tarefa da pesquisa em neurociências é demonstrar quais componentes de uma operação mental são representados por uma região ou via neural particular (Kandel 2000a). Essa demonstração deve ser precedida pela análise sistemática das funções mentais, derivando-se seus componentes passíveis de teste. Na verdade, os processos mentais são compostos por numerosos componentes de processamento de informações diferentes e mesmo a tarefa mais simples requer a coordenação de várias áreas cerebrais distintas. Ainda segundo Kandel, apenas na década de 1990, com a convergência da psicologia cognitiva com as ciências do cérebro, avanços no conhecimento da localização dos processos mentais foram possíveis (Kandel 2000a). O surgimento dos métodos de neuroimagem contribuiu sobremaneira para esse avanço recente no conhecimento das bases neurais dos processos mentais.

3.1.2 – O surgimento da RMf

Em 1937 Isidor Rabi propôs que se a frequência de um campo magnético oscilante fosse igualada à frequência de *spin* do núcleo atômico, esse núcleo absorveria a energia do campo magnético. Em 1946, dois grupos independentes, o de Félix Bloch e o de Edward Purcell, desenvolveram um método para a medida do momento angular do núcleo atômico em substâncias sólidas. Os atuais aparelhos de imagem por ressonância magnética compartilham os mesmos elementos básicos do aparato utilizado por Bloch, ou seja, um campo magnético estático forte, associados a uma série de campos elétricos variáveis e a um detector. A energia do campo magnético oscilante, que depende de sua frequência, é absorvida pelo núcleo atômico do hidrogênio e, em seguida, é emitida. A energia emitida depende do tipo e do número de núcleos presentes, permitindo a diferenciação dos tecidos biológicos.

A flexibilidade e segurança das técnicas de imagem por ressonância magnética são características determinantes para sua crescente utilização tanto em ciências básicas quanto na rotina clínica. Iniciada na década de 1970, a aplicação clínica das técnicas de imagem estruturais por ressonância magnética expandiu-se e consolidou-se na década de 1980. Concomitantemente, aumentava rapidamente o interesse na produção de imagens funcionais do cérebro, principalmente graças a evolução da técnica de tomografia por emissão de pósitron (PET). Essa técnica tomográfica baseia-se na radiação emitida por um grupo de isótopos. Durante a década de 1970 foram realizadas as primeiras medidas quantitativas da taxa metabólica cerebral regional de oxigênio (rCMRO₂), do fluxo sanguíneo cerebral (rCBF) e do volume sanguíneo cerebral (rCBV) utilizando injeções intracarótídeas

de radiotraçadores. Os primeiros mapeamentos funcionais cerebrais com PET utilizavam como traçador o ^{18}F -2-fluor-2-desoxi-D-glicose (FDG), que permite o estudo do metabolismo local de glicose. A meia-vida relativamente alta do FDG e as limitações na velocidade de aquisição dos dados levaram a uma mudança do foco dos experimentos de PET para a mensuração do fluxo sanguíneo cerebral, utilizando H_2^{15}O como traçador. Com o desenvolvimento de aparelhos de PET capazes de detectar as altas taxas de contagem associadas ao ^{15}O , tornou-se possível a aquisição de mapas funcionais do cérebro baseados na variação do fluxo sanguíneo regional (rCBF).

Em 1991 Belliveau, et al. produziram um mapa funcional do córtex visual humano utilizando imagem por ressonância magnética análogo aos mapas obtidos por PET. A variação local de volume sanguíneo cerebral no córtex visual foi observada após injeção de ácido dietilnotinotriaminopentacético gadolínio ou Gd(DTPA). A necessidade de injeção intravenosa de contraste limitava a resolução temporal e a aplicabilidade desse método. Também no início da década de 1990, Siegfried Ogawa e colaboradores observaram que a presença de desoxi-hemoglobina diminuía o sinal observado na imagem por RM em estudos com animais (Ogawa e Lee 1990; Ogawa, et al. 1990a; Ogawa, et al. 1990b). Esse trabalho baseou-se em um fenômeno descrito por Linus Pauling e Charles Coryell em 1936. Redescoberto por Thulborn, et al. (1982), o fenômeno descrito por Pauling e Coryell é a diminuição da susceptibilidade magnética do sangue desoxigenado em comparação com o sangue oxigenado. O trabalho pioneiro de Ogawa demonstrou, em animais experimentais, que a desoxi-hemoglobina poderia ser utilizada como um contraste intrínseco, eliminando a necessidade de injeções intravenosas para os estudos funcionais.

Ogawa denominou esse efeito como contraste dependente da oxigenação sanguínea ou BOLD.

Os primeiros mapas funcionais utilizando a técnica de RMf baseada em efeito BOLD em humanos foram publicados em 1992 por grupos independentes: o de Bandettini (1992), o do próprio Ogawa (1992) e o de Kwong (1992). Algumas vantagens com relação ao PET impulsionaram a utilização da RMf nos estudos funcionais do cérebro (Raichle 2000): maiores resoluções temporal e espacial que o PET, prescindir da aplicação intravenosa de traçadores radioativos e maior disponibilidade de aparelhos de ressonância magnética em relação ao PET-*scan*. Outra vantagem importante com relação ao PET foi a possibilidade de implementação de paradigmas relacionados a eventos em RMf, surgida no final da década de 1990. Esse tipo de paradigma permite a aplicação das estratégias mais sofisticadas das ciências cognitivas e evita fontes de confusão em experimentos em bloco, tais como aprendizagem e habituação. Por essas características a RMf tornou-se, atualmente, ferramenta imprescindível para a pesquisa em diversos campos da neurociência. Vale ressaltar, no entanto, que as técnicas de neuroimagem não produzem mapas cerebrais de funções no sentido frenológico. No contexto mais geral da neurociência cognitiva, a tarefa da neuroimagem funcional é identificar as regiões cerebrais associadas com a performance de uma tarefa bem definida, por meio de um desenho experimental adequado.

3.1.3 –A técnica de RMf

A variação do sinal de ressonância magnética com a ativação cerebral que caracteriza o efeito BOLD é sutil. Em campo de 1,5 T essa variação é de apenas 2 a

4% da linha de base do sinal. Esse nível de contraste é pequeno com relação aos contrastes entre tecidos e, portanto, a ativação só pode ser detectada observando-se mudanças que se repetem no tempo, em um mesmo ponto no cérebro. Para isso, a coleta de dados de imagem em um experimento de RMf consiste de uma ou várias séries contínuas de varreduras, cada uma com duração na ordem de segundos. As imagens são constituídas de elementos tridimensionais de dimensões predefinidas, denominado voxel, palavra derivada de elemento de volume. Estes voxéis compõem um plano (aquisição bidimensional) e um conjunto de planos (imagens) compõem um volume. Os dados adquiridos são armazenados com uma série temporal de volumes.

Classicamente, os experimentos de RMf envolvem a realização de uma tarefa, que pode ser receptiva ou reativa. O objetivo da aplicação da tarefa é isolar um conjunto particular de funções neurais. O modo de organização das tarefas durante um experimento é denominado paradigma ou desenho experimental. O experimento de RMf pode não envolver a realização de uma tarefa. Quando nenhuma tarefa é realizada o experimento é dito em estado de repouso (*resting state*)(Patterson, et al. 2002; Raichle, et al. 2001).

A maneira como o estímulo é apresentado nos experimentos de RMf varia. As principais formas de apresentação dos estímulos são em bloco, relacionados a eventos, relacionados a eventos rápidos, mistos ou dirigidos pelo comportamento. No paradigma em bloco, o estímulo é apresentado de maneira a manter o engajamento cognitivo em determinada tarefa por uma duração geralmente da ordem 10 a 30 segundos, alternadamente com a apresentação de outra condição por períodos semelhantes.

A maior resolução temporal da RMf com relação a PET permitiu o desenvolvimento de estudos do tipo relacionados a eventos. O tempo de apresentação do estímulo nesse desenho experimental é mais curto que no desenho em bloco, permitindo a análise mais acurada dos correlatos neurais de comportamentos específicos. Entretanto, a duração dos experimentos relacionados a eventos é maior que a dos experimentos em bloco já que o poder estatístico é menor graças à variabilidade da resposta hemodinâmica. Quando o intervalo entre estímulos é suficientemente curto para que haja sobreposição entre as respostas BOLD geradas pelos estímulos, o paradigma é denominado rapidamente relacionado a eventos. Esse experimentos são similares aos classicamente utilizados em neuropsicologia e em psicologia cognitiva. No entanto, as não-linearidades do efeito BOLD dificultam a análise estatística desses experimentos.

Após a aquisição, os dados são analisados com o objetivo de encontrar as mudanças no sinal de RM que se correlacionam à tarefa. Antes, porém, uma série de etapas de pré-processamento dos dados é comumente realizada, incluindo a correção de artefatos gerados pela movimentação da cabeça, correção de tendências das séries temporais, aplicação de filtro espacial, entre outras. A análise estatística propriamente dita geralmente baseia-se no modelo linear geral (GLM). As séries temporais do sinal de ressonância magnética são submetidos a uma regressão múltipla com a convolução entre os estímulos apresentados e uma função de resposta hemodinâmica (HRF). Os parâmetros do modelo linear são submetidos a teste estatístico com um limiar escolhido, produzindo-se o mapa funcional (Friston 2002). Posteriormente, os mapas funcionais podem ser coregistrados a um mapa padrão.

A utilização da RMf baseada no efeito BOLD na pesquisa é bem determinada, mas seu uso para a prática clínica é ainda incipiente (Matthews, et al. 2006). O mapeamento de funções cerebrais em regiões passíveis de ressecção cirúrgica é a aplicação clínica da RMf melhor estabelecida, sendo que nos Estados Unidos o *Food and Drug Administration* incluiu seu uso em janeiro de 2007 passível de remuneração pelo Medicare Americano (*Current Procedural Terminology*: CPT 70555, 96020 - <http://www.ama-assn.org>). No Brasil a 5ª edição da Classificação Brasileira Hierarquizada de Procedimentos Médicos, de setembro de 2008, inclui o item 4.11.01.04-9: “Estudo funcional (mapeamento cortical por RM)” como passível de remuneração e com valor estipulado (http://www.amb.org.br/teste/cbhpm_5a.html). A RMf é também uma alternativa interessante ao mapeamento eletrofisiológico do córtex em pacientes com epilepsia. Além dessas aplicações, a RMf poderá ser aplicada no entendimento mais apurado de vários distúrbios mentais e cognitivos. No entanto, os avanços no uso clínico da RMf dependem da abordagem adequada de vários aspectos limitantes na aquisição, análise e interpretação do exame.

3.2 O efeito BOLD: condições de linearidade e seus desvios

3.2.1 O efeito BOLD

O efeito BOLD é, primordialmente, uma medida do conteúdo de desoxi-hemoglobina em determinado voxel. Portanto, o efeito BOLD não é uma medida direta da atividade neural, mas sim de efeitos hemodinâmicos e metabólicos

secundários às atividades elétricas de conjuntos de neurônios. Logothetis, et al. (2001) demonstraram que o efeito BOLD está relacionado a medidas de atividade elétrica de conjuntos de neurônios. Mas a cadeia de eventos que ligam a atividade neural ao efeito BOLD ainda não foi completamente esclarecida, sendo seu conhecimento essencial para o avanço da técnica.

A figura 1 ilustra uma curva típica de resposta hemodinâmica obtida em um voxel do córtex visual primário após a apresentação de um estímulo visual simples (Huettel e McCarthy 2004). Geralmente, um intervalo de meio a três segundos entre o início do estímulo e o início da resposta hemodinâmica é observado. Em certas situações experimentais, uma queda inicial do sinal abaixo da linha de base é descrita, mas esse efeito não é consistente. A amplitude dessa queda é muito menor que os demais comportamentos transitórios da resposta hemodinâmica. Um pico de variação positiva de sinal é atingido aproximadamente 5 segundos após o início do estímulo, seguindo-se uma queda um pouco mais lenta, com o sinal atingindo a linha de base em aproximadamente 10 segundos. Segue-se uma resposta negativa (*undershoot*) ainda mais lenta, que dura cerca de 15 segundos (Chen, et al. 1998).

Figura 1 – Características básicas da curva de resposta hemodinâmica. A curva típica de efeito BOLD apresenta um atraso no início da respostas com relação à apresentação do estímulo ou atividade neural, geralmente da ordem de um a cinco segundos. Uma diminuição do sinal magnético abaixo da linha de base (*initial dip*), presumivelmente devido a um aumento rápido do conteúdo local de desoxi-hemoglobina é observado em condições especiais. Segue-se um aumento rápido do sinal, atingindo o valor máximo em tempos variáveis dependendo de condições experimentais como o tempo de apresentação do estímulo. O retorno do sinal à linha de base usualmente é mais lento que a porção ascendente da curva. Além disso, frequentemente observa-se um sinal negativo (*undershoot*) após o retorno do sinal a linha de base com duração total da ordem de dezenas de segundos (geralmente entre 20 e 30 segundos). Adaptado de Huettel e McCarthy (2004)

Um estímulo pode evocar mudanças funcionais ou estruturais no sistema nervoso central em muitas escalas temporais diferentes, de milisegundos a dias. Apesar desse enorme domínio de escalas temporais, a maioria dos estudos psicológicos destina-se a processos cognitivos da ordem de segundos, uma escala

temporal compatível com a RMf. A aplicabilidade dos experimentos de RMf para os estudos de processos neurais de diferentes escalas temporais é, de certa forma, limitada pelo curso temporal do efeito BOLD.

Observadas certas condições, explicitadas a seguir, a amplitude da resposta BOLD aumenta com a duração do estímulo e, para uma mesma duração de estímulo, a curva BOLD de diferentes áreas cerebrais pode diferir tanto em amplitude quanto em curso temporal. Essa variação na forma do BOLD observada entre diferentes áreas pode refletir diferenças na atividade neural de processamento do estímulo, na atividade metabólica, ou na resposta hemodinâmica, como variação de fluxo (rCBF) e volume sanguíneos (rCBV) (Buxton, et al. 2004).

A determinação do tempo absoluto de processamento neural a partir do efeito BOLD é difícil uma vez que tanto a atividade neural quanto a resposta hemodinâmica contribuem para a dinâmica desse efeito (Huettel e McCarthy 2004). No entanto, paradigmas experimentais que geram estimativas dos tempos relativos de processamento entre áreas cerebrais foram propostos (Bellgowan, et al. 2003; Ogawa, et al. 2000). Esses paradigmas utilizam diferenças de latência na resposta na ordem de milisegundos. Mas as diferenças de latência podem refletir mudanças na resposta vascular e não necessariamente mapeiam o tempo relativo de processamento neural.

Além de variar entre diferentes áreas cerebrais, a forma da curva BOLD observada varia significativamente entre indivíduos (Aguirre, et al. 1998; Handwerker, et al. 2004), entre diferentes experimentos com o mesmo indivíduo (Costafreda, et al. 2007) e em função das características elementares do estímulo,

como duração e contraste, e com o intervalo entre estímulos (Aguirre, et al. 1998; Birn e Bandettini 2005; Birn, et al. 2001). Essa variabilidade pode comprometer a análise estatística convencional dos dados de RMf e adicionar fatores de confusão na interpretação dos resultados experimentais. Para o tratamento mais adequado das variações da resposta BOLD, utiliza-se a idéia de não-linearidade. No âmbito dos estudos de RMf, a palavra linearidade expressa conceitos distintos: o modelo linear geral, o modelo estatístico mais utilizado para a análise dos dados de RMf; os comportamentos transitórios da função de resposta BOLD, como o *undershoot*, que diferem da forma retangular da função de estímulo; ou a violação da resposta observada das propriedades de um sistema linear invariante no tempo. De maneira geral, um sistema é considerado linear e invariante no tempo quando apresenta as seguintes propriedades:

- (i) Propriedade de Escala – Se um estímulo u produz uma resposta de amplitude s , então um estímulo de intensidade $a.u$ produz uma resposta $a.s$.
- (ii) Propriedade de Sobreposição – A resposta total a dois ou mais estímulos $u_1, u_2, \dots, u_n$ é dada pela soma das respostas individuais $s_1 + s_2 + \dots + s_n$.
- (iii) Invariância no tempo – As respostas a estímulos iguais em momentos distintos são iguais.

Não-linearidade, na presente tese, é definida como o não cumprimento de qualquer das propriedades acima.

3.2.2 - Linearidade do efeito BOLD e seus desvios

A caracterização das não-linearidades do efeito BOLD de acordo com o tempo de apresentação, contrastes e posição temporal dos estímulos foi objeto de diversos estudos (Birn e Bandettini 2005; Birn, et al. 2001; Friston, et al. 2000; Vazquez e Noll 1998). Vários métodos de estimação e quantificação das não-linearidades do efeito BOLD foram utilizados e englobam desde o erro de estimativa de um modelo linear até métodos matemáticos sofisticados. Caracteristicamente, esses métodos independem dos mecanismos fisiológicos subjacentes à resposta BOLD.

Em um estudo pioneiro do efeito da variação da duração e do contraste de estímulos visuais sobre a resposta BOLD observada no córtex visual primário, observou-se que a amplitude dessa resposta era maior para contrastes maiores e que a forma da curva se mantinha, em acordo com a propriedade de escala (Boynton, et al. 1996). Além disso, a resposta a estímulos longos podia ser predita pela soma das respostas a múltiplos estímulos curtos, ou seja, o sistema obedecia à propriedade de sobreposição. Respostas a estímulos com duração menor que 3 segundos, no entanto, superestimavam a amplitude das repostas mais longas. Ao contrário desse primeiro estudo, que utilizou um paradigma em bloco, Dale e Buckner (1997), utilizando um paradigma relacionado a eventos, observaram que a resposta BOLD aumentava linearmente com a duração dos estímulos, desde que o intervalo entre estímulos fosse suficientemente grande (Huettel e McCarthy 2004) . Quando os intervalos entre estímulos eram de 2 segundos, a resposta ao segundo estímulo apresentava menor amplitude e maior latência. Uma hipótese aventada para esse fenômeno foi a existência de um período refratário da resposta BOLD durante o qual estímulos eliciariam respostas hemodinâmicas ou neurais menores. Huettel e McCarthy (2000;

2001) observaram que a resposta ao segundo estímulo de um par de estímulos visuais era reduzida em cerca de 40% com aumento de latência de 1 segundo com relação a resposta ao primeiro estímulo quando o intervalo entre estímulos era de 1 segundo. Quando o intervalo entre estímulos era de 6 segundos, a resposta ao segundo estímulo voltava a ser semelhante a do primeiro estímulo, o que levou a estimar-se que o período refratário dura entre 4 e 6 segundos. Zhang, et al. (2008), utilizando estímulos visuais ultra-curtos (10 milissegundos) pareados com intervalo entre estímulos variáveis (1, 2, 4, 6 e 8 segundos), obtiveram resultados semelhantes aos de Huettel e McCarthy quanto ao valores do período refratário e latência da resposta BOLD.

Robson, et al. (1998) examinaram a resposta BOLD a estímulos auditivos com duração na faixa de 100 ms a 25.5 s e observaram que, para estímulos menores que 6 s, quanto menor a duração destes, maior o erro na predição da resposta a um estímulo de duração longa (maior o desvio à propriedade de sobreposição). Vazquez e Noll (1998) reportaram resultados semelhantes para estímulos visuais, que apresentaram não-linearidades substanciais para estímulos menores que 4 s ou com contraste menor que 40%. Em acordo com os estudos anteriores, estímulos mais curtos eliciaram respostas BOLD de amplitude maior e duração menor que a predita por um modelo linear.

Como a própria forma da curva BOLD (sua amplitude, latência e duração), suas não-linearidades também variam espacialmente no encéfalo, tanto entre voxéis de diferentes áreas quanto entre voxéis de uma mesma área. Birn, et al. (2001) utilizaram estímulos visuais e tarefa motora simples (*finger tapping*) em paradigmas em bloco com durações variáveis para determinar a distribuição espacial das não-

linearidades do efeito BOLD. O valor das não-linearidades foi calculado pelo erro da estimativa da resposta a estímulos longos pela resposta a estímulos mais curtos, voxel a voxel. Esse valor variou de próximo a 1, isto é, respostas aproximadamente lineares, até desvios de 10 vezes com relação ao predito. Nesse mesmo estudo, as áreas motoras apresentaram diferentes padrões de não-linearidades: as respostas da área suplementar motora apresentaram a mesma amplitude para as diferentes durações de estímulo e desvios de até 8 vezes da previsão linear; a área motora primária apresentou desvios de até 4 vezes para os estímulos de menor duração, mas a amplitude da resposta era diretamente proporcional à duração da tarefa. A dependência espacial e especificidade tecidual das não-linearidades do efeito BOLD foram estudadas para estímulos menores que 2 segundos em 4 T e 7 T (Pfeuffer, et al. 2003). As não-linearidades variaram com o valor do campo magnético principal, sendo significativamente maiores para o campo de 4 T com relação ao de 7 T e para vóxeis na substância cinzenta.

O grau de contribuições diferenciais da resposta hemodinâmica (variações de $rCBF$, $rCMRO_2$ e $rCBV$) e da resposta neural (maior ativação no início da apresentação do estímulo que no equilíbrio) para a gênese das não-linearidades do efeito BOLD é uma questão em aberto. Semelhanças entre não-linearidades da atividade neural e do efeito BOLD foram observadas (Bandettini e Ungerleider 2001), sugerindo a origem neural desses fenômenos. Por outro lado, Obata, et al. (2004), adquirindo mapas de efeito BOLD e de fluxo simultaneamente pela técnica de ASL, observaram diferenças entre as não-linearidades do fluxo e do BOLD, sugerindo uma origem puramente vascular para o fenômeno. Também sugerindo uma origem puramente vascular para as não-linearidades, Zhang, et al. (2008)

observaram que atividades neurais presumivelmente invariáveis (a estímulos visuais de 10 milissegundos) eliciam respostas BOLD dependentes do intervalo entre estímulos. Além disso, esses autores observaram que as não-linearidades tornam-se menos significativas quando se excluem voxéis correspondentes a grandes vasos, sugerindo uma contribuição preponderante da resposta hemodinâmica desses vasos para a gênese das não-linearidades. Já Gu, et al. (2005), utilizando VASO, uma técnica capaz de medir BOLD, rCBV e rCBF simultaneamente, reportaram não-linearidades semelhantes entre fluxo e volume e maiores desvios da linearidade da curva BOLD para estímulos visuais menores que 4 s, sugerindo a origem mista, tanto vascular quanto neural, das não-linearidades.

Os estudos consistentemente demonstram não-linearidades do efeito BOLD para durações de estímulo ou intervalos entre estímulos menores que 4 a 6 s. Yesilyurt, et al. (2008) investigaram as não-linearidades do efeito BOLD para estímulos visuais de 5 a 1000 ms com diferentes graus de luminância. Mesmo estímulos da ordem de 5 ms eliciaram resposta BOLD detectável e a amplitude da resposta para estímulos de 1000 ms foi apenas duas vezes maior que aquela para estímulos de 5 ms. As não-linearidades também dependeram da intensidade do estímulo visual, sugerindo que outros parâmetros da apresentação de estímulos também correlacionam-se a respostas BOLD não-lineares. Birn e Bandettini (2005) demonstraram que as não-linearidades da resposta BOLD dependem da fração de tempo da apresentação de estímulo versos estado de repouso em um paradigma relacionado a eventos randomizado. Observaram ainda que a modulação do tempo de retirada do estímulo produz uma queda do sinal menor que a predita por um sistema linear quando a retirada é breve.

A caracterização das não-linearidades do efeito BOLD apresentada nessa seção baseia-se em métodos independentes dos fenômenos físicos e fisiológicos que geram o efeito BOLD. Mas a determinação da natureza dessas não-linearidades, especialmente a quantificação diferencial das prováveis contribuições de mecanismos neurais e vasculares só pode ser obtido por métodos ou modelos biofisicamente plausíveis. Apresenta-se, a seguir, as bases físicas e fisiológicas do efeito BOLD e os modelos teóricos e formalizados que buscam integrar os diversos passos do processo que gera o efeito BOLD.

3.3 Bases físicas do efeito BOLD

O fenômeno de ressonância magnética nuclear é um fenômeno quântico. Apesar disso, a descrição em termos de mecânica clássica desse fenômeno oferece uma visualização dos processos físicos subjacentes e guarda certas analogias com o tratamento quântico do problema. A descrição clássica foi utilizada na elaboração dos modelos matemáticos dos fenômenos físicos que descrevem o sinal BOLD a partir da variação local de desoxi-hemoglobina.

O núcleos de hidrogênio das moléculas que formam os tecidos possuem um momento magnético (*spin*). Esses núcleos podem ser descritos classicamente como pequenos magnetos ou “ímãs” que giram em torno de um eixo. Os núcleos podem também ser representados por vetores de magnetização cuja soma resulta em uma magnetização média do tecido. Em condições normais e no equilíbrio essa magnetização média é nula nos tecidos biológicos porque os vetores de

magnetização estão distribuídos randomicamente e anulam-se mutuamente. No campo magnético principal do aparelho de RM (contínuo e de alta intensidade), os tecidos se tornam magnetizados porque alguns dos vetores de magnetização alinham-se à direção do campo. A direção do campo é denominada eixo longitudinal ou eixo z.

Os vetores de magnetização também descrevem um movimento de precessão em torno do eixo z, com uma frequência que é proporcional à intensidade do campo magnético. Inicialmente, as precessões de diferentes núcleos estão fora de fase. Isso faz com que não haja magnetização no plano perpendicular ao eixo z, chamado plano transversal. Para obter-se o sinal de RM os tecidos são temporariamente submetidos a um pulso de ondas eletromagnéticas cuja frequência é a mesma da de precessão dos núcleos de hidrogênio (frequência de ressonância). Esse pulso faz com que as precessões entrem em fase e aumenta o ângulo do “cone” de precessão com centro no eixo z. Com isso a magnetização longitudinal diminui e surge uma magnetização resultante no plano transversal. Os núcleos com precessão em fase são ditos excitados. Quando os núcleos excitados voltam ao seu estado original (relaxado) o tecido emite uma onda eletromagnética. A relaxação pode ser dividida em dois processos, a relaxação longitudinal (*spin-lattice*) e a relaxação transversal (*spin-spin*).

Esse mesmo cenário pode ser descrito em termos das variações da energia quantizada do sistema. Tomando-se uma amostra de tecido (formado preponderantemente por moléculas de água) na qual todos os *spins* dos elétrons estão balanceados, as moléculas terão um pequeno momento magnético devido ao núcleo de hidrogênio. Quando a amostra é exposta a um campo magnético B há dois estados de energia possíveis para os prótons (núcleos de hidrogênio têm *spin* 1/2), paralelo e anti-paralelo ao campo. Se a amostra estiver em equilíbrio térmico, ocorre um

pequeno desbalanço com uma maior quantidade de prótons no estado de menor energia, ou seja, com o momento magnético na mesma direção e sentido do campo B . Se essa mesma amostra de água for exposta a um campo magnético que oscila com uma frequência determinada ω_p , esse campo induzirá transições entre os estados de energia. Como há mais prótons no estado de menor energia, o resultado será uma absorção de energia do campo pelos prótons (Feynman 1964). Essa absorção de energia é observada somente quando a frequência do campo oscilante for igual a frequência de ressonância do próton, ou seja, quando

$$\omega = \omega_p = g \left(\frac{q}{2m} \right) B, \quad (I)$$

onde ω_p é a frequência de ressonância, g é uma constante (fator de Landé), B é a intensidade do campo magnético, q e m são a carga e a massa do próton, respectivamente (Feynman 1964).

3.3.1 – Aquisição de imagens por RM

A base da produção de imagens por RM é o fato de que a frequência de ressonância do próton ω_p é proporcional ao campo magnético local B , conforme a equação I que pode ser escrita como

$$\omega_p = g\gamma B, \quad (II)$$

onde g e γ são constantes que representam o fator de Landé e a razão giromagnética, respectivamente. Um campo magnético que varie linearmente em um dado eixo faz com que a frequência de ressonância também varie linearmente com a posição no eixo. O campo magnético linearmente variável é denominado gradiente

de campo e é utilizado na codificação de informação sobre a distribuição espacial do sinal de ressonância magnética. A aplicação de pulsos de radiofrequência (RF) muda a magnetização do eixo longitudinal, criada pelo campo magnético principal, para o plano transversal (excitação). Pulsos de RF podem também ser usados como pulso de refocagem, criando ecos de sinais prévios. Sequências de pulso são construídas pela combinação entre pulsos de RF e pulsos de gradientes de campo (Figura 2).

Geralmente, a primeira etapa na aquisição de imagens por RM é a aplicação de um pulso de RF que seleciona um “corte” do objeto, ou seja, cria magnetização em um dado plano (Huettel e McCarthy 2004). Concomitantemente à aplicação desse pulso de RF selecionador de corte, um pulso de gradiente é aplicado no eixo z, perpendicular ao corte, de forma que a frequência de ressonância no centro desse corte seja ω_0 . Como o pulso gradiente faz com que a frequência de ressonância varie com a posição no eixo z, apenas os *spins* localizados em uma estreita faixa, cujo centro é o corte selecionado, serão excitados pelo pulso de RF. Esse processo produz uma magnetização transversal de precessão em cada ponto do corte selecionado. Uma imagem da distribuição do sinal de RM nesse plano pode então ser produzida (Buxton 2002b).

Quando o gradiente de campo está ligado, o sinal resultante equivale a transformada de Fourier do objeto ($S(t) = S(k)$, sendo S o sinal, k a frequência e t o tempo) e a imagem $I(x)$ pode ser obtida simplesmente aplicando-se a transformada de Fourier inversa em $S(t)$. Essa codificação de frequência mapeia o objeto para uma dimensão. Para o mapeamento no plano, geralmente se utiliza uma codificação de ângulo de fase para a segunda dimensão. Na codificação por frequência a medida baseia-se no acúmulo de diferenças de fase entre *spins*. Na codificação de fase a

amostragem do espaço-k é feita ponto a ponto pela aplicação de pulsos de gradiente sequenciais de amplitudes crescentes.

Figura 2 – Exemplo de sequência de pulsos para aquisição de imagem por ressonância magnética. Uma sequência de pulsos típica pode ser dividida em três fases. Na fase de preparação da magnetização transversa, aplica-se o pulso de radio frequência concomitante ao pulso gradiente de seleção de fatia. Logo após o pulso de RF, o gradiente de codificação de fase é ligado. A localização espacial dos *spins* no eixo do gradiente de codificação de fase é dada por suas frequências de precessão. Quando esse gradiente é desligado, as frequências dos *spins* se igualam mas os ângulos de fase variam com a posição espacial. Um segundo pulso de RF e um pulso de seleção de corte são aplicados simultaneamente causando a inversão de fase da magnetização transversa, gerando o eco de *spin*. Um terceiro gradiente é aplicado criando dependência da frequência com a posição do *spin* durante a fase de amostragem ou coleta do eco de *spin*. A última fase consiste em um intervalo de tempo suficiente para a recuperação da magnetização longitudinal, necessário para o início da próxima sequência de pulsos. Adaptado de Logothetis (2002).

Imagens em duas dimensões são obtidas pela codificação de frequência no eixo x e de fase no eixo y, sendo que esses processos não sofrem interferência mútua.

Qualquer imagem bidimensional $I(x,y)$ é uma distribuição da magnetização transversa local no plano xy . Para cada ponto (x,y) são necessários dois números para especificar o sinal local que são a magnitude e o ângulo do sinal. Portanto, cada ponto em $I(x,y)$ pode ser considerado um número complexo e pode ser expresso como uma função S das frequências espaciais k_x e k_y no espaço- k . De forma mais geral, a frequência $k(t)$ é um vetor no espaço k que define a localização amostrada no tempo t . Se $G(t)$ é o vetor do gradiente de campo total no tempo t , tem-se

$$k(t) = \int_0^t \gamma G(t') dt'. \quad (\text{III})$$

Essa é a equação básica da imagem por RM. Em resumo, a imagem tridimensional é obtida de três diferentes maneiras, correspondentes às três dimensões espaciais: seleção de corte no eixo z , codificação de frequência no eixo x e codificação de fase no eixo y (Buxton 2002b) (Figura 2).

3.3.2 – Contrastes e física do sinal BOLD

A aplicação de diferentes sequências de pulsos de RF e gradiente permitem a obtenção de imagens por ressonância magnética baseadas em contrastes entre os tecidos. Esses contrastes podem ser divididos em estáticos e dinâmicos. Contrastes estáticos são sensíveis ao tipo, número e propriedades de relaxação dos núcleos atômicos em determinada região enquanto contrastes dinâmicos são sensíveis ao movimento dos núcleos atômicos. Exemplos de contrastes estáticos são a densidade de prótons, a espectroscopia e os tempos de relaxação T_1 , T_2 e T_2^* . A angiografia por RM, imagens ponderadas por difusão ou por perfusão são exemplos de utilização de contrastes dinâmicos (Buxton 2002b). Os contrastes podem ainda ser divididos em

endógenos, como o efeito BOLD, e exógenos, como injeção intravenosa de gadolínio-DTPA. De especial interesse para o entendimento das bases físicas do efeito BOLD são os mecanismos dos contrastes estáticos, mais especificamente de T_2^* .

A magnetização de um sistema de *spins* pode ser dividida em uma componente transversa (M_{xy}) e uma componente longitudinal (M_z), que decaem exponencialmente no tempo após uma excitação inicial:

$$M_z = M_0 \left(1 - e^{-t/T_1} \right), \quad (IV)$$

$$M_{xy} = M_0 e^{-t/T_2}, \quad (V)$$

onde M_0 representa a magnetização original, que depende da densidade de prótons; T_1 e T_2 são as constantes de tempo de decaimento da magnetização longitudinal e transversa, respectivamente. As constantes de tempo são propriedades que variam com a constituição do tecido biológico.

Quando o intervalo entre pulsos de excitação sucessivos, o denominado tempo de repetição (TR), não é longo o suficiente para permitir a recuperação total da magnetização longitudinal, a magnetização transversa passa a ser descrita por:

$$M_{xy} = M_0 \left(1 - e^{-TR/T_1} \right) e^{-t/T_2}, \quad (VI)$$

onde o termo entre parênteses expressa a recuperação incompleta da magnetização longitudinal. Dado o intervalo entre o pulso de excitação e a aquisição dos dados do centro do espaço-k, denominado tempo de eco (TE), a

equação da magnetização transversa pode ser escrita como:

$$M_{xy} = M_0 \left(1 - e^{-TR/T_1}\right) e^{-TE/T_2}. \quad (\text{VII})$$

Considerando dois tecidos distintos A e B, o contraste entre eles (C_{AB}) é a diferença entre seus sinais de ressonância magnética dada por:

$$C_{AB} = M_{0A} \left(1 - e^{-TR/T_{1A}}\right) e^{-TE/T_{2A}} - M_{0B} \left(1 - e^{-TR/T_{1B}}\right) e^{-TE/T_{2B}}. \quad (\text{VIII})$$

A manipulação dos valores de TE e TR permite obter-se os diferentes contrastes entre tecidos. Imagens ponderadas em T_2 são obtidas pela aplicação de sequências de pulso com TE longo. Para minimizar o efeito de T_1 , um valor de TR suficientemente longo deve ser utilizado de forma que e^{-TR/T_1} seja aproximadamente 0 e a equação do contraste fique:

$$C_{AB} = M_{0A} e^{-TE/T_{2A}} - M_{0B} e^{-TE/T_{2B}}. \quad (\text{IX})$$

Imagens ponderadas em T_2 podem ser geradas apenas por sequências de pulso do tipo *spin-eco*, pois essas permitem interações *spin-spin*. A relaxação transversa é causada por interações *spin-spin*, expressa pela constante temporal T_2 , e por mudanças na frequência de precessão do *spin* geradas por não-homogeneidades do campo magnético. O efeito combinado desses dois fatores é representado pela constante temporal T_2^* , cuja relação quantitativa com T_2 é

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_2'}, \quad (\text{X})$$

onde T_2' reflete o efeito de defasagem causado pela não-homogeneidade do

campo.

A diminuição da homogeneidade do campo é causada por diferenças de susceptibilidade magnética. Quando um corpo é colocado em um campo magnético B , o campo em dado ponto do objeto não é exatamente B . Pelo princípio de sobreposição dos campos, o campo resultante em determinado local é a soma de B com o campo causado pela magnetização do corpo gerada pela tendência de alinhamento dos momentos magnéticos do corpo com o campo principal (Feynman 1964). O grau de magnetização M de um material exposto a um campo magnético B define a susceptibilidade magnética χ desse material:

$$\chi = \frac{M}{B}. \quad (XI)$$

As propriedades magnéticas da matéria devem-se aos momentos magnéticos dos elétrons em camadas incompletas dos átomos e de elétrons desemparelhados (Guimarães 2009). Os materiais são divididos em paramagnéticos e diamagnéticos de acordo com seu comportamento quando expostos a uma região de campo magnético mais intenso. Materiais paramagnéticos, ao contrário dos diamagnéticos, são atraídos pelo campo magnético. Materiais diamagnéticos apresentam susceptibilidade magnética relativamente pequena e negativa. Materiais paramagnéticos apresentam susceptibilidade magnética positiva (Guimarães 2009).

A diferença de susceptibilidade magnética entre os compartimentos intra e extravascular criada pela presença de um contraste paramagnético apenas no intravascular cria gradientes de campo magnético microscópicos no tecido. Essa

diminuição da homogeneidade do campo causa diferentes frequências de precessão dos *spins* e essa perda de fase diminui o sinal medido por gradiente eco (GRE), o que é descrito como diminuição de T_2^* . O sinal também é reduzido pela diferença de susceptibilidade magnética em imagens de *spin* eco (SE) pois a difusão através dos gradientes de campo microscópicos fazem com que o eco de *spin* seja menos efetivo na refocagem de fase.

As propriedades magnéticas da hemoglobina formam a base biofísica do efeito BOLD. Essas propriedades dependem do estado de oxigenação de seus quatro grupos heme (Figura 3). Quando ligada a quatro átomos de oxigênio, a hemoglobina é denominada oxi-hemoglobina e tem comportamento diamagnético. Quando a hemoglobina não está carreando oxigênio, no estado denominado desoxi-hemoglobina, os átomos de ferro do grupo heme estão expostos e o seu comportamento é paramagnético. Como consequência, a susceptibilidade magnética do sangue varia com seu grau de oxigenação de maneira aproximadamente linear (Weisskoff e Kiihne 1992). Como a escala espacial da distorção do campo magnético causada pela diferença de susceptibilidade magnética entre a desoxi-hemoglobina paramagnética e o meio circundante é menor que o tamanho do voxel, o sinal nesse voxel é reduzido. Em outras palavras, a desoxi-hemoglobina causa uma queda do sinal em imagens ponderadas em T_2^* por reduzir a constante de relaxação transversa medida com uma sequência de pulso de GRE (Buxton 2002c).

Figura 3 – Estrutura tridimensional da hemoglobina. A hemoglobina é uma proteína globular à qual ligam-se quatro grupos heme, em verde na figura. Os grupos heme contém os átomos de ferro que conferem a propriedade de paramagnetismo à essa molécula na forma desoxigenada. É também nos grupamentos heme que liga-se o oxigênio (fonte: Protein Structure Database – www.ncbi.nlm.nih.gov)

O conteúdo de desoxi-hemoglobina nas artérias e arteríolas é praticamente zero e atinge cerca de 40% da concentração de hemoglobina total nas veias. Portanto, a maior diferença de susceptibilidade magnética ocorrerá em vóxeis que contêm veias. Mas o sangue nos capilares, onde ocorrem efetivamente as trocas

gasosas entre o sangue e o tecido nervoso, também apresentará mudanças mensuráveis de susceptibilidade magnética.

A atividade neural causa um aumento do metabolismo oxidativo e, conseqüentemente, da produção local de desoxi-hemoglobina. No entanto, esse aumento do conteúdo de desoxi-hemoglobina é muito menor que o aumento do fluxo sanguíneo regional (rCBF), que também acompanha a atividade neural. O resultado da interação desses fatores é um aumento da oxigenação do sangue de capilares e vênulas e, portanto, uma diminuição do conteúdo de desoxi-hemoglobina com relação a linha de base. Como conseqüência da diminuição da diferença de susceptibilidade magnética antes causada pela desoxi-hemoglobina, o sinal medido em uma imagem ponderada em T_2^* aumenta. Esse aumento do sinal ponderado em T_2^* foi denominado efeito BOLD por Ogawa e col (Ogawa, et al. 1990a).

Em uma primeira aproximação, a mudança na taxa de relaxação transversa ($R_2^*=1/T_2^*$) associada a diferença de susceptibilidade magnética entre o sangue e o tecido depende apenas do volume total de sangue venoso em um voxel, e não do tamanho dos vasos que o contém. Entretanto, essa aproximação não é válida se considerar-se os efeitos de difusão, isto é, da relação entre a taxa de precessão do núcleo atômico e o movimento randômico das moléculas. O efeito do movimento difusional é uma diminuição da dispersão de fases que, em última análise, determina a atenuação medida no tempo TE. Como conseqüência, qualquer difusão das moléculas de água reduz o efeito BOLD adquirido em GRE. A magnitude do efeito da difusão sobre o sinal de RM depende da distância percorrida pela molécula de água durante o experimento e da relação entre essa

distância e a extensão das variações de campo locais. A distância percorrida pelas moléculas de água para intervalos de TE geralmente utilizados em experimentos com contraste BOLD é maior que o raio do capilar, comparável ao tamanho das vênulas e menor que o raio das veias (Huettel 2004). Portanto, haverá pouca atenuação do sinal devida a efeitos de difusão no entorno de veias mas uma redução significativa no entorno de capilares. Somando-se o efeito dessa atenuação do sinal em vasos menores com a diminuição mais pronunciada do conteúdo de desoxi-hemoglobina nas veias que nos capilares, Buxton et al. (2002, 2004) concluiu que experimentos BOLD baseados em GRE são primariamente sensíveis a veias. Apesar do compartimento intravascular representar cerca de 4% do tecido total, os *spins* intravasculares apresentam uma contribuição comparável a do extravasculares para a mudança de sinal em experimentos BOLD em 1,5 e 3 T (Boxerman, et al. 1995a; Boxerman, et al. 1995b; Buxton, et al. 1998).

3.4 Bases fisiológicas do efeito BOLD

A fisiologia do efeito BOLD baseia-se em uma complexa relação entre quatro parâmetros mensuráveis: o fluxo sanguíneo cerebral regional (rCBF), o volume sanguíneo cerebral regional (rCBV), a taxa metabólica de consumo de glicose (rCMRglu), e a taxa metabólica de consumo de oxigênio (rCMRO₂). Esses parâmetros podem refletir, de maneira indireta e ainda pouco clara, determinados aspectos da atividade neural em vias específicas. A dinâmica desses parâmetros produzirá a variação transitória do nível de desoxi-hemoglobina local que é o

fenômeno primordial do efeito BOLD. As definições desses parâmetros variam na literatura, principalmente graças a disponibilidade de diferentes métodos de medida. Segundo Buxton (2002), o rCBF é definido como a quantidade de sangue que chega ao compartimento vascular em um dado volume cerebral e por dado intervalo de tempo. Por essa definição, a dimensão da medida de rCBF é 1/s. O rCBV é definido como a razão entre o volume sanguíneo e determinado volume de tecido nervoso (um voxel, por exemplo) e, portanto, é um número adimensional (Buxton 2002). A taxa metabólica de consumo de qualquer substância pelo tecido nervoso (CMR) é dada pela diferença entre a concentração dessa substância nos compartimentos arterial e venoso, ponderada pelo rCBF (Magistretti 2008).

Um maior aumento do rCBF com relação ao rCMRO₂ (Fox and Raichle 1986; Silva, et al. 1999) , na ordem de 1:2 a 1:6 dependendo do método de mensuração desses parâmetros, leva a um aumento da oxigenação local e diminuição do conteúdo de desoxi-hemoglobina o que explica o aumento observado do sinal em imagens ponderadas em T₂* que caracteriza o efeito BOLD. O número absoluto de moléculas de desoxi-hemoglobina, e não sua concentração, correlaciona-se com a variação do sinal magnético (Buxton 2002). A variação do rCBV também contribui diretamente com o efeito BOLD, de maneira dependente da magnitude do campo magnético principal e pelo menos dez vezes menor que a contribuição do conteúdo de desoxi-hemoglobina (Buxton, et al. 2004). Um esquema geral da cadeia desses eventos fisiológicos que geram o efeito BOLD a partir de um dado estímulo está ilustrado na Figura 4.

Figura 4 – Diagrama dos mecanismos de geração do efeito BOLD. A maioria dos modelos da geração do efeito BOLD assume os mecanismos fisiológicos sequenciais ilustrados. Estímulos sensoriais ou tarefas específicas eliciam a atividade de um sistema neural também específico (I). A atividade sináptica causa aumento local do fluxo sanguíneo e do consumo de oxigênio (II). O aumento do fluxo sanguíneo, por sua vez, está relacionado ao aumento do volume sanguíneo local (III –a) e do conteúdo de oxi-hemoglobina (III-b), aumentando a oferta de oxigênio ao tecido ativado. Concomitantemente, o aumento do metabolismo oxidativo pela atividade neural produz desoxi-hemoglobina (linha pontilhada). Como o aumento de fluxo é significativamente maior que o aumento do consumo de oxigênio, há uma diminuição resultante do conteúdo total de desoxi-hemoglobina. O volume sanguíneo local e o conteúdo de desoxi-hemoglobina determinam o efeito BOLD (IV). (Huettel 2004; Buxton, et al. 2004)

Nesse esquema geral, o mecanismo que leva a variação do sinal magnético é dividido em cinco passos, a saber: (1) um estímulo ou conjunto de estímulos causa uma resposta neural localizada; (2) a atividade neural leva a um aumento do fluxo sanguíneo local (rCBF); (3) a atividade neural leva também a um aumento local do consumo metabólico de oxigênio (rCMRO₂); (4) as variações do rCBF e do rCMRO₂ causam mudanças no volume sanguíneo e conteúdo de desoxi-hemoglobina no voxel; (5) a variação do sinal magnético a cada instante é função do volume sanguíneo e do conteúdo de desoxi-hemoglobina.

3.4.1 – Do estímulo à atividade neural: correlação com o efeito BOLD

Diversos fenômenos fisiológicos e biofísicos sediados nos neurônios são denominados atividade neural. Esses fenômenos cobrem uma grande gama de escalas temporais e espaciais e incluem os processos metabólicos necessários à manutenção das células em geral, como a síntese protéica, processos metabólicos mais específicos dos neurônios, como transporte de neurotransmissores, atividade elétrica por variações do potencial transmembrana e transmissão química pela fenda sináptica (Kandel 2000c). A fisiologia da atividade metabólica cerebral é revisada na seção 3.4.4. Na presente seção revisa-se os fundamentos da atividade elétrica cerebral, medidas eletrofisiológicas e a correlação entre essas medidas e o efeito BOLD.

Os neurônios podem ser divididos em três compartimentos funcionais: os dendritos, o corpo celular e o axônio. O corpo celular, que contém o núcleo celular, é a sede dos principais processos metabólicos do neurônio (Kandel 2000c). Os axônios possuem terminações especializadas no acoplamento químico ou elétrico entre neurônios, as sinapses. Todo neurônio mantém um potencial transmembrana de repouso por manutenção de um gradiente eletroquímico pela bomba de sódio e potássio eletrogênica, sendo negativamente carregado com relação ao meio intercelular (Kandel 2000c, Magistretti 2008). A atividade elétrica neuronal pode ser dividida em potenciais pós-sinápticos e potenciais de ação, que são diferentes formas de variação do potencial de repouso (Kandel 2000c). O potencial de ação é uma despolarização do tipo tudo ou nada, que se inicia em uma região especializada na transição entre corpo celular e axônio e é transmitida unidirecionalmente pelo

axônio. O potencial de ação pode despolarizar diretamente um segundo neurônio por meio de uma sinapse elétrica. Mais frequentemente, porém, o potencial de ação causa a liberação de neurotransmissores em sinapses químicas (Kandel 2000c).

No acoplamento químico, neurotransmissores liberados na fenda sináptica ligam-se a receptores na membrana da célula pós-sináptica. Esses receptores dividem-se em metabotrópicos, que causam mudanças no funcionamento celular via segundos mensageiros, e ionotrópicos, que causam variações no potencial de membrana da célula pós-sináptica (Kandel 2000c). Neurotransmissores excitatórios causam despolarização do neurônio pós-sináptico, o potencial excitatório pós-sináptico (PEP), geralmente de amplitude várias ordens de grandeza menor que a magnitude da despolarização dos potenciais de ação (Magistretti 2008). Neurotransmissores inibitórios causam influxo de íons negativos, principalmente cloreto, dificultando a despolarização, criando os chamados potenciais inibitórios pós-sinápticos (PIP) (Kandel 2000c). Na verdade, o que determina se a atividade sináptica é excitatória ou inibitória não é a estrutura química do neurotransmissor mas a resposta que este elicia no receptor pós-sináptico (Kandel 2000b). A cada instante, os PEPs e PIPs das diversas sinapses que chegam a um neurônio, totalizando até centenas de milhares, são integrados na transição entre o corpo celular e o axônio. Um potencial de ação é gerado se a despolarização nessa região específica do neurônio em um dado instante é maior que um certo limiar. Os novos potenciais de ação, por sua vez, são transmitidos pelas conexões sinápticas a outros neurônios que formam as vias ou redes neurais (Kandel 2000c).

Há métodos de medida da atividade eletrofisiológica dos neurônios com resoluções espaciais e temporais diversas. É possível determinar-se desde a atividade

elétrica transmembrana de um único canal iônico até atividades de grandes populações neuronais em todo o cérebro. Duas importantes medidas da atividade dos neurônios para estudos da fisiologia do efeito BOLD são a atividade multi-unitária (MUA) e o potencial de campo local (LFP). Essas medidas são adquiridas por eletrodos intracorticais. O LFP consiste em uma faixa de frequências do sinal eletrofisiológico entre 30 e 130 Hz. O MUA consiste em uma faixa de frequências mais alta, entre 300 e 3000 Hz. Tanto MUA quanto LFP são medidas resultantes de mais de uma fonte de variação elétrica no parênquima cerebral e da interação dessas fontes com as propriedades elétricas do meio circundante. De maneira simplificada, o MUA reflete primariamente os potenciais de ação, enquanto o LFP reflete uma média ponderada de componentes dendro-somáticos do sinal de entrada de uma população neural, especialmente causada pelos PEPs (Logothetis 2002).

Logothetis, et al. (2001) realizaram medidas simultâneas do efeito BOLD e de medidas eletrofisiológicas em macacos. Esses experimentos foram conduzidos com o intuito de estabelecer a correlação entre a atividade neural e o efeito BOLD. Para determinar se a atividade neural subjacente ao sinal BOLD provém da atividade sináptica ou da dinâmica dos potenciais de ação, esses autores examinaram os graus de correlação do efeito BOLD com o MUA e o LFP. As respostas MUA foram transientes enquanto as medidas de LFP mantinham-se elevadas durante todo o tempo de apresentação do estímulo visual. Esses resultados sugerem que o efeito BOLD reflete mais provavelmente a atividade sináptica aferente e não os potenciais de ação. Em seguida, um modelo linear foi implementado para a predição do efeito BOLD a partir da resposta neural com LFP ou MUA. A resposta LFP produziu uma predição do efeito BOLD em média melhor que o sinal MUA. A relação entre BOLD

e resposta neural foi robustamente linear. A principal conclusão desse artigo foi que um aumento localizado no sinal BOLD reflete diretamente um aumento na atividade neural. Além disso, a maior contribuição da medida de LFP ao efeito BOLD indica que a atividade sináptica e não a atividade de potenciais de ação está na base do efeito BOLD (Logothetis 2002).

No entanto, ao contrário do proposto por Logothetis, et al. (2001), alguns estudos apontam para uma correlação forte e linear entre atividade de potenciais de ação e efeito BOLD positivo. Mukamel, et al. (2005) mediram os potenciais de ação de neurônios do giro de Heschl de pacientes com epilepsia durante apresentação de estímulo multi-sensorial (uma cena de 9 minutos de um filme). A mesma tarefa foi realizada em experimentos de RMf por voluntários saudáveis. As medidas obtidas dos pacientes foram convoluídas com uma função gama produzindo preditores de resposta hemodinâmica que foram então utilizados como regressores do modelo linear geral (GLM). O coeficiente de correlação entre os preditores (atividade unitária) e o sinal BOLD médio foi alto (entre 75% e 90%), indicando que, nessa montagem experimental, o sinal BOLD é um bom preditor da frequência média de disparo de potenciais de ação dos neurônios locais.

Maier, et al. (2008) utilizaram paradigma de supressão sensorial em macacos e medidas simultâneas de atividade elétrica e efeito BOLD a fim de esclarecer discordâncias sobre o acoplamento entre BOLD e medidas eletrofisiológicas observadas em macacos (Logothetis, et al. 2001) e humanos (Mukamel, et al. 2005). Esses autores observaram sinais BOLD e eletrofisiológico concordantes durante estimulação sensorial simples porém discrepantes durante supressão sensorial, situação na qual o efeito BOLD foi suprimido mas não a atividade unitária de

neurônios. Não houve correlação entre LFP e efeito BOLD ou com a tarefa de supressão sensorial. Os autores concluíram que o efeito BOLD e as diversas medidas eletrofisiológicas possivelmente medem processos distintos, sugerindo que as diferentes conclusões entre estudos em humanos e macacos podem derivar da própria natureza dos sinais. Nesse mesmo estudo foi observado que o sinal BOLD correlacionou-se melhor com o estado perceptual que as medidas eletrofisiológicas e possíveis razões para esse achado incluem: (i) atividade de interneurônios ou neurônios à distância que controlam a microvasculatura; (ii) diminuição equivalente de atividade excitatória e inibitória, diminuindo a demanda metabólica local mas não a frequência de disparo.

Ekstrom, et al. (2009) realizaram experimentos de RMf de navegação em ambiente virtual em pacientes com programação de implantação de eletrodos hipocampais, posteriormente medindo LFP e atividade neuronal nos mesmos indivíduos realizando a mesma tarefa. O sinal BOLD correlacionou-se positivamente com a banda teta do LFP (4-8 Hz) no giro para-hipocampal, mas nenhuma outra correlação foi observada. Os autores concluíram que a relação entre atividade neural e BOLD no hipocampo humano é heterogênea, ao contrário do descrito para áreas sensoriais (Heeger e Ress 2002).

De fato, alguns estudos propõem que não há um mecanismo único para o acoplamento entre efeito BOLD e medidas eletrofisiológicas, mas que os mecanismos variam com a região cerebral ou mesmo na mesma região para diferentes tarefas (Muthukumaraswamy e Singh 2009). Nesse sentido, Nir, et al. (2007) realizaram medidas simultâneas de atividade unitária (potenciais de ação de um neurônio), LFP e BOLD em córtex auditivo primário de humanos observando

uma grande variação no nível de acoplamento entre essas medidas. Muthukumaraswamy e Singh (2009) realizaram medidas de MEG e BOLD em momento distintos durante apresentação de estímulos visuais com diferentes contrastes e frequências espaciais em humanos e observaram aumento da amplitude de oscilação gama ($\sim 40\text{Hz}$) proporcional ao aumento da frequência espacial. Esse efeito não foi observado para a amplitude do sinal BOLD, independentemente do tipo ou contraste do estímulo.

Em áreas sensoriais primárias, a maior correlação entre frequência de disparos e LFP reflete-se em maior correlação entre o sinal BOLD e a frequência de disparos (Mukamel, et al. 2005; Kida 2006; Nir 2007). Nessas áreas, portanto, o efeito BOLD pode refletir a atividade de potenciais de ação local. Já no hipocampo em humanos, há evidência de dissociação entre LFP e MUA (Ekstrom 2007; Kruskov, et al. 2007). Além disso, há evidência de desacoplamento entre o sinal BOLD e o LFP no hipocampo (Ekstrom 2010). Já na região para-hipocampal há evidências de acoplamento entre BOLD e LFP (Ekstrom 2010). Essa diferença pode ser explicada pela dissociação entre LFP e a frequência de disparo de potenciais de ação no hipocampo. A dissociação entre LFP e frequência de disparos pode dever-se a extensa circuitaria local do hipocampo (Angenstein, et al. 2009). O desacoplamento entre BOLD e LFP no hipocampo pode também ser explicada pela organização vascular dessa região. O hipocampo possui uma densidade capilar cerca de 50% menor que o neocórtex, menor suprimento sanguíneo e maior vulnerabilidade a hipoxia (Ekstrom 2010). Por essas características, o aumento do consumo de oxigênio no hipocampo pode ser similar ao aumento do rCBF com a atividade neural diminuindo o sinal BOLD ou resultando em BOLD negativo.

Em uma revisão dos estudos de acoplamento entre medidas eletrofisiológicas e sinais “metabólicos” (BOLD, rCBF, rCBV e rCMRO₂), Ekstrom (2010) encontraram 30 estudos evidenciando acoplamento entre LFP e sinais “metabólicos”, 15 estudos com evidência de desacoplamento entre esses sinais, 12 estudos demonstrando acoplamento entre frequência de disparos e sinais “metabólicos” e 13 estudos evidenciando desacoplamento entre esses sinais. Além disso, 6 estudos demonstraram um desacoplamento triplo, entre LFP, frequência de disparos e sinais “metabólicos”. Entre 9 estudos no hipocampo, 5 sugeriram desacoplamento entre o sinal BOLD e LFP. Interessantemente, não há nenhum estudo demonstrando acoplamento entre frequência de disparo e BOLD simultaneamente com desacoplamento entre LFP e BOLD.

Em resumo os estudos apontam para formas complexas de acoplamento entre atividade elétrica e sinal BOLD, o que é condizente com a complexidade do próprio sinal neural e da provável variação dos mecanismos fisiológicos finos desse acoplamento. Ainda assim, o modelo de acoplamento entre LFP e BOLD (Logothetis, et al. 2001) está bem estabelecido no neocórtex para diversas condições experimentais sugerindo que o sinal BOLD de fato reflete a atividade neural local em diversas situações (Ekstrom 2010).

3.4.2 – A relação entre atividade neural e fluxo sanguíneo local

A relação mais bem estabelecida da cadeia de eventos fisiológicos que gera o efeito BOLD é o aumento do rCBF associado a atividade neural em uma região restrita, ou hiperemia funcional. Descrito inicialmente por Roy e Sherrington no século XIX (Roy e Sherrington 1890), o fenômeno de hiperemia funcional foi

observado e quantificado por diversos métodos. Roy e Sherrington demonstraram o aumento localizado do fluxo sanguíneo no córtex parietal de animais após estimulação sensorial. No mesmo trabalho, esses autores postularam que o cérebro possui mecanismos intrínsecos que produzem uma variação local do suprimento vascular que, por sua vez, correlaciona-se à variação da atividade neural (Roy e Sherrington 1890). O desenvolvimento de técnicas ópticas, de biologia molecular, do PET e da própria ressonância magnética têm contribuído para o esclarecimento desses mecanismos intrínsecos postulados há mais de um século, resumidos na figura 5.

Jones, et al. (2004) utilizaram fluxometria por Doppler para medir o rCBF e registro eletrofisiológico de potenciais de campo (LFP) e de atividade multiunitária (MUA) como medidas da atividade neural em córtex sensorial de ratos. Nesse trabalho foi observado um acoplamento não-linear entre rCBF e atividade neural, representado por uma função sigmóide inversa. Coerentemente com os achados do trabalho de Logothetis, et al. (2001) sobre a correlação entre o efeito BOLD e a atividade neural, a resposta de aumento de rCBF aparentemente reflete a atividades aferentes e locais e não os potenciais de ação eferentes de determinada região. Hoffmeyer, et al. (2007), utilizando um modelo experimental semelhante ao de Jones, et al. (2004), observaram uma relação exponencial entre a resposta do rCBF e a amplitude do LFP. Demonstraram, ainda, que a resposta do rCBF é dependente da ativação de receptores de glutamato, tanto do tipo AMPA quanto NMDA. Nesse estudo, o bloqueio de receptores NMDA não mudou as amplitudes de LFP mas atenuou a resposta de rCBF para frequências de estimulação maiores que 7 Hz. Portanto, a amplitude do LFP não é um indicador sempre fidedigno da atividade

sináptica e a ausência de mudanças do LFP relacionadas a processos que contribuem significativamente para a resposta hemodinâmica dificulta a descrição da relação entre atividade neural e hemodinâmica.

Os sinais químicos que mediam o acoplamento entre atividade neural e aumento local do fluxo sanguíneo cerebral podem ser divididos em dois grandes grupos, de acordo com seu papel na transmissão sináptica (Magistretti 2008). O primeiro grupo é formado por íons ou moléculas que se acumulam transitoriamente no espaço extracelular após a atividade neural, tais como potássio, adenosina e lactato e a conseqüente queda do pH local. O segundo grupo de sinais químicos do acoplamento neuro-vascular é constituído por neurotransmissores específicos que mediam esse acoplamento antecipadamente ou em paralelo com a atividade neural. O mecanismo eliciado por esse segundo grupo de sinais químicos é denominado mecanismo neurogênico do acoplamento neuro-vascular. Aparentemente, os mecanismos neurogênicos são mais importantes para o acoplamento fino observado entre atividade neural e aumento do fluxo cerebral, uma vez que o aumento de substâncias em conseqüência direta da atividade neural, como o potássio ou o lactato, é muito lento e disperso para explicar esse fenômeno (Magistretti 2008). Reforçando essa hipótese, observa-se uma rica inervação da microvasculatura cerebral por fibras provenientes de gânglios autonômicos, de interneurônios locais e de projeções de núcleos monoaminérgicos do tronco cerebral (Drake e Iadecola 2007).

Os principais neurotransmissores que potencialmente são reponsáveis pelo mecanismo neurogênico de acoplamento neuro-vascular são as aminas, a noradrenalina, a serotonina, neuropeptídeos e, em especial, o óxido nítrico (NO). O NO é formado localmente pela enzima NO-sintase (NOs), presente em neurônios e

células gliais e ativada por ação de diferentes neurotransmissores, principalmente por glutamato. A proposição de um papel preponderante para o NO no acoplamento neuro-vascular baseia-se em algumas características peculiares desse neurotransmissor gasoso como uma potente ação vasodilatadora, alta difusibilidade e meia-vida curta, que limitam seu domínio de ação temporal e espacialmente. A inibição do aumento do rCBF por bloqueio da NOs foi observado em estudos *in vitro* e *in vivo* (Hoffmeyer, et al. 2007; Irikura, et al. 1994; Offenhauser, et al. 2005). Estudos de RMf demonstraram abolição ou diminuição do efeito BOLD após administração de drogas que bloqueiam a NOs (Burke e Buhrle 2006; Stefanovic, et al. 2007). No entanto, o bloqueio da NOs, apesar de diminuir o acoplamento entre atividade neural e aumento do rCBF não abole totalmente esse efeito, sugerindo que a ação sinérgica de um ou mais mediadores químicos é necessária para o acoplamento neuro-vascular. Produtos da ciclo-oxigenase (COX) são prováveis mediadores sinérgicos do acoplamento entre atividade neural e rCBF.

O aumento do rCBF no córtex somatosensorial de murinos após estimulação periférica é atenuado pela inibição da COX-2 e em camundongos *knockout* para essa enzima (Stefanovic, et al. 2006). Estudos imunohistoquímicos observaram expressão de COX-2 colocalizada com sinapses glutamatérgicas e aumento da expressão com a atividade sináptica excitatória. O bloqueio seletivo da COX-2 com meloxicam atenua o aumento do rCBF e a resposta BOLD em ratos sem alterar a atividade neural. O efeito do meloxicam é revertido pela administração sistêmica de prostaglandina E2, um potente vasodilatador e produto da COX-2. Essa recuperação da resposta sugere um papel modulador dos produtos da COX-2 no acoplamento entre atividade neural e rCBF (Stefanovic, et al. 2006).

Figura 5 – Principais mecanismos de controle do fluxo sanguíneo cerebral local.

A parte superior da figura ilustra os diversos sítios de regulação do fluxo sanguíneo cerebral local (artéria, arteríola e capilar) e as aferências neurais locais e distantes responsáveis por parte dessa regulação. A parte inferior da figura foca os mecanismos moleculares da regulação do fluxo sanguíneo cerebral local. As moléculas de glutamato liberadas na fenda sináptica interagem com receptores da membrana do astrócito causando aumento da concentração intracelular de cálcio. O aumento da concentração de cálcio ativa a NO sintase produzindo NO, ativa também a COX-2, produzindo prostaglandinas e mais taquicininas. Através de junções de membrana (*gap junctions*), ondas de aumento da concentração de cálcio são transmitidas a astrócitos adjacentes. Os produtos da NOs e da COX-2 reconhecidamente causam relaxamento do músculo liso da parede das arteríolas causando vasodilatação e aumento do fluxo sanguíneo localmente. Metabólitos neurais e gliais, principalmente H^+ , K^+ e adenosina (Ado) também regulam o fluxo sanguíneo, modulando o nível de relaxamento do músculo liso vascular. Além desses mecanismos locais, terminações nervosas diretas com a rede vascular, provenientes de núcleos subcorticais ou de interneurônios locais liberam fatores vasoativos: NO, GABA, serotonina (5HT), noradrenalina (NE), acetilcolina (ACh), dopamina (DA), substância P (SP), neurotensina (NT), peptídeo vasoativo (VIP), somatostatina (SOM) e neuropeptídeo Y (NPY). Modificada de Drake e Iadecola (2007)

A atividade sináptica inibitória também pode contribuir para a hiperemia funcional. A ativação de receptores GABA-A em hipocampo e neocórtex causa vasodilatação pré-capilar e o bloqueio desses mesmos receptores leva a vasoconstrição (Fergus e Lee 1997). Além disso, células inibitórias (esteladas) expressam NOs e camundongos com menor número dessas células possuem reposta de rCBF reduzida (Yang, et al. 2000).

3.4.3 – Variação local do volume sanguíneo cerebral

Experimentos de RMf com ou sem injeção de contraste Gd-DTPA sugerem aumento do volume sanguíneo cerebral (rCBV) colocalizado com a atividade neural (Mandeville, et al. 1998; Silva, et al. 1999). Presumivelmente, a variação do rCBV tem relação direta com a atividade de fluxo sanguíneo cerebral regional (rCBF). Existem dois mecanismo possíveis para mudanças do rCBF: aumento da diferença

entre a pressão na entrada e na saída do sistema ou diminuição da resistência. Como a pressão sanguínea de entrada, nas arteríolas, e a pressão de saída no território venoso podem ser consideradas constantes (em todo o cérebro em um dado instante), é a diminuição da resistência vascular por dilatação das arteríolas que causa o aumento localizado do rCBF.

Aproximando o sistema vascular por um cilindro de raio variável, o sangue por um fluido ideal e admitindo-se fluxo laminar, a resistência ao fluxo é inversamente proporcional à quarta potência do raio do cilindro. O rCBV, por sua vez, é diretamente proporcional ao quadrado do raio do vaso. Como o rCBF é proporcional à resistência, nesse modelo simples a mudança no volume é a raiz quadrada da mudança do fluxo. No caso ideal em que os diâmetros de todos os vasos aumenta do mesmo fator e os vasos seguem a lei de resistência ideal, a relação entre a mudança de rCBF e de rCBV segue a relação quadrática, mas, de maneira mais geral essa relação pode ser escrita como:

$$\frac{CBV}{CBV_0} = \left(\frac{CBF}{CBF_0} \right)^\alpha, \quad (\text{XII})$$

onde α é um número real (Buxton 2002a; Buxton, et al. 2004). O diâmetro da arteríola está submetido a diversos mecanismos regulatórios que agem sobre a contratilidade de fibras musculares lisas que constituem sua parede, como explicitado na seção anterior. Capilares e vênulas também podem sofrer vasodilatação ativa, mas em magnitude consideravelmente menor que a observada nas arteríolas. Como a resistência vascular e sua variação concentram-se na arteríola, que representa a menor parte do rCBV nos compartimentos vasculares, espera-se

que, na rede vascular real, o valor de α seja menor que meio. Assim, um pequeno aumento do raio da arteríola leva a um aumento relativamente muito maior do rCBF que do rCBV. Por esse argumento, o aumento de rCBV se dá, principalmente, por aumento do volume no compartimento venoso ou nos capilares.

Em um trabalho clássico, Grubb, et al. (1974) variaram a pressão parcial de CO₂ inspirado por macacos e mediram as variações globais de CBF e CBV após o equilíbrio, estimando α em 0,38. Esse parâmetro é denominado coeficiente de Grubb. Estimativas do coeficiente de Grubb no cérebro humano mostraram uma enorme variabilidade desse parâmetro, de zero próximo a grandes veias a até cinco vezes o valor obtido em macacos para algumas regiões (Buxton 2002a). Além disso, a lei de relação exponencial não se aplica necessariamente às variações regionais e transitórias de rCBF e rCBV.

Mandeville, et al. (1998), utilizando contraste paramagnético intravascular em ratos para medir o rCBV por ressonância magnética com resolução temporal da ordem de segundos observaram aumento do rCBV com estimulação da pata com constante temporal de cerca de 18 s para aumento e o mesmo tempo necessário para o retorno à linha de base. Essa dinâmica relativamente lenta da rCBV com relação ao rCBF inspirou o principal modelo biofísico do efeito BOLD (Buxton, et al. 1998; Mandeville, et al. 1999b). No entanto, a importância da dinâmica do rCBV no mecanismo de geração do efeito BOLD é controversa. Toronov, et al. (2003) mediram simultaneamente o sinal BOLD e as quantidades de oxi e desoxi-hemoglobina por espectroscopia por infravermelho no córtex motor primário de quatro voluntários executando tarefa motora simples. O conteúdo total de hemoglobina foi considerada como medida do rCBV. Esses autores observaram que

a contribuição do rCBV para a geração do efeito BOLD em campo de 1,5 T é desprezível frente a contribuição do conteúdo de desoxi-hemoglobina.

Em um estudo sistemático da relação entre rCBF e rCBV, Piechnik, et al. (2008) concluíram que essa relação não pode ser dada por uma função fixa. Mesmo um modelo simples da rede vascular demonstrou que a relação entre rCBV e rCBF é mais complexa que a lei exponencial geralmente utilizada. Por outro lado, esses autores defendem que a regressão linear descreve bem a relação entre rCBF e rCBV uma vez que a contribuição de termos não-lineares está bem abaixo dos limites de detecção dos atuais métodos experimentais.

3.4.4- O Metabolismo cerebral

Apesar de constituir apenas 2% da massa corporal, o cérebro humano utiliza cerca de 25% do total de glicose e 20% do total de oxigênio disponíveis (Magistretti 2008). A glicose é o substrato energético quase obrigatório do cérebro e, ao contrário de outros tecidos, nos quais a glicose pode seguir várias vias metabólicas, no tecido cerebral essa é quase totalmente oxidada a CO₂ por glicólise, ciclo de Krebs e fosforilação oxidativa. Por isso, o quociente respiratório, definido como a razão entre a oferta de O₂ e a produção de CO₂, é próximo de 1 no cérebro. Uma maneira de medir-se a taxa de utilização de uma dada substância pelo tecido cerebral consiste em comparar suas concentração no sangue da artéria carótida com a concentração no sangue da veia jugular. Se o fluxo sanguíneo cerebral (CBF) é conhecido, a taxa de utilização de um dado substrato, ou sua taxa metabólica cerebral (CMR – *Cerebral Metabolic Ratio*), por unidade de tempo no equilíbrio é:

$$CMR_z = CBF([z]_A - [z]_V), \quad (XIII)$$

onde $[z]_A$ é a concentração arterial da substância z e $[z]_V$ é a concentração venosa da mesma substância.

Na verdade, a energia produzida pelo catabolismo da glicose no cérebro é disponibilizada na forma de trifosfato de adenosina (ATP), o substrato energético imediato ubíquo das células.

Os neurônios estão, durante o repouso, em um estado distante do equilíbrio termodinâmico. A atividade neural depende, dessa forma, de processos termodinamicamente favoráveis. Em outras palavras, os potenciais de ação e pós-sinápticos e a liberação de neurotransmissores ocorrem sem a necessidade de aumento simultâneo do suprimento energético. Logo após a atividade neural, a restauração do gradiente eletroquímico dos neurônios e a retirada dos neurotransmissores e seu empacotamento em vesículas, ou seja, o retorno ao estado de repouso do neurônio preparando-o para a próxima atividade, gasta energia (Magistretti 2008).

Técnicas de mapeamento das medidas fisiológicas como o PET e a espectroscopia por RM permitem a obtenção de imagens dos parâmetros fundamentais do metabolismo energético cerebral. Essas técnicas demonstraram que o metabolismo energético cerebral é espacialmente heterogêneo. Além disso, a medida de $rCBF$, $rCMRO_2$ e $rCMRglu$ utilizando PET no córtex visual primário mostrou que, enquanto $rCBF$ e $rCMRglu$ aumentam de 30% a 40% com a estimulação visual, o $rCMRO_2$ aumenta apenas 6% (Fox e Raichle 1986; Fox, et al. 1988; Raichle e Mintun 2006). Esse desacoplamento entre atividade hemodinâmica e

metabólica indica que a glicose, durante a ativação neural, pode ser processada por glicólise apenas, não completando o metabolismo oxidativo, e produzindo lactato (Aubert, et al. 2005; Magistretti 2008). O mesmo desacoplamento foi observado em outras áreas cerebrais.

Intuitivamente, espera-se que haja um acoplamento entre o aumento da demanda metabólica e o aumento do rCBF já que é pela perfusão sanguínea que os substratos energéticos alcançam os tecidos. No entanto, a existência de mecanismos de acoplamento entre o metabolismo cerebral e variação do rCBF com a atividade neural é controversa. Na ausência de acoplamento entre rCBF e rCMRO₂, podem ocorrer respostas BOLD conflitantes com a variação local da atividade cerebral. Caso o aumento do rCMRO₂ seja equivalente ao do rCBF, não haverá mudança na taxa de extração de oxigênio e, conseqüentemente, não se observará variação do tipo BOLD no sinal magnético. Um aumento isolado do rCBV, sem mudança na taxa de extração de oxigênio aumenta o conteúdo local de desoxi-hemoglobina e, portanto, leva a uma diminuição do sinal de RM (Ekstrom 2010). Argumentando a favor de um acoplamento entre metabolismo e atividade vascular, Buxton (Buxton 2002c) propõe o seguinte cenário: suponha que o rCBF aumente sempre que a atividade neural local atinja determinado limiar, que a variação de CMRO₂ seja acoplada à variação da atividade neural e que o aumento do rCBF é suficiente para compensar grandes aumentos de rCMRO₂. Considerando-se que em duas regiões cerebrais, uma com maior atividade neural que a outra, a variação de rCBF seja semelhante, o CMRO₂ será maior na área mais ativada e, conseqüentemente, o efeito BOLD será menor quanto maior a atividade neural. No limite, uma área fortemente ativada pode deixar de apresentar efeito BOLD. Portanto, se o rCBF e o rCMRO₂ estão

desacoplados, a interpretação quantitativa do efeito BOLD pode ser mais complexa e esse efeito pode ser um indicador pobre da atividade neural (Buxton 2002c; Ekstrom 2010).

Por outro lado, quando se pressupõe que há acoplamento entre o rCBF e rCMRO₂ é preciso explicar o maior aumento do primeiro com relação ao segundo observado experimentalmente. Há dois mecanismos propostos para esse aumento desproporcional do rCBF na atividade, além do de seu desacoplamento. A primeira hipótese afirma que a escala espacial da mudança metabólica é muito menor que aquela da mudança de fluxo (Huettel e McCarthy 2004). Para uma região suficientemente maior que a abrangência da variação metabólica, o valor médio de rCMRO₂ será sempre menor que o valor médio de rCBF. Considerando-se que o tamanho de um voxel típico é muito maior que a escala espacial de variação metabólica, observa-se o aumento desproporcional do rCBF com a atividade neural. Essa hipótese é conhecida como “regando o jardim por causa da sede de uma flor” (*watering the garden for the sake of one thirsty flower*) (Malonek e Grinvald 1996).

A segunda hipótese para o aumento desproporcional do rCBF com relação ao rCMRO₂ durante a atividade neural é a de limitação de oxigênio (Buxton 2002c; Buxton, et al. 2004). Por essa hipótese, o aumento maior do rCBF é necessário para compensar um pequeno aumento de rCMRO₂. Pressupõe-se que a disponibilidade de oxigênio no tecido cerebral no repouso é limitada, não havendo reserva local para compensar o aumento do metabolismo. O aumento do consumo de oxigênio é possível pelo aumento da pressão parcial desse gás no capilar que, por sua vez, depende do aumento local da saturação da hemoglobina. Em resumo, pela hipótese de limitação de oxigênio, o maior aumento do rCBF com relação ao rCMRO₂

diminui a taxa extração de oxigênio (E), o que aumenta o gradiente desse gás entre o capilar e a mitocôndria e, conseqüentemente, sua disponibilidade para o tecido (Buxton, et al. 2004). Ainda segundo os propositores da hipótese da limitação de oxigênio a diminuição da taxa de extração E é uma etapa necessária para o suprimento do tecido cerebral durante a atividade.

As diferentes hipóteses de acoplamento ou desacoplamento entre atividades metabólica e vascular são difíceis de testar-se diretamente. Assim, evidências de fontes diversas, incluindo estudos de ASL calibrados com inalação de CO₂ com estimativa do rCMRO₂ e espectroscopia por RM, são utilizadas na argumentação sobre o acoplamento. Geralmente, experimentos de RM que estimam o rCMRO₂ são utilizados na justificação do acoplamento entre metabolismo e atividade vascular enquanto estudos de espectroscopia sugerem desacoplamento (Buxton 2002c).

O estudo das causas fisiológicas dos comportamentos transitórios da função de resposta BOLD é uma das maneiras indiretas de investigação dos acoplamentos entre as medidas fisiológicas. A determinação das causas fisiológicas do retorno do sinal BOLD abaixo da linha de base após a resposta positiva (*undershoot*) é alvo de diversos estudos. Ao menos quatro mecanismos, não necessariamente excludentes, podem causar o *undershoot*: (1) diminuição da resposta neural abaixo da linha de base após a retirada do estímulo; (2) um retorno mais lento à linha de base do rCMRO₂ que do rCBF; (3) um *undershoot* do próprio rCBF por vasoconstrição arteriolar após atividade neural; ou (4) um retorno mais lento do rCBV que do rCBF à linha de base.

Frahm, et al. (1996) mediram as variações de glicose, lactato e oxigenação sanguínea durante atividade cerebral prolongada por espectroscopia por RM e RMf em humanos, observando metabolismo não-oxidativo inicial de glicose com ajuste mais lento de fosforilação oxidativa. Mandeville, et al. (1998) utilizaram RMf com injeção de contraste de meia-vida longa em ratos, observando que a queda do rCBV após o estímulo é temporalmente consistente com o *undershoot* do efeito BOLD. No entanto, Frahm, et al. (2008), utilizando experimento de RMf com injeção de contraste em humanos não observaram esse paralelismo de rCBV com o *undershoot* do efeito BOLD, com retorno rápido do rCBV à linha de base. Obata, et al. (2004), usando ASL, observaram que a curva de rCBF é semelhante no córtex motor primário e na área suplementar motora, ao contrário da curva BOLD, argumentando que um retorno mais lento do rCBV ou de rCMRO₂ é necessário para explicar o *undershoot* do efeito BOLD. A contribuição preponderante da variação de rCMRO₂ para a gênese do *undershoot* foi proposta por Zhao, et al. (2007) que observaram esse comportamento transitório nas camadas corticais de maior demanda metabólica. Harshbarger e Song (2008) ponderaram o efeito BOLD pelo coeficiente de difusão para estudar a origem hemodinâmica ou neural do *undershoot*. Três tipos de região foram identificadas: uma com amplitude do *undershoot* inversamente proporcional ao coeficiente de difusão, representando a contribuição de grandes vasos; uma segunda região com *undershoot* independente do coeficiente de difusão, provavelmente correspondente a sinal extravascular ou de vasos menores; e uma terceira região, sem *undershoot*, consistentemente correspondente a áreas visuais secundárias. Houve, portanto, variação das relações entre rCBV, rCBF e rCMRO₂ que produzem o *undershoot* do efeito BOLD em áreas cerebrais funcionalmente

distintas. Essa observação está de acordo com estudos prévios utilizando PET que mostraram diferenças regionais nas medidas dos parâmetros hemodinâmicos e metabólicos no repouso (Ishii, et al. 1996). Segundo Harshbarger e Song (2008), a ausência de *undershoot* em áreas visuais de ordem superior indica uma origem metabólica (retorno lento de $rCMRO_2$) para esse comportamento transiente. Gu, et al. (2005) aplicaram VASO, uma técnica de RMf capaz de medir simultaneamente o $rCBV$, $rCBF$ e BOLD, com estímulos visuais de várias durações em humanos. Observaram não-linearidades abaixo de 4 segundos para as três medidas hemodinâmicas, porém mais pronunciadas para o efeito BOLD, indicando fontes mistas para *undershoot* do sinal BOLD e também indicando contribuição do $rCMRO_2$.

Pelo exposto, observa-se que existem diversos mecanismos que sustentam uma relação causal entre atividade neural, especialmente atividade sináptica excitatória, e aumento do $rCBF$. Também há mecanismos para o acoplamento entre atividade neural e aumentos de $rCMRO_2$ e $rCMRglu$. No entanto, mecanismos para uma relação causal do aumento da demanda energética sobre a variação do $rCBF$ não foram bem estabelecidos. O possível desacoplamento entre aumento de fluxo e de gasto energético dificulta inferências quantitativas da atividade neural ou metabólica a partir do efeito BOLD e torna ainda mais necessário o desenvolvimento de modelos teóricos e matemáticos acurados desses fenômenos fisiológicos para a interpretação dos experimentos de RMf. O estudo do papel regulador do astrócito revela, no entanto, novas matizes no complexo quadro de interação entre os parâmetros fisiológicos subjacentes ao efeito BOLD.

3.4.5 – O papel do astrócito na atividade neural

Evidências de um papel central do astrócito nas relações fisiológicas entre atividade neural, resposta vascular e metabolismo cerebral têm se acumulado na literatura. Os astrócitos ocupam uma posição estratégica entre a rede vascular e os neurônios. Essas células gliais possuem projeções de membrana especializadas denominadas podócitos que envolvem os capilares, as arteríolas e a microvasculatura pré-capilar e possuem também projeções que estruturam e isolam as terminações sinápticas. Essas características estruturais tornam o astrócito o local inicial do metabolismo energético, pois constituem a primeira barreira celular a entrada de glicose no parênquima cerebral (Aubert, et al. 2005; Gordon, et al. 2008; Nedergaard, et al. 2002). A relação anatômica com a microvasculatura e a liberação de substâncias vasoativas pelo astrócito, tais com NO, derivados do ácido aracídico e adenosina, permitem o controle do rCBF (Gordon, et al. 2007; Mulligan e MacVicar 2004; Newman 2003; Petzold, et al. 2008; Takano, et al. 2006; Xu, et al. 2008). Além disso, graças a expressão de receptores para os diversos neurotransmissores e o íntimo contato com as conexões sinápticas, os astrócitos são sensíveis a variações na atividade sináptica (Nedergaard, et al. 2003). Essas características tornam o astrócito a sede provável dos mecanismos de acoplamento entre as atividades neural, metabólica e vascular (Magistretti 2008).

A adição de glutamato a cultura de astrócitos estimula a utilização de glicose de maneira dependente da concentração do neurotransmissor (Nedergaard, et al. 2002). Esse fenômeno é mediado pelo cotransportador sinaporte de glutamato e três íons de sódio. Como consequência da atividade do transportador de glutamato há um

influxo de sódio na célula e o recrutamento da bomba de sódio e potássio. Esse mecanismo simples pode implicar em um acoplamento entre atividade sináptica excitatória e metabolismo de glicose no astrócito (Magistretti 2008).

O aumento da captação de glicose durante a atividade neural pode ser atribuído predominantemente ao astrócito. Supõe-se que substratos energéticos sejam liberados pelos astrócitos para atender ao aumento da demanda energética dos neurônios durante a atividade. Estudos *in vitro* demonstraram que lactato e piruvato são substratos energéticos adequados para os neurônios, que expressam transportadores para esses substratos. Observa-se, também, liberação de lactato pelo astrócito correlacionada à atividade sináptica e paralela ao aumento do consumo de glicose (Aubert, et al. 2005). Portanto, há evidências de compartimentalização do metabolismo energético cerebral e de fluxo de substratos energéticos entre neurônios e a glia. O lactato que entra no neurônio pode ser transformado em piruvato sem gasto energético ou ser utilizado na produção de glutamato. Esse processo que não consome glicose diretamente pode explicar, em parte, o aparente desacoplamento entre $rCMRO_2$ e $rCMRglu$ observado em estudos de PET.

Outra característica do astrócito é a presença de glicogênio nessas células. O glicogênio é um polímero de glicose que funciona como estoque energético tecidual e que possui alta taxa de renovação (*turnover*). A ativação fisiológica *in vivo* de circuitos neurais específicos resulta em mobilização dos estoques gliais de glicogênio. Os níveis de glicogênio do astrócito estão correlacionados com a atividade sináptica e, portanto, esse polímero pode funcionar como um tampão metabólico durante a atividade neural (Shulman, et al. 2001). Neurotransmissores como noradrenalina, serotonina, histamina, adenosina e ATP promovem a quebra do

glicogênio (glicogenólise) e liberação de grupos glicosil no astrócito suficientes para suprir a demanda energética durante a atividade neural. No entanto, o astrócito não libera glicose e ainda não está claro se os grupos glicosil liberados na glicogenólise produzem glicose a ser utilizada para suprir a demanda do próprio astrócito ou se produzem lactato posteriormente liberados para os neurônios (Magistretti 2008).

As relações entre regulação do metabolismo cerebral e atividade sináptica sediadas nos astrócitos envolvem diretamente o principal neurotransmissor excitatório, o glutamato. Uma parte significativa do glutamato liberado na fenda sináptica é captada pelo astrócito e pode ser transformada em glutamina, um precursor inativo do próprio glutamato (Shulman, et al. 2002). A glutamina pode ser captada pelo neurônio e reutilizada na reposição do glutamato. O glutamato pode ainda ser usado pelo astrócito para produzir ATP. Essa troca de glutamina-glutamato entre neurônios e astrócitos não é suficiente para manter a quantidade de glutamato necessária para a atividade sináptica. Novos glutamatos precisam ser sintetizados pelo neurônio, que o faz a partir de lactato. O astrócito também é capaz de sintetizar novos glutamatos utilizando glicose como esqueleto de carbono e leucina como fonte de nitrogênio (Magistretti 2008). Essas novas moléculas de glutamato produzidas pelo astrócito podem, por sua vez, ser transformadas em glutamina e liberadas para os neurônios (Shulman, et al. 2002).

Em resumo, as pesquisas sobre o funcionamento do astrócito e sua relação com o neurônio demonstram uma intrincada rede de vias metabólicas e de sinalização com diversos pontos de intersecção, representados principalmente por glutamato e lactato. Modelos matemáticos detalhados dessas vias e seu impacto para o entendimento do efeito BOLD foram propostos (Aubert e Costalat 2005; Aubert, et

al. 2005; Poznanski e Riera 2006; Sotero e Trujillo-Barreto 2007; Zheng, et al. 2002; Zheng, et al. 2005).

Além do acoplamento entre atividade neural e metabolismo, a sensibilidade do astrócito às variações da atividade sináptica e sua relação anatômica com a microvasculatura sugerem um papel dessas células no acoplamento entre atividade neural e atividade vascular. O aumento de cálcio intracelular no astrócito, que reflete sua ativação, tem um efeito dicotômico, podendo causar tanto vasodilatação quanto vasoconstrição locais (Gordon, et al. 2008; Gordon, et al. 2007; Mulligan e MacVicar 2004; Takano, et al. 2006). Diversas vias moleculares foram descritas para os mecanismos de controle do rCBF pelo astrócito. Noradrenalina causa aumento da concentração intracelular de cálcio no podócito que correlaciona-se com vasoconstrição arteriolar (Mulligan e MacVicar 2004). O bloqueio de canais de cálcio abole a resposta de vasoconstrição que é mediada por produtos da via da fosfolipase A2- ácido aracdônico (Mulligan e MacVicar 2004). Por estudos de imagem de cálcio marcado em ratos observou-se vasodilatação e aumento do rCBF com aumento de cálcio que foram bloqueados por indometacina e inibidores seletivos da COX-1 (Takano, et al. 2006). Nesse mesmo estudo foi documentada marcação imunohistoquímica de COX-1 mas não de COX-2 nos podócitos e não houve modulação por NO ou adenosina da vasodilatação mediada por astrócito. Em resumo, nesse estudo, a ativação dependente de cálcio da fosfolipase A2 levou a vasodilatação por liberação de produtos da COX-1 nos podócitos (Takano, et al. 2006).

A quantidade de NO e a disponibilidade de oxigênio aparentemente regulam esses mecanismos opostos (Gordon, et al. 2008; Gordon, et al. 2007). Quando a

disponibilidade de oxigênio é baixa, o aumento de cálcio no astrócito leva a vasodilatação. A baixa oxigenação maximiza a taxa de glicólise e a liberação de lactato pelo astrócito. O lactato acumula-se no espaço extra-celular e diminui a recaptção de prostaglandina E₂, um potente vasodilatador. Além disso, quando há baixa disponibilidade de oxigênio, acumula-se adenosina, que bloqueia o mecanismo de vasoconstrição do astrócito (Gordon, et al. 2008). Ou seja, o contexto metabólico aparentemente regula a direção de variação do rCBF por meio de mecanismos de controle fino sediados principalmente nos astrócitos.

3.5 Integrando física e fisiologia: modelagem matemática do efeito BOLD

Os modelos matemáticos aplicados em neurociências podem ser divididos em descritivos, mecanísticos e interpretativos (Dayan 2001). Modelos descritivos, ou guiados pelos dados, resumem acuradamente grandes quantidades de dados experimentais e, geralmente, dependem pouco ou nada dos mecanismos subjacentes aos fenômenos que descrevem. Os modelos de medidas das não-linearidades apresentados na seção 3.2.2 são exemplos desse tipo de modelo, bem como alguns dos modelos estatísticos utilizados em RMf. Modelos interpretativos utilizam princípios computacionais ou da teoria da informação para explorar o significado comportamental ou cognitivo de diversos aspectos do funcionamento do sistema nervoso central. As redes neurais artificiais podem ser citadas como exemplo de modelos interpretativos. Modelos mecanísticos são aqueles que buscam explicar os

fenômenos utilizando o conhecimento acumulado de algum campo teórico. Esses modelos frequentemente são usados como “pontes” entre modelos descritivos de diferentes níveis. Modelos mecanísticos do efeito BOLD são, portanto, aqueles que baseiam-se nas teorias física e fisiológica para o entendimento das variações observadas do sinal magnético. Os principais modelos mecanísticos do efeito BOLD são revisados na presente seção e algumas maneiras de integração desses modelos mecanísticos com modelos descritivos são objeto da próxima seção.

Os modelos mecanísticos da geração do efeito BOLD podem ser interpretados como casos particulares de um sistema dinâmico da forma *input-state-output*. A função de entrada (*input*) do sistema $u(t)$ é representada por um vetor de estímulos, a função de estado (*state*) $x(t)$ representa um conjunto de variáveis mensuráveis e a função de saída (*output*) é a resposta BOLD $y(t)$. De maneira geral, temos

$$\begin{aligned} \frac{dx(t)}{dt} &= F(x(t), u(t), \theta) \\ y(t) &= G(x(t), \theta) \end{aligned}, \quad (\text{XIV})$$

onde F é a função de evolução do sistema no tempo e G é a função da medida do conjunto de parâmetros θ do modelo. Na maioria das vezes, os modelos mecanísticos do efeito BOLD consideram tanto F quanto G funções não-lineares. F descreve a variação do conjunto de variáveis de estado, como por exemplo fluxo sanguíneo e consumo de oxigênio, em função da entrada do sistema (o estímulo), dos parâmetros livres e das próprias variáveis de estado. A função G representa a saída do sistema dados os valores das variáveis de estado $x(t)$ obtidos pela solução da equação diferencial que inclui a função F .

A explicação de alguns comportamentos transitórios observados no sinal BOLD, principalmente o *undershoot*, e o intuito de demonstrar que as não-linearidades do efeito BOLD poderiam ser causadas por variações puramente hemodinâmicas motivaram a elaboração dos principais modelos mecanísticos, dentre eles o modelo de balão (*balloon model*) (Buxton, et al. 1998). O modelo de balão atribui o comportamento de *undershoot* do sinal BOLD a um retorno mais lento a linha de base do volume sanguíneo local (rCBV) que do fluxo sanguíneo local (rCBF) (Mandeville, et al. 1998). Um modelo semelhante foi proposto por Mandeville, et al. (1999a), o *windkessel model*. No modelo de balão, a vênula funciona de fato como um balão que continua se esvaziando após o retorno do fluxo à linha de base. Atualmente, esse modelo tem sido bastante utilizado em estudos de RMf, tanto na tentativa de melhorar a análise dos dados, integrado a modelos descritivos, quanto para elucidar a fisiologia das mudanças hemodinâmicas determinadas pela atividade neural.

O modelo de balão é um sistema dinâmico do tipo *input-state-output* e consiste em duas equações diferenciais ordinárias não-lineares cujas entradas são as funções fluxo $f(t)$ e taxa de extração de oxigênio $E(t)$ e as saídas são as funções volume $v(t)$ e conteúdo de desoxi-hemoglobina $q(t)$. As duas equações diferenciais são expressões da conservação de volume sanguíneo e da conservação de massa de desoxi-hemoglobina:

$$\begin{cases} \frac{dv(t)}{dt} = \frac{1}{\tau_M} [f(t) - f_{out}(t)] \\ \frac{dq(t)}{dt} = \frac{1}{\tau_M} \left[\frac{E(t)f(t)}{E_0} - \frac{q(t)}{v(t)} f_{out}(t) \right] \end{cases} \quad (XV)$$

As grandezas expressas foram definidas como:

$$f = \frac{rCBF}{rCBF_0}: \text{ Fluxo sanguíneo cerebral regional normalizado. (XVI)}$$

$$v = \frac{rCBV}{rCBV_0}: \text{ Volume sanguíneo cerebral regional normalizado. (XVII)}$$

A primeira equação do sistema do modelo de balão (equação XV) é uma expressão da conservação do volume, ou seja, a variação do volume é a diferença entre o fluxo que entra e o fluxo que sai do voxel. Na segunda equação, o termo $E(t)f(t)$ representa a taxa de produção de desoxi-hemoglobina e o termo entre $q(t)f_{out}(t)/v(t)$ é o clareamento (*clearance*) da desoxi-hemoglobina em um dado voxel. A segunda equação expressa a variação do conteúdo de desoxi-hemoglobina em qualquer instante como a diferença entre a quantidade de desoxi-hemoglobina produzida pelo metabolismo oxidativo e a quantidade retirada pelo fluxo sanguíneo de saída das vênulas. O escalar τ_M é, por definição:

$$\tau_M \equiv \frac{rCBV_0}{rCBF_0}, \text{ (XVIII)}$$

isto é, essa constante é o tempo de trânsito médio através do compartimento venoso no repouso. O outro parâmetro que aparece explicitamente no modelo de balão é a taxa de extração de oxigênio no repouso E_0 . As duas funções de estado não especificadas acima são a taxa de extração de oxigênio $E(t)$ e o fluxo sanguíneo de saída do compartimento venoso $f_{out}(t)$. Para especificar $E(t)$, parte-se da definição da taxa metabólica de consumo de oxigênio:

$$CMRO_2 = CBF([O_2]_A - [O_2]_V), \text{ (XIX)}$$

$$CMRO_2 = CBF[O_2]_A E. \quad (XX)$$

Note que essas relações são válidas para as medidas globais no equilíbrio. Supondo que há um acoplamento local entre $rCBF$ e $rCMRO_2$, o $rCMRO_2$ normalizado m fica:

$$m = \frac{E}{E_0} f: \text{Taxa metabólica de consumo de oxigênio normalizada. (XXI-a)}$$

Essa relação é exatamente o primeiro termo da segunda equação diferencial do modelo de balão (equação XV). Portanto, nessa formulação, o modelo de balão pressupõe um forte acoplamento entre $rCBF$ e $rCMRO_2$. Com a hipótese de acoplamento linear, é conveniente definir a inclinação linear n dada por:

$$n = \frac{\Delta rCBF / rCBF_0}{\Delta rCMRO_2 / rCMRO_{20}}. \quad (XXI-b)$$

$$n = \frac{f-1}{m-1}. \quad (XXII)$$

De maneira simplificada, n expressa a força da variação de fluxo com relação a variação de metabolismo oxidativo. Se n é igual a 1, o aumento de $rCBF$ com a atividade neural equivale ao aumento de $rCMRO_2$, se n é menor que 1 o aumento de $rCMRO_2$ suplanta o valor de $rCBF$. O valor de n , por medidas experimentais, está entre 2 e 3, mas alguns experimentos obtiveram resultados maiores. Como $n > 1$, o aumento de $rCBF$ é maior que o de $rCMRO_2$. Segundo Buxton (2004), isso implica em uma diminuição da taxa de extração de oxigênio $E(t)$ com a ativação. Portanto, segundo esse autor, a diminuição do conteúdo local de desoxi-hemoglobina que

caracteriza o efeito BOLD, interpretado originalmente como consequência do desacoplamento entre rCBF e rCMRO₂, pode ser interpretado alternativamente como resultante de um forte acoplamento entre essas mesmas medidas fisiológicas. A hipótese da diminuição da taxa de extração de oxigênio com a atividade neural foi incorporada a um modelo mais geral denominado modelo de limitação de oxigênio. Por este modelo, a diminuição de E é necessária pois é a causa do aumento do gradiente de difusão de oxigênio dos vasos para as células, que atende ao aumento da demanda metabólica durante a atividade. Portanto, a atividade neural diminuiria a taxa de extração de oxigênio aumentando a disponibilidade do mesmo para o neurônio. Em outras palavras, o rCMRO₂ deveria aumentar o máximo possível com a atividade neural. Integra-se o modelo de limitação de oxigênio ao modelo de balão definindo-se $E(f)$:

$$E(f) = 1 - (1 - E_0)^{1/f}. \quad (\text{XXIII})$$

Definida a função de estado $E(f(t))$, é preciso definir a função de estado $f_{out}(t)$ para que todo o modelo de balão esteja especificado. Originalmente, Buxton, et al. (1998) não fixaram essa função, apenas exigindo que seu limite no equilíbrio equivallesse a relação de Grubb:

$$\lim_{t \rightarrow \infty} f_{out}(t) = v^{1/\alpha}. \quad (\text{XXIV})$$

Em outras palavras, após um intervalo de tempo suficientemente grande o fluxo de saída é dado simplesmente pelo volume elevado a uma constante. Posteriormente, Buxton, et al. (2004) propuseram um modelo mais restrito para a função $f_{out}(t)$, que leva em conta os efeitos viscoelásticos dos vasos ao introduzir a derivada do volume:

$$f_{out}(t) = v(t)^{1/\alpha} + \tau \frac{dv(t)}{dt}. \quad (XXV)$$

Com essa formulação, há uma resistência inicial ao aumento de volume que posteriormente atinge o equilíbrio, de acordo com a relação de Grubb. Para valores não nulos da constante temporal τ , haverá histerese da curva do fluxo de saída em função de $v(t)$, ou seja, o sistema tem curvas de enchimento e esvaziamento distintas.

O modelo de balão assim definido especifica as equações diferenciais para a função de evolução F da desoxi-hemoglobina $q(t)$ e volume sanguíneo $v(t)$, dado a evolução temporal do fluxo sanguíneo normalizado $f(t)$. Para um modelo completo da cadeia de eventos do efeito BOLD faz-se necessário, por um lado, um modelo da evolução de $f(t)$ a partir da atividade neural que, por sua vez, é função dos estímulos apresentados ou tarefas executadas. Por outro lado, uma vez determinada a evolução temporal das variáveis que causam o efeito BOLD, representadas no modelo de balão por $v(t)$ e $q(t)$, faz-se necessário especificar a função de medida G , que determinará a saída do sistema, ou seja, a própria curva BOLD.

A modelagem da variação do sinal magnético que caracteriza o efeito BOLD baseia-se na descrição dos fenômenos físicos subjacentes a esse contraste. A variação do sinal foi modelada, no mesmo artigo em que foi proposto o modelo de balão, como a diferença entre um sinal extravascular intrínseco S_E e um sinal intravascular S_I , ponderados pelo volume:

$$S = (1 - rCBV)S_E - S_I rCBV. \quad (XXVI)$$

Note que a porcentagem de volume extravascular é dada por $1 - rCBV$ enquanto o volume intravascular efetivo para o sinal é simplesmente $rCBV$. Pequenas variações do sinal magnético foram aproximadas por:

$$\Delta S = (1 - rCBV)\Delta S_E - S_E \Delta rCBV + rCBV_0 \Delta S_I + S_I \Delta rCBV. \quad (XXVII)$$

Ogawa, et al. (1993), em um estudo de simulação numérica mostraram que a razão de relaxação transversa R_2^* é proporcional ao produto da concentração de desoxi-hemoglobina com o volume sanguíneo para pequenos vasos. Mais precisamente, esses autores encontraram:

$$R_2^* = 4.3 \Delta \chi \omega_0 E rCBV. \quad (XXVIII)$$

onde χ é a susceptibilidade magnética e o produto das variáveis, exceto $rCBV$, é a diferença de susceptibilidade magnética entre os compartimentos intravascular e extravascular. Escrevendo R_2^* em função do conteúdo de desoxi-hemoglobina q e do volume normalizados v :

$$E/E_0 \approx q/v \Rightarrow R_2^* = 4.3 \Delta \chi \omega_0 E_0 V_0 q. \quad (XXIX)$$

A variação do sinal extravascular fica:

$$\frac{\Delta S_E}{S_E} = -\Delta R_2^* TE = 4.3 \Delta \chi \omega_0 E_0 TE rCBV_0 (1 - q), \quad (XXX)$$

ou seja, uma constante que depende de vários parâmetros multiplicada por q menos o conteúdo normalizado de desoxi-hemoglobina. Assim, baseando-se nos resultados de Ogawa, et al. (1993), Buxton, et al. (1998) consideraram que a variação

do sinal extravascular S_E depende apenas do conteúdo total de desoxi-hemoglobina q .

Também a partir de resultados numéricos (Boxerman, et al. 1995a), esses autores consideraram que a variação do sinal intravascular S_I pode ser aproximada por uma função linear da concentração de desoxi-hemoglobina no sangue:

$$\frac{\Delta S_I}{S_I} = -2\Delta E = 2\left(1 - \frac{q}{v}\right). \quad (\text{XXXI})$$

Combinando as variações de sinal intra e extravascular ponderadas pelo rCBV, a função de medida do efeito BOLD em função de v e q fica:

$$\frac{\Delta S}{S} \approx rCBV_0 \left[k_1(1-q) + k_2\left(1 - \frac{q}{v}\right) + k_3(1-v) \right], \quad (\text{XXXII})$$

onde k_1 , k_2 e k_3 são constante que dependem de diversos parâmetros e foram estimadas, para 1,5 T e TE de 40 ms:

$$\begin{aligned} k_1 &= 7E_0 \\ k_2 &= 2 \\ k_3 &\approx 2E_0 - 0.2 \end{aligned} \quad . \quad (\text{XXXIII})$$

Uma correção dessa formulação de Buxton, et al. (1998) foi publicada por Obata, et al. (2004) que incluía menos aproximações e utilizou novos resultados experimentais para a estimativa dos parâmetros. A natureza dessa correção, no entanto, não foi especificada no artigo (Obata, et al. 2004; Stephan, et al. 2007). Na formulação de Obata, a variação do sinal magnético é dada por:

$$\frac{\Delta S}{S} \approx rCBV_0 [a(1-q) - b(1-v)], \quad (\text{XXXIV})$$

onde $\mathbf{a}$ e $\mathbf{b}$ são constantes que dependem de diversos parâmetros que, para campo de 1,5T e TE de 40ms são $\mathbf{a}=3,4$ e $\mathbf{b}=1$. Em um estudo comparativo dos modelos de resposta hemodinâmica utilizando abordagem bayesiana, Stephan, et al. (2007) concluíram que a equação de medida com um termo não linear $\mathbf{q}/\mathbf{v}$ (Buxton, et al. 1998) se adequa melhor aos dados que a versão linear derivada em Obata, et al. (2004), especialmente quando a razão $\boldsymbol{\eta}$ entre os sinais intra e extravasculares não é fixada. Ainda segundo esses autores, a razão $\boldsymbol{\eta}$ está diretamente relacionada ao parâmetro $\mathbf{k}_3$ da formulação original do modelo:

$$\mathbf{k}_3 = \mathbf{1} - \boldsymbol{\eta}. \quad (\text{XXXV})$$

Explicitada a função de medida G pela equação da variação do sinal magnético com o volume $\mathbf{v}$ e o conteúdo de desoxi-hemoglobina $\mathbf{q}$ e dado o modelo de balão, é possível obter-se, por métodos numéricos, uma curva de resposta BOLD para uma dada função do fluxo sanguíneo normalizado $\mathbf{f}$. Para se modelar toda a relação entre os estímulos apresentados ou tarefas realizadas durante um experimento e o sinal BOLD observado, faz-se necessário, ainda, modelar a variação de $\mathbf{f}$.

Muitos modelos matemáticos da hiperemia funcional foram publicados. Uma formulação especialmente importante por suas aplicações posteriores foi proposta por Friston, et al. (2000). No modelo de Friston, a atividade neural $\mathbf{u}(\mathbf{t})$ gera um sinal indutor de fluxo $\mathbf{s}(\mathbf{t})$ que, por sua vez, causa a variação do fluxo sanguíneo $\mathbf{f}(\mathbf{t})$.

$$\begin{cases} \frac{ds(t)}{dt} = \mathbf{su}(t) - \mathbf{k}_s s(t) - \mathbf{k}_f (f(t) - 1) \\ \frac{df(t)}{dt} = s(t) \end{cases} \quad (\text{XXXVI})$$

Note que pressupõe-se um termo de retroalimentação negativa proporcional ao $f(t)$ e ponderado pela constante temporal k_f . A inclusão do termo de retroalimentação baseou-se na observação experimental de *undershoot* da curva de rCBF e vasoconstrição após aumento do rCBF observada em técnicas ópticas (Irikura, et al. 1994). As outras constantes do sistema de equações diferenciais são a eficiência da atividade neural em causar a variação do sinal indutor de fluxo, expressa por ε ; e a constante temporal de decaimento do sinal indutor representada por k_s . O sistema de equações lineares corresponde ao modelo de um oscilador harmônico amortecido. Ainda no modelo de Friston, a atividade neural é considerada uma transformação linear do estímulo.

O oscilador harmônico pode ser representado por um pêndulo, uma massa presa a um barbante, que oscila com um ângulo pequeno com relação ao eixo vertical. No caso ideal de ausência de forças de amortecimento, como o atrito com o ar, o pêndulo oscilará para sempre com uma frequência dependente apenas do comprimento do barbante. A constante k_f do modelo de Friston, et al. (2000) equivale ao inverso do comprimento do barbante vezes a constante gravitacional. A raiz quadrada de k_f é a frequência angular do pêndulo. Mais realisticamente, o pêndulo é submetido a um amortecimento proporcional à velocidade do movimento, gerado pelo atrito entre a massa e o ar. No modelo de Friston, et al. (2000), k_s é equivalente a constante da força de atrito ou amortecimento do pêndulo. Ainda no modelo de Friston, et al. (2000), o sistema análogo de pêndulo está submetido a uma força externa, dada pela função $u(t)$. A força externa ou forçamento sobre o pêndulo causa um comportamento transiente do sistema, variando sua amplitude e frequência.

Buxton, et al. (2004) publicaram uma expansão do modelo de balão, incluindo todos os passos do estímulo ao efeito BOLD e introduzindo novas formulações dos pressupostos do modelo original. Nessa expansão, a atividade neural $N(t)$ foi dividida em um componente excitatório $s(t)$ e em uma inibição neural $I(t)$, produzindo um modelo de habituação:

$$\begin{aligned} N(t) &= s(t) - I(t) \\ \frac{dI}{dt} &= \frac{\kappa N(t) - I(t)}{\tau_1}, \quad (\text{XXXVII}) \end{aligned}$$

onde κ é um fator de ganho e τ_1 é uma constante temporal. A taxa metabólica de consumo de oxigênio normalizada m foi considerada uma variável de estado independente do fluxo, ao contrário do modelo original. Tanto o fluxo quanto a taxa metabólica de oxigênio foram obtidas pela convolução dos estímulos com funções gama $h(t)$:

$$\begin{aligned} f(t) &= 1 + (f_1 - 1) h(t - \gamma_f) * N(t) \\ m(t) &= 1 + (m_1 - 1) h(t - \gamma_m) * N(t), \quad (\text{XXXVIII}) \end{aligned}$$

onde f_1 e m_1 são constantes que escalam a resposta para a amplitude apropriada. Os parâmetros γ introduzem tempos de latência (*delay*) entre a resposta neural e as respostas hemodinâmicas e metabólicas. Como visto anteriormente, esse modelo de balão expandido de Buxton modela explicitamente o fluxo de saída $f_{out}(t)$ como a soma da lei de Grubb com a derivada do volume ponderada pela constante temporal τ . O parâmetro τ foi ainda separado em dois parâmetros τ_+ e τ_- , o primeiro representando a constante temporal de enchimento do balão e o segundo a de esvaziamento. Apesar de modeladas separadamente, o acoplamento entre rCBF

e $rCMRO_2$ foi novamente exigido com as magnitudes relativas desses parâmetros fixadas por:

$$(m_1 - 1) = (f_1 - 1)/n, \quad (XXXIX)$$

onde n é a inclinação da variação linear de rCBF com relação a $rCMRO_2$ definida anteriormente.

Além desse modelos apresentados, muitos modelos mecanísticos do efeito BOLD foram publicados na última década (Aubert e Costalat 2002; Aubert e Costalat 2005; Sotero e Trujillo-Barreto 2007; Zheng, et al. 2005; Zheng e Mayhew 2009). Geralmente, esses modelos enfatizam algum dos elos da cadeia de eventos fisiológicos que leva do estímulo apresentado ou tarefa realizada ao efeito BOLD observado. Dentre esses modelos, alguns buscam prover as bases para medidas simultâneas da atividade neural, por métodos eletrofisiológicos, e da resposta hemodinâmica, pelo efeito BOLD (Sotero e Trujillo-Barreto 2007). Outros detalham os mecanismos metabólicos e de acoplamento (Zheng, et al. 2005). Aubert e Costalat (2002), por exemplo, propuseram um modelo detalhado para o acoplamento entre atividade elétrica neural, metabolismo e resposta hemodinâmica, testando a hipótese de que a variação de $rCMRO_2$ depende das concentrações intracelulares de piruvato e O_2 . Esse modelo, também um sistema dinâmico, apresenta 15 variáveis de estado e suas respectivas equações diferenciais e de balanço. Posteriormente, o modelo foi adaptado para investigar a fisiopatologia de gliomas, nos quais as áreas subjacentes demonstram discrepâncias entre as medidas de sinal BOLD e métodos eletrofisiológicos (Aubert, et al. 2002). Mais recentemente, o mesmo autor apresentou um modelo detalhado para a cinética do tampão de lactato cerebral

(Aubert, et al. 2005) e para o papel da interação entre neurônio e astrócito no acoplamento entre resposta metabólica e hemodinâmica (Aubert e Costalat 2005).

Outros modelos matemáticos foram elaborados para as contribuições dos diferentes compartimentos vasculares e suas peculiaridades. Em um desses modelos Behzadi e Liu (2005) incluíram as complacências arteriolares passiva (componente fibroelástico) e ativa (músculo liso) no modelo de balão. Por esse modelo, foi possível avaliar as alterações no efeito BOLD causadas por variações na complacência arteriolar, como mudanças na concentração de CO_2 no sangue ou idade. Em ainda outro modelo proposto por Zheng, et al. (2002; 2005), a resposta hemodinâmica foi dividida na contribuição dos três compartimentos vasculares (arteríola, capilar e vênula), expandindo um modelo da contribuição do capilar no acoplamento entre fluxo e metabolismo. Também foram propostos modelos que incluem o transporte de O_2 através da barreira hematoencefálica como o de Valabregue, et al. (2003).

A modelagem matemática da relação entre fluxo, metabolismo, volume e concentração de desoxi-hemoglobina permitiu demonstrar que as não-linearidades do efeito BOLD podem ser explicados pela dinâmica das alterações vasculares. Permitiram ainda a elaboração de hipóteses sofisticadas para os fenômenos fisiológicos envolvidos nas medidas hemodinâmicas da RMf. Apenas alguns exemplos dos modelos que continuamente se acumulam na literatura, de especial interesse para os objetivos da presente tese, foram aqui revisados. Todo esse esforço empreendido na modelagem matemática se justifica pela contribuição desses estudos tanto para a compreensão das bases do efeito BOLD quanto para o aperfeiçoamento da análise dos dados obtidos em experimentos de RMf. O trabalho teórico de

modelagem mantém uma via de mão dupla com as diversas abordagens experimentais: o avanço nos experimentos proporciona a elaboração de modelos mais precisos que, por sua vez, suscitam novas perguntas, dando subsídios aos estudos empíricos.

3.6 Integração de modelos mecânicos à análise de dados em RMf

A integração dos modelos mecânicos do efeito BOLD aos modelos de análise de dados de RMf é objeto de inúmeros trabalhos. A maioria desses trabalhos procura adaptar os modelos ao Modelo Linear Geral (GLM – *General Linear Model*), o modelo estatístico mais utilizado na análise dos dados de RMf. O GLM é representado por:

$$\mathbf{Y} = \beta\mathbf{X} + \boldsymbol{\theta}, \quad (\text{XL})$$

onde $\mathbf{Y}$ é a resposta observada, modelada como a combinação linear de variáveis explicativas $\mathbf{X}$ e um vetor de erro $\boldsymbol{\theta}$. Supondo-se uma relação linear entre estímulo, atividade neural e efeito BOLD, um dado vetor de estímulos, que representa a resposta neural hipotética, pode ser convoluído com uma Função de Resposta Hemodinâmica (HRF – *Hemodynamical Response Function*). Essa convolução ponto-a-ponto produz um regressor ou série de regressores que são incorporados à matriz $\mathbf{X}$.

$$\mathbf{X} = \mathbf{u(t)} * \mathbf{HRF}, \quad (\text{XLI})$$

onde $\mathbf{u}(t)$ é um vetor ou matriz dos estímulos, determinado pelo desenho experimental. Dessa forma, é possível inferir se houve ou não correlação entre o sinal observado e o paradigma experimental em determinado voxel, testando-se o valor de β . Testes estatísticos, como contrastes t, são realizados sob a hipótese nula de ausência de correlação entre a resposta observada e a resposta construída pela convolução do estímulo com a HRF, ou seja, sob a hipótese de $\beta = \mathbf{0}$. Dessa forma é possível obter-se mapas da distribuição de probabilidade de ativação com a tarefa ao longo de todo o cérebro. A escolha de um limiar de significância e sua aplicação ao mapa de probabilidades permite a construção do mapeamento das áreas cerebrais mais provavelmente correlacionadas à tarefa experimental.

As HRFs podem ser funções independentes de modelos mecanísticos do efeito BOLD. As principais funções usadas para esse fim são a função gama e combinações lineares de funções gama, por exemplo, a HRF de Glover (1999) e a HRF canônica de Friston, et al. (1998). Os modelos mecanísticos, comumente o modelo de balão e suas extensões, podem ser utilizados para a construção de HRFs. A utilização de modelos mecanísticos na construção de HRFs visa, geralmente, o tratamento adequado das não-linearidades do efeito BOLD. Como o próprio modelo de convolução assume a linearidade do efeito BOLD com relação ao estímulo, adaptações desse modelo ou outras abordagens foram propostas para incorporação das não-linearidades à análise de dados. Um método amplamente utilizado para esse fim é a formulação de núcleos de Volterra proposta por Friston, et al. (1998).

As séries de Volterra expressam a saída de um sistema como função dos estímulos de entrada e são simplesmente expansões em séries de Taylor em que se

considera o efeito de um estímulo em um dado ponto no tempo e de seu passado recente sobre a saída.

$$y(t) = k_0 + \int k_1(s_1)x(t-s_1)ds_1 + \int k_2(s_1,s_2)x(t-s_1)x(t-s_2)ds_1ds_2 + \dots \quad (\text{XLII})$$

onde k_n é denominado núcleo (*kernel*) de ordem n da expansão, y é a saída e x a entrada do sistema. O núcleo de ordem zero é uma constante. O núcleo de ordem um expressa a mudança na saída do sistema causada pelo estímulo em um dado ponto no tempo, ou seja, a função de resposta hemodinâmica HRF. Os dois primeiros termos da expansão em Volterra representam exatamente o modelo de convolução linear. Núcleos de ordens maiores ou igual a dois expressam as não-linearidades observadas no efeito BOLD. O núcleo de segunda ordem representam o efeito da entrada em um ponto no tempo sobre a saída em outro ponto, sendo assim interações ou produtos entre estímulos. Portanto, a expansão em série de Volterra pode ser considerada uma convolução não-linear dos estímulos e, geralmente, os primeiros termos da expansão são suficientes para a caracterização das não-linearidades do efeito BOLD (Friston, et al. 2000).

A expansão em série de Volterra independe de um modelo mecanístico subjacente. No entanto, a utilização de um conjunto de funções base que restrinja o espaço de soluções limita a forma dos núcleos da expansão e, indiretamente, restringe o sistema dinâmico do qual deriva a expansão ou seu espaço de estados. Portanto, para um conjunto de funções de base suficientemente representativo, a caracterização do sinal BOLD por série de Volterra é puramente empírica. Uma maneira de obter-se informações sobre os estados e parâmetros fisiológicos causadores do efeito BOLD partindo-se da caracterização do sinal por núcleos de

Volterra foi proposta por Friston, et al. (2000). Esses autores calcularam analiticamente os núcleos de Volterra do modelo de balão associado ao modelo de oscilador harmônico do acoplamento neuro-vascular. Além disso, estimaram os núcleos empíricos, até de segunda ordem, de vóxeis ativados por um paradigma em bloco, utilizando funções de base fixadas (funções gama com diferentes níveis de dispersão e suas respectivas derivadas). Os coeficientes dos núcleos foram estimados utilizando o modelo linear geral. Por fim, os parâmetros do modelo hemodinâmico foram estimados por mínimos quadrados entre os núcleos empíricos e os núcleos derivados do modelo.

Wager, et al. (2005), supondo que as não-linearidades do efeito BOLD são consistentes nas diferentes áreas cerebrais, desenvolveram um conjunto de equações lineares usadas para criar uma convolução modificada, na qual os parâmetros da HRF variam com a posição do estímulo no vetor de estímulos. Os preditores modificados produzidos por essa convolução foram incorporados ao GLM. Outra forma de incorporar as não-linearidades do efeito BOLD à análise de dados é a aplicação direta dos modelos mecanísticos, substituindo a regressão linear por métodos de estimativa dos parâmetros que otimizam a saída do modelo com relação à curva observada (Deneux e Faugeras 2006; Vakorin, et al. 2007).

Esses modos de abordagem das não-linearidades do efeito BOLD na análise de dados consideram que a resposta hemodinâmica em cada voxel é independente. O principal modelo de integração dos modelos mecanísticos do efeito BOLD e de suas não-linearidade que considera a interação entre diferentes vóxeis, ou a conectividade funcional, é o modelo dinâmico causal (DCM – *Dynamical Causal Modeling*) (Friston 2005; Friston, et al. 2003; Stephan, et al. 2007). O DCM utiliza

modelos suficientemente realistas da resposta neural à tarefa, considerando a interação entre regiões corticais e com parâmetros biologicamente plausíveis. O modelo de resposta neural é utilizado como entrada de um modelo de resposta hemodinâmica, originalmente o modelo de balão, produzindo uma série temporal BOLD predita para cada área. A estimativa dos modelos do parâmetro se dá pela minimização distância entre as séries temporais preditas e as observadas.

3.7 – Tempo de Processamento Neural

A obtenção de informações sobre aspectos temporais da atividade neural a partir do efeito BOLD é um problema em aberto. Com a finalidade de extrair informações sobre a duração da atividade neural a partir do BOLD observado introduziu-se, na presente tese, o conceito de tempo de processamento neural (TPN). O TPN é um parâmetro do modelo biofísico de geração do efeito BOLD e os detalhes de sua modelagem matemática são explicitados no próximo capítulo.

Modulações da duração de estímulos da ordem de dezenas de milisegundos produzem diferenças mensuráveis na forma da curva BOLD (Grinband, et al. 2008). Ogawa, et al. (2000) demonstraram que é possível utilizar RMf no estudo de características temporais da atividade neural da ordem de milisegundos, utilizando um desenho experimental específico para provar essa propriedade. A introdução do conceito de TPN é uma tentativa de estender a proposta de Ogawa, et al. (2000) para contextos mais gerais de estudos de RMf utilizando a modelagem matemática do efeito BOLD.

Recentemente, a análise da forma da função de resposta hemodinâmica (HRF) foi proposta como uma maneira de determinar-se a evolução temporal da atividade neural subjacente ao efeito BOLD (Bellgowan, et al. 2003; Lindquist e Wager 2007; Menon, et al. 1998). Cabe ressaltar que, geralmente, a análise de dados de RMf baseada no GLM estima a amplitude de uma HRF previamente determinada e não outros parâmetros da curva de resposta BOLD. O tempo para o pico da HRF foi proposto como medida indireta da latência da atividade neural enquanto a largura na metade do ponto de máximo (*width-at-half-maximum*) hipoteticamente refletiria a duração da atividade neural (Lindquist e Wager 2007). No entanto, essas medidas frequentemente sobrepõe-se entre si e com a amplitude da resposta, dificultando a inferência da duração da atividade neural a partir das mesmas (Zwart 2009; Lindquist, et al. 2009). Além disso, o caráter indireto dessas inferências praticamente impossibilita sua interpretação em termos fisiológicos (Lindquist, et al. 2009). Assim, Lindquist e Wager (2007) propuseram dois tipos de fonte de erro na inferência da atividade neural a partir da forma da curva de resposta hemodinâmica: (1) a relação não-linear e complexa entre a atividade neural e o efeito BOLD e (2) o baixo poder estatístico e acurácia dos modelos da HRF na descrição de mudanças reais na amplitude, latência e largura da HRF.

Esses autores abordaram a segunda fonte de erro descrevendo um novo modelo de HRF. Esse modelo consiste na sobreposição de três funções logísticas inversas. Para a estimativa dos parâmetros desse modelo foi utilizado um algoritmo não-linear denominado *simulated annealing* (SA). No mesmo trabalho, Lindquist e Wager (2007) demonstram que o novo modelo e algoritmo utilizados apresentaram o melhor compromisso entre poder estatístico e acurácia na estimativa da forma da

HRF (isto é, da amplitude, latência e largura) quando comparados com os principais modelos de HRF propostos na literatura. Os modelos comparados foram: a combinação de duas funções gama com estimativa pelo algoritmo de Levenberg-Marquardt; a combinação linear da HRF canônica e sua derivada temporal usando o algoritmo descrito por Calhoun, et al. (2004); e o modelo de resposta a impulso finito semiparamétrico (Goutte, et al. 2000). No entanto, a interpretabilidade da amplitude, latência e largura da HRF em termos de parâmetros fisiológicos, ou seja, a primeira fonte de confusão descrita por Lindquist e Wager (2007), não foi abordada. Uma maneira de evitar esse problema de interpretabilidade para a inferência da duração da atividade neural a partir do sinal BOLD é implementar um modelo biofísico que explicita essa duração como um parâmetro independente. Essa abordagem lida simultaneamente com as duas fontes de confusão na inferência da duração da atividade neural a partir do efeito BOLD.

3.8 Bases teóricas da aplicação dos modelos

3.8.1 – Bases neurais das emoções: tristeza

O conceito psicológico de emoção é pouco claro, dificultando sua abordagem biológica. Uma definição do termo emoção frequentemente empregada em neurociências é de um conjunto de estados cognitivos, endócrinos e autonômicos que acoplam a percepção de estímulos a uma resposta comportamental adaptativa. A tristeza, por essa definição, é um conjunto de estados da volição, sono, apetite, libido e variações hormonais que surgem como resposta a perdas (Mayberg 2000).

Comportamentos emocionais saudáveis são respostas previsíveis e aproximadamente estereotipadas a determinados estímulos. Desvios da normalidade podem ser interpretados como desacoplamento entre estímulo e resposta ou respostas excessivas e não-adaptativas, manifestando-se por início ou persistência de um estado emocional na ausência do estímulo apropriado.

Classicamente, acredita-se que estruturas da região límbica possuem um papel central na regulação dos estados emocionais e do humor. Hipoteticamente, essas estruturas integram informações dos parâmetros fisiológicos e dos estímulos do ambiente e produzem respostas autonômicas, endócrinas, motoras e cognitivas apropriadas. O conceito de sistema límbico, no entanto, é controverso, principalmente porque suas delimitações anatômicas e funcionais são pouco claras (Brodal 1981). Apesar disso, a maioria dos modelos neurobiológicos atuais pressupõe um sistema neural de processamento de estímulos emocionais separado de circuitos cognitivos. Existem duas grandes visões alternativas do processo de evocação e expressão de emoções. Na visão tradicional, hegemônica até meados do século XX, a percepção consciente do estímulo precede as variações de parâmetros fisiológicos, ou seja, um evento emocional consciente elicia uma resposta autonômica reflexa (Kandel 2000b). No fim do século XIX, William James propôs que, ao contrário da visão tradicional, a experiência consciente da emoção é um evento consecutivo à expressão fisiológica dessa emoção.

Um desenvolvimento teórico recente da teoria de James é a hipótese de marcador somático de Antônio Damásio (1996). Por essa hipótese, o processo de tomada de decisão é mediado pela coordenação entre os fatos que compõem uma situação, representados nos córtices sensoriais, com estados emocionais apropriados,

representados em córtices associativos. Rolls (2005), por outro lado, sustenta que as emoções são largamente representadas nas regiões neurais que processam reforçamento de estímulos. Phillips, et al. (2003) propuseram dois sistemas neurais distintos como modelo das bases biológicas da percepção de emoções. O sistema ventral que inclui a amígdala, a ínsula, o estriado ventral e regiões ventrais do giro do cíngulo e do córtex pré-frontal seria o responsável pela atribuição de significado emocional ao estímulo e pela produção de um estado afetivo correspondente. O sistema dorsal, formado pelas regiões dorsais do córtex pré-frontal e giro do cíngulo anterior e pelo hipocampo seria o responsável pela regulação do estado afetivo. Esse modelo relativamente simples vem sendo largamente utilizado na interpretação dos estudos de mapeamento neural das emoções.

A abordagem experimental das bases neurais da tristeza em humanos frequentemente utiliza-se da recuperação de memórias pessoais que provocam sentimento transiente de tristeza. Pardo, et al. (1993), utilizando PET, observaram aumento do rCBF no córtex pré-frontal durante recordação espontânea de eventos pessoais de perda. Observaram ainda aumentos mais expressivos do fluxo no córtex pré-frontal esquerdo em homens, fenômeno não observado em mulheres. Além do estudo de evocação de tristeza em sujeitos saudáveis, estudos de neuroimagem funcional em pacientes com depressão constituem um modelo bem estabelecido no estudo das bases neurais da tristeza.

Extremamente prevalente, a síndrome depressiva caracteriza-se por humor negativo persistente associado a distúrbios da atenção, motivação, sono, apetite e libido ou anedonia, culpa excessiva, pensamentos recorrentes de morte ou ideação suicida (Sadock 2007). Estudos pioneiros sugeriram que a depressão pode estar

associada a disfunção de regiões cerebrais distantes porém conectadas funcionalmente incluindo regiões límbicas, paralímbicas e o neocórtex e, provavelmente, vários sistemas de neurotransmissores (Sadock 2007; Heilman 1997; Mayberg 1997). Está bem caracterizada a relação entre sintomatologia depressiva e lesões de certas áreas cerebrais, principalmente no lobo frontal e gânglios da base, por acidente vascular isquêmico (Mendez, et al. 1989). Estudos de pacientes com lesão cerebral traumática apontam maior prevalência de sintomas depressivos no acometimento da porção dorsolateral do córtex pré-frontal (Fedoroff, et al. 1992). A questão da lateralidade na função dessa porção cortical é controversa em estudos de lesão.

As técnicas de neuroimagem funcional, especialmente a RMf, vem sendo crescentemente utilizadas no mapeamento das estruturas cerebrais relacionadas à emoção normal e patológica. No entanto, a aplicabilidade e limitações das técnicas de neuroimagem devem ser bem conhecidas para produzir-se conclusões válidas em estudos de bases neurais de emoções em humanos. Um exemplo importante é a limitação da RMf baseada em efeito BOLD para o estudo funcional dos núcleos subcorticais, do estriado e da amígdala, estruturas consistentemente relacionadas a comportamentos emocionais em modelos animais (Amaro e Barker 2006; Ances, et al. 2008; Mayberg 2000). A avaliação de áreas próximas a cisternas ou à órbita ocular, como o hipocampo e o córtex orbitofrontal é dificultada na RMf por artefatos de susceptibilidade magnética. Outra limitação que deve ser considerada é o desencadeamento de respostas emocionais pelo ruído do aparelho de RMf e pela própria situação do exame e, portanto, de respostas emocionais independentes do apresentação do estímulo de interesse.

3.8.2 – Percepção de faces tristes e tomada de decisão

A percepção de faces é uma das mais complexas habilidades humanas e possui um inquestionável valor evolutivo. Técnicas de neuroimagem são amplamente empregadas na busca dos substratos neurais para reconhecimento das características permanentes, como identidade e gênero, e transitórias, como expressão de emoções, em faces humanas. Para o reconhecimento de emoções em faces, um sistema neural hierárquico e integrado cujo núcleo é composto pelo giro occipital inferior, sulco temporal superior e giro fusiforme lateral foi proposto (Haxby, et al. 2002; Vuilleumier and Pourtois 2007).

O reconhecimento de gênero em faces humanas é um paradigma de decisão perceptual largamente utilizado em estudos de neuroimagem funcional. Dentre outras aplicações, a apresentação de faces com diferentes expressões em tarefas que não envolvem o reconhecimento direto dessas emoções foi utilizado no estudo da influência do conteúdo emocional de estímulos sobre funções cognitivas diversas (Dolan 2002). A emoção expressa nas faces pode ser considerada um distrator na tarefa de identificação de gênero (Meriau, et al. 2006). Áreas cerebrais comumente observadas em estudos de RMf aplicando esse paradigma incluem o Giro Fusiforme (FG), a porção dorsal do Giro do Cíngulo Anterior (dACC) e córtex pré-frontal dorsolateral (DLPFC) (Meriau, et al. 2006).

Diversas evidências indicam que o FG, em humanos, é uma área cortical especializada na percepção de faces (Kanwisher 2006; Kanwisher e Yovel 2006). Entretanto, não está claro o envolvimento do FG no processamento de expressões faciais de emoções. Alguns estudos de RMf indicam maior ativação do FG para faces

com expressão de emoções com relação a faces neutras (Dolan, et al. 2001; Vuilleumier, et al. 2001; Vuilleumier, et al. 2003). Kanwisher and Yovel (2006) propuseram que esse achado pode refletir um aumento do estado de alerta gerado pelo conteúdo emocional do estímulo, e não uma resposta específica do FG. Winston, et al. (2003b), também utilizando RMf, não observaram adaptação a expressões faciais no FG, corroborando a hipótese de especialização dessa área cortical no reconhecimento de identidade. Surguladze, et al. (2003) observaram um aumento linear da resposta BOLD no FG com a intensidade de expressões faciais de medo. O mesmo padrão não foi observado para faces tristes, no mesmo estudo. Winston, et al. (2003a), por outro lado, não observaram qualquer diferença significativa na atividade do FG para diferentes intensidades de expressões faciais de emoção.

As áreas que formam o sistema dorsal regulador do estado afetivo proposto por Phillips, et al. (2003), incluindo o DLPFC e o dACC, também podem ser interpretadas como parte de uma via de controle de distratores frente a uma dada tarefa (Egner, et al. 2007; Egner e Hirsch 2005; Luo, et al. 2007; Meriau, et al. 2006). Esse processo hipotético também é denominado resolução de conflito (Botvinick, et al. 2001). O modelo de controle cognitivo de distratores considera o dACC uma região monitorizadora do conflito, isto é, da presença de estímulos irrelevantes à realização da tarefa, e propõe que o DLPFC está implicado na resolução do conflito de informações (Carter, et al. 1999; Kerns, et al. 2004; MacDonald, et al. 2000). Alguns autores sugerem que uma via neural única está envolvida tanto no controle de distratores com conteúdo emocional quanto no controle de distratores cognitivos. Outros, defendem vias neurais separadas para

esses processos. Egner, et al. (2007) propuseram que a região dorsal do giro do cíngulo estaria envolvida no controle de distratores emocionais enquanto a região ventral controlaria distratores sem conteúdo emocional. Por outro lado, Luo, et al. (2007) não observaram ativações diferenciais dessas áreas do giro do cíngulo para distratores com e sem conteúdo emocional.

O dACC é uma das áreas cerebrais com maior número de conexões com a amígdala (Amaral e Price 1984; Ghashghaei, et al. 2007). As conexões eferentes do dACC para a amígdala são consideravelmente mais numerosas que as aferentes (Ghashghaei, et al. 2007). Essa característica estrutural sugere um fluxo de informação do dACC para a amígdala, fazendo do primeiro um possível regulador da função da segunda. Aparentemente, a principal função da amígdala é a de extração do significado afetivo do estímulo (LeDoux 2000; Levesque, et al. 2003). Especificamente para paradigmas com apresentação de faces tristes, resultados contraditórios foram obtidos com relação à ativação da amígdala (Kanwisher and Yovel 2006; Loughhead, et al. 2008; Surguladze, et al. 2003).

A região lateral do córtex pré-frontal é, classicamente, uma região de função executiva e também é implicada em paradigmas de resolução de conflito (Dalley, et al. 2004; Egner, et al. 2007; Luo, et al. 2007; Miller 2000; Miller and Cohen 2001). Em um trabalho recente, Ghashghaei, et al. (2007) elucidaram as relações anatômicas entre o córtex pré-frontal e a amígdala por injeção intraparenquimatosa de traçadores retrógrados e anterógrados em macacos. Os córtices pré-frontal medial e orbitofrontal apresentaram fortes conexões recíprocas com a amígdala, ao contrário do córtex pré-frontal lateral. A distribuição topográfica das conexões observadas por esses autores sugere um fluxo de informação do córtex orbitofrontal e pré-frontal

medial para as lâminas superiores do córtex pré-frontal lateral e dessas para as lâminas médias dos córtices pré-frontal medial e orbitofrontal, que formam a principal via de saída para a amígdala (Aggleton, et al. 1980; Barbas and Rempel-Clower 1997; Ghashghaei, et al. 2007). Estas relações anatômicas provêm um substrato para a integração do DLPFC à rede neural de controle de distratores emocionais sugerida por estudos de RMf (Egner and Hirsch 2005; Luo, et al. 2007).

Uma característica importante do DLPFC, especialmente no processamento de informações com conteúdo emocional, é a lateralidade. Atividades tanto do DLPFC direito quanto esquerdo estão associadas com julgamento de estímulos emocionais e não diretamente com a sua percepção (Grimm, et al. 2007; Lange, et al. 2003; Northoff, et al. 2004; Ueda, et al. 2003). O DLPFC direito, no entanto, correlaciona-se com a antecipação do julgamento emocional. Uma hipótese aventada para a lateralidade observada no DLPFC, chamada de lateralização de valência, atribui uma dominância do DLPFC direito no processamento de emoções negativas (Grimm, et al. 2007; Wager, et al. 2003). Atividade aumentada do DLPFC à direita também correlaciona-se com a supressão voluntária de tristeza (Levesque, et al. 2003). Meriau, et al. (2006), comparando decisão de gênero e de expressão emocional em faces, observaram maior conectividade entre o dACC e o DLPFC direito para as decisões de expressão emocional.

Capítulo 4

Materiais e Métodos

4.1 – Modelo do tempo de processamento neural

Para modelar a atividade neural $u(t)$, admitiu-se a hipótese de acoplamento entre o potencial de campo local (LFP) e o efeito BOLD (seção 3.4.1). Em córtices sensoriais primários, o LFP mantém-se durante o período de apresentação do estímulo (Logothetis, et al. 2001; 2008). Considerando essa característica temporal do LFP e a escala temporal para a ativação ou desativação neural, uma função retangular é uma escolha razoável para a função de atividade neural $u(t)$:

$$u(t) = \begin{cases} 1 & \text{se } \theta_i \leq t < \theta_i + \delta_i \\ 0 & \text{caso contrário} \end{cases}, \text{ (XLIII)}$$

onde θ_i é o tempo de início de um estímulo do vetor de estímulos $\theta = (\theta_1, \theta_2, \dots, \theta_n)$, n é o número total de estímulos e δ_i é o tempo de processamento neural (TPN) do estímulo apresentado no tempo θ_i (Figura 6).

Em outras palavras, a atividade neural foi modelada como uma transformação linear da apresentação de estímulos. Essa aproximação foi utilizada em outros estudos de estimativas não-lineares de parâmetros de modelos biofísicos (Vakorin, et al. 2007). Além disso, a dinâmica tipo liga-desliga da atividade neural surgiu como solução natural do problema hemodinâmico inverso (Vakorin, et al. 2007).

Figura 6 – Modelo do tempo de processamento neural. A atividade neural é modelada como uma transformação linear do vetor de estímulos em que a duração da atividade neural (TPN) é variável. θ_i é o tempo de início de um estímulo do vetor de estímulos $\theta = (\theta_1, \theta_2, \dots, \theta_n)$, n é o número total de estímulos e δ_i é o tempo de processamento neural (TPN) do estímulo apresentado no tempo θ_i . A atividade neural é acoplada a resposta de aumento de fluxo sanguíneo regional (rCBF) por um modelo de oscilador harmônico. O rCBF obtido por esse modelo de acoplamento neuro-hemodinâmico é a função de entrada do modelo de balão cujas variáveis de estado são o consumo regional de oxigênio (rCMRO₂), o volume sanguíneo regional (rCBV) e o conteúdo de desoxi-hemoglobina. O conteúdo de desoxi-hemoglobina e o rCBV determinam a curva BOLD modelada.

O acoplamento entre a atividade neural $u(t)$ e o rCBF normalizado $f(t)$ foi modelado pelo seguinte sistema de equações diferenciais ordinárias (Friston, et al. 2000):

$$\begin{cases} \frac{ds(t)}{dt} = \epsilon u(t) - k_s s(t) - k_f (f(t) - 1) \\ \frac{df(t)}{dt} = s(t) \end{cases} \quad . \text{ (XLIV)}$$

Nesse modelo, $s(t)$ é um sinal gerado por $u(t)$ que, por sua vez, altera a dinâmica do rCBF; k_s e k_f são, respectivamente, as constantes temporais de decaimento do sinal $s(t)$ e do fluxo $f(t)$; e ϵ é uma constante que representa a

eficiência da atividade neural em causar o aumento de fluxo (Friston, et al. 2000). Aqui, ε é definido como 1, uma aproximação que não compromete a estimativa dos outros parâmetros do modelo (Deneux e Faugeras 2006). O termo que multiplica k_f na primeira equação modela um mecanismo de retroalimentação negativa sobre o fluxo.

O sistema de equações diferenciais proposto por Friston, et al. (2000) pode ser reescrito como uma equação diferencial homogênea de segunda ordem que, considerando-se a aproximação para ε fica:

$$\frac{d^2 f(t)}{dt^2} + k_s \frac{df(t)}{dt} + k_f f(t) = u(t) + k_f. \quad (\text{XLIV})$$

A equação XLIV modela, classicamente, um oscilador harmônico amortecido submetido a um forçamento externo. Considerando uma massa presa a um barbante que, por sua vez, está preso ao teto, k_s equivale à constante da força de atrito ou amortecimento que depende da velocidade do movimento pendular da massa. O parâmetro k_f equivale a uma constante (a constante gravitacional) multiplicada pelo inverso do comprimento do barbante. A integral de $u(t) + k_f$ no intervalo de 0 a δ , considerando-se $u(t)$ constante e igual a 1 nesse intervalo, é simplesmente $\delta + k_f$. Fisicamente, a integral de $u(t) + k_f$ (força externa) é o impulso sobre o sistema. Em outras palavras, ao permitir que δ varie, estima-se a magnitude do impulso sobre o pêndulo.

Por definição, $f(t)$ e $s(t) = f'(t)$ são grandezas relativas aos respectivos valores no repouso e, considerando que esses valores não são nulos, as condições iniciais da equação XLIV são $f(0) = 1$ e $f'(0) = 1$. O impulso sobre o pêndulo

modifica a amplitude e a duração da oscilação. A solução geral das equação XLIV é dada pela combinação linear da solução da equação homogênea (quando o termo à direita é nulo) com qualquer solução particular da equação XLIV. A solução geral da equação diferencial homogênea pode ser escrita como:

$$f(t) = e^{-k_s t/2} [c_1 z_1(t) + c_2 z_2(t)], \quad (\text{XLV})$$

onde c_1 e c_2 são constantes determinadas pelas condições iniciais e z_1 e z_2 são funções que dependem do discriminante ω . O discriminante ω do polinômio derivado da equação diferencial é dado por:

$$\omega = k_s^2 - 4k_f. \quad (\text{XLVI})$$

Como o valor das raízes de um polinômio de segundo grau dependem do sinal do discriminante, as funções z_1 e z_2 dependem do sinal de ω :

$$\begin{aligned} z_1(t) &= \begin{cases} \cos(\sqrt{-\omega}t/2) & \text{se } \omega < 0 \\ 1 & \text{se } \omega = 0 \\ \exp(\sqrt{\omega}t/2) & \text{se } \omega > 0 \end{cases} \\ z_2(t) &= \begin{cases} \sin(\sqrt{-\omega}t/2) & \text{se } \omega < 0 \\ t & \text{se } \omega = 0 \\ \exp(-\sqrt{\omega}t/2) & \text{se } \omega > 0 \end{cases} \end{aligned} \quad (\text{XLVII})$$

A solução geral da equação diferencial homogênea para $\omega < 0$ corresponde a solução para um oscilador harmônico subamortecido; $\omega = 0$ representa uma dinâmica de oscilação denominada crítica; e $\omega > 0$ modela um oscilador harmônico superamortecido. Essas diferentes dinâmicas estão ilustradas na Figura 7. Como não foram impostas restrições aos valores de k_f e k_s , o sinal de ω não foi fixado. Isso

permite que a estimativa dos valores de k_f e k_s indique qual das dinâmicas de oscilação melhor modela os dados.

Figura 7 – Dinâmicas do modelo de oscilador harmônico (A) e efeitos da variação dos parâmetros sobre a curva BOLD (B). A equação diferencial de segunda ordem que modela o acoplamento entre atividade neural e fluxo sanguíneo também modela um oscilador harmônico amortecido submetido a uma força externa retangular. A frequência natural do oscilador ($\omega = k_s^2 - 4k_f$) define o comportamento das soluções da equação diferencial. Se $\omega > 0$, a solução corresponde a um oscilador harmônico superamortecido. Para $\omega = 0$, há decaimento exponencial simples do sinal denominado comportamento crítico do oscilador e $\omega < 0$ corresponde a um oscilador subamortecido. A dependência da curva de fluxo sanguíneo com o sinal da frequência natural é ilustradas em A, bem como a resposta BOLD calculada a partir do modelo de balão dado o fluxo. Os efeitos da variação dos três parâmetros do modelo de acoplamento entre atividade neural e fluxo sanguíneo cerebral também são ilustrados (B). Note que a variação dos parâmetros não apresenta um efeito linear sobre as curvas modeladas.

A fim de se produzir uma função de resposta hemodinâmica (HRF), a função de fluxo $f(t)$ resultante da solução da equação XLIV foi utilizada como entrada do modelo de balão (Figura 6). A formulação do modelo de balão utilizada, explicitando-se as variáveis de estado foi:

$$\begin{cases} \frac{dv(t)}{dt} = \frac{\tau_M - \tau}{\tau_M^2} [f(t) - v(t)^{1/\alpha}] \\ \frac{dq(t)}{dt} = \frac{1}{\tau_M} \left[\frac{1 - (1 - E_0)^{1/f(t)}}{E_0} f(t) - \frac{q(t)}{v(t)} \left(v(t)^{1/\alpha} - \tau \frac{dv}{dt} \right) \right] \end{cases} \quad (\text{XLVIII})$$

Os parâmetros do modelo de balão foram fixados em medidas publicadas e que utilizaram diferentes métodos de estimativa (Tabela 1). Portanto, o conjunto de parâmetros livres do modelo foi $\{\delta, k_f, k_s\}$.

Não há uma solução analítica para o modelo de balão. A fixação dos parâmetros permite a obtenção de soluções numéricas do modelo para uma dada função $f(t)$. Para obter soluções numéricas do sistema de equações diferenciais foi utilizado o comando lsoda (<http://cran.r-project.org/web/packages/lsoda/index.html>) do pacote odesolve da plataforma R (Apêndices I e VII). Este comando seleciona automaticamente o algoritmo a ser implementado para a resolução do sistema de equações diferenciais ordinárias de primeira ordem fornecido, dadas as condições iniciais. Soluções numéricas das mesmas equações diferenciais também foram obtidas por um algoritmo de Runge-Kutta de ordem 4 implementado em linguagem C (Anexo II).

Os valores de desoxi-hemoglobina $q(t)$ e de volume $v(t)$ obtidos com a solução numérica do modelo de balão foram utilizados para resolver a equação que modela a variação do sinal BOLD:

$$y(t) = V_0 \left\{ k_1 [1 - q(t)] + k_2 \left[1 - \frac{q(t)}{v(t)} \right] + k_3 [1 - v(t)] \right\}, \text{ (XLVIX)}$$

onde V_0 é o volume de sangue no voxel em repouso, k_1 , k_2 e k_3 são constantes que dependem de múltiplos fatores (Tabela 1).

Tabela 1 –Valores dos parâmetros fixos do modelo

Parâmetro	Valor	Faixa	Sigificado fisiológico
ε	1,0	0,5-1,5	<i>Eficiência neural (Friston, et al. 2000)</i>
τ_M	1,0	0,73 – 1,4	<i>Tempo de trânsito no repouso (Friston, et al. 2000; Mandeville, et al. 1999a)</i>
E_0	0,4	0,2 – 0,55	<i>Taxa de extração de O_2 no repouso (Friston, et al. 2000)</i>
α	0,38	0,33-0,7	<i>Coeficiente de Grubb (Grubb, et al. 1974; Mandeville, et al. 1999a)</i>
T	10	0 – 30	<i>Constante do balão venoso (Buxton, et al. 2004)</i>
V_0	0,03	0,01 – 0,04	<i>Volume sanguíneo no repouso (Buxton, et al. 1998)</i>
K_1	$7E_0$	-	<i>Constante da eq. de observação (Ogawa, et al. 1993) (Buxton, et al. 1998)</i>
K_2	2,0	-	<i>Constante da eq. de observação (Boxerman, et al. 1995a) (Buxton, et al. 1998)</i>
K_3	$2E_0-0,2$	-	<i>Constante da eq. de observação (Boxerman, et al. 1995a; Buxton, et al. 1998)</i>

A primeira coluna da tabela lista os quatro parâmetros do modelo de balão original (ε , τ_M , E_0 and α), a constante viscoelástica τ do modelo de balão expandido (Buxton, et al. 2004) e os quatro parâmetros da equação não-linear do efeito BOLD, dados o rCBV e o conteúdo de desoxi-hemoglobina (V_0 , k_1 , k_2 , k_3). A segunda coluna apresenta os valores dos parâmetros utilizados no modelo aplicado na presente tese. Note que os valores de k_1 , k_2 e k_3 são definidos com relação a taxa de extração de oxigênio no E_0 , válidos para campo de 1,5 Tesla. A terceira coluna mostra a faixa de valores dos parâmetros publicados, representando a provável variação fisiológica dos mesmos. A última coluna nomeia os parâmetros e as principais referências de suas descrições e estimativas.

Atualmente, a inferência da duração da atividade neural a partir do efeito BOLD baseia-se na estimação da latência e, principalmente, da largura na metade do valor máximo de um modelo fixo da HRF. Existem diversos modelos fixos da HRF. Lindquist, et al. (2007) propuseram a sobreposição de três funções logísticas inversas para modelar a HRF (modelo LI). A função logística inversa é dada por

$$L(t) = \frac{1}{1 + e^{-t}}, (L)$$

e a sobreposição de três funções logísticas que modela a HRF é dada por

$$h(t|\xi) = \varphi_1 L((t - T_1)/D_1) + \varphi_2 L((t - T_2)/D_2) + \varphi_3 L((t - T_3)/D_3). (LI)$$

Nesse modelo da HRF $h(t)$ há um conjunto ξ de nove parâmetros $(\varphi_1, \varphi_2, \varphi_3, T_1, T_2, T_3, D_1, D_2, D_3)$. A primeira função descreve o aumento inicial da HRF com a atividade neural, a segunda função descreve a diminuição subsequente e o *undershoot* e a terceira função descreve a recuperação da HRF para a linha de base. Os parâmetros φ determinam a amplitude e direção da curva, T são fatores de translação da curva e D são fatores de escala. Escrevendo φ_3 em relação a φ_1 e φ_2 e considerando $h(0) = 0$, o número de parâmetros do modelo LI foi diminuído para sete.

Para estimar os sete parâmetros do modelo LI, Lindquist, et al. (2007) utilizaram *simulated annealing* (SA). O SA é um método estocástico de estimação que evita mínimos locais pois consiste em uma busca randômica no espaço dos parâmetros por soluções que minimizem a função de custo. A partir dos valores dos parâmetros do modelo LI estimados pelo SA é possível derivar diretamente as

medidas da forma da HRF (amplitude, latência e largura). A combinação do modelo LI da HRF com o SA apresentou o melhor compromisso entre poder estatístico e interpretabilidade da amplitude, latência e largura da HRF em comparação com os principais modelos da literatura (Lindquist, et al. 2007; Lindquist e Wager 2009). Por isso, o modelo LI associado com SA foi utilizado aqui como protótipo do método atual de inferência da duração da atividade neural a partir do efeito BOLD. O modelo LI/SA foi comparado com o TPN por simulações computacionais por aplicação a dados experimentais. Os métodos para a aplicação do LI/SA aos dados experimentais são objeto da seção 4.4.

Para comparar o modelo LI/SA com o TPN (objetivo específico 4) um conjunto de simulações computacionais foi realizada (Figura 8). Mais especificamente, o objetivo dessas simulações foi verificar se o TPN é redundante com alguma das medidas da forma da HRF. Foram obtidas as soluções numéricas do modelo de TPN para quatro valores de δ (2, 5, 10 e 20 segundos) com os parâmetros hemodinâmicos fixo $k_f=0,4$ e $k_s=0,65$. Ruídos Gaussianos foram adicionados a essas soluções, produzindo séries temporais simuladas. As séries temporais simuladas geradas pelo modelo de TPN foram então utilizadas como entrada do modelo de LI/SA. A rotina de estimação dos parâmetros do modelo LI utilizando o algoritmo SA e o cálculo posterior das medidas da forma da HRF a partir do modelo LI foram implementadas no MATLAB®. O código da rotina de estimação foi publicado por Lindquist e Wager (2007).

Para a implementação do algoritmo SA, os valores iniciais dos parâmetros do modelo LI foram fixados, dado que esse algoritmo não deve depender das condições

iniciais. Como implementado por Lindquist e Wager (2007), a função de temperatura (uma medida do “movimento” da busca no espaço de soluções) diminui logarithmicamente com as iterações. Essa diminuição permite uma busca mais ampla no espaço de soluções no início do algoritmo e uma busca mais restrita no final, em torno do provável mínimo global. O valor dos saltos (*jumps* - a amplitude de variação de parâmetros gerada aleatoriamente) foi da ordem de 10^{-3} . O número total de iterações foi de 15000 para cada simulação. Foram realizadas 10000 simulações do modelo LI/SA para cada uma das quatro soluções do modelo de TPN. Os resultados foram representados por histogramas das três medidas da forma da HRF obtidas pelo LI/SA.

Figura 8 – Simulações com LI/SA. Quatro valores de TPN geraram modelos de efeito BOLD. A adição de ruído Gaussiano produziu séries temporais simuladas. Essas séries temporais foram então submetidas a rotina de estimação dos parâmetros de um modelo de funções logísticas inversas da HRF (modelo LI) utilizado o algoritmo de *simulated annealing* (SA). A partir dos parâmetros do modelo LI foram calculadas as medidas da forma da HRF, ou seja, de sua amplitude, tempo para o pico (latência) e largura na metade do pico.

4.2 Integração à análise de dados: rotinas de estimação

O modelo de balão e suas extensões possuem um grande número de parâmetros e um alto grau de não-linearidades, o que dificulta qualquer procedimento estatístico de estimativa desses parâmetros (Vakorin, et al. 2007; Wager, et al. 2005). Por essa razão, a maioria dos parâmetros deste modelo foi fixada em valores conhecidos *a priori*, exceto δ , k_f e k_g , ou seja, os parâmetros do acoplamento entre atividade neural e reposta hemodinâmica (ver Discussão).

A estimativa dos parâmetros do modelo pode ser interpretada alternativamente como a solução do problema hemodinâmico inverso, ou seja, a determinação da entrada do sistema dinâmico (atividade neural) conhecida sua saída (efeito BOLD). (Buckner 2003). Este é um problema de otimização que consiste em determinar o conjunto de parâmetros do modelo que melhor reproduzem a saída observada. Em outras palavras, a solução consiste em encontrar, dentre as funções de entrada possíveis do modelo biofísico aquela que se adeque melhor aos dados.

Duas rotinas de estimação dos parâmetros do modelo de TPN foram implementadas: uma baseada no algoritmo genético (GA) e outra em um método direto (MD). Métodos de estimativa não-linear de parâmetros foram propostos como forma de abordagem do problema hemodinâmico inverso. Dentre esses métodos, o algoritmo genético (GA) foi implementado por sua relativa eficiência e confiabilidade na estimativa de parâmetros de modelos com alto grau de não-linearidade (Vakorin, et al. 2007). O método direto consistiu na construção de um conjunto discreto de possíveis soluções do problema hemodinâmico inverso e de uma forma de busca da solução ótima do problema nesse espaço de soluções. As

duas rotinas de estimação foram validadas por simulações computacionais e aplicadas aos dados experimentais.

4.2.1 - Algoritmo genético

A rotina de estimação dos parâmetros baseada no GA consistiu em, dados uma série temporal de sinal BOLD e os estímulos apresentados, especificar o conjunto de parâmetros $\{\delta, k_f, k_s\}$ que melhor descrevesse a evolução do sinal no tempo. O TPN (δ) variou com as condições experimentais e, portanto, para K condições experimentais o conjunto de parâmetros foi $\{\delta_1, \dots, \delta_K, k_f, k_s\}$. O objetivo da rotina de estimação foi encontrar o conjunto de parâmetros que minimizava a soma dos erros quadráticos entre a função de resposta hemodinâmica esperada, produzida pelo modelo, e o sinal BOLD observado.

A solução para o problema de otimização foi implementada da forma esquematizada na Figura 9. Considerando o problema de otimização como a minimização das somas dos quadrados dos resíduos (SSQ), tem-se:

$$\min_{\delta, k_f, k_s} SSQ(\delta_1, \dots, \delta_K, k_f, k_s), (L)$$

onde SSQ é uma função definida pelos seguintes passos:

1 – Construir uma matriz binária dos estímulos atribuindo o valor 0 para linha de base e 1 para condição (ex., apresentação de face), cada coluna representando uma condição experimental (ex., a primeira para faces neutras, a segunda para faces pouco tristes e a terceira para faces muito tristes) e cada linha representando o tempo da amostragem dos dados, de TR em TR;

- 2- Gerar uma HRF usando o modelo de balão com oscilador harmônico para o conjunto de parâmetros $\{\delta_1, \dots, \delta_K, k_f, k_s\}$;
- 3 – Convoluir o vetor de estímulos pela HRF, obtendo os preditores para o Modelo Linear Geral (GLM);
- 4 – Estimar os parâmetros do Modelo Linear Geral (esse passo apenas reescala os preditores) considerando o BOLD observado como variável resposta e os preditores obtidos pelos passos 1 a 3;
- 5 – Calcular a soma dos resíduos quadráticos (SSQ).
- 6 – Gerar um novo conjunto de parâmetros $\{\delta_1, \dots, \delta_K, k_f, k_s\}$, no contexto do Algoritmo Genético, retornando ao passo 2.

Figura 9 – Método de estimativa de parâmetros baseado no Algoritmo Genético (GA). Esta figura ilustra o procedimento para estimativa de parâmetros baseado em GA. As entradas são uma série temporal do BOLD observada e uma matriz de estímulos. As funções de resposta hemodinâmica (HRFs) são determinadas pela solução numérica do modelo de geração do efeito BOLD, dado o conjunto de parâmetros do modelo de acoplamento entre atividade neural e fluxo sanguíneo locais $\{\delta, k_f, k_s\}$. A minimização dos resíduos obtidos pelo modelo linear geral (GLM) é realizada utilizando o algoritmo genético (GA), produzindo os valores ótimos do conjunto de parâmetro $\{\delta, k_f, k_s\}$

Este procedimento é basicamente uma regressão não-linear baseada no algoritmo genético (GA) e no Modelo Linear Geral (GLM). O GA é uma subclasse de algoritmos de otimização, baseados na Teoria Evolucionista, na qual populações de soluções geradas aleatoriamente competem pela sobrevivência (Kjellstrom 1996). A probabilidade de sobrevivência das soluções é dada por uma lei de ajuste (*fitness*), definida para o problema de otimização específico. A população de soluções sobreviventes gera um novo conjunto de soluções que novamente competem pela sobrevivência. A variabilidade e a seleção são, portanto, iterativas e aleatórias e melhoram progressivamente a qualidade da solução. Além da lei de ajuste ou função de *fitness*, os parâmetros do algoritmo genético definidos *a priori* incluem o número de iterações, o número de conjuntos de parâmetros por iteração, a amplitude de variação aleatória dos conjuntos de parâmetros (flutuação térmica) e os valores iniciais dos parâmetros a serem estimados pela minimização da função de *fitness*.

4.2.2 - Método direto

Para a aplicação da rotina de estimação dos parâmetros baseada em um método direto (MD), as funções de resposta hemodinâmica (HRFs) correspondentes às condições experimentais (ex.: conteúdo emocional das faces) devem ser obtidas por uma desconvolução da série temporal observada com a matriz de estímulos. O método direto consiste em comparar as HRFs obtidas pela desconvolução a um conjunto previamente construído de soluções do modelo biofísico do efeito BOLD. Para esse método, o problema de otimização consiste em uma busca, sobre um conjunto discreto de curvas, daquela que melhor se ajusta à HRF observada (Figura 10). Os parâmetros da curva com menor erro na sobreposição com a HRF foram

considerados como o conjunto solução do problema. O erro foi calculado de três formas (erro quadrático, erro absoluto e em raiz quadrada) e os resultados dessas diferentes formas foram comparados por simulações. As simulações do método foram realizadas construindo-se uma HRF com parâmetros conhecidos do modelo biofísico do efeito BOLD. Foi adicionado ruído Gaussiano a essas HRF que, em seguida, foram submetidas ao algoritmo de estimativa.

Figura 10 – Rotina de estimativa baseada no método direto. As HRFs correspondentes às condições experimentais (faces muito tristes, pouco tristes e neutras, na aplicação) foram obtidas por desconvolução das séries temporais BOLD observadas com a matriz de estímulos. Cada uma dessas HRFs foi comparada a um conjunto de curvas BOLD construído previamente, encontrando-se a curva desse conjunto que melhor se ajustava a HRF fornecida. Os parâmetros do modelo de TPN desta curva foram considerados como solução do problema de otimização.

Como consequência de estimar-se as HRFs para as diferentes condições experimentais separadamente, os parâmetros hemodinâmicos δ , k_f e k_s não foram fixos para a mesma área, variando com a condição experimental, isto é, os valores de k_f e k_s dependeram do conteúdo emocional das faces apresentadas, ao contrário do

GA. Portanto, para K condições experimentais, o conjunto de parâmetros a serem estimados pelo MD é dado por $\{\delta_1, \dots, \delta_K, \dots, k_{f1}, \dots, k_{fK}, k_{s1}, \dots, k_{sK}\}$.

O MD é uma minimização discreta e a precisão das medidas dos parâmetros foi fixada pela distância especificada entre cada ponto do espaço de comparação amostrado no conjunto de soluções. Além disso, os limites superior e inferior dos parâmetros, obviamente, são fixados nesse método. Note que além de operar em espaços discretos, o MD, ao contrário da minimização por GA, não é um método iterativo, o que diminui muito o custo computacional da rotina de estimação.

Para a construção do espaço de soluções do modelo biofísico do efeito BOLD, foi implementado o mesmo modelo para o GA (seção 4.1). Os limites superior e inferior dos parâmetros fixados foram consideravelmente maiores que os parâmetros fisiológicos estimados na literatura e pelo GA evitando, assim, vies por determinação *a priori* dos valores estimados dos parâmetros. A distância entre parâmetros hemodinâmicos das soluções amostradas foi de 10^{-4} e do TPN de 10^{-3} .

4.3 – Simulações Computacionais

As simulações computacionais das duas rotinas de estimação dos parâmetros (GA e MD) tiveram como objetivo avaliar a consistência desses métodos (objetivo específico 2). Simulações computacionais constituem uma maneira empírica de avaliar-se a validade dos modelos matemáticos e dos algoritmos de otimização implementados.

As rotinas de estimação dos parâmetros (GA e MD) foram implementados na plataforma R. Para a otimização baseada no GA foi utilizado o pacote *gafit*

(<http://cran.r-project.org/web/packages/gafit/index.html>) (Apêndice III). Soluções numéricas foram obtidas para oito conjuntos de parâmetros $\{\delta, k_f, k_s\}$ do modelo de TPN. Esses conjuntos de parâmetros abrangem as durações de apresentação de estímulo de experimentos relacionado a eventos típicos e faixa de variação fisiológica dos parâmetros k_f e k_s , incluindo as três dinâmicas possíveis do modelo de oscilador harmônico. Seis valores distintos do tempo de processamento regional δ foram simulados (1; 1,5; 2; 2,5; 3 e 5 segundos), sendo representativos do domínio de duração da atividade neural (LFP) esperado em experimentos relacionados a eventos. Para testar os limites de validade do algoritmo, valores extremos dos parâmetros hemodinâmicos foram também implementados e os resultados foram resumidos na Tabela 2. A solução numérica correspondente a cada conjunto de parâmetros foi considerada uma curva de ativação esperada (HRF) sendo utilizada na construção de uma série temporal pela soma de um ruído branco conhecido, com relação sinal-ruído típica para experimentos em 1,5 T (em torno de 0,5). Essas séries foram então submetidas às duas rotinas de estimação (GA E MD).

Para a rotina baseada em GA foram realizadas mil simulações para cada conjunto de valores de parâmetros do modelo de TPN e, dessas, entre sete e quinze produziram resultados claramente não-convergentes e foram excluídas da análise posterior. Os valores da média, mediana e desvio padrão das medidas dos parâmetros estimados foram obtidas. Os parâmetros do GA utilizados foram um número máximo de iterações por simulação de 100, 10 amostras para cada iteração e flutuação térmica de 0,3. Os valores da amostra inicial de parâmetros foram variados para se evitar mínimos locais.

Para as simulações da rotina do MD (Anexo IV), os mesmos conjuntos de parâmetros do GA foram utilizados para a obtenção das HRFs. Três diferentes níveis de ruído foram somados diretamente às HRFs, posteriormente submetidas ao MD com os três diferentes cálculos do erro. Dez mil simulações foram realizadas para cada conjunto de parâmetros. Todos os conjuntos de simulações foram realizados utilizando um processador Intel Pentium IV de 2,66 GHz. Histogramas das simulações mais relevantes foram construídos e os demais resultados foram sumarizados na Tabela 2.

4.4 - Aplicações do modelo

4.4.1 – Desenho Experimental

Os dados correspondentes à aplicação do paradigma relacionado a evento de apresentação de faces foram obtidos pelo pesquisador Dr. Ellison Cardoso (Cardoso 2008). Os voluntários foram devidamente orientados sobre o estudo e assinaram termo de consentimento livre e esclarecido. O projeto foi aprovado pela comissão de ética (CAPEPesq) sob o número 414/03. Dezoito voluntários homens, destros, com idade média de 57 anos e desvio padrão de 7 anos participaram do estudo. Nenhum dos voluntários relatava história pessoal significativa de doenças clínicas, neurológicas ou psiquiátricas e não faziam uso de medicamentos regularmente.

Um paradigma relacionado a eventos cuja tarefa consistia em reconhecimento de gênero em faces neutras ou com diferentes graus de tristeza foi implementado (Cardoso et al., 2007; Meriau et al., 2006). Transformações de Eckmann das faces

foram utilizadas para construir faces neutras, pouco tristes ou muito tristes. As faces foram apresentadas por 2 segundos e o intervalo entre estímulos variou aleatoriamente de acordo com uma distribuição de Poisson (de 2 a 12 s, com média de 5 s).

Figura 11 – Desenho experimental – Reconhecimento de gênero em faces neutras, pouco tristes ou muito tristes. Dezoito indivíduos saudáveis do sexo masculino e destros realizaram a tarefa de reconhecimento de gênero pressionando um botão durante o experimento de RMf. Faces sem expressão emocional ou neutras (azul), com nível intermediário de tristeza (amarelo) e com alto nível de tristeza (vermelho) foram apresentadas de acordo com uma distribuição de Poisson por dois segundos cada, como ilustrado na parte inferior da figura. Nos períodos entre estímulos foi apresentada a tela escura com uma cruz branca central.

Os voluntários foram instruídos a responder, o mais rápido possível, se a face era masculina ou feminina pressionando um botão com a mão direita. Os tempos de reação (RT) foram medidos e as decisões sobre o gênero das faces apresentadas

foram gravadas. A apresentação do estímulo foi sincronizada com o aparelho de RM por meio de um *relay* óptico disparado pelo pulso de radio-frequência. (Zurc & Zurc, São Paulo, Brasil). Todas as imagens foram adquiridas em um aparelho de RM de 1,5 T da GE, equipado com gradientes de 33 mT/m. As imagens foram orientadas de acordo com a linha AC-PC, sendo obtidas 15 fatias com 7 mm de espessura cada. Um total de 168 volumes cerebrais foram adquiridos em cada experimento com TR de 2 s, TE de 40 ms com aquisição EPI-GE.

4.4.2 – Processamento da Imagem e estimativa dos parâmetros

O processamento da imagem e mapeamento do efeito BOLD foram realizados utilizando o programa XBAM (www.brainmap.co.uk). Todos os volumes foram pré-processados com aplicação de correção de tempo de fatia (*slice timing correction*), correção de movimento por registro de corpo rígido, suavização espacial com filtro Gaussiano (FWHM de 9 mm) e normalização espacial para o espaço estereotáxico de Talairach J. (1988). A função de resposta hemodinâmica (HRF) utilizada para o modelo linear geral (GLM) foi modelada por duas funções de Poisson com picos em 4 s e 8 s após o início da apresentação do estímulo. A significância estatística do grupo foi avaliada por um método não-paramétrico de permutação (Nichols e Holmes 2002).

As áreas cerebrais cujos sinais BOLD observados correlacionaram-se positivamente com a tarefa e das quais foram extraídas as séries temporais para a análise posterior foram o Giro Fusiforme (FG), a porção anterior e dorsal do Giro do Cíngulo (dACC) e o córtex pré-frontal dorsolateral (DLPFC) bilateral.

As séries temporais médias dos *clusters* correspondentes ao FG, dACC e DLPFC direito e esquerdo foram extraídas utilizando o EBAM. Cada uma das séries temporais obtidas foram submetidas às duas rotinas de estimação (GA e MD) dos parâmetros do modelo do TPN (Apêndices V e VI) e à estimação das medidas da forma da HRF (modelo LI) pelo SA. Como a duração da apresentação do estímulo foi constante, o tempo de processamento neural foi considerado invariante dentro da mesma condição experimental variando com a região cerebral e para as três condições experimentais. Os parâmetros das séries temporais de cada indivíduo foram estimados separadamente. Dos dezoito indivíduos, entre 5 e 7 séries temporais claramente não convergiram para cada área no GA e MD, e esses dados foram excluídos da análise estatística posterior. Como o número amostrado de parâmetros estimados foi relativamente pequeno, o teste de Wilcoxon foi aplicado para os valores estimados do tempo de processamento regional para as três condições experimentais (faces neutras, pouco tristes e muito tristes) em cada região de interesse e para os dois métodos de estimativa separadamente. O teste de Wilcoxon também foi aplicado para testar diferenças entre as distribuições das medidas da forma da HRF do modelo LI/SA (amplitude, latência e largura) entre as diferentes áreas e condições experimentais.

Capítulo 5

Hipóteses

O conceito de TPN como parâmetro de um modelo biofísico do efeito BOLD foi comparado com medidas da forma da HRF (amplitude, largura e latência) para uma HRF fixa modelada como sobreposição de funções logísticas (modelo LI). Espera-se que o TPN seja uma medida não derivável diretamente das medidas da forma da HRF e, portanto, essas duas formas de inferência da duração da atividade neural a partir do efeito BOLD devem ser diferentes nas simulações desenhadas para compará-las (resultados na seção 6.1).

Simulações computacionais foram realizadas para avaliar as duas rotinas de estimação do TPN desenvolvidas: a rotina baseada no algoritmo genético (GA) e a baseada em um método direto (MD). Espera-se que ambas as rotinas recuperem os valores de parâmetros conhecidos que geraram séries temporais simuladas, o que demonstraria a validade dessas rotinas de estimação para o problema de otimização específico (resultados na seção 6.2)

A estimação do TPN foi aplicada no estudo da rede neural envolvida no controle de distratores emocionais (expressão de tristeza em faces) em uma tarefa de reconhecimento de gênero. Quatro áreas cerebrais são consistentemente observadas em estudos de RMf utilizando essa tarefa: o giro fusiforme (FG), a porção dorsal do giro do cíngulo (dACC) e os córtices pré-frontal dorsolateral (DLFPC) direito e esquerdo. Espera-se que o TPN no FG não varie com o conteúdo de tristeza das faces, considerando que essa área não deve estar envolvida no processamento de

expressões de emoções (seção 3.8.2, página 89). Considerando-se ainda que a atividade neural que gera o efeito BOLD corresponde à medida eletrofisiológica de potencial de campo local (ver hipótese de acoplamento LFP-BOLD na seção 3.4.1) e que essa medida eletrofisiológica tem duração equivalente a da apresentação de estímulo em áreas sensoriais (Logothetis, et al. 2001; 2008), espera-se que o TPN no FG tenha valor aproximado ao da duração do estímulo, de 2 segundos (resultados na seção 6.3).

No dACC, supostamente envolvido no controle de distratores emocionais em tarefas de tomada de decisão (seção 3.8.2, página 90), espera-se que o valor de TPN varie com o conteúdo emocional das faces. Já no DLPFC, áreas mais diretamente envolvidas no processo de decisão (seção 3.8.2, página 91), espera-se um valor de TPN menor que a duração do estímulo e comparável com o tempo de resposta, por volta de 1,3 segundos. Além disso, espera-se comportamento distinto do TPN entre o DLPFC direito e esquerdo dada a hipótese de lateralidade dessa área para o processamento de emoções em homens (seção 3.8.2, página 91). Os resultados das estimativas do TPN para todas as áreas são apresentados na seção 6.3 e resumidos na figura 16.

Por fim, se a medida do TPN não é redundante com a atual forma de inferência da duração da atividade neural a partir do efeito BOLD, espera-se que as medidas da forma da HRF não reproduzam os resultados obtidos para as estimativas do TPN (resultados na seção 6.3, figura 13).

Capítulo 6

Resultados

6.1 – Modelo do tempo de processamento neural

A atividade neural foi modelada por uma função retangular. A duração δ da função retangular foi considerada o tempo de processamento neural (TPN). O acoplamento entre a atividade neural e o fluxo sanguíneo regional (rCBF) foi modelada pela equação de um oscilador harmônico amortecido exposto a um forçamento externo representado pela função retangular. Os parâmetros hemodinâmicos do modelo de acoplamento neuro-vascular são k_f , que modula principalmente a frequência de oscilação do rCBF e k_s , que reflete o grau de “amortecimento” dessa oscilação (Figura 7). A função de rCBF derivada do modelo de acoplamento neuro-vascular foi utilizada como entrada do modelo de balão do efeito BOLD (Figura 6).

Soluções numericas do modelo biofísico do efeito BOLD, que vai da atividade neural ao efeito BOLD observado, foram obtidas pela implementação do algoritmo de Runge-Kutta de ordem 4 em C e por meio do comando *lsoda* na plataforma R. Os resultados obtidos pelas duas formas de solução numérica foram iguais e, nas simulações computacionais posteriores foi utilizada a plataforma R.

Algumas soluções numéricas para diferentes TPN, k_f e k_s são apresentadas na figura 12. Note que o aumento do TPN, para k_s e k_f fixos leva a aumento da amplitude da resposta BOLD simulada até um ponto de saturação, aumento da

largura da curva e a um aumento seguido de diminuição da amplitude do *undershoot*. O aumento de k_f , para TPN e k_s fixos, leva a um aumento da frequência de oscilação do sinal BOLD, compatível com seu efeito sobre o rCBF no modelo de oscilador harmônico. No entanto, a amplitude da resposta BOLD simulada também varia significativamente com o valor de k_f . O aumento de k_s , para TPN e k_f fixos, diminui a amplitude geral da curva BOLD, compatível com o efeito de amortecimento desse parâmetro no modelo de acoplamento neuro-vascular.

Portanto, os três parâmetros do modelo de acoplamento entre atividade neural e rCBF modulam tanto a amplitude quanto a largura da resposta BOLD simulada. Essas características dificultam a inferência do TPN a partir de medidas da forma da HRF (amplitude, tempo para o pico e largura na metade do ponto máximo). Essa dificuldade foi descrita como um problema de *interpretabilidade* das variações da forma da HRF em termos de mudanças fisiológicas (Lindquist e Wager 2007).

Para investigar mais profundamente essa dificuldade, séries temporais simuladas para quatro valores de TPN foram submetidas a estimação da forma da HRF pelo modelo LI/SA. Os histogramas de 10000 simulações para cada valor de TPN são apresentados na figura 19. Houve alta variabilidade das estimativas de amplitude da HRF para TPN de 2 segundos. Para TPNs de 5 e de 10 segundos, os histogramas das estimativas de amplitude da HRF praticamente se sobrepuseram. Nas estimativas de tempo para o pico, praticamente não houve variação com o aumento do TPN. As estimativas da largura na metade do ponto máximo (*width-at-half-maximum*) aumentaram monotonicamente com o aumento do valor do TPN. Porém, houve sobreposição significativa entre os histogramas principalmente para

TPNs menores que 20 segundos. Esses achados são compatíveis com a reconhecida dificuldade de estimativa e interpretação das medidas da forma da HRF (Lindquist, et al. 2009).

Figura 12 - Soluções do modelo biofísico do efeito BOLD. Algumas soluções numéricas do modelo biofísico do efeito BOLD variando-se apenas um dos parâmetros são ilustradas. O aumento do TPN leva a um aumento da amplitude, tempo para o pico, largura na metade do máximo e duração total da resposta. A amplitude do *undershoot* aumenta até o TPN de 6 segundos e diminui para o TPN de 8 segundos. O aumento de k_f aumenta a frequência de variação do sinal e diminui a amplitude. Aumento de k_s diminui a amplitude geral da curva. Esses efeitos dos parâmetros hemodinâmicos sobre a curva BOLD são condizentes com o significado desses parâmetros no modelo de variação do rCBF. Não há solução real para TPN de 2 segundos, k_f de 0,4 e k_s de 0,25.

Figura 13 - Resultados das simulações de comparação entre o TPN e medidas do modelo LI/SA. Foram estimadas as medidas da forma da HRF (amplitude, tempo para o pico e *width-at-half-maximum*) modelada por funções logísticas inversas com parâmetros estimados pelo algoritmo de *simulated annealing* (LI/SA) para séries temporais simuladas construídas pelo modelo biofísico do efeito BOLD com valores de TPN conhecidos. As estimativas de amplitude apresentam alta variância para TPN de 2 segundos, sobreposição nos histogramas para de TPNs de 5 e 10 segundos e amplitude maior para TPN de 20 segundos. Também houve sobreposição dos histogramas das estimativas de tempo para o pico para TPNs de 2, 5 e 10 segundos. O mesmo observou-se para a largura da HRF (*width-at-half-maximum*).

6.2 – Simulações

O objetivo de implementar simulações das rotinas de estimação dos parâmetros foi de demonstrar a capacidade desses métodos em recuperar valores conhecidos dos parâmetros no contexto do modelo biofísico altamente complexo e não-linear implementado. Como resultado geral, observou-se que tanto a rotina de estimação baseada no GA como o método direto de estimativa apresentam um desempenho satisfatório para a solução do problema hemodinâmico inverso específico proposto.

Os resultados de oito simulações da rotina de estimação baseada no GA estão resumidos nos histogramas da Figura 14. Picos unimodais dos valores estimados foram obtidos para todas as simulações correspondentes ao valor real do parâmetro. As seis primeiras linhas da Figura 14 mostram o resultado de simulações com os parâmetros hemodinâmicos correspondentes ao modelo de oscilador harmônico subamortecido ($k_f=0,4$; $k_s=0,65$; $\omega<0$) e diversos valores do tempo de processamento regional δ (1; 1,5; 2; 2,5; 3 e 5 segundos). As duas últimas linhas ilustram os resultados das simulações para valores dos parâmetros hemodinâmicos correspondentes às dinâmicas de oscilação crítica ($k_f=0,16$; $k_s=0,8$; $\omega=0$) e superamortecida ($k_f=0,16$; $k_s=0,99$; $\omega>0$). Note que a variabilidade do valor estimado do parâmetro hemodinâmico k_s foi muito maior para $\omega=0$, ou seja, para o modelo de oscilação crítica. Apesar do maior erro na estimativa desse parâmetro as estimativas dos outros dois parâmetros do modelo foram suficientemente acuradas.

Figura 14 – Simulações do método de estimativa baseado em GA. Cada linha da figura, contendo três histogramas, representa o resultados de mil simulações para dado conjunto de parâmetros do modelo de acoplamento neuro-hemodinâmico. O eixo horizontal de cada gráfico corresponde ao valor estimado de um dos parâmetros e o eixo vertical é a densidade dos valores estimados. As linha verticais demarcam os valores do parâmetros reais, isso é, os valores de parâmetros utilizados para a construção das séries temporais que foram estimadas.

O resultado de um conjunto mais amplo de simulações está ilustrado na Tabela 2. Note que os resultados obtidos para as médias e desvios-padrão são super ou subestimados apenas para valores extremos dos parâmetros hemodinâmicos do modelo, o que provavelmente não reflete situações fisiologicamente plausíveis. A sigla NS (*no solution*) indicam as combinações de valores para as quais não há solução do modelo biofísico.

Tabela 2 – Resultados das Simulações – GA

$\delta = 1,0$

		k _s			
0,16	0,2		0,65	0,8	0,99
	δ	1,660 +/- 1,41	1,374 +/- 1,14	1,201 +/- 0,98	1,054 +/- 0,99
	k _f	0,179 +/- 0,08	0,186 +/- 0,09	0,174 +/- 0,06	0,156 +/- 0,08
	k _s	0,289 +/- 0,12	0,739 +/- 0,15	0,849 +/- 0,15	0,931 +/- 0,14
0,4	δ	1,138 +/- 0,84	0,983 +/- 0,78	1,176 +/- 0,84	0,931 +/- 0,76
	k _f	0,410 +/- 0,07	0,403 +/- 0,11	0,430 +/- 0,12	0,375 +/- 0,10
	k _s	0,234 +/- 0,11	0,648 +/- 0,15	0,832 +/- 0,14	0,920 +/- 0,13
0,8	δ	1,054 +/- 0,73	1,015 +/- 0,67	0,952 +/- 0,57	0,890 +/- 0,61
	k _f	0,806 +/- 0,09	0,811 +/- 0,12	0,792 +/- 0,13	0,746 +/- 0,14
	k _s	0,219 +/- 0,12	0,645 +/- 0,13	0,780 +/- 0,15	0,894 +/- 0,14

$\delta = 2,0$

		k _s				
k _f	0,16	0,2		0,65	0,8	0,99
		δ	NS	2,185 +/- 1,25	2,075 +/- 0,91	2,215 +/- 1,12
		k _f		0,176 +/- 0,08	0,158 +/- 0,09	0,152 +/- 0,08
	k _s	0,679 +/- 0,16	0,789 +/- 0,17	0,929 +/- 0,17		
	0,4	δ	NS	2,215 +/- 0,96	2,007 +/- 0,86	1,820 +/- 0,96
		k _f		0,405 +/- 0,09	0,402 +/- 0,11	0,355 +/- 0,11
		k _s		0,644 +/- 0,12	0,788 +/- 0,14	0,895 +/- 0,14
	0,8	δ	NS	1,981 +/- 0,78	1,943 +/- 0,80	1,798 +/- 0,85
		k _f		0,784 +/- 0,13	0,773 +/- 0,14	0,699 +/- 0,16
k _s		0,620 +/- 0,12		0,756 +/- 0,13	0,879 +/- 0,15	

$\delta = 5,0$

		k _s				
		0,2		0,65	0,8	0,99
k _f	0,16	δ	NS	4,388 +/- 1,93	4,222 +/- 1,78	4,000 +/- 1,75
		k _f		0,162 +/- 0,09	0,158 +/- 0,08	0,143 +/- 0,10
		k _s		0,624 +/- 0,17	0,713 +/- 0,19	0,804 +/- 0,20
	0,4	δ	NS	4,774 +/- 1,25	4,818 +/- 1,44	4,382 +/- 1,51
		k _f		0,385 +/- 0,13	0,381 +/- 0,15	0,326 +/- 0,14
		k _s		0,631 +/- 0,15	0,752 +/- 0,13	0,847 +/- 0,15
	0,8	δ	NS	4,805 +/- 1,01	4,668 +/- 1,13	4,527 +/- 1,17
		k _f		0,748 +/- 0,15	0,715 +/- 0,17	0,645 +/- 0,19
		k _s		0,639 +/- 0,13	0,752 +/- 0,14	0,866 +/- 0,15

Os resultados são representados pela media e desvio padrão de 10000 estimativas do TPN e dos parâmetros hemodinâmicos. Para algumas combinações dos parâmetros, não há solução real das equações diferenciais do modelo biofísico do efeito BOLD.

Simulações para os mesmos conjuntos de valores de parâmetros utilizados na avaliação do método baseado em GA foram realizadas com o método direto de estimativa de parâmetros com resultados equivalente. As simulações foram realizadas para as três formas de cálculo de erro de aproximação. A Figura 15 ilustra os resultados das simulações com três conjuntos de parâmetros, variando apenas o valor do tempo de processamento regional δ {2; 2,5 e 3 segundos}, demonstrando a capacidade do método direto na distinção entre esses valores.

Apenas alguns histogramas representativos das simulações realizadas estão ilustrados, demonstrando a capacidade do método em distinguir soluções de tempo de processamento com intervalo de 0,5 segundo e demonstrando os resultados para os três diferentes cálculos do erro. O primeiro conjunto de gráficos em caixa representam as mesmas dez mil simulações ilustradas nos histogramas. O segundo conjunto de gráficos em caixa mostra o aumento do erro de estimativa com o aumento do nível de ruído somado à HRF de entrada. Note que a diferença no resultado da estimativa dos parâmetros foi pequena entre os três cálculos do erro.

Figura 15 – Simulações do método direto de estimativa dos parâmetros. Cada linha da figura, contendo quatro histogramas, representa o resultados de dez mil simulações para dado conjunto de parâmetros do modelo de acoplamento neuro-hemodinâmico. O quarto histograma representa distribuição dos erros entre o BOLD real e a solução do método de otimização. O eixo horizontal de cada um dos três primeiros histogramas de cada linha corresponde ao valor estimado de um dos parâmetros e o eixo vertical é a densidade dos valores estimados. As linha verticais demarcam os valores dos parâmetros “reais”.

6.3 – Aplicação

Não houve diferenças estatisticamente significantes entre as medidas comportamentais de tempo de reação e taxa de erro na resposta sobre o gênero das faces para as diferentes condições experimentais (Cardoso 2008). A tabela 3 resume os resultados obtidos pela análise dos dados utilizando o XBAM.

Tabela 3 – Regiões com correlação positiva significativa com a tarefa

Região Anatômica	Hemisfério	Área Brodmann	# vóxeis	Coordenadas (x,y,z)
Giro do Cíngulo	L	BA 24	75	7, 0, 42
Giro Précentral	L	BA 3/46	155	40, -15, 37
Giro Précentral	R	BA 4/46	61	-29, -19, 48
Giro Lingual	R	BA 19	72	-21, -59, -2
Giro Central	R	BA 6	47	-40, -11, 37
Cuneus	L	BA 17	34	11, -89, 9

As séries temporais médias dos *clusters* correspondentes ao giro fusiforme (FG), porção dorsal do giro do cíngulo (dACC) e ao córtex prefrontal dorsolateral (DLPFC) bilateral, representando o sinal BOLD das regiões de interesse, foram extraídas para cada sujeito, produzindo 72 séries temporais. Cada uma dessas séries foi submetida às duas rotinas distintas para estimativa dos parâmetros do modelo de geração do efeito BOLD, o algoritmo genético e o método direto. Os valores estimados médios dos parâmetros k_f e k_s estão nas Tabelas 4, 5, 6 e 7.

Tabela 4 - Valores das estimativas dos parâmetros hemodinâmicos - GA

	k_f			k_s			ω
	Média	Mediana	DP	Média	Mediana	DP	Média
FG	0,411	0,417	0,139	0,600	0,614	0,182	-1,282
dACC	0,466	0,414	0,116	0,479	0,443	0,161	-1,633
DLPFC	0,387	0,370	0,196	0,544	0,468	0,200	-1,250
Direito							
DLPFC	0,552	0,596	0,253	0,463	0,431	0,189	-1,995
Esquerdo							

Tabela 5 - Parâmetros Hemodinâmicos em Faces Neutras – Método direto

	k_f			k_s			ω
	Média	Mediana	DP	Média	Mediana	DP	Média
FG	0,185	0,110	0,162	0,431	0,34	0,320	-0,554
dACC	0,274	0,231	0,257	0,462	0,34	0,338	-0,883
DLPFC	0,164	0,171	0,112	0,203	0,190	0,130	-0,615
Direito							
DLPFC	0,227	0,190	0,191	0,315	0,270	0,303	-0,809
esquerdo							

Tabela 6 - Parâmetros Hemodinâmicos em Faces Pouco Tristes – Método direto

	k_f			k_s			ω
	Média	Mediana	DP	Média	Mediana	DP	Média
FG	0,236	0,150	0,261	0,378	0,310	0,331	-0,801
dACC	0,321	0,265	0,247	0,299	0,115	0,348	-1,195
DLPFC							
Direito	0,403	0,195	0,407	0,210	0,140	0,236	-1,568
DLPFC							
esquerdo	0,284	0,230	0,210	0,368	0,350	0,307	-1,001

Tabela 7 - Parâmetros Hemodinâmicos em Faces Muito Tristes– Método direto

	k_f			k_s			ω
	Média	Mediana	DP	Média	Mediana	DP	Média
FG	0,187	0,105	0,265	0,394	0,320	0,312	-0,593
dACC	0,241	0,200	0,274	0,210	0,180	0,148	-0,920
DLPFC							
Direito	0,300	0,240	0,311	0,282	0,230	0,282	-1,120
DLPFC							
Esquerdo	0,360	0,315	0,279	0,576	0,585	0,393	-1,108

As tabelas mostram os valores estimados das médias, medianas e desvios padrão dos parâmetros hemodinâmicos do acoplamento entre atividade neural e fluxo sanguíneo local nas quatro regiões de interesse (ROI) e para dez sujeitos. Os valores estimados são semelhantes aos publicados previamente por diversos autores e métodos (ver tabela 1). A variação espacial desses valores é consistente com variações nos sistemas vasculares regionais e com a distribuição das não-linearidades do efeito BOLD.

Nas últimas colunas são apresentados os valores da frequência natural do oscilador harmônico (seção 4.1). Note que os valores de ω , a frequência natural de oscilação do equivalente físico do modelo da gênese da variação do rCBF foi consistentemente negativa. A dinâmica que melhor modelou os dados foi a de um oscilador harmônico subamortecido, dinâmica essa definida por $\omega < 0$.

A Figura 16 resume os resultados das médias obtidas para o parâmetro δ . Para ambos os métodos de estimativa dos parâmetros do modelo, não houve diferenças nos tempos de processamento regional de acordo com o conteúdo emocional de faces no FG. Também em ambos os métodos de estimativa, o tempo de processamento regional de faces tristes foi significativamente menor que em faces neutras no dACC. Efeitos diferentes porém simétricos foram observados no DLPFC entre os dois métodos de estimativa: pelo algoritmo genético, o tempo de processamento regional de faces tristes foi significativamente menor à direita enquanto pelo método direto, o tempo de processamento das mesmas faces foi significativamente maior à direita.

Figura 16 - Resultados da aplicação: Tempo de processamento neural (TPN). Os valores médios do TPN, de acordo com a condição experimental e região de interesse, estimados pelo algoritmo genético (A) e pelo método direto (B) são apresentados nos gráficos. A linha pontilhada indica o tempo de apresentação dos estímulos (2s). As barras vermelhas mostram as diferenças estatisticamente significantes e os respectivos p-valores obtidos pelo teste de Wilcoxon. As áreas cerebrais positivamente correlacionadas à tarefa de reconhecimento de faces foram o giro fusiforme (FG), a porção dorsal do giro do cíngulo anterior (dACC) e o córtex pré-frontal dorsolateral (DLPFC) bilateralmente.

Em acordo com a hipótese inicial, o tempo de processamento regional variou com o conteúdo emocional das faces nas áreas potencialmente relacionadas ao processamento dos distratores emocionais. Assim, variações estatisticamente significantes do parâmetro δ com a condição experimental (faces neutras, pouco ou muito tristes) foram observadas no DLPFC direito e no dACC pelo algoritmo genético e no dACC e DLPFC esquerdo pelo método direto. Apesar da diferença entre os métodos quanto a variação do parâmetro com a lateralidade do DLPFC, os resultados foram simétricos, com aumento do valor estimado do tempo de processamento com o grau de tristeza no DLPFC esquerdo no método direto e diminuição do mesmo parâmetro no DLPFC direito no GA. Note ainda que, no método genético os valores médios do parâmetro δ estimado ficaram entre 1,5 e 2,1 segundos. Para o método direto, os valores estimados desse parâmetro variaram entre 1 e 2,5 segundos. O TPN estimado δ para o FG e o DLPFC esquerdo, independente da condição experimental, foi igual ao tempo de apresentação do estímulo no GA.

As curvas de BOLD modeladas que melhor se adequaram aos dados observados para o método baseado em GA e para o método direto estão ilustrados nas Figuras 17 e 18, respectivamente. Na Figura 17 fica claro que as variações nas curvas estimadas é bastante sutil apesar da diferença estatisticamente significante no TPN para as situações experimentais. Na Figura 18 as curvas BOLD estimadas pelo método direto foram sobrepostas ao resultado da desconvolução de séries temporais reais dos quatro *clusters* de interesse e de apenas um indivíduo, a título de exemplo. É evidente o sucesso do método direto em ajustar um função de resposta hemodinâmica (HRF) plausível em um a situação experimental com relação sinal-ruído relativamente baixa.

Figura 17 – Curvas BOLD obtidas pelo GA. As curvas normalizadas de fluxo sanguíneo cerebral regional $f(t)$, volume sanguíneo cerebral regional $v(t)$ e conteúdo de desoxi-hemoglobina $q(t)$, bem como a porcentagem de variação do sinal magnético que define o BOLD foram calculadas numericamente pelo modelo de balão expandido utilizando como entrada os valores estimados dos parâmetros pelo algoritmo genético. Como os parâmetros hemodinâmicos k_f e k_s foram considerados iguais para as diferentes áreas e o tempo de processamento regional não variou com o conteúdo emocional das faces no FG e DLPFC esquerdo, apenas uma curva representa o efeito BOLD para todas as condições experimentais nessas áreas.

Figura 18 – Séries temporais reais e estimadas pelo MD. As curvas em preto são os resultados da desconvolução das séries temporais das quatro regiões de interesse de um indivíduo pela matriz de estímulos. Em vermelho estão plotadas as curvas obtidas pelo método direto de estimativa dos parâmetros.

A Figura 19 ilustra os resultados da estimativa dos parâmetros da HRF pelo modelo de funções logísticas inversas utilizando o algoritmo de *simulated annealing* (modelo LI/SA). Não houve diferença estatisticamente significativa para nenhuma das três medidas da forma da HRF com relação à condição experimental. Esses achados indicam que as estimativas da forma da HRF não foram sensíveis ao fenômeno de variação do TPN em certas áreas cerebrais para faces tristes com relação a faces neutras.

Figura 19 – Resultados da estimativa da HRF pelo LI/SA. Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes nas estimativas da forma da HRF pelo modelo de LI/SA aplicado às mesmas séries temporais experimentais analisada pelo modelo biofísico do efeito BOLD para a estimativa do TPN.

Capítulo 7

Discussão

7.1 – O modelo do efeito BOLD

Os estudos das bases físicas e fisiológicas do efeito BOLD e sua correlação com os diversos aspectos da atividade neural estão revelando um complexo cenário de interação e compartimentalização de diversos mecanismos. Paralelamente, desenvolvem-se modelos teóricos, matemáticos e computacionais cada vez mais sofisticados desses mecanismos. No entanto, o núcleo básico da maioria dos modelos matemáticos do efeito BOLD, representado pelo modelo de balão e sua equação de observação (Buxton, et al. 1998; 2004), permanece praticamente inalterado desde sua proposição há mais de dez anos. Apesar da atual posição hegemônica do modelo de balão, algumas evidências contrárias a seus principais pressupostos foram publicadas (Toronov, et al. 2003; Birn e Bandettini 2005; Fhrm, et al. 2008).

Toronov, et al. (2003) realizaram medidas simultâneas de BOLD e espectroscopia de infravermelho (NIRS - *near-infrared spectroscopy*) no córtex motor primário de voluntários realizando uma tarefa motora simples. Utilizando NIRS, foram capazes de medir a linha de base do total de hemoglobina e as variações no conteúdo de oxi e desoxi-hemoglobina. Pressupondo-se que a concentração de hemoglobina total (hematócrito) é constante, a variação na quantidade total de hemoglobina equivale a variação do volume sanguíneo regional (rCBV). Com esse aparato experimental, Toronov, et al. (2003) não observaram uma contribuição

significativa da variação do rCBV para o efeito BOLD em campo de 1,5 T. Como consequência, argumentaram que o aumento da oxigenação sanguínea com a atividade neural deve-se apenas ao aumento de rCBF, que aumenta a “lavagem” (*washout*) de desoxi-hemoglobina, não havendo contribuição da diluição da desoxi-hemoglobina por aumento do rCBV. Se a contribuição da variação do rCBV para o efeito BOLD é desprezível, simplesmente não há efeito do tipo balão. De fato, Toronov, et al. (2003) propuseram que o modelo biofísico do efeito BOLD a partir da variação de rCBF, nesse contexto, pode ser simplificado utilizando apenas a equação diferencial de conservação de massa da desoxi-hemoglobina.

As não-linearidades do efeito BOLD, que motivaram em parte a elaboração do modelo de balão, são também uma das fontes de contra-evidência a esse modelo. Birn e Bandettini (2005) observaram que a modulação de breves supressões de estímulos visuais produzem queda do sinal BOLD menor que a prevista por um modelo linear. Portanto, a queda do efeito BOLD é menor para períodos entre estímulos mais curtos. A predição do modelo de balão é contrária a esse achado, implicando que o mecanismo proposto por esse modelo não é a fonte dominante desse desvio da linearidade.

Outra contra-evidência experimental importante do modelo de balão foi publicada recentemente por Frahm, et al. (2008). Esses autores mediram a variação do rCBV utilizando contraste exógeno em humanos e observaram que não há um aumento do volume sanguíneo regional durante o *undershoot* do efeito BOLD. O aumento do rCBV ou retorno mais lento desse que do rCBF à linha de base após a atividade é um dos pressupostos do modelo de balão. Esse achado contradiz o estudo em ratos publicado em 1998 por Mandeville, et al. e uma série de outros estudos em

animais com metodologias similares. Frahm, et al. (2008) argumentam que essa contradição com os estudos em animais deve-se a uma possível variabilidade entre espécies e a artefatos gerados por anestesia e pelos contraste utilizado em animais (óxido de ferro). Excluindo-se a hipótese do retorno mais lento do rCBV que do rCBF à linha de base, duas hipóteses são possíveis para a explicação da gênese do *undershoot* do efeito BOLD: (i) um retorno mais lento do rCMRO₂ com relação ao rCBF à linha de base, aumentando o conteúdo de desoxi-hemoglobina e diminuindo o sinal, ou (ii) um *undershoot* do rCBF. Em outras palavras, pode haver desacoplamento entre a atividade metabólica e a resposta hemodinâmica, ao menos durante o *undershoot*. A interpretação do efeito BOLD pode ser dificultada por esse desacoplamento.

Apesar desses desafios impostos pelas evidências experimentais ao modelo de balão, a ausência de um modelo alternativo e o ajuste em geral satisfatório desse modelo aos dados justificam sua presente utilização. Além do núcleo aproximadamente fixo dos estudos de modelagem matemática do efeito BOLD, há diversos modelos para a interação entre estímulo, atividade neural e rCBF. A modelagem da resposta neural à tarefa inclui desde modelos lineares simples e de convolução até redes neurais artificiais biologicamente plausíveis, e o tipo e complexidade do modelo dependem da pergunta experimental subjacente. A relação entre atividade neural e rCBF também foi modelada de diversas maneiras, sendo uma das mais utilizadas o modelo de oscilador harmônico proposto por Friston, et al. (2000). Esse modelo tem diversas vantagens, incluindo sua relativa simplicidade e clareza do significado de seus parâmetros.

Em resumo, não há um consenso quanto ao melhor modelo matemático mecanístico da cadeia de eventos fisiológicos e físicos que gera o efeito BOLD. Isso deve-se em parte à complexidade desses eventos e dificuldade em realizar as aproximações mais adequadas. Há ainda a necessidade de elaboração de um modelo alternativo ao de balão, que adeque-se tão bem ou melhor que esse aos dados e que esteja de acordo com as mais recentes evidências experimentais dos mecanismos fisiológicos do efeito BOLD em humanos.

7.2 – Rotinas de estimação

A validade interna das rotinas de estimação foi estabelecida por simulações computacionais. Essas simulações demonstraram que as rotinas de estimação recuperam valores conhecidos dos parâmetros a partir de dados simulados com relação sinal-ruído realista. As rotinas de estimação do TPN foram aplicadas a dados experimentais produzindo estimativas dos parâmetros hemodinâmicos consistentes com a literatura. Além disso, as estimativas do TPN estão de acordo com as hipóteses de funcionamento da rede neural estudada. Por exemplo, o sinal de LFP, a medida eletrofisiológica melhor correlacionada ao efeito BOLD, é mantido durante a apresentação de estímulo (Logothetis, et al. 2001), o que foi observado para o valor estimado do TPN para faces neutras em todas as áreas cerebrais. Além disso, achados de estudos de potencial evocado estimam tempos de resposta em torno de 500 ms mais rápidos para faces tristes com relação a faces neutras (Dennis and Chen 2007), semelhantes às diferenças encontradas no DLPFC e no dACC. As estimativas da forma da HRF não reproduziram os achados de variação do TPN, indicando que a

estimação do TPN é mais acurada que a maneira atual de inferência da duração da atividade neural a partir do efeito BOLD.

Apesar desses resultados, uma série de dificuldades e limitações está associada com a utilização de modelos biofísicos para a solução do problema hemodinâmico inverso em comparação com a estimativa da forma da HRF. O modelo biofísico é provavelmente um sistema não-identificável, isto é, não há uma solução única para o problema hemodinâmico inverso especificado pelo modelo de balão expandido. Nenhuma solução satisfatória para essa limitação foi proposta, exceto a restrição do número de parâmetros a ser estimado. No entanto, a fixação de valores *a priori* introduz potenciais fontes de erro nos valores estimados. Isso porque nem todas as fontes hemodinâmicas de variação do sinal BOLD são levadas em consideração quando os parâmetros são fixados. A escolha de um conjunto representativo de parâmetros livres baseada em estudos teóricos previos minimiza os erros introduzidos pela fixação de parâmetros (Vakorin, et al. 2007).

Outra possível crítica aplicável às duas rotinas de estimação dos parâmetros é a falta de tratamento das não-linearidades em determinados passos da análise dos dados. Em ambas as rotinas de estimação, as séries temporais são obtidas após análise linear convencional dos dados. As não-linearidades do efeito BOLD dependem do tempo de apresentação do estímulo e do intervalo entre estímulos (Birn e Bandettini 2005; Birn, et al. 2001; Vazquez e Noll 1998; Yacoub, et al. 2006). Foi escolhida um esquema de apresentação dos estímulos que permite o decaimento dessas não-linearidades com o objetivo de minimizar o erro das estimativas do TPN. De fato, a forma da apresentação de estímulos utilizada, com intervalo entre estímulos seguindo uma distribuição de Poisson, otimiza a análise linear dos dados

(Buckner 1998). No entanto, não-linearidades também variam entre as áreas cerebrais. Os parâmetros hemodinâmicos livres podem compensar parcialmente essas não-linearidades no espaço, mas a sua relação exata com os outros parâmetros do modelo biofísico ainda precisa ser especificada.

Ao não considerar as não-linearidades do sinal BOLD corre-se o risco de subestimar o número de áreas ativadas na análise convencional. Como o objetivo da aplicação experimental não foi o de mapear todas as áreas cerebrais correlacionadas à tarefa mas sim o de estimar os parâmetros do modelo de acoplamento entre estímulo e fluxo sanguíneo cerebral em certas regiões de interesse, optou-se por realizar a abordagem linear não-paramétrica para a construção do mapa de ativação. Na verdade, a estimação do TPN e dos parâmetros hemodinâmicos é um passo adicional à análise convencional.

No método de estimativa baseado em GA, a convolução da HRF obtida pela otimização com a matriz de estímulos pressupõe linearidade na resposta BOLD. Analogamente, no método direto de estimativa dos parâmetros a desconvolução necessária para a obtenção de uma HRF a ser comparada o conjunto dado de soluções do modelo biofísico do efeito BOLD também pressupõe linearidade. Como considera-se as séries temporais médias das regiões de interesse e os resultados médios das estimativas entre os indivíduos, com uma apresentação de estímulo que segue uma distribuição de Poisson com intervalo entre estímulos suficiente para recuperação do sinal, essas não-linearidades não devem alterar a variação observada do TPN. Modificações nos algoritmos de estimativa dos parâmetros levando em consideração essas não-linearidades serão implementadas objetivando uma comprovação empírica dessa aproximação. Certamente, a inclusão dessas não-

linaridades nos algoritmos de estimativa de parâmetros adicionará um custo computacional considerável, provavelmente proibitivo para a rotina baseada no GA.

Finalmente, é importante ressaltar que o TPN é, efetivamente, a duração do sinal do tipo pulso retangular que melhor modela a atividade neural tida como entrada de um modelo biofísico específico e a interpretação desse parâmetro baseia-se em fortes pressuposições a respeito dos mecanismos que geram o sinal BOLD.

7.3 – Aplicação

A estimativa de aspectos temporais da atividade neural tem especial importância para diversos estudos da atividade mental e uma possível correlação com parâmetros comportamentais, principalmente com o tempo de resposta. No entanto, os modelos de HRF geralmente não são baseados na fisiologia do efeito BOLD e medidas derivadas desses modelos dependem do modelo implementado (Lindquist e Wager 2007). Os resultados teóricos com relação ao conceito de TPN qualificam essa abordagem para a aplicação a problemas científicos em que se deseje estimar aspectos temporais da resposta neural e correlacioná-los com operações mentais ou medidas comportamentais, principalmente o TR. De fato, essa abordagem foi aqui utilizada para o estudo de tomada de decisão simples na presença de distratores emocionais (expressão facial de tristeza).

O giro fusiforme (FG), a porção dorsal do giro do cíngulo anterior (dACC) e córtex pré-frontal dorsolateral (DLPFC) constituem as regiões cerebrais consistentemente ativadas em estudos de neuroimagem que aplicam paradigmas de

reconhecimento de gênero em faces com expressão de emoções (Meriau 2006). Em contraste com as demais regiões, o FG provavelmente não está envolvido na diferenciação das expressões faciais mas sim no reconhecimento de identidade e gênero (Kanwisher and Yovel 2006). O dACC é considerado a região responsável pela monitorização de características irrelevantes à tarefa enquanto o DLPFC está envolvido na resolução dos conflitos e tomada de decisão (Carter, et al. 1999; Kerns, et al. 2004; MacDonald, et al. 2000).

A estimativa dos parâmetros do modelo de acoplamento neuro-vascular e do TPN nessas regiões confirmou as hipóteses aventadas para o papel dessas áreas cerebrais na tarefa (Capítulo 5). Como esperado, o TPN não variou com o conteúdo emocional das faces no FG e foi significativamente diferente entre faces tristes e neutras no dACC, em ambos os métodos de estimativa. Já no DLPFC, diferentes comportamentos entre as áreas direita e esquerda eram esperados graças à lateralidade na função dessa região em homens (Wager, et al. 2003). Aumento da atividade do DLPFC à direita está relacionada com o processamento de emoções negativas, levando a hipótese de variação do TPN nessa região. Esse resultado foi observado no método de estimativa de parâmetros baseado em GA, com resultado diferente porém simétrico no método direto de estimativa dos parâmetros. Utilizando-se o GA observou-se uma diminuição significativa do TPN no DLPFC direito para faces tristes com relação a faces neutras; utilizando-se o método direto observou-se um aumento significativo do TPN de faces tristes com relação a neutras no DLPFC esquerdo. Essa discrepância pode, na verdade, representar o mesmo fenômeno de lateralidade uma vez que os resultados não são contraditórios ou mutuamente excludentes.

De fato, a lateralidade na função do DLPFC no processamento cognitivo dos estados emocionais é controversa. Em uma meta-análise de 65 estudos de neuroimagem, não foi confirmada a hipótese clássica de lateralidade do hemisfério direito para o processamento emocional (Wager, et al. 2003). Meriau, et al. (2006) observaram maior conectividade efetiva entre o DACC e o DLPFC direito para tarefas de reconhecimento de expressões em faces, mas não para reconhecimento de gênero. Por outro lado, Luo, et al. (2007) observaram aumento da amplitude da resposta BOLD do DLPFC esquerdo correlacionada com aumento da valência afetiva e visibilidade de distratores que precediam uma tarefa de decisão semântica.

Considerando que haja lateralidade na função do DLPFC, a discrepância nos resultados entre as duas rotinas de estimação pode ser atribuída à estimativa de parâmetros hemodinâmicos independentes para cada condição experimental no método direto. Essa diferença fundamental foi introduzida pelo maior custo computacional do GA, impeditivo para a estimativa do conjunto de nove parâmetros obtida pelo método direto. O erro de estimativa dos parâmetros hemodinâmicos ao fixá-los para as diferentes condições experimentais pode explicar a ausência de diferença significativa no TPN estimado pelo GA no DLPFC esquerdo. Se essa perspectiva é correta, pode-se afirmar que diferenças significativas entre os TPNs estimados para faces tristes com relação a faces neutras são observadas no DLPFC direito quando assume-se que os parâmetros hemodinâmicos não variam com a condição experimental e no DLPFC esquerdo quando os parâmetros hemodinâmicos dependem da condição experimental. No dACC, por outro lado, os resultados utilizando os dois métodos foram concordantes e, portanto, hipóteses prévias sobre a

relação entre os parâmetros hemodinâmicos não influenciaram os resultados para essa área.

Cabe questionar, nesse contexto, o significado da dependência com relação às condições experimentais de parâmetros considerados puramente hemodinâmicos e, além disso, a possibilidade de que essa dependência varie com a área cerebral. A primeira hipótese a ser aventada é que os parâmetros hemodinâmicos refletem, em certa medida, processos primariamente neurais. A segunda hipótese consiste em considerar que a resposta hemodinâmica a um estímulo pode variar com relação ao conteúdo do estímulo de maneira independente da atividade neural. A favor da primeira hipótese, o parâmetro k_f pode ser considerado parte do equivalente ao impulso sobre um oscilador harmônico que modela a resposta vascular (seção 4.1). O mecanismo de retroalimentação sobre o fluxo, representado por k_f , pode ser influenciado diretamente pela atividade neural. A segunda hipótese é aparentemente mais plausível já que não pressupõe um mecanismo fisiológico que garanta que a resposta hemodinâmica seja sempre a mesma em uma determinada área, independentemente das características do estímulo apresentado. Os resultados convergentes entre os dois métodos para o dACC não contradizem, necessariamente, a dependência dos parâmetros hemodinâmicos das condições experimentais. Por outro lado, acrescenta um dado interessante à discussão, uma vez que permite aventar que os parâmetros hemodinâmicos do modelo, e não só o que reflete a atividade neural, podem ter níveis variáveis de dependência com as condições experimentais em diferentes áreas. Apesar de complexo, esse quadro é aparentemente compatível com as relações fisiológicas entre atividade neural e hemodinâmica, que variam com as

diferentes regiões cerebrais, como mostram os estudos da distribuição espacial das não-linearidades do efeito BOLD.

Pelo exposto, os resultados obtidos a partir do método direto, apesar de sua menor precisão nas medidas individuais, é mais adequado por necessitar de menos suposições que o GA com relação aos parâmetros hemodinâmicos. Vale ressaltar que o fenômeno de lateralidade do DLPFC para o processamento de tristeza em faces foi observado independentemente do método utilizado. Considerando-se que os resultados obtidos pelos dois métodos são válidos, pode-se afirmar que o TPN para faces tristes é menor no DLPFC à direita com relação ao DLPFC à esquerda. Já quando são apresentadas faces neutras, o TPN é menor à direita.

A forma atual de estimar a duração da atividade neural a partir do efeito BOLD pressupõe que a largura da HRF reflete essa duração. Entre os diversos modelos de HRF variável, o modelo LI é o mais acurado na estimativa da forma da HRF (Lindquist e Wager, 2007). Como resultado da aplicação do modelo de LI aos mesmos dados experimentais utilizados para a aplicação do TPN não observou-se variação da amplitude, tempo para o pico e largura da HRF com as condições experimentais. No entanto, espera-se que a duração da atividade neural varie com o conteúdo emocional (ver Capítulo 5; Waugh, et al. 2010). Em um estudo recente, Waugh, et al. (2010) utilizaram o modelo LI para estudar a dinâmica temporal da atividade neural subjacente ao processamento de emoções. O modelo LI produziu um ajuste melhor com os dados do que a HRF canônica (funções gama), na qual largura da HRF não varia. Além disso, a amplitude e a largura da HRF correlacionaram-se com a intensidade da experiência emocional reportada. Maior intensidade de emoções negativas associou-se com maior amplitude da HRF no córtex occipital e

com maior largura da HRF no córtex pré-frontal medial e giro do cíngulo posterior. No entanto, os resultados aqui apresentados utilizando o mesmo método indicam que as variações da forma da HRF observadas por Waugh, et al. (2010) dependeram do paradigma específico implementado por esses autores.

7.4 - Perspectivas

A revisão da literatura sobre os modelos de geração do efeito BOLD e dos avanços crescentes no entendimento das bases físicas e fisiológicas desse efeito demonstrou a necessidade de elaboração de uma alternativa mais robusta que o modelo de balão. Essa revisão é o passo inicial para a elaboração de um modelo compatível com as atuais evidências experimentais sobre as relações entre atividade neural, rCBF, rCBV e BOLD. Em especial, novos modelos do efeito BOLD deverão considerar que os mecanismos fisiológicos que levam da atividade eletrofisiológica neural ao efeito BOLD variam espacialmente no encéfalo e podem também variar na mesma área cerebral em diferentes momentos (Ekstrom 2010; seção 6.3).

Novos modelos biofísicos e de análise dos dados que considerem as variações dos mecanismos fisiológicos no espaço e no tempo podem diminuir alguns prováveis erros intrínsecos na interpretação do efeito BOLD. A interpretação do efeito BOLD em termos de variações da atividade neural é dificultada por desacoplamentos entre as atividades neural, hemodinâmica e metabólica em algumas áreas cerebrais. Essas variações espaciais de acoplamento introduzem erros na inferência da atividade neural a partir do efeito BOLD. Até o momento, nenhum estudo demonstrou

acoplamento entre atividade de potenciais de ação (MUA) e o efeito BOLD na ausência de acoplamento simultâneo entre LFP e BOLD (Ekstrom 2010). O MUA reflete principalmente a atividade de saída de determinada área cerebral (potenciais de ação) enquanto o LFP correlaciona-se com atividade de entrada e local da área (atividade peri-sináptica) (Logothetis, et al. 2001). Assim, o efeito BOLD pode estar presente em regiões em que não há aumento da frequência de disparo de potenciais de ação. Há ao menos duas fontes possíveis para esses resultados falso-positivos: (1) atividade puramente hemodinâmica, com aumento do rCBF na ausência de sinal de LFP (controle de aferências distante sobre os vasos) e (2) presença de sinal de LFP desacoplado de MUA, com conseqüente aumento do rCBF, refletindo a atividade de potenciais de ação de áreas aferentes.

Fontes potenciais de resultados falso-negativos do efeito BOLD, ou seja, ausência de efeito BOLD co-localizado com aumento da frequência de disparo do potenciais de ação, também surgem de desacoplamentos entre atividades neural, hemodinâmica e metabólica. Um aumento da frequência de disparo desacoplado do sinal de LFP não causaria aumento do rCBF, o que pode ocorrer em regiões com atividade predominantemente eferente (“amplificadoras” do sinal neural). Uma segunda fonte de falso-negativos é um aumento relativamente menor de rCBF que é compensado pelo consumo de oxigênio, sem aumento transitório da oxigenação local. Isso pode ocorrer em áreas menos vascularizadas, a exemplo do hipocampo (Ekstrom 2010). Novos modelos matemáticos podem ser uma maneira efetiva de tratar essas fontes de erros na interpretação da RMf introduzidos pela própria fisiologia do efeito BOLD, especialmente por meio de técnicas de medida simultânea de BOLD e EEG.

Além de variar entre as diferentes áreas cerebrais, a forma do efeito BOLD também varia entre diferentes indivíduos na dependência de vários fatores como idade e presença de patologias. Essa variabilidade deve refletir, ao menos em parte, variações nos mecanismos fisiológicos que geram o efeito BOLD. Modelos desses mecanismos fisiológicos em patologias vasculares (acidente vascular cerebral, por exemplo) ou que atingem os sistemas monoaminérgicos (doença de Parkinson e depressão, por exemplo) podem melhorar a interpretação dos dados de RMf nos pacientes. As respostas de vasodilatação com a atividade neural certamente são diferentes na presença de patologias vasculares. Há evidências crescentes de modulação da responsividade vascular por neurotransmissores como noradrenalina, dopamina e serotonina. Qualquer doença que atinja os sistemas de neurotransmissão potencialmente modificam os mecanismos de acoplamento entre atividade neural e atividade hemodinâmica, o que deve ocorrer em diversas patologias psiquiátricas. Alterações hemodinâmicas e metabólicas também são prováveis em lesões estruturais e na epilepsia. A construção mais precisa de HRFs para as diferentes patologias pode diminuir o erro na inferência do sinal BOLD. Além disso, a estimação de parâmetros fisiologicamente plausíveis de um modelo biofísico do efeito BOLD nas patologias pode auxiliar a esclarecer os mecanismos fisiopatológicos que alteram as atividades neural, hemodinâmica e metabólica.

A introdução do conceito de tempo de processamento neural (TPN) é provavelmente a principal colaboração desta tese. Este conceito preenche uma importante e reconhecida lacuna da literatura (Lindquist e Wager 2007), uma vez que não há descrição de formas de estimar-se aspectos temporais da atividade neural a partir do sinal BOLD utilizando modelos fisiologicamente plausíveis. Os valores

estimados do TPN são superiores às estimativas da duração da atividade neural a partir de medidas da forma da HRF por sua maior interpretabilidade e clareza no tratamento de variáveis que não são linearmente independentes. Apesar de também sujeita a vieses introduzidos pelas não-linearidades do efeito BOLD, a estimativa do TPN é mais sofisticada no tratamento dessas não-linearidades que as alternativas atuais. De fato, quando aplicadas aos dados reais, a estimativa dos parâmetros da HRF não foram sensíveis à provável variação na duração da atividade neural para faces tristes com relação a faces neutras no DACC e no DLPFC.

As possíveis aplicações de estimar-se o TPN são inúmeras e abrangem virtualmente qualquer estudo no qual o curso temporal ou duração da atividade neural constitua uma variável de interesse. Um exemplo já em desenvolvimento é a estimativa do TPN em tarefas de rotação mental e sua comparação com o tempo de resposta (Menon, et al. 1998; Mourao-Miranda, et al. 2008). De fato, o TPN pode representar uma estimativa mais acurada do tempo de processamento mental de informações que medidas comportamentais como o tempo de resposta.

Estimativas mais acuradas do curso temporal da atividade neural a partir do efeito BOLD podem auxiliar no desenvolvimento de modelos de conectividade funcional. O custo computacional limita a utilização da rotina baseada em GA a regiões de interesse (ROI), impossibilitando análises voxel-a-voxel. Esse tipo de análise é provavelmente possível utilizando-se o método direto. A implementação de estimativa voxel-a-voxel pelo método direto, além de aumentar a amostra de parâmetros estimados e, conseqüentemente, o poder estatístico da análise, permitirá a integração de modelos mecanísticos da interação entre populações neurais de diferentes vóxeis, possibilitando novas modelagens da conectividade funcional.

Por fim, observou-se um fenômeno consistente de lateralidade do DLPFC, com o TPN variando com o grau de tristeza em faces observadas de maneira complementar entre os DLPFC direito e esquerdo. Há uma hipótese de desbalanço entre o funcionamento do DLPFC esquerdo e direito como fator fisiopatológico contribuinte para transtornos do humor, como depressão (Grimm, et al. 2007). Para testar esta hipótese, o mesmo desenho experimental aplicado para voluntários saudáveis será aplicado em pacientes com depressão e os TPNs estimados para o DLPFC serão comparados entre esses dois grupos.

Capítulo 8

Conclusões

Foi desenvolvido um modelo biofísico do efeito BOLD no qual o tempo de processamento neural (TPN) é um parâmetro independente, separado de contribuições hemodinâmicas para a geração do sinal BOLD. Além disso, duas formas de estimar os parâmetros do modelo do efeito BOLD foram propostas e sua validade foi estabelecida por simulações computacionais: a rotina de estimação baseada no algoritmo genético e no método direto. O método direto de estimação de parâmetros foi superior ao GA por seu menor custo computacional e menos suposições. Estimativas dos parâmetros do modelo do efeito BOLD pelas duas rotinas foram obtidas como uma etapa adicional à análise convencional de dados de um experimento de RMf de decisão de gênero em faces neutras ou com expressão de tristeza. As estimativas dos valores hemodinâmicos foram consistentes com valores publicados na literatura. As estimativas do TPN confirmaram as hipóteses sobre o funcionamento da rede neural estudada. Em especial, as duas rotinas de estimação evidenciam lateralidade do TPN no córtex pré-frontal dorsolateral. Essa dependência do TPN com a condição experimental nas diferentes áreas cerebrais não foi reproduzida pelo método atualmente aceito para a inferência da duração da atividade neural a partir do efeito BOLD.

Capítulo 9

Referências

- Aggleton JP, Burton MJ, Passingham RE. 1980. Cortical and subcortical afferents to the amygdala of the rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *Brain Res* 190(2):347-68.
- Aguirre GK, Zarahn E, D'Esposito M. 1998. The variability of human, BOLD hemodynamic responses. *Neuroimage* 8(4):360-9.
- Amaral DG, Price JL. 1984. Amygdalo-cortical projections in the monkey (*Macaca fascicularis*). *J Comp Neurol* 230(4):465-96.
- Amaro E, Jr., Barker GJ. 2006. Study design in fMRI: basic principles. *Brain Cogn* 60(3):220-32.
- Ances BM, Leontiev O, Perthen JE, Liang C, Lansing AE, Buxton RB. 2008. Regional differences in the coupling of cerebral blood flow and oxygen metabolism changes in response to activation: implications for BOLD-fMRI. *Neuroimage* 39(4):1510-21.
- Angenstein F, Kammerer E, Scheich H. 2009. The BOLD response in the rat hippocampus depends rather on local processing of signals than on the input or output activity. A combined functional MRI and electrophysiological study. *J Neurosci* 29(8):2428-39.
- Aubert A, Costalat R. 2002. A model of the coupling between brain electrical activity, metabolism, and hemodynamics: application to the interpretation of functional neuroimaging. *Neuroimage* 17(3):1162-81.
- Aubert A, Costalat R. 2005. Interaction between astrocytes and neurons studied using a mathematical model of compartmentalized energy metabolism. *J Cereb Blood Flow Metab* 25(11):1476-90.
- Aubert A, Costalat R, Duffau H, Benali H. 2002. Modeling of pathophysiological coupling between brain electrical activation, energy metabolism and hemodynamics: insights for the interpretation of intracerebral tumor imaging. *Acta Biotheor* 50(4):281-95.
- Aubert A, Costalat R, Magistretti PJ, Pellerin L. 2005. Brain lactate kinetics: Modeling evidence for neuronal lactate uptake upon activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102(45):16448-53.

- Bandettini PA, Ungerleider LG. 2001. From neuron to BOLD: new connections. *Nat Neurosci* 4(9):864-6.
- Bandettini PA, Wong EC, Hinks RS, Tikofsky RS, Hyde JS. 1992. Time course EPI of human brain function during task activation. *Magn Reson Med* 25(2):390-7.
- Barbas H, Rempel-Clower N. 1997. Cortical structure predicts the pattern of corticocortical connections. *Cereb Cortex* 7(7):635-46.
- Behzadi Y, Liu TT. 2005. An arteriolar compliance model of the cerebral blood flow response to neural stimulus. *Neuroimage* 25(4):1100-11.
- Bellgowan PS, Saad ZS, Bandettini PA. 2003. Understanding neural system dynamics through task modulation and measurement of functional MRI amplitude, latency, and width. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(3):1415-9.
- Belliveau JW, Kennedy DN, Jr., McKinstry RC, Buchbinder BR, Weisskoff RM, Cohen MS, Vevea JM, Brady TJ, Rosen BR. 1991. Functional mapping of the human visual cortex by magnetic resonance imaging. *Science* 254(5032):716-9.
- Bennett MR. 2007. Development of the concept of mind. *Aust N Z J Psychiatry* 41(12):943-56.
- Birn RM, Bandettini PA. 2005. The effect of stimulus duty cycle and "off" duration on BOLD response linearity. *Neuroimage* 27(1):70-82.
- Birn RM, Saad ZS, Bandettini PA. 2001. Spatial heterogeneity of the nonlinear dynamics in the fMRI BOLD response. *Neuroimage* 14(4):817-26.
- Botvinick MM, Braver TS, Barch DM, Carter CS, Cohen JD. 2001. Conflict monitoring and cognitive control. *Psychol Rev* 108(3):624-52.
- Boxerman JL, Bandettini PA, Kwong KK, Baker JR, Davis TL, Rosen BR, Weisskoff RM. 1995a. The intravascular contribution to fMRI signal change: Monte Carlo modeling and diffusion-weighted studies in vivo. *Magn Reson Med* 34(1):4-10.
- Boxerman JL, Hamberg LM, Rosen BR, Weisskoff RM. 1995b. MR contrast due to intravascular magnetic susceptibility perturbations. *Magn Reson Med* 34(4):555-66.
- Boynton GM, Engel SA, Glover GH, Heeger DJ. 1996. Linear systems analysis of functional magnetic resonance imaging in human V1. *J Neurosci* 16(13):4207-21.
- Brodal A. 1981. *Neurological Anatomy In Relation to Clinical Medicine*. Oxford: Oxford University Press.
- Buckner RL. 2003. The hemodynamic inverse problem: making inferences about neural activity from measured MRI signals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(5):2177-9.

- Burke M, Buhrle C. 2006. BOLD response during uncoupling of neuronal activity and CBF. *Neuroimage* 32(1):1-8.
- Buxton RB. 2002a. Cerebral Blood Flow. *Introduction to Functional Magnetic Resonance Imaging*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Buxton RB. 2002b. Mapping the MR signal. *Introduction to Functional Magnetic Resonance Imaging*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Buxton RB. 2002c. The Nature of Blood Oxygenation Level Dependent Effect. *Introduction to Functional Magnetic Resonance Imaging*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Buxton RB, Uludag K, Dubowitz DJ, Liu TT. 2004. Modeling the hemodynamic response to brain activation. *Neuroimage* 23 Suppl 1:S220-33.
- Buxton RB, Wong EC, Frank LR. 1998. Dynamics of blood flow and oxygenation changes during brain activation: the balloon model. *Magn Reson Med* 39(6):855-64.
- Calhoun VD, Stevens MC, Pearlson GD, Kiehl KA. 2004. fMRI analysis with the general linear model: removal of latency-induced amplitude bias by incorporation of hemodynamic derivative terms. *Neuroimage* 22(1):252-7.
- Cardoso EF. 2008. Avaliação do tratamento de depressão em pacientes com doença de Parkinson através de ressonância magnética funcional. São Paulo: São Paulo.
- Carter CS, Botvinick MM, Cohen JD. 1999. The contribution of the anterior cingulate cortex to executive processes in cognition. *Rev Neurosci* 10(1):49-57.
- Chen W, Zhu XH, Kato T, Andersen P, Ugurbil K. 1998. Spatial and temporal differentiation of fMRI BOLD response in primary visual cortex of human brain during sustained visual stimulation. *Magn Reson Med* 39(4):520-7.
- Costafreda SG, Brammer MJ, Vencio RZ, Mourao ML, Portela LA, de Castro CC, Giampietro VP, Amaro E, Jr. 2007. Multisite fMRI reproducibility of a motor task using identical MR systems. *J Magn Reson Imaging* 26(4):1122-6.
- Dale AM, Buckner RL. 1997. Selective averaging of rapidly presented individual trials using fMRI. *Hum Brain Mapp* 5(5):329-40.
- Dalley JW, Cardinal RN, Robbins TW. 2004. Prefrontal executive and cognitive functions in rodents. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 28:771-784.
- Damasio AR. 1996. The somatic marker hypothesis and the possible functions of the prefrontal cortex. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 351(1346):1413-20.

- Dayan PA, L. F. 2001. Theoretical Neuroscience: Computational and Mathematical Modeling of Neural Systems. Sejnowski TJP, T., editor. Cambridge,MA: The MIT Press.
- Deneux T, Faugeras O. 2006. Using nonlinear models in fMRI data analysis: model selection and activation detection. *Neuroimage* 32(4):1669-89.
- Dennis TA, Chen CC. 2007. Emotional face processing and attention performance in three domains: neurophysiological mechanisms and moderating effects of trait anxiety. *Int J Psychophysiol* 65(1):10-9.
- Dolan RJ, Morris JS, de Gelder B. 2001. Crossmodal binding of fear in voice and face. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98(17):10006-10.
- Dolan RJ. 2002. Emotion, cognition, and behavior. *Science* 298(5596):1191-4.
- Drake CT, Iadecola C. 2007. The role of neuronal signaling in controlling cerebral blood flow. *Brain Lang* 102(2):141-52.
- Egner T, Hirsch J. 2005. Cognitive control mechanisms resolve conflict through cortical amplification of task-relevant information. *Nat Neurosci* 8(12):1784-90.
- Egner T, Etkin A, Gale S, Hirsch J. 2007. Dissociable Neural Systems Resolve Conflict from Emotional versus Nonemotional Distracters. *Cereb Cortex*.
- Ekstrom A. 2010. How and when the fMRI BOLD signal relates to underlying neural activity: the danger in dissociation. *Brain Res Rev* 62(2):233-44.
- Ekstrom A, Viskontas I, Kahana M, Jacobs J, Upchurch K, Bookheimer S, Fried I. 2007. Contrasting roles of neural firing rate and local field potentials in human memory. *Hippocampus* 17(8):606-17
- Ekstrom A, Suthana N, Millett D, Fried I, Bookheimer S. 2009. Correlation between BOLD fMRI and theta-band local field potentials in the human hippocampal area. *J Neurophysiol* 101(5):2668-78.
- Fedoroff JP, Starkstein SE, Forrester AW, Geisler FH, Jorge RE, Arndt SV, Robinson RG. 1992. Depression in patients with acute traumatic brain injury. *Am J Psychiatry* 149(7):918-23.
- Fergus A, Lee KS. 1997. GABAergic regulation of cerebral microvascular tone in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 17(9):992-1003.
- Feynman RPL, Robert B.; Sands, Matthew. 1964. Paramagnetism and Magnetic Resonance. The Feynman Lectures on Physics. Reading,Massachusetts: Addison-Wesley.
- Fox PT, Raichle ME. 1986. Focal physiological uncoupling of cerebral blood flow and oxidative metabolism during somatosensory stimulation in human subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83(4):1140-4.

- Fox PT, Raichle ME, Mintun MA, Dence C. 1988. Nonoxidative glucose consumption during focal physiologic neural activity. *Science* 241(4864):462-4.
- Frahm J, Baudewig J, Kallenberg K, Kastrup A, Merboldt KD, Dechent P. 2008. The post-stimulation undershoot in BOLD fMRI of human brain is not caused by elevated cerebral blood volume. *Neuroimage* 40(2):473-81.
- Frahm J, Kruger G, Merboldt KD, Kleinschmidt A. 1996. Dynamic uncoupling and recoupling of perfusion and oxidative metabolism during focal brain activation in man. *Magn Reson Med* 35(2):143-8.
- Friston KJ. 2002. Statistics I: Experimental Design and Statistical Parametric Mapping. In: Toga AWM, J. C., editor. *Brain Mapping: The methods*. London: Academic Press.
- Friston KJ. 2005. Models of brain function in neuroimaging. *Annu Rev Psychol* 56:57-87.
- Friston KJ, Harrison L, Penny W. 2003. Dynamic causal modelling. *Neuroimage* 19(4):1273-302.
- Friston KJ, Josephs O, Rees G, Turner R. 1998. Nonlinear event-related responses in fMRI. *Magn Reson Med* 39(1):41-52.
- Friston KJ, Mechelli A, Turner R, Price CJ. 2000. Nonlinear responses in fMRI: the Balloon model, Volterra kernels, and other hemodynamics. *Neuroimage* 12(4):466-77.
- Ghashghaei HT, Hilgetag CC, Barbas H. 2007. Sequence of information processing for emotions based on the anatomic dialogue between prefrontal cortex and amygdala. *Neuroimage* 34(3):905-23.
- Glover GH. 1999. Deconvolution of impulse response in event-related BOLD fMRI. *Neuroimage* 9(4):416-29.
- Gordon GR, Mulligan SJ, MacVicar BA. 2007. Astrocyte control of the cerebrovasculature. *Glia* 55(12):1214-21.
- Gordon GR, Choi HB, Rungta RL, Ellis-Davies GC, MacVicar BA. 2008. Brain metabolism dictates the polarity of astrocyte control over arterioles. *Nature* 456(7223):745-9.
- Goutte C, Nielsen FA, Hansen LK. 2000. Modeling the haemodynamic response in fMRI using smooth FIR filters. *IEEE Trans Med Imaging* 19(12):1188-201.
- Grimm S, Beck J, Schuepbach D, Hell D, Boesiger P, Bermpohl F, Niehaus L, Boeker H, Northoff G. 2007. Imbalance between Left and Right Dorsolateral Prefrontal Cortex in Major Depression Is Linked to Negative Emotional Judgment: An fMRI Study in Severe Major Depressive Disorder. *Biol Psychiatry*.

- Grinband J, Wager TD, Lindquist M, Ferrera VP, Hirsch J. 2008. Detection of time-varying signals in event-related fMRI designs. *Neuroimage* 43(3):509-20.
- Grubb RL, Jr., Raichle ME, Eichling JO, Ter-Pogossian MM. 1974. The effects of changes in PaCO₂ on cerebral blood volume, blood flow, and vascular mean transit time. *Stroke* 5(5):630-9.
- Gu H, Stein EA, Yang Y. 2005. Nonlinear responses of cerebral blood volume, blood flow and blood oxygenation signals during visual stimulation. *Magn Reson Imaging* 23(9):921-8.
- Guimarães AP. 2009. *Magnetismo e Ressonância Magnética em Sólidos*. São Paulo: Edusp.
- Handwerker DA, Ollinger JM, 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.
- Hankins TL. 1985. *Natural History and Physiology. Science and the Enlightenment*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Harshbarger TB, Song AW. 2008. Differentiating sensitivity of post-stimulus undershoot under diffusion weighting: implication of vascular and neuronal hierarchy. *PLoS One* 3(8):e2914.
- Haxby JV, Hoffman EA, Gobbini MI. 2002. Human neural systems for face recognition and social communication. *Biological Psychiatry* 51:59-67.
- Heeger DJ, Ress D. 2002. What does fMRI tell us about neuronal activity? *Nat Rev Neurosci* 3(2):142-51.
- Heilman KM. 1997. The neurobiology of emotional experience. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 9(3):439-48.
- Hoffmeyer HW, Enager P, Thomsen KJ, Lauritzen MJ. 2007. Nonlinear neurovascular coupling in rat sensory cortex by activation of transcallosal fibers. *J Cereb Blood Flow Metab* 27(3):575-87.
- Huettel SA, McCarthy G. 2000. Evidence for a refractory period in the hemodynamic response to visual stimuli as measured by MRI. *Neuroimage* 11(5 Pt 1):547-53.
- Huettel SA, McCarthy G. 2001. Regional differences in the refractory period of the hemodynamic response: an event-related fMRI study. *Neuroimage* 14(5):967-76.
- Huettel SAS, A.W.;McCarthy, G. 2004. *Functional Magnetic Resonance Imaging*. Sunderland, MA.
- Irikura K, Maynard KI, Moskowitz MA. 1994. Importance of nitric oxide synthase inhibition to the attenuated vascular responses induced by topical L-

- nitroarginine during vibrissal stimulation. *J Cereb Blood Flow Metab* 14(1):45-8.
- Ishii K, Sasaki M, Kitagaki H, Sakamoto S, Yamaji S, Maeda K. 1996. Regional difference in cerebral blood flow and oxidative metabolism in human cortex. *J Nucl Med* 37(7):1086-8.
- Jones M, Hewson-Stoate N, Martindale J, Redgrave P, Mayhew J. 2004. Nonlinear coupling of neural activity and CBF in rodent barrel cortex. *Neuroimage* 22(2):956-65.
- Kaitaro T. 2001. Biological and epistemological models of localization in the nineteenth century: from Gall to Charcot. *J Hist Neurosci* 10(3):262-76.
- Kandel ER. 2000a. From Nerve Cells to Cognition: The Internal Cellular Representation Required for Perception and Action. In: Kandel ERS, J. H. ; Jessel, T. M., editor. *Principles of Neural Science*. New York: McGraw-Hill.
- Kandel ER. 2000b. The Brain and Behavior. In: Kandel ERS, J. H. ; Jessel, T. M., editor. *Principles of Neural Science*. New York: McGraw-Hill.
- Kandel ERS, J. H. ; Jessel, T. M. 2000c. *Principles of Neural Science*. New York: McGraw-Hill.
- Kanwisher N. 2006. Neuroscience. What's in a face? *Science* 311(5761):617-8.
- Kanwisher N, Yovel G. 2006. The fusiform face area: a cortical region specialized for the perception of faces. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 361(1476):2109-28.
- Kerns JG, Cohen JD, MacDonald AW, 3rd, Cho RY, Stenger VA, Carter CS. 2004. Anterior cingulate conflict monitoring and adjustments in control. *Science* 303(5660):1023-6.
- Kida I, Smith AJ, Blumenfeld H, Bekar KL, Hider F. 2006. Lamotrigine suppresses neurophysiological responses to somatosensory stimulation in the rodent. *Neuroimage* 29(1):216-24.
- Kjellstrom G. 1996. Evolution as a statistical optimization algorithm. *Evolutionary Theory* 11:105-117.
- Kraskov A, Quiroga RQ, Reddy L, Fried I, Koch C. 2007. Local field potentials and spikes in the human medial temporal lobe are selective to image category. *J Cogn Neurosci* 19(3):479-92.
- Kwong KK, Belliveau JW, Chesler DA, Goldberg IE, Weisskoff RM, Poncelet BP, Kennedy DN, Hoppel BE, Cohen MS, Turner R and others. 1992. Dynamic magnetic resonance imaging of human brain activity during primary sensory stimulation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89(12):5675-9.

- Lange K, Williams LM, Young AW, Bullmore ET, Brammer MJ, Williams SC, Gray JA, Phillips ML. 2003. Task instructions modulate neural responses to fearful facial expressions. *Biol Psychiatry* 53(3):226-32
- LeDoux JE. 2000. Emotion circuits in the brain. *Annual Review of Neuroscience* 23:155-184.
- Levesque J, Eugene F, Joanette Y, Paquette V, Mensour B, Beaudoin G, Leroux JM, Bourgouin P, Beauregard M. 2003. Neural circuitry underlying voluntary suppression of sadness. *Biol Psychiatry* 53(6):502-10.
- Lindquist MA, Meng Loh J, Atlas LY, Wager TD. 2009. Modeling the hemodynamic response function in fMRI: efficiency, bias and mis-modeling. *Neuroimage* 45(1 Suppl):S187-98.
- Lindquist MA, Wager TD. 2007. Validity and power in hemodynamic response modeling: a comparison study and a new approach. *Hum Brain Mapp* 28(8):764-84.
- Logothetis NK. 2002. The neural basis of the blood-oxygen-level-dependent functional magnetic resonance imaging signal. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 357(1424):1003-37.
- Logothetis NK, Pauls J, Augath M, Trinath T, Oeltermann A. 2001. Neurophysiological investigation of the basis of the fMRI signal. *Nature* 412(6843):150-7.
- Loughead J, Gur RC, Elliott M, Gur RE. 2008. Neural circuitry for accurate identification of facial emotions. *Brain Res* 1194:37-44.
- Luo Q, Mitchell D, Jones M, Mondillo K, Vythilingam M, Blair RJ. 2007. Common regions of dorsal anterior cingulate and prefrontal-parietal cortices provide attentional control of distracters varying in emotionality and visibility. *Neuroimage* 38(3):631-9.
- Luria AR. 1973. A fresh look at the basic concepts. *The Working Brain: An Introduction to Neuropsychology*: Basic Books.
- M. R. Bennett PMSH. 2003. *Philosophical Foundations of Neuroscience*. Oxford, UK: Blackwell Publishing.
- MacDonald AW, 3rd, Cohen JD, Stenger VA, Carter CS. 2000. Dissociating the role of the dorsolateral prefrontal and anterior cingulate cortex in cognitive control. *Science* 288(5472):1835-8.
- Magistretti PJ. 2008. Brain Energy Metabolism. In: Squire LB, D.; Bloom, F.; Du Lac, S.; Ghosh, A.; Spitzer, N. , editor. *Fundamental Neuroscience*. third ed. San Diego, CA: Academic Press.
- Maier A, Wilke M, Aura C, Zhu C, Ye FQ, Leopold DA. 2008. Divergence of fMRI and neural signals in V1 during perceptual suppression in the awake monkey. *Nat Neurosci* 11(10):1193-200.

- Malonek D, Grinvald A. 1996. Interactions between electrical activity and cortical microcirculation revealed by imaging spectroscopy: implications for functional brain mapping. *Science* 272(5261):551-4.
- Mandeville JB, Marota JJ, Ayata C, Zaharchuk G, Moskowitz MA, Rosen BR, Weisskoff RM. 1999. Evidence of a cerebrovascular postarteriole windkessel with delayed compliance. *J Cereb Blood Flow Metab* 19(6):679-89.
- Mandeville JB, Marota JJ, Ayata C, Moskowitz MA, Weisskoff RM, Rosen BR. 1999. MRI measurement of the temporal evolution of relative CMRO(2) during rat forepaw stimulation. *Magn Reson Med* 42(5):944-51.
- Mandeville JB, Marota JJ, Kosofsky BE, Keltner JR, Weissleder R, Rosen BR, Weisskoff RM. 1998. Dynamic functional imaging of relative cerebral blood volume during rat forepaw stimulation. *Magn Reson Med* 39(4):615-24.
- Matthews PM, Honey GD, Bullmore ET. 2006. Applications of fMRI in translational medicine and clinical practice. *Nat Rev Neurosci* 7(9):732-44.
- Mayberg HS. 1997. Limbic-cortical dysregulation: a proposed model of depression. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 9(3):471-81.
- Mayberg HSM, S. . 2000. Brain Mapping: The Applications V Sadness. In: Toga AWM, J. C., editor. *Brain Mapping: The Systems*. London: Academic Press.
- Mendez MF, Adams NL, Lewandowski KS. 1989. Neurobehavioral changes associated with caudate lesions. *Neurology* 39(3):349-54.
- Menon RS, Luknowsky DC, Gati JS. 1998. Mental chronometry using latency-resolved functional MRI. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95(18):10902-7.
- Meriau K, Wartenburger I, Kazzner P, Prehn K, Lammers CH, van der Meer E, Villringer A, Heekeren HR. 2006. A neural network reflecting individual differences in cognitive processing of emotions during perceptual decision making. *Neuroimage* 33(3):1016-27.
- Miller EK. 2000. The prefrontal cortex and cognitive control. *Nature Reviews Neuroscience* 1:59-65.
- Miller EK, Cohen JD. 2001. An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annu Rev Neurosci* 24:167-202.
- Mourao-Miranda J, Ecker C, Sato JR, Brammer M. 2008. Dynamic Changes in the Mental Rotation Network Revealed by Pattern Recognition Analysis of fMRI Data. *J Cogn Neurosci*.
- Mukamel R, Gelbard H, Arieli A, Hasson U, Fried I, Malach R. 2005. Coupling between neuronal firing, field potentials, and FMRI in human auditory cortex. *Science* 309(5736):951-4.

- Muthukumaraswamy SD, Singh KD. 2009. Functional decoupling of BOLD and gamma-band amplitudes in human primary visual cortex. *Hum Brain Mapp* 30(7):2000-7.
- Mulligan SJ, MacVicar BA. 2004. Calcium transients in astrocyte endfeet cause cerebrovascular constrictions. *Nature* 431(7005):195-9.
- Nedergaard M, Ransom B, Goldman SA. 2003. New roles for astrocytes: redefining the functional architecture of the brain. *Trends Neurosci* 26(10):523-30.
- Nedergaard M, Takano T, Hansen AJ. 2002. Beyond the role of glutamate as a neurotransmitter. *Nat Rev Neurosci* 3(9):748-55.
- Newman EA. 2003. New roles for astrocytes. *Trends in Neurosciences* 26:536-542.
- Nichols TE, Holmes AP. 2002. Nonparametric permutation tests for functional neuroimaging: a primer with examples. *Hum Brain Mapp* 15(1):1-25.
- Nir Y, Fisch L, Mukamel R, Gelbard-Sagiv H, Arieli A, Fried I, Malach R. 2007. Coupling between neuronal firing rate, gamma LFP, and BOLD fMRI is related to interneuronal correlations. *Curr Biol* 17(15):1275-85.
- Northoff G, Heinzl A, Bermpohl F, Niese R, Pfennig A, Pascual-Leone A, Schlaug G. 2004. Reciprocal modulation and attenuation in the prefrontal cortex: an fMRI study on emotional-cognitive interaction. *Hum Brain Mapp* 21(3):202-12.
- Obata T, Liu TT, Miller KL, Luh WM, Wong EC, Frank LR, Buxton RB. 2004. Discrepancies between BOLD and flow dynamics in primary and supplementary motor areas: application of the balloon model to the interpretation of BOLD transients. *Neuroimage* 21(1):144-53.
- Offenhauser N, Thomsen K, Caesar K, Lauritzen M. 2005. Activity-induced tissue oxygenation changes in rat cerebellar cortex: interplay of postsynaptic activation and blood flow. *J Physiol* 565(Pt 1):279-94.
- Ogawa S, Lee TM. 1990. Magnetic resonance imaging of blood vessels at high fields: in vivo and in vitro measurements and image simulation. *Magn Reson Med* 16(1):9-18.
- Ogawa S, Lee TM, Kay AR, Tank DW. 1990a. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87(24):9868-72.
- Ogawa S, Lee TM, Nayak AS, Glynn P. 1990b. Oxygenation-sensitive contrast in magnetic resonance image of rodent brain at high magnetic fields. *Magn Reson Med* 14(1):68-78.
- Ogawa S, Lee TM, Stepanoski R, Chen W, Zhu XH, Ugurbil K. 2000. An approach to probe some neural systems interaction by functional MRI at neural time scale down to milliseconds. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(20):11026-31.

- Ogawa S, Menon RS, Tank DW, Kim SG, Merkle H, Ellermann JM, Ugurbil K. 1993. Functional brain mapping by blood oxygenation level-dependent contrast magnetic resonance imaging. A comparison of signal characteristics with a biophysical model. *Biophys J* 64(3):803-12.
- Ogawa S, Tank DW, Menon R, Ellermann JM, Kim SG, Merkle H, Ugurbil K. 1992. Intrinsic signal changes accompanying sensory stimulation: functional brain mapping with magnetic resonance imaging. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89(13):5951-5.
- Pardo JV, Pardo PJ, Raichle ME. 1993. Neural correlates of self-induced dysphoria. *Am J Psychiatry* 150(5):713-9.
- Patterson JC, 2nd, Ungerleider LG, Bandettini PA. 2002. Task-independent functional brain activity correlation with skin conductance changes: an fMRI study. *Neuroimage* 17(4):1797-806.
- Petzold GC, Albeanu DF, Sato TF, Murthy VN. 2008. Coupling of neural activity to blood flow in olfactory glomeruli is mediated by astrocytic pathways. *Neuron* 58(6):897-910.
- Pfeuffer J, McCullough JC, Van de Moortele PF, Ugurbil K, Hu X. 2003. Spatial dependence of the nonlinear BOLD response at short stimulus duration. *Neuroimage* 18(4):990-1000.
- Phillips ML, Drevets WC, Rauch SL, Lane R. 2003. Neurobiology of emotion perception I. *Biological Psychiatry* 54:504-514.
- Piechnik SK, Chiarelli PA, Jezard P. 2008. Modelling vascular reactivity to investigate the basis of the relationship between cerebral blood volume and flow under CO₂ manipulation. *Neuroimage* 39(1):107-18.
- Poznanski RR, Riera JJ. 2006. fMRI models of dendritic and astrocytic networks. *J Integr Neurosci* 5(2):273-326.
- Raichle ME, MacLeod AM, Snyder AZ, Powers WJ, Gusnard DA, Shulman GL. 2001. A default mode of brain function. *Proc Natl Acad Sci* 98(2):676-82.
- Raichle ME, Mintun MA. 2006. Brain work and brain imaging. *Annu Rev Neurosci* 29:449-76.
- Raichle ME. 2000. A Brief History of Human Functional Brain Mapping. In: Toga AWM, J. C., editor. *Brain Mapping: The Systems*. London: Academic Press.
- Robson MD, Dorosz JL, Gore JC. 1998. Measurements of the temporal fMRI response of the human auditory cortex to trains of tones. *Neuroimage* 7(3):185-98.
- Rolls ET. 2005. *Emotion Explained*. Oxford: Oxford University Press.
- Roy CS, Sherrington CS. 1890. On the Regulation of the Blood-supply of the Brain. *J Physiol* 11(1-2):85-158 17.

- Sadock BJS, V. A. 2007. Kaplan & Sadock's synopsis of psychiatry : behavioral sciences / clinical psychiatry. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Shulman RG, Hyder F, Rothman DL. 2001. Cerebral energetics and the glycogen shunt: neurochemical basis of functional imaging. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98(11):6417-22.
- Shulman RG, Hyder F, Rothman DL. 2002. Biophysical basis of brain activity: implications for neuroimaging. *Q Rev Biophys* 35(3):287-325.
- Silva AC, Lee SP, Yang G, Iadecola C, Kim SG. 1999. Simultaneous blood oxygenation level-dependent and cerebral blood flow functional magnetic resonance imaging during forepaw stimulation in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 19(8):871-9.
- Sober E. 2000. *Philosophy of Biology*. Oxford: Westview Press.
- Sotero RC, Trujillo-Barreto NJ. 2007. Modelling the role of excitatory and inhibitory neuronal activity in the generation of the BOLD signal. *Neuroimage* 35(1):149-65.
- Stefanovic B, Schwindt W, Hoehn M, Silva AC. 2007. Functional uncoupling of hemodynamic from neuronal response by inhibition of neuronal nitric oxide synthase. *J Cereb Blood Flow Metab* 27(4):741-54.
- Stefanovic B, Bosetti F, Silva AC. 2006. Modulatory role of cyclooxygenase-2 in cerebrovascular coupling. *Neuroimage* 32(1):23-32.
- Stephan KE, Weiskopf N, Drysdale PM, Robinson PA, Friston KJ. 2007. Comparing hemodynamic models with DCM. *Neuroimage* 38(3):387-401.
- Surguladze SA, Brammer MJ, Young AW, Andrew C, Travis MJ, Williams SC, Phillips ML. 2003. A preferential increase in the extrastriate response to signals of danger. *Neuroimage* 19(4):1317-28.
- Takano T, Tian GF, Peng W, Lou N, Libionka W, Han X, Nedergaard M. 2006. Astrocyte-mediated control of cerebral blood flow. *Nat Neurosci* 9(2):260-7.
- Talairach J. TP. 1988. *Co-planar stereotaxic atlas of the human brain*. New York: Thieme.
- Thulborn KR, Waterton JC, Matthews PM, Radda GK. 1982. Oxygenation dependence of the transverse relaxation time of water protons in whole blood at high field. *Biochim Biophys Acta* 714(2):265-70.
- Toronov V, Walker S, Gupta R, Choi JH, Gratton E, Hueber D, Webb A. 2003. The roles of changes in deoxyhemoglobin concentration and regional cerebral blood volume in the fMRI BOLD signal. *Neuroimage* 19(4):1521-31.

- Vakorin VA, Krakovska OO, Borowsky R, Sarty GE. 2007. Inferring neural activity from BOLD signals through nonlinear optimization. *Neuroimage* 38(2):248-60.
- Valabregue R, Aubert A, Burger J, Bittoun J, Costalat R. 2003. Relation between cerebral blood flow and metabolism explained by a model of oxygen exchange. *J Cereb Blood Flow Metab* 23(5):536-45.
- Vazquez AL, Noll DC. 1998. Nonlinear aspects of the BOLD response in functional MRI. *Neuroimage* 7(2):108-18.
- Ueda K, Okamoto Y, Okada G, Yamashita H, Hori T, Yamawaki S. 2003. Brain activity during expectancy of emotional stimuli: an fMRI study. *Neuroreport* 14(1):51-5.
- Vuilleumier P, Armony JL, Driver J, Dolan RJ. 2001. Effects of attention and emotion on face processing in the human brain: an event-related fMRI study. *Neuron* 30(3):829-41.
- Vuilleumier P, Armony JL, Driver J, Dolan RJ. 2003. Distinct spatial frequency sensitivities for processing faces and emotional expressions. *Nature Neuroscience* 6:624-631.
- Vuilleumier P, Pourtois G. 2007. Distributed and interactive brain mechanisms during emotion face perception: evidence from functional neuroimaging. *Neuropsychologia* 45(1):174-94.
- Wager TD, Phan KL, Liberzon I, Taylor SF. 2003. Valence, gender, and lateralization of functional brain anatomy in emotion: a meta-analysis of findings from neuroimaging. *Neuroimage* 19(3):513-31.
- Wager TD, Vazquez A, Hernandez L, Noll DC. 2005. Accounting for nonlinear BOLD effects in fMRI: parameter estimates and a model for prediction in rapid event-related studies. *Neuroimage* 25(1):206-18.
- Waugh CE, Hamilton JP, Gotlib IH. 2010. The neural temporal dynamics of the intensity of emotional experience. *Neuroimage* 49(2):1699-707.
- Weisskoff RM, Kiihne S. 1992. MRI susceptometry: image-based measurement of absolute susceptibility of MR contrast agents and human blood. *Magn Reson Med* 24(2):375-83.
- Winston JS, O'Doherty J, Dolan RJ. 2003a. Common and distinct neural responses during direct and incidental processing of multiple facial emotions. *Neuroimage* 20(1):84-97.
- Winston JS, Vuilleumier P, Dolan RJ. 2003b. Effects of low-spatial frequency components of fearful faces on fusiform cortex activity. *Curr Biol* 13(20):1824-9.

- Xu HL, Mao L, Ye S, Paisansathan C, Vetri F, Pelligrino DA. 2008. Astrocytes are a key conduit for upstream signaling of vasodilation during cerebral cortical neuronal activation in vivo. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 294(2):H622-32.
- Yang G, Huard JM, Beitz AJ, Ross ME, Iadecola C. 2000. Stellate neurons mediate functional hyperemia in the cerebellar molecular layer. *J Neurosci* 20(18):6968-73.
- Yesilyurt B, Ugurbil K, Uludag K. 2008. Dynamics and nonlinearities of the BOLD response at very short stimulus durations. *Magn Reson Imaging* 26(7):853-62.
- Zhang N, Zhu XH, Chen W. 2008. Investigating the source of BOLD nonlinearity in human visual cortex in response to paired visual stimuli. *Neuroimage* 43(2):204-12.
- Zhao F, Jin T, Wang P, Kim SG. 2007. Improved spatial localization of post-stimulus BOLD undershoot relative to positive BOLD. *Neuroimage* 34(3):1084-92.
- Zheng Y, Johnston D, Berwick J, Chen D, Billings S, Mayhew J. 2005. A three-compartment model of the hemodynamic response and oxygen delivery to brain. *Neuroimage* 28(4):925-39.
- Zheng Y, Martindale J, Johnston D, Jones M, Berwick J, Mayhew J. 2002. A model of the hemodynamic response and oxygen delivery to brain. *Neuroimage* 16(3 Pt 1):617-37.
- Zheng Y, Mayhew J. 2009. A time-invariant visco-elastic windkessel model relating blood flow and blood volume. *Neuroimage*.
- Zwart JA de, van Gelderen P, Pansma JM, Fukuguna M, Bianciardi M, Duyn JH. 2009. Hemodynamic nonlinearities affect BOLD fMRI response timing and amplitude. *Neuroimage* 47(4):1649-58.

Apêndices

Apêndice I – Modelo do efeito BOLD – R

```
require(odesolve)
BOLD <- function(parms){
I <- function(z,npt){
  aux=0.0
  if (z<npt) aux=1.0
  return(aux)
}
wc <- function(t,y,p){
  yd1 <- p["ep"]*I(t,p["test"])-p["ks"]*y[1]-p["kf"]*(y[2]-1)
  yd2 <- y[1]
  yd3 <- (1/11)*(y[2]-y[3]^(1/0.38))
  yd4 <- (y[2]/0.34)*(1-(0.66)^(1/y[2]))-(y[4]/y[3])*(y[3]^(1/0.38))+10*yd3
  list(c(yd1,yd2,yd3,yd4))
}
out<-lsoda(c(0,1,1,1),c(0.001*0:40000),wc,parms)
bold <- 2.38*(1-out[,5])+0.48*(1-out[,4])
return(cbind(out,bold))
}
parms<-c(ep=1,test=2,kf=0.4,ks=0.65)
a=BOLD(parms)
```

Apêndice II – Modelo do efeito BOLD - C

```
// Entrada (entrada.txt) – parâmetros do modelo //
// Saída (saida.txt) //

#include <stdio.h>
#include <math.h>
#define Nmax 15
#define Mmax 10000

double pow (double b, double p);
double u(double t, double du){
    double auxu;
    auxu=0.0;
    if (t<=du) auxu=1.0;
    return auxu;
}
double f (double sf){ //função fluxo de entrada
    double auxf = sf;
    return auxf;
}
double s (double ts, double fs, double ss, double eps, double kss, double kfs, double ds){ // função
atividade neural
    double auxs = eps*u(ts, ds) - kss*ss - kfs*(fs-1.0);
    return auxs;
}
double v (double fs, double vv, double alphav, double Mv, double Tv){ // função volume
    double auxv = (fs - pow(vv, (1.0/alphav)))/(Mv+Tv);
    return auxv;
}
double q (double fq, double vq, double qq, double E0q, double alphaq, double Mq, double Tq){ //
função conteúdo de desoxi-hemoglobina
    double auxq = (((1.0 - pow((1.0-E0q), (1.0/fq)))*fq)/E0q)-qq/vq*(pow(vq, (1.0/alphaq))+Tq*v(fq,
vq, alphaq, Mq, Tq))/Mq;
    return auxq;
}

main (){
    FILE *fp;
    FILE *sp;
    float TRf, d, t, h, us[Mmax],K[Nmax][Nmax], w[Nmax][Mmax], b, alpha[Nmax], k1, k2, k3, ep,
ks, kf, M, T, E0, alp; // inicializar e ler todos os parâmetros definidos nas funções
    int N, TR, i, j;
    fp=fopen ("entrada.txt", "r");
    fscanf(fp, "%f", &d); // tempo de processamento
    fscanf(fp, "%f", &kf);
    fscanf(fp, "%f", &ks);
    fscanf(fp, "%f", &ep);
    TR=2000; // TR em milisegundos
    k1=2.38;
    k2=2.0;
    k3=0.48;
    M=0.98; // parâmetro do balão - complacência
    T=10.0; // parâmetro do balão -
    E0=0.34; // taxa basal de extração de oxigênio
    alp=0.38; // alfa - expoente do volume na função fluxo de saída
    alpha[1]=1.0; // condição inicial fluxo - f(0)
```



```

alpha[2]=1.0; //condição inicial atividade sináptica - s(0)
alpha[3]=1.0; // condição inicial volume - v(0)
alpha[4]=1.0; // condição inicial desoxi-hemoglobina - q(0)

TRf=TR/1000.0; // TR em ms para TRf em segundos
b=TRf*20.0;
N=TR;
h=b/N; //tamanho dos passos temporais - fixo
w[1][1]= 0.0;
w[2][1]=alpha[1]; // f(0)
w[3][1]=alpha[2]; // s(0)
w[4][1]=alpha[3]; // v(0)
w[5][1]=alpha[4]; // q(0)
for (i=1;i<=N+1;i++){ // Executa algoritmo de Runge-Kutta, quarta ordem
    K[1][1] = h*f(w[3][i]); // w[3][i] representa o valor de s
    K[1][2] = h*s(w[1][i], w[2][i], w[3][i], ep, ks, kf, d); // w[1][i] é o valor de t e w[2][i] o de f
    K[1][3] = h*v(w[2][i], w[4][i], alp, M, T); // w[4][i] é o valor de v
    K[1][4] = h*q(w[2][i], w[4][i], w[5][i], E0, alp, M, T); // w[5][i] é o valor de q
    K[2][1] = h*f(w[3][i] + K[1][1]/2.0);
    K[2][2] = h*s(w[1][i] + h/2.0, w[2][i] + K[1][1]/2.0, w[3][i] + K[1][2]/2.0, ep, ks,
kf, d);
    K[2][3] = h*v(w[2][i] + K[1][1]/2.0, w[4][i] + K[1][3]/2.0, alp, M, T);
    K[2][4] = h*q(w[2][i] + K[1][1]/2.0, w[4][i] + K[1][3]/2.0, w[5][i] + K[1][4]/2.0,
E0, alp, M, T);
    K[3][1] = h*f(w[3][i] + K[2][2]/2.0);
    K[3][2] = h*s(w[1][i] + h/2.0, w[2][i] + K[2][1]/2.0, w[3][i] + K[2][2]/2.0, ep, ks,
kf, d);
    K[3][3] = h*v(w[2][i] + K[2][1]/2.0, w[4][i] + K[2][3]/2.0, alp, M, T);
    K[3][4] = h*q(w[2][i] + K[2][1]/2.0, w[4][i] + K[2][3]/2.0, w[5][i] + K[2][4]/2.0,
E0, alp, M, T);
    K[4][1] = h*f(w[3][i] + K[3][2]);
    K[4][2] = h*s(w[1][i] + h, w[2][i] + K[3][1], w[3][i] + K[3][2], ep, ks, kf, d);
    K[4][3] = h*v(w[2][i] + K[3][1], w[4][i] + K[3][3], alp, M, T);
    K[4][4] = h*q(w[2][i] + K[3][1], w[4][i] + K[3][3], w[5][i] + K[3][4], E0, alp, M,
T);
    w[2][i+1] = w[2][i] + (K[1][1] + 2.0*K[2][1] + 2.0*K[3][1] + K[4][1])/6.0; // f(t)
    w[3][i+1] = w[3][i] + (K[1][2] + 2.0*K[2][2] + 2.0*K[3][2] + K[4][2])/6.0; // s(t)
    w[4][i+1] = w[4][i] + (K[1][3] + 2.0*K[2][3] + 2.0*K[3][3] + K[4][3])/6.0; // v(t)
    w[5][i+1] = w[5][i] + (K[1][4] + 2.0*K[2][4] + 2.0*K[3][4] + K[4][4])/6.0; // q(t)
    w[6][i] = alpha[3]*(k1*(1.0-w[5][i])+k2*(1.0-(w[5][i]/w[4][i]))+k3*(1.0-w[4][i]));
// Efeito Bold
    w[7][i] = u(w[1][i], d); // função estímulo u(t)
    w[1][i+1] = i*h; // passos no tempo
}

sp=fopen("saikf.txt","w");
for (i=1;i<=N+1;i++){ //salva os valores bold em saida.txt, com intervalo de TR, de 0 a 20 TR
    for(j=0;j<N;j++){
        if (w[1][i]==j*TRf)
            fprintf(sp,"%f\n", w[6][i]);
    }
}
int fclose (FILE *sp);
}

```

Apêndice III – Simulações da rotina de estimação baseado em GA

```

balloon<- function(parms){
  odesys <- with(as.list(parms),function(t, x, parms) {
    import <- sigimp(t)
    ds <- import-ks*x["s"]-kf*(x["f"]-1)
    df <- x["s"]
    dv <- (1/11)*(x["f"]-x["v"]^(1/0.38))
    dq <- (x["f"]/0.34)*(1-(0.66)^(1/x["f"]))- (x["q"]/x["v"])*(x["v"]^(1/0.38)+10*dv)
    res<-c(ds,df,dv, dq)
    list(res)
  })
  ## vector of timesteps, TR=2s
  times <- seq(0, 40, length=21)
  ## Rectangular function as the neural activity u(t)
  signal <- as.data.frame(list(times = times,
    import = rep(0,length(times))))
  signal$import[signal$times >= 0 & signal$times <= parms["test"]] <- 1.0
  sigimp <- approxfun(signal$times, signal$import, rule=2)
  ## ODE system Initial Conditions
  y<- c(s=1,f=1,v=1, q=1)
  out <- as.data.frame(lsoda(y, times, odesys,parms))
  ## Static nonlinear function of bold(v,q)
  bold <- 2.38*(1-out$q)+2.0*(1-(out$q/out$v))+0.48*(1-out$v)
  return(bold)
}
#####
OBJETIVO=function(TEMP,Kappaf,Kappas){
# O sinal tem q estar na variavel serie
# O paradigma tem q estar na variavel infile
VARERROR=10000

if(TEMP>0.5 && Kappaf<1.0 && Kappas<1.0 && Kappaf>0.01 && Kappas>0.01){
  B=balloon(c(test=TEMP,kf=Kappaf, ks=Kappas))
  if(is.nan(sum(B))) {VARERROR=10000}
  else{
    HRF1=rep(B,10)
    VARERROR=var(lm(serie~HRF1)$resid)
  }
}
else{VARERROR=10000}
return(VARERROR)
}
#####
require(gafit)
require(odesolve)

HRF=balloon(c(test=2.0,kf=0.4,ks=0.65))
HRF=(HRF-mean(HRF))/sd(HRF)
HRF=rep(HRF,10)
NSIM=1000
SIMULA=matrix(0,NSIM,3)
for(sim in 1:NSIM){
  BOLD=HRF+rnorm(210)
  serie=BOLD
  e<-expression(OBJETIVO(TEMP,Kappaf,Kappas))
  a=gafit( e, list(TEMP=3.0,Kappaf=0.6,Kappas=0.8),maxiter=100,samples=10,thermal=0.3 )
  SIMULA[sim,]=c(a$TEMP,a$Kappaf,a$Kappas) print(SIMULA[sim,])
}

```

Apêndice IV – Simulações da rotina de estimação do MD

```

require(odesolve)
BOLD <- function(parms){
I <- function(z,npt){
  aux=0.0
  if (z<npt) aux=1.0
  return(aux)
}
wc <- function(t,y,p){
  yd1 <- I(t,p["test"])-p["ks"]*y[1]-p["kf"]*(y[2]-1)
  yd2 <- y[1]
  yd3 <- (1/11)*(y[2]-y[3]^(1/0.38))
  yd4 <- (y[2]/0.34)*(1-(0.66)^(1/y[2]))-(y[4]/y[3])*(y[3]^(1/0.38)+10*yd3)
  list(c(yd1,yd2,yd3,yd4))
}
out<-lsoda(c(0,1,1,1),c(2*0:20),wc,parms)
bold <- 2.38*(1-out[,5])+0.48*(1-out[,4])
}
#####
FINDMINABS<-function(OBS,BASE){
  ERROOBS=array(0,nrow(BASE))
  ERROOBS=rowSums(abs((t(matrix(c(OBS),length(c(OBS)),nrow(BASE)))-
BASE[,4:ncol(BASE)])))
  ORDEM=sort(ERROOBS,index.return=T)$ix
  PARAM=cbind(BASE[ORDEM[1:100],1:3],ERROOBS[ORDEM[1:100]])
  return(PARAM)
}

FINDMINQUA<-function(OBS,BASE){
  ERROOBS=array(0,nrow(BASE))
  ERROOBS=rowSums((t(matrix(c(OBS),length(c(OBS)),nrow(BASE)))-
BASE[,4:ncol(BASE)])^2)
  ORDEM=sort(ERROOBS,index.return=T)$ix
  PARAM=cbind(BASE[ORDEM[1:100],1:3],ERROOBS[ORDEM[1:100]])
  return(PARAM)
}

FINDMINROOT<-function(OBS,BASE){
  ERROOBS=array(0,nrow(BASE))
  ERROOBS=rowSums(abs((t(matrix(c(OBS),length(c(OBS)),nrow(BASE)))-
BASE[,4:ncol(BASE)]))^(1/2))
  ORDEM=sort(ERROOBS,index.return=T)$ix
  PARAM=cbind(BASE[ORDEM[1:100],1:3],ERROOBS[ORDEM[1:100]])
  return(PARAM)
}
#####
tab=scan("basenorm.txt") ## carrega matriz de soluções
base=matrix(0,722474,24)
aux=1
for(i in 1:722474){
  for(j in 1:24){
    base[i,j]=tab[aux]
    aux=aux+1
  }
}

```

```
parms<-c(test=2.5,kf=0.4,ks=0.65)
bold=BOLD(parms)
```

```
NSIM=10000
RES=matrix(0,NSIM,12)
for(sim in 1:NSIM){
  HRF=(bold-mean(bold))/sd(bold)
  HRF=HRF+rnorm(21)/5
  f1=FINDMINROOT(HRF,base)
  f2=FINDMINABS(HRF,base)
  f3=FINDMINQUA(HRF,base)
  RES[sim,1:4]=f1[1,1:4]
  RES[sim,5:8]=f2[1,1:4]
  RES[sim,9:12]=f3[1,1:4]
}
```

```
write.table(RES,"")
```

Apêndice V – Aplicação do GA ao experimento de reconhecimento de faces

```

balloon <- function(parms){
  odesys <- with(as.list(parms),function(t, x, parms) {
    import <- sigimp(t)
    ds <- import-ks*x["s"]-kf*(x["f"]-1)
    df <- x["s"]
    dv <- (1/11)*(x["f"]-x["v"]^(1/0.38))
    dq <- (x["f"]/0.34)*(1-(0.66)^(1/x["f"]))- (x["q"]/x["v"])*(x["v"]^(1/0.38)+10*dv)
    res<-c(ds,df,dv, dq)
    list(res)
  })
  ## vector of timesteps, TR=2s
  times <- seq(0, 40, length=21)
  ## Rectangular function as the neural activity u(t)
  signal <- as.data.frame(list(times = times,
    import = rep(0,length(times))))
  signal$import[signal$times >= 0 & signal$times <= parms["test"]] <- 1.0
  sigimp <- approxfun(signal$times, signal$import, rule=2)
  ## ODE system Initial Conditions
  y<- c(s=1,f=1,v=1, q=1)
  out <- as.data.frame(lsoda(y, times, odesys,parms))
  ## Static nonlinear function of bold(v,q)
  bold <- 2.38*(1-out$q)+2.0*(1-(out$q/out$v))+0.48*(1-out$v)
  return(bold)
}
#####
OBJETIVO=function(Kappaf,Kappas,TEMP1,TEMP2,TEMP3){
# O sinal tem que estar na variavel serie
# O paradigma tem que estar na variavel infile
#Kappa=PAR[1]
#TEMP1=PAR[2]
#TEMP2=PAR[3]
#TEMP3=PAR[4]
VARERROR=10000
if(TEMP1>0.5 && TEMP2>0.5 && TEMP3>0.5 && Kappaf>0.1 && Kappaf<1.0 && Kappas
>0.1 && Kappas<1.0){
  FLAG=0
  balao=balloon(c(test=TEMP1,kf=Kappaf,ks=Kappas))
  if(is.nan(sum(balao))) {FLAG=1}
  else {HRF1=filter(infile[,1],balao,sides=1)}
}
  balao=balloon(c(test=TEMP2,kf=Kappaf,ks=Kappas))
  if(is.nan(sum(balao))) {FLAG=1}
  else {HRF2=filter(infile[,2],balao,sides=1)}

  balao=balloon(c(test=TEMP3,kf=Kappaf,ks=Kappas))
  if(is.nan(sum(balao))) {FLAG=1}
  else {HRF3=filter(infile[,3],balao,sides=1)}
  if(FLAG==0){VARERROR=var(lm(serie~HRF1+HRF2+HRF3)$resid)}
}
  return(VARERROR)
}
#####
require(odesolve)
require(gafit)

```

```
j=1
for(j in 1:20){
infile=read.table("infile.dat")
caras=scan("series/caras.txt",what="string")

dados=matrix(0,168,18)
PARAM=matrix(0,18,5)

i=1
for(i in 1:18){ dados[,i]=scan(paste("series/",caras[i],sep=""),what=list(a=0,b=0))$b
  serie=dados[,i]
  e<-expression(OBJETIVO(Kappaf,Kappas,TEMP1,TEMP2,TEMP3))
  a=gafit( e,
list(Kappaf=0.4,Kappas=0.65,TEMP1=2,TEMP2=2,TEMP3=2),maxiter=1000,samples=50 )
  PARAM[i,]=c(a$Kappaf,a$Kappas,a$TEMP1,a$TEMP2,a$TEMP3)
  print(PARAM[i,])
}
write(t(PARAM) , paste("",j,".txt",sep=""), ncol=4)
}
```

Apêndice VI – Aplicação do MD ao experimento de reconhecimento de faces

```

require(odesolve)
#####
BOLD <- function(parms){
  I <- function(z,npt){
    aux=0.0
    if (z<npt) aux=1.0
    return(aux)
  }
  wc <- function(t,y,p){
    yd1 <- I(t,p["test"])-p["ks"]*y[1]-p["kf"]*(y[2]-1)
    yd2 <- y[1]
    yd3 <- (1/11)*(y[2]-y[3]^(1/0.38))
    yd4 <- (y[2]/0.34)*(1-(0.66)^(1/y[2]))-(y[4]/y[3])*(y[3]^(1/0.38)+10*yd3)
    list(c(yd1,yd2,yd3,yd4))
  }
  out<-lsoda(c(0,1,1,1),c(2*0:20),wc,parms)
  bold <- 2.38*(1-out[,5])+0.48*(1-out[,4])
}
#####
FINDMINABS<-function(OBS,BASE){
  ERROOBS=array(0,nrow(BASE))
  ERROOBS=rowSums(abs((t(matrix(c(OBS),length(c(OBS)),nrow(BASE)))-
BASE[,4:ncol(BASE)])))
  ORDEM=sort(ERROOBS,index.return=T)$ix
  PARAM=cbind(BASE[ORDEM[1:100],1:3],ERROOBS[ORDEM[1:100]])
  return(PARAM)
}
#####
tab=scan("basenorm.txt")
base=matrix(0,722474,24)
aux=1
  for(i in 1:722474){
    for(j in 1:24){
      base[i,j]=tab[aux]
      aux=aux+1
    }
  }
infile=read.table("infile.dat")
caras=scan("series/series311_tsa4/caras.txt",what="string")
dados=matrix(0,168,18)
i=1
for(i in 1:18){ dados[,i]=scan(paste("series/series311_tsa4/",caras[i],sep=""),what=list(a=0,b=0))$b
}
K=21
T=nrow(dados)
M1=matrix(0,T-K,K)
M2=matrix(0,T-K,K)
M3=matrix(0,T-K,K)
for(i in 1:K){
  M1[,i]=infile[(K+2-i):(T-i+1),1]
  M2[,i]=infile[(K+2-i):(T-i+1),2]
  M3[,i]=infile[(K+2-i):(T-i+1),3]
}
X=cbind(M1,M2,M3)
#####
HRF1=matrix(0,18,21)

```

```
HRF2=matrix(0,18,21)
HRF3=matrix(0,18,21)
for(i in 1:18){
  BETAS=lm(dados[(K+1):T,i]~X)$coef[2:(3*K+1)]
  HRF1[i,1:21]=BETAS[1:21]
  HRF2[i,1:21]=BETAS[22:42]
  HRF3[i,1:21]=BETAS[43:63]
  HRF1[i,]=(HRF1[i,]-mean(HRF1[i,]))/sd(HRF1[i,])
  HRF2[i,]=(HRF2[i,]-mean(HRF2[i,]))/sd(HRF2[i,])
  HRF3[i,]=(HRF3[i,]-mean(HRF3[i,]))/sd(HRF3[i,])
}
PAR1=matrix(0,18,4)
PAR2=matrix(0,18,4)
PAR3=matrix(0,18,4)
for(i in 1:18){
  P1=FINDMINABS(HRF1[i,],base)
  P2=FINDMINABS(HRF2[i,],base)
  P3=FINDMINABS(HRF3[i,],base)
  PAR1[i,1:4]=P1[1,1:4]
  PAR2[i,1:4]=P2[1,1:4]
  PAR3[i,1:4]=P3[1,1:4]
}
#####
salva=cbind(PAR1,PAR2,PAR3)
write.table(salva,"28_06_result311tsa4.txt")
#####
b1=BOLD(c(test=PAR1[1,1],kf=PAR1[1,2],ks=PAR1[1,3]))
b1=(b1-mean(b1))/sd(b1)
ts.plot(cbind(HRF1[1,],b1),col=c(1,2))

b2=BOLD(c(test=PAR2[1,1],kf=PAR2[1,2],ks=PAR2[1,3]))
b2=(b2-mean(b2))/sd(b2)
ts.plot(cbind(HRF2[1,],b2),col=c(1,2))

b3=BOLD(c(test=PAR3[1,1],kf=PAR3[1,2],ks=PAR3[1,3]))
b3=(b3-mean(b3))/sd(b3)
ts.plot(cbind(HRF3[1,],b3),col=c(1,2))
```