

FUAD CHAIM FILHO

**NEUROIMAGEM DE DOENTES COM OSTEOARTROSE
GRAVE DO JOELHO: AVALIAÇÃO VOLUMÉTRICA
CEREBRAL**

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

Programa de Patologia

Orientadora: Marta Imamura

São Paulo

2023

FUAD CHAIM FILHO

**NEUROIMAGEM DE DOENTES COM OSTEOARTROSE
GRAVE DO JOELHO: AVALIAÇÃO VOLUMÉTRICA
CEREBRAL**

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

Programa de Patologia

Orientadora: Marta Imamura

São Paulo

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Chaim Filho, Fuad

Neuroimagem de doentes com osteoartrose grave do
joelho : avaliação volumétrica cerebral / Fuad Chaim
Filho. -- São Paulo, 2023.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Patologia.
Orientadora: Marta Imamura.

Descritores: 1.Osteoartrose 2.Joelho 3.Dor
crônica 4.Ressonância magnética 5.Morfometria baseada
em voxel 6.Statistical Parametric Mapping

USP/FM/DBD-121/23

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

Ao meu falecido pai, a quem inspirou todos meus passos de minha vida profissional e pessoal.

À minha mãe, irmão e irmã e tios, que suportaram e escoltaram meus passos.

AGRADECIMENTOS

A Profa. Dr. Marta Imamura, que acreditou em mim.

Aos meus pais, Dr. Chaim e Vivian, pelo que fui, sou e serei.

À minha irmã Tiffany, por se doar integralmente sem julgar meus erros.

Ao meu irmão Renan, por estar sempre pronto para me trazer de volta.

Aos meus tios Minho e Regina, meus segundos pais.

Aos meus primos Jaime e Rafael, por serem irmãos quando só precisavam ser amigos.

À minha esposa Adelina, que utilizou seus domingos para me auxiliar nesse estudo desde seu começo, sempre com sorriso.

À minha amiga Adriana Guedes, que usou seu valioso tempo somente para se dispor ao meu trabalho e à minha família.

À minha prima Cristiane Gonzalez, que não mediu esforços para estar à disposição.

À minha prima Luciane Gonzalez, que me mostrou que devemos seguir em frente sem nunca esmorecer.

Ao meu primo José Luiz Gonzalez, que demonstrou sempre que a genialidade é uma qualidade para ser utilizada, mas nunca como objeto de vaidade.

Ao IMREA/HCFMUSP, que deu apoio total e irrestrito a este projeto, e em especial à Profa. Dra. Linamara Rizzo Battistella, nosso maior alicerce de suporte.

Ao INRAD/HCFMUSP e seus profissionais, na aquisição de Ressonância Magnética de Crânio, parte integrante na evolução do projeto.

Ao Prof. Geraldo Busatto, que acolheu o projeto e me mostrou a retidão na ciência.

À Equipe do Laboratório de Neuroimagem (LIM-21), em todos que fizeram parte deste trabalho, integrantes atuais ou não, por serem parte integrante deste minucioso projeto, e pelo pronto apoio dado em momentos chave. Agradeço, em especial a Fábio Luís de Souza Duran, Paula Squarzoni e Luciana Cristina Santos.

Aos membros da banca de Exame de Qualificação, Prof.

Ao Prof. Dr. Felipe Fregni, Professor Associado de Medicina Física e Reabilitação da Harvard Medical School, pela genialidade que deu início à ideia do projeto.

Aos pacientes e voluntários saudáveis, por aceitarem participar deste projeto.

À Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, a quem devo minha formação médica.

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

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

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas

LISTA DE TABELAS

Resumo

ABSTRACT

| | |
|---|----|
| 1.INTRODUÇÃO | 16 |
| 1.1 Osteoartrite grave de joelho: dados epidemiológicos | 16 |
| 1.2 Dor e alteração no volume cerebral | 17 |
| 1.3 Dor e relação com Sistema Nervoso Central | 17 |
| 2.REVISAO DA LITERATURA | 19 |
| 2.1 Método de ressonância magnética aplicado em avaliação volumétrica cerebral | 19 |
| 2.2 Técnica para análise das imagens de ressonância magnética <i>voxel-by-voxel</i> | 20 |
| 2.3 Achados já realizados correlacionando dor e alteração de volume cerebral | 21 |
| 2.4 Achados já realizados correlacionando doenças que podem cursar com dor e alteração de volume cerebral..... | 24 |
| 3. OBJETIVOS | 26 |
| 4. MÉTODOS | 27 |
| 4.1 Aspectos éticos | 27 |
| 4.2 Desenho do estudo | 27 |
| 4.3 Participantes | 27 |
| 4.3.1 Critérios de inclusão – Doentes com osteoartrite de joelho | 28 |
| 4.3.2 Critérios de inclusão – Controles saudáveis | 29 |
| 4.4 Avaliação clínica e instrumentos de avaliação clínica | 29 |
| 4.5 Aquisição de imagens neuro radiológicas | 30 |
| 4.6 Análise estatística..... | 30 |
| 5. RESULTADOS | 32 |
| 5.1 Dados clínicos e demográficos da amostra total | 32 |
| 5.2 Avaliação das imagens | 33 |

| | |
|--|----|
| 5.3 Análise dos resultados da comparação entre grupos na análise <i>voxel-by-voxel</i> . | 33 |
| 6. DISCUSSÃO | 41 |
| 7. CONCLUSÃO | 47 |
| 8. REFERÊNCIAS | 48 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|------------------------------|---|
| CS: | Controle saudável/Controles saudáveis |
| DP: | Desvio padrão |
| FMUSP: | Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo |
| HC-FMUSP: | Hospital das Clínicas da FMUSP |
| IPq-HC-FMUSP: | Instituto de Psiquiatria do HCFMUSP |
| LIM-21: | Laboratório de Neuroimagem e Psiquiatria da FMUSP |
| RM: | Ressonância magnética cerebral |
| ROI: | Região de interesse (<i>region-of-interest</i>) |
| SB: | Substância branca |
| SC: | Substância cinzenta |
| VBA: | Análise baseada em <i>voxel</i> (<i>voxel-based analysis</i>) |
| SPM 8: | <i>Statistical Parametric Mapping 8</i> |
| FSL: | <i>FMRI Software Library</i> |
| p^{fwe}: | <i>p family wise error</i> |
| vs: | Versus |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 – Características clínicas e demográficas da amostra | 32 |
| Tabela 2 – Comparação do volume de substância cinzenta do precuneus direito entre pacientes com OA de joelho, dor bilateral vs controles sadios, com foco na redução de volume..... | 34 |
| Tabela 3 - Tabela 3 - Comparação do volume de substância cinzenta de precuneus direito de pacientes com OA de joelho, com dor bilateral e em joelho esquerdo vs controles sadios, com foco na redução de volume..... | 34 |
| Tabela 4 - Tabela 4 - Comparação do volume de substância cinzenta do precuneus direito de pacientes com dor por OA de joelho bilateral e à direita vs controles sadios, com foco na redução de volume..... | 34 |
| Tabela 5 - Comparação do volume de substância cinzenta do precuneus direito de pacientes com dor por OA de joelho unilateral e bilateral vs controles sadios, com foco na redução de volume..... | 35 |
| Tabela 6 - Comparação do volume de substância cinzenta da ínsula direita de pacientes com OA de joelho e dor à direita vs controles sadios, com foco na redução de volume..... | 35 |
| Tabela 7 - Comparação do volume de substância cinzenta da amígdala, hipocampo e giro parahipocampal bilaterais, cíngulo anterior bilateral de pacientes com dor por OA de joelho bilateral e à direita, considerando a covariável dificuldade vs controles sadios, com foco na redução de volume..... | 36 |
| Tabela 8 - Comparação do volume de substância cinzenta em amígdala, hipocampo e giro parahipocampal direitos e cíngulo anterior bilateral de pacientes com OA de joelho e dor bilateral e em joelho direito, com utilização da covariável rigidez vs controles sadios, com foco na redução de volume..... | 37 |
| Tabela 9 - Comparação do volume de substância cinzenta em córtex orbitofrontal direito e córtex temporal superior direito de pacientes com OA de joelho e dor bilateral e em joelho direito, com utilização da covariável rigidez vs controles sadios, com foco no aumento de volume..... | 37 |
| Tabela 10 - Comparação do volume de substância cinzenta em amígdala, hipocampo e giro parahipocampal bilateral e cíngulo anterior bilateral de pacientes com OA de joelho e dor bilateral e em joelho esquerdo, com utilização da covariável dificuldade vs controles sadios, com foco na redução de volume..... | 38 |
| Tabela 11 - Comparação do volume de substância cinzenta em córtex temporal superior direito de pacientes com OA de joelho e dor bilateral e em joelho esquerdo, | |

| | |
|--|----|
| com utilização da covariável dificuldade <i>vs</i> controles saudáveis, com foco no aumento de volume..... | 39 |
| Tabela 12 - Comparação do volume de substância cinzenta em cíngulo anterior bilateral de pacientes com OA de joelho e dor bilateral e em joelho esquerdo, com utilização da covariável rigidez <i>vs</i> controles saudáveis, com foco na redução de volume..... | 39 |
| Tabela 13 - Comparação do volume de substância cinzenta em córtex temporal superior direito de pacientes com OA de joelho e dor bilateral e em joelho esquerdo, com utilização da covariável rigidez <i>vs</i> controles saudáveis, com foco no aumento de volume..... | 40 |
| Tabela 14 - Comparação do aumento do volume de substancia cinzenta total de pacientes com OA de joelho <i>vs</i> controles saudáveis, com foco no aumento de volume..... | 40 |
| Tabela 15 - Comparação da redução do volume de substancia cinzenta total de pacientes com OA de joelho <i>vs</i> controles saudáveis, com foco na redução de volume..... | 40 |

RESUMO

CHAIM FILHO, Fuad. *Neuroimagem de Doentes com Osteoartrose Grave do Joelho: Avaliação Volumétrica Cerebral*. [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2023.

INTRODUÇÃO: A osteoartrose (OA) é a doença articular mais prevalente no mundo, sendo também a principal causa de incapacidade funcional no idoso. Recentemente, foram demonstradas alterações na substância cinzenta (SC), tanto no volume total quanto em algumas áreas relacionadas à sensibilidade e percepção da dor em pacientes que vivenciam o impacto da dor crônica. Também foi observado que essas alterações cerebrais podem ser reversíveis quando o alívio da dor é obtido. **OBJETIVOS:** Comparar medidas do volume cerebral em pacientes com dor crônica por OA primária grave do joelho com controles saudáveis, por meio da análise da ressonância magnética cerebral (RM) por uma medida morfométrica baseada em voxel (VBM). **MÉTODOS:** Seleccionamos 29 adultos com OA grave de joelho e 28 controles saudáveis. Todos os pacientes e controles foram submetidos à RM cerebral. As imagens foram processadas e analisadas por um método de VBM usando o programa SPM 8 (*Statistical Parametric Mapping 8*). Além do volume de SC total, foram avaliadas as áreas selecionadas *a priori*: ínsula, córtex pré-frontal, córtex dorsolateral, córtex ventrolateral, córtex temporal, córtex parietal, cíngulo e tálamo. **RESULTADOS:** Observamos redução do volume da SC ao comparar pacientes com dor por OA de joelho vs. controles saudáveis, nas regiões da SC do cíngulo anterior direito ($p_{fwe}=0,021$; $p_{fwe}=0,011$ e $p_{fwe}=0,008$); cíngulo anterior esquerdo ($p_{fwe}=0,013$; $p_{fwe}=0,014$ e $p_{fwe}=0,005$); amígdala, hipocampo e giro parahipocampal direitos ($p_{fwe}=0,001$, $p_{fwe}=0,007$ e $p_{fwe}=0,014$); amígdala, hipocampo e giro parahipocampal esquerdos ($p_{fwe}=0,045$ e $p_{fwe}=0,026$); precuneus direito ($p_{fwe}=0,029$, $p_{fwe}=0,027$ e $p_{fwe}=0,012$) e ínsula direita ($p_{fwe}=0,042$). Observamos aumento do volume da SC ao comparar pacientes com dor por OA de joelho vs. controles saudáveis no córtex orbitofrontal direito ($p_{fwe}=0,011$ e $p_{fwe}=0,006$); córtex orbitofrontal esquerdo ($p_{fwe}=0,011$) e córtex temporal superior direito ($p_{fwe}=0,003$, $p_{fwe}=0,006$ e $p_{fwe}=0,003$). **CONCLUSÃO:** Há alterações volumétricas cerebrais em pacientes com dor relacionada à osteoartrose primária grave do joelho em comparação com controles saudáveis. Há menor volume da substância cinzenta no precuneus direito, cíngulo anterior bilateral; amígdala, hipocampo e giro hipocampal bilateral e ínsula direita nas pessoas

com osteoartrose grave dos joelhos. Há aumento no córtex temporal superior direito e córtex orbitofrontal direito nas pessoas com osteoartrose grave dos joelhos. Não há diferenças na substancia cinzenta cerebral total.

Descritores: 1. Osteoartrose - 2. Joelho - 3. Dor Crônica - 4. Ressonância Magnética - 5. Morfometria Baseada em Voxel - 6. Statistical Parametric Mapping (SPM).

SUMMARY

CHAIM FILHO, Fuad. *Neuroimaging in patients with severe knee osteoarthritis: A cross-sectional brain volumetric assessment*. [Thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2023.

INTRODUCTION: Osteoarthritis (OA) is the most prevalent joint disease in the world, and also the main cause of functional disability. Recently, alterations in the gray matter (GM) have been demonstrated in the global GM volume and in areas related to the sensitivity and perception of pain in patients who experience the impact of chronic pain. It has also been observed that these brain changes may be reversible once pain relief is obtained

OBJECTIVES: To compare brain volume measurements in patients with chronic pain due to knee OA with healthy controls, through brain magnetic resonance (MR) analysis by a voxel-based morphometric measure (VBM). **METHODS:** We selected a group of patients and a control group, being a group of 29 adults with severe knee OA and a group of 28 healthy controls. All patients and controls underwent MRI, and the images were processed and analyzed by a VBM method using the SPM 8 program (Statistical Parametric Mapping 8), with a priori areas selection and preparation (insula, prefrontal cortex, dorsolateral cortex, ventrolateral cortex, temporal cortex, parietal cortex, cingulate gyrus and thalamus), so that they could be analyzed comparatively. **RESULTS:** We observed a reduction in GM volume when comparing patients with knee OA pain vs. healthy controls, in the GM regions of the right anterior cingulate gyrus ($p_{fwe}=0.021$; $p_{fwe}=0.011$ and $p_{fwe}=0.008$); left anterior cingulate gyrus ($p_{fwe}=0.013$; $p_{fwe}=0.014$ and $p_{fwe}=0.005$); right amygdala, hippocampus and parahippocampal gyrus ($p_{fwe}=0.001$, $p_{fwe}=0.007$ and $p_{fwe}=0.014$); left amygdala, hippocampus and parahippocampal gyrus ($p_{fwe}=0.045$ and $p_{fwe}=0.026$); right precuneus ($p_{fwe}=0.029$, $p_{fwe}=0.027$ and $p_{fwe}=0.012$) and right insula ($p_{fwe}=0.042$). We observed an increase in GM volume when comparing patients with knee OA pain vs. healthy controls in the right orbitofrontal cortex ($p_{fwe}=0.011$ and $p_{fwe}=0.006$); left orbitofrontal cortex ($p_{fwe}=0.011$) and right superior temporal cortex ($p_{fwe}=0.003$, $p_{fwe}=0.006$ and $p_{fwe}=0.003$) **CONCLUSION:** There are changes in brain volume measurements in patients with severe primary knee OA compared with healthy controls. There is reduced GM volume at the right precuneus, bilateral anterior cingulate gyrus,

amygdala, hippocampus, parahippocampal gyrus and right insula in patients with knee OA. There is increased GM volume in the right superior temporal cortex and in the orbitofrontal cortex. There are no differences in total GM volume between patients with knee OA and healthy controls.

Descriptors: 1.Osteoarthritis 2.Knee 3.Chronic Pain 4.Magnetic Resonance 5.Voxel-Based Morphometry 6.Statistical Parametric Mapping (SPM)

1. INTRODUÇÃO

1.1 Osteoartrose grave de joelho: Dados epidemiológicos

A osteoartrose (OA) é uma doença que impõe grandes dificuldades à saúde pública. Os casos de OA de joelho e quadril chegam a 303,1 milhões em todo mundo, com um prevalência normatizada por idade estimada em 3754,2 por 100000 habitantes, uma incidência de 16,9 milhões de pessoas, e 9,6 milhões de anos perdidos devido a doença (Safiri et al., 2020.; GBD, 2017). A OA de joelho, por sua vez, apresenta prevalência de 263 milhões de pessoas no mundo, com incidência de 12,8 milhões de pessoas e 8,3 milhões de anos perdidos devido a doença (GBD, 2017).

A OA é a doença articular mais prevalente e a principal causa de incapacidade funcional (Safiri et al., 2020) em pessoas acima de 60 anos (GBD, 2017). Atinge até 37,4% da população acima de 60 anos nos Estados Unidos, em sua maioria mulheres. No Brasil, observou-se que a OA atinge 36,9% dos pacientes acima de 60 anos (De Rosis et al., 2010). Destes, 70,9% são do sexo feminino. A articulação do joelho é a mais acometida ocorrendo em 29,7% (De Rosis et al., 2010). Há um número crescente de pessoas com OA devido ao envelhecimento da população e ao aumento da prevalência de fatores de risco como obesidade e redução da atividade física (Puig-Junoy et al., 2015). Nos Estados Unidos, consome uma quantidade significativa de recursos de saúde. A média anual total dos custos diretos variou de US\$ 1.442 a US\$ 21.335. Os custos indiretos médios anuais variaram de US\$ 238 a US\$ 29.9356 (Xie et al., 2016).

Atualmente, um tratamento agressivo como recomendação cirúrgica se dá preferencialmente em pacientes com OA grave de joelho em classificação radiológica (Mallio et al., 2022). Priorizam-se tratamentos farmacológicos e não farmacológicos, que incluem antiinflamatórios não esteroidais tópicos para uso em pacientes com OA de joelho sem comorbidades (nível de evidência 1A), e exercícios em água, auxiliares de marcha, terapia cognitivo-comportamental com foco em exercício físico e programas de autogerenciamento para indivíduos com OA de joelho sem comorbidades ou com comorbidades como problemas

gastrointestinais, comorbidades cardiovasculares e com distúrbios de dor generalizada e/ou depressão (nível de evidência 1B) (Bannuru et al., 2019).

A experiência de viver com dor crônica associada à OA de joelho é multidimensional, compreendendo dimensões biológicas, como patologia e inflamação do osso subcondral, e dimensões psicológicas e sociais, como catastrofização da dor, depressão, esquiva de atividades físicas e sociais e a necessidade de apoio social (De Rosis et al., 2010).

1.2 Dor e alteração no volume cerebral

Nas duas últimas décadas, autores demonstraram achados indicativos de alterações na substância cinzenta (SC) de pacientes que sofrem o impacto da dor crônica generalizada, como alterações no volume total de SC em pacientes com fibromialgia (Kuchinad et. al, 2007), alterações no córtex pré-frontal dorsolateral bilateral em pacientes com dor lombar crônica (DLC) (Apkarian et al., 2004), e alterações no tálamo bilateral, cíngulo direito, córtex medial superior esquerdo, no tronco cerebral, e no córtex frontal medial esquerdo de pacientes com OA unilateral primária de quadril (Gwilym et al., 2010).

Desde 2018, reduções de volume de algumas estruturas cerebrais devido à OA de joelho vem sendo estudadas, sendo observadas diminuições em estruturas corticais, como o córtex orbitofrontal bilateral, o córtex pré-frontal lateral direito, o córtex pré-central e parte do córtex pós-central (Liao et al., 2018; Lewis et al., 2018; Barroso et al., 2020). Nos estudos em questão, foi utilizado o software para análise de imagens FSL (*FMRIB Software Library*), diferentemente do que foi utilizado em nosso estudo, chamado SPM 8 (*Statistical Parametric Mapping 8*).

Foi constatado também, que as alterações cerebrais podem ser reversíveis quando o alívio da dor é obtido, como observado em casos de cefaleia (Obermann et al., 2009) e após artroplastia total de quadril (Gwilym et al., 2010).

1.3 Dor e relação com sistema nervoso central

Segundo estudo realizado por Imamura et al., 2008, com 62 mulheres, com avaliação de hiperalgesia superficial e profunda, o sistema nervoso central está envolvido na manutenção e na amplificação da dor em doentes com OA de joelho refratária ao tratamento conservador e

em lista de espera para a prótese total de joelho. Imamura et al., 2008, também sugere que sensibilização periférica e central esteja associada com a dor em doentes com OA de joelho, semelhante ao que ocorre em doentes com fibromialgia. Dessa forma, nossa hipótese é que pacientes com OA de joelho também apresentem redução do volume de SC. Se este fenômeno estiver presente, medidas terapêuticas que atuem no alívio da dor poderão ter maior embasamento para serem introduzidas de modo precoce.

Já foi demonstrado que a redução do volume cerebral pode contribuir para déficits cognitivos observados na demência no idoso (Squarzoni, 2010). Sabe-se também, que dor e cognição interagem reciprocamente (Moriarty, Finn, 2014). Dessa forma, nosso estudo, caso demonstre a relação entre dor e volume cerebral, pode auxiliar na sugestão de hipóteses que correlacionem dor, cognição e volume cerebral.

Este estudo tem como objetivo comparar as medidas do volume de cerebral de pacientes com dor devido à OA de joelho em lista de espera para prótese total de joelho devido vs voluntários saudáveis assintomáticos, com uso de um método de análise de medida de volume cerebral de grande sensibilidade e especificidade (*voxel-based morphometry-VBM*), também relacionando os possíveis achados de neuroimagem com consequências da OA de joelho, como rigidez e dificuldades em tarefas físicas como descer e subir escadas e se levantar.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Método de ressonância magnética aplicado em avaliação volumétrica cerebral

A ressonância magnética cerebral (RM) e outras ferramentas de neuroimagem aumentaram significativamente o conhecimento sobre as alterações cerebrais de muitos transtornos dolorosos nas últimas décadas. Inúmeros estudos de pesquisa têm comparado médias de medidas cerebrais entre grupos de pacientes com síndromes dolorosas a voluntários saudáveis usando imagens de RM, evidenciando anormalidades cerebrais morfológicas.

Nas aquisições de imagens com RM, é possível aferir a morfologia dos tecidos, e assim, obter informações sobre a forma e dimensão das regiões cerebrais estudadas. A análise de medidas estruturais pode ser realizada a partir da técnica VBM, que utiliza a análise *voxel-by-voxel* para a comparação de volumes regionais de SC (Barazanji et al., 2022).

Para que seja possível fazer a quantificação de volumes de diferentes regiões cerebrais em estudos de RM, são necessárias técnicas de processamento de imagens (Duran, 2008) O processamento de imagens abrange uma ampla escala de hardware, software e fundamentos teóricos, e usa como base a imagem cerebral obtida através de equipamentos diagnósticos, como a RM. Estes equipamentos produzem imagens digitais no padrão Digital Imaging Communications In Medicine (DICOM) (Duran, 2008).

A imagem digital pode ser vista como uma matriz numérica. Nesta matriz, as linhas e colunas identificam um ponto na imagem (coordenadas x e y). Cada ponto tem um valor correspondente ao nível de cinza da imagem naquela localização, representando sua amplitude (brilho de um ponto). Cada um dos elementos da matriz de pontos em um monitor de vídeo recebe o nome de pixel (Picture Element) (Gonzalez, Woods, 2000).

Para a avaliação dos volumes das estruturas cerebrais, os métodos de processamento mais usados são a volumetria manual e o processamento automático *voxel-by-voxel*. Na volumetria manual é realizada uma delimitação de regiões de interesse (*regions of interest* - ROIs); já os métodos de processamento automático *voxel-by-voxel* realizam uma série de

transformações nas imagens antes que sejam analisadas estatisticamente (Gonzalez, Woods, 2000).

O método de delineamento manual de ROIs se baseia no delineamento manual de sub-regiões cerebrais, previamente selecionadas por serem sede de suspeita de possíveis alterações regionais na doença em questão estudada. O delineamento dessas regiões pode ser à mão livre ou mediante padrões pré-definidos de contornos de bordas, pode ser realizado com o cursor na tela de um computador e depende dos conhecimentos prévios de neuroanatomia do pesquisador, da firmeza de sua mão, de seu cansaço e da qualidade da imagem. Dessa forma, apresenta limitações importantes relacionadas tanto à habilidade e experiência do pesquisador, quanto a dificuldade inerente de se definir regiões envoltas por substância branca, como regiões corticais (Gonzalez, Woods, 2000).

Os métodos de análise *voxel-by-voxel* têm sido desenvolvidos com o objetivo de ultrapassar as limitações impostas pelos métodos ROI. Especificamente a morfometria baseada em *voxel* (*voxel-based morphometry* - VBM), vem se apresentando como um dos mais eficazes métodos de avaliação volumétrica cerebral (Gonzalez, Woods, 2000).

2.2 Técnica para análise das imagens de ressonância magnética *voxel-by-voxel*

Inicialmente, a técnica de VBM envolve a transformação espacial das imagens de RM dos sujeitos em estudo em relação a um espaço anatômico comum, objetivando eliminar diferenças interindividuais de tamanho e forma cerebrais. Nesse processo, chamado de normalização ou registro espacial, as imagens são submetidas a transformações lineares e não lineares a fim de que apresentem uma correspondência anatômica a uma imagem modelo. A segunda etapa desta técnica é a segmentação automática das imagens cerebrais de cada indivíduo em seus três principais compartimentos: SC, SB e líquido cefalorraquidiano. Enfim, realiza-se a suavização com filtro Gaussiano de maneira uniforme para todos os compartimentos e regiões cerebrais, que tem como objetivo melhorar a distribuição de normalidade dentro de cada *voxel*, tanto para dados morfométricos quanto para dados de intensidade de sinal, permitindo assim uma análise paramétrica *voxel-by-voxel* (Duran, 2008).

O software que utilizamos, e que vem sendo amplamente utilizado para a realização da VBM é o *Statistical Parametric Mapping* (SPM8), podendo-se com ele comparar a

concentração de substância cinzenta em cada um dos *voxels*, que medem 1,5 (dois) mm³ cada (Gonzalez, Woods, 2000).

Para essa comparação *voxel-by-voxel*, é necessário que sejam seguidos alguns passos importantes, sendo eles:

- 1) Que as imagens sejam convertidas para o formato *Analyze*.
- 2) Que a comissura anterior seja definida como ponto de origem [$f(x,y,z)=(0,0,0)$].
- 3) Que a imagem seja reorientada para a convecção neurológica, realinhando-se a imagem cerebral adquirida guiando-se pela imagem cerebral padrão, adequada ao modelo neuroanatômico do Atlas Estereotático do Cérebro Humano (Talairach et al., 1998).
- 4) Realize-se a segmentação, que separa os compartimentos de substância cinzenta, substância branca e líquido céfalo-raquidiano, tornando arquivos separados cada imagem correspondente a cada um desses compartimentos.
- 5) Faça-se a suavização das imagens, realizando-se assim a redução de ruídos (Gonzalez, Woods, 2000).

2.3 Achados já realizados correlacionando dor e alteração de volume cerebral

Observamos nesta sessão, estudos que embasaram a tese de alteração de volume cerebral, e nos deram sustentação em nossa avaliação:

Apkarian et. al (2004) associaram a dor DLC a redução do volume de substância cinzenta neocortical. Pacientes com dor lombar crônica apresentaram 5-11% menos volume de substância cinzenta cortical do que os controles saudáveis (CS). Estima-se que essa diminuição equivale a de dez a 20 anos de envelhecimento normal. Foram utilizados 26 pacientes com dor lombar crônica e 26 CS. Essa redução de volume foi relacionada à duração da dor, e apresentou perda de 1,3 cm³ de redução de SC para cada ano de dor crônica. Foi utilizado um método de VBM, utilizando o software SIENAX. Observou-se redução da massa cinzenta no córtex pré-frontal dorsolateral bilateral no hemisfério esquerdo e no tálamo direito, sugerindo que a fisiopatologia da dor cônica inclui processos talâmicos.

Schmidt-Wilcke et al. (2005) examinaram o volume cerebral de 20 pacientes com cefaleia tensional crônica vs 40 CS. Os pacientes com cefaleia tensiona crônica mostraram uma diminuição significativa na substância cinzenta na parte dorsal rostral e ventral da ponte, no cíngulo anterior, no cíngulo posterior, ínsula posterior bilateralmente, córtex temporal posterior

direito, córtex orbitofrontal bilateralmente, giro parahipocampal bilateralmente e cerebelo direito. Esta diminuição de SC correlacionou-se positivamente com o aumento da duração da cefaléia em anos, ou seja, pacientes com história mais longa tiveram menos SC nessas regiões.

Kuchinad et al. (2007) estudaram a perda de substância cinzenta cerebral em pacientes com fibromialgia, e sua semelhança ao envelhecimento do cérebro. Foram avaliados dez pacientes com fibromialgia e dez CS. Foi usado um método de VBM seguido de regressão linear para comparação entre os volumes de SC, SB e líquido. Pacientes com fibromialgia apresentaram redução no volume total de substância cinzenta associada à idade 3,3 vezes maior do que os CS. Conforme se aumentou o tempo da presença da sintomatologia de fibromialgia nos pacientes maior foi a perda de SC. Pacientes com fibromialgia demonstraram uma densidade de matéria cinzenta menor do que os CS nas regiões do giro parahipocampal esquerdo, giro do cíngulo posterior esquerdo/médio, giro do cíngulo posterior direito/médio, córtex insular esquerdo e córtex medial frontal.

Geha et al. (2008) avaliaram a morfometria da substância cinzenta e a anisotropia da substância branca em 26 pacientes com síndrome de dor complexa regional e 28 CS. Foi utilizado um método de VBM, utilizando-se o *software* SIENAX. Os pacientes apresentaram redução da substância cinzenta, englobando ínsula direita, córtex pré-frontal córtex ventromedial direito e núcleo direito accumbens. Essa redução de volume regional teve relação com a intensidade e duração da dor.

Rodriguez-Raecke et al. (2009) realizaram um estudo correlacionando dor crônica e redução do volume de substância cinzenta. Foram estudados 32 pacientes com dor crônica devido à OA de quadril, comparando-se com 32 voluntários saudáveis. Observou-se redução de SC em pacientes comparados com CS no cíngulo anterior, ínsula direita e opérculo, córtex pré-frontal dorsolateral, amígdala e tronco cerebral. Do grupo de pacientes, um subgrupo de dez pacientes foi investigado após seis semanas e também quatro meses da realização de artroscopia total de quadril, com monitorização da estrutura cerebral. Após a cirurgia, todos os pacientes apresentaram remissão completa da dor e percebeu-se um aumento da massa cinzenta no córtex pré-frontal dorsolateral, cíngulo anterior, amígdala e tronco cerebral. Dessa forma, sugere-se a hipótese das anormalidades na SC serem uma condição reversível.

Gwilym et al. (2010) demonstraram que a atrofia talâmica associada à dor por OA do quadril é reversível após artroplastia. Seu estudo utilizou 16 pacientes com dor unilateral no quadril direito, antes de e nove meses após a artroplastia do quadril. Foi realizada uma análise

por um método de VBM, utilizando o *software* FSL (FMRIB Software Library). Diferenças significantes no volume de SC no tálamo do cérebro de pacientes com OA do quadril dolorosa em comparação com CS foram observadas. Nove meses após realização da artroscopia, as áreas reduzidas de volume talâmico retornaram para níveis observados em CS.

Mole et al. (2014) estudaram as alterações na morfologia cerebral específicas na lesão medular com e sem dor neuropática. Foram avaliados 18 pacientes com lesão medular com dor, 12 sem dor, e 18 CS. Utilizou-se um método de VBM com o *software* SPM. Evidenciaram alterações da substância cinzenta e branca. Alterações significativas de substância cinzenta e branca relacionadas à presença de dor foram encontradas dentro do córtex somatossensorial, tratos corticospinais, áreas de processamento visual e córtex sensorial primário. Com relação à substância branca, foram observadas reduções no trato corticoespinal de pacientes com dor.

Liao et al. (2018) analisaram as alterações da substância cinzenta cerebral em pacientes com dor crônica na OA do joelho. Foram avaliados 30 pacientes com OA de joelho e 30 CS. Utilizou-se um método de VBM, utilizando-se o *software* FSL 5.0. Foi constatada redução no volume de SC total em pacientes com OA de joelho. Com relação a redução regional de SC, foi observada redução na substância cinzenta no córtex órbito-frontal bilateral, no córtex pré-frontal lateral direito, na região pré-central e parte do córtex pós-central.

Liu et al. (2019) mediram as alterações cerebrais em pacientes com herpes zoster (HZ) e neuralgia pós-herpética (PHN), utilizando uma técnica de VBM que utiliza o *software* DPARSF, baseado no SPM. Na comparação com os CS, o grupo com herpes zoster apresentou um volume de SC diminuído na ínsula bilateral e volume de SC aumentado no tálamo bilateral. No grupo neuralgia pós-herpética, o volume de SC apresentou redução na ínsula bilateral, giro frontal médio direito, córtex pré-central bilateral e giro pós-central esquerdo e aumento do volume no lobo posterior cerebelar esquerdo, córtex parahipocampal direito e núcleo lentiforme direito. Na comparação com o grupo com herpes zoster, o grupo PHN exibiu aumento da SC na amígdala cerebelar esquerda e núcleo lentiforme esquerdo, e redução da SC no giro pré-central direito.

Lewis et al. (2018) estudou alterações em SC e SB antes de artroplastia total de joelho e após esta cirurgia. Foram realizadas RM em 29 pacientes antes e seis meses após cirurgia de artroplastia total de joelho e em 18 CS. O estudo foi feito com a utilização de VBM e o *software* FSL, e demonstrou no grupo controle aumento volume no núcleo accumbens, na amígdala e córtex primário somatossensitivo ipsilateral em relação aos pacientes em pré-operatório. Na

comparação entre pacientes pré e pós-operatório, observamos nos pacientes pós-operatório, aumento do volume da amígdala bilateral, hipocampo contralateral e substância periaquedutal em comparação com os pacientes no estágio pré-operatório.

Barroso et al. (2020) avaliaram o volume cerebral de 91 pacientes com o diagnóstico de OA de joelho, 24 pacientes com o diagnóstico de OA de quadril e CS. Observou-se redução de volume do córtex motor primário e lobo temporal direito de ambos grupos com OA. O giro do cíngulo anterior demonstrou redução de volume apenas no grupo de pacientes com OS de quadril. Apenas no grupo de pacientes com OA de joelho, houve aumento de volume no giro medial frontal direito e redução do volume no precuneus direito.

Kang et al. (2021), estudaram alterações de volume cerebral em 37 pacientes com OA de joelho e 37 CS com um método de VBM e análise estrutural das imagens utilizando uma ferramenta de anatomia automatizada computacional (CAT 12), baseada no SPM 12, apresentando redução de volume no córtex temporal medial medial esquerdo, córtex temporal inferior esquerdo, córtex dorsolateral superior, córtex frontal, cortex frontal medial e superior esquerdos e córtex medial.

2.4 Achados já realizados correlacionando doenças que podem cursar com dor e alteração de volume cerebral

Villarreal et al. (2002) aferiram a redução de volume do hipocampo e volume total de SC no transtorno de estresse pós-traumático. Foram utilizados 12 pacientes e dez CS. Indivíduos com transtorno do stress pós-traumático (TEPT) apresentaram achados consistentes com atrofia generalizada da substância branca (SB). Indivíduos com TEPT também apresentaram menores volumes hipocampais bilaterais absolutos e normalizados.

Okada et al. (2004) constataram alteração no volume cerebral de pacientes com fadiga crônica. Foram utilizados 16 pacientes e 49 CS. Utilizou-se um método de VBM, utilizando-se o *software* SPM2. Os pacientes com síndrome da fadiga crônica apresentaram redução do volume de substância cinzenta no córtex pré-frontal bilateral, havendo proporcionalidade entre a redução do volume no córtex pré-frontal direito e a gravidade da fadiga nos indivíduos.

Chen et al. (2006) propuseram relação entre a depressão na fase tardia de vida e alterações no volume de SB e SC subcortical. Imagens de RM foram obtidas em 164 pacientes

apresentando depressão e 126 indivíduos saudáveis. Em ambos os grupos, a idade era de 60 anos ou mais. A versão modificada NIRL do *software* MrX foi utilizada para a segmentação tecidual. Para avaliar as diferenças dos grupos no volume da lesão na RM basal, foi realizada uma análise de covariância unidirecional (ANCOVA). Observou-se redução significativa de volume total de SC e SB nos pacientes com depressão em fase tardia.

2. OBJETIVOS

O presente estudo comparou as modificações da morfologia cerebral em uma amostra de pacientes adultos acima de 60 anos com OA grave de joelho e CS, pelo método VBM. Para isso, foram obtidas imagens de RM nos mesmos sujeitos e estes dados foram combinados com dados de avaliações clínica e funcionais.

O objetivo desta tese é avaliar se há alteração de volume de SC, comparando pacientes com dor por OA grave de joelho vs CS, comparando medidas de regiões determinadas *a priori* (ínsula, córtex pré-frontal, córtex dorsolateral, córtex ventrolateral, córtex temporal, córtex parietal, cíngulo e tálamo) por observação de estudos anteriores relacionando dor e alteração de volume cerebral.

4. MÉTODOS

4.1 Aspectos éticos

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq 0167/11. Todos os voluntários que entraram para a pesquisa assinaram um termo de consentimento informado antes de serem submetidos a qualquer tipo de procedimento, incluindo entrevistas de avaliação. Os indivíduos que não foram selecionados para entrar no estudo, continuaram seus tratamentos. Os sujeitos submetidos aos exames de neuroimagem e às entrevistas clínicas foram devidamente informados sobre os procedimentos.

4.2 Desenho do estudo

Estudo observacional transversal, com grupo controle.

4.3 Participantes

Foram incluídos neste estudo doentes com diagnóstico de OA primária grave do joelho em fila de espera para a prótese total de joelho e voluntários saudáveis sem dor. O cálculo do número de doentes e de voluntários saudáveis foi realizado para verificar o tamanho necessário da amostra para uma significância de 5% e poder de 80%. Como não havia nenhum estudo publicado até o momento sobre perda de SC e artrose de joelho, optamos em usar os achados do estudo de Apkarian et al., 2004 sobre a lombalgia crônica.

Foram necessários 31 doentes com dor OA grave de joelho e 31 voluntários saudáveis para mostrar uma diferença de 30cm³ (redução de 5,4% - $p < 0,001$).

Na amostra final, foram realizadas 31 RM de pacientes, e 31 de CS. Foi excluído um paciente e um CS devido a cisto aracnoide, e após a otimização das imagens para a análise, foram excluídos um paciente e dois CS devido a artefato de movimento, sendo utilizadas ao

final 29 imagens de pacientes e 28 imagens de CS, apresentando os resultados das análises significância estatística.

Os voluntários saudáveis foram recrutados nos serviços de condicionamento físico da terceira idade, igrejas da capital de São Paulo e casas de repouso da terceira idade.

Os pacientes com o diagnóstico de OA grave de joelho foram recrutados em ambulatórios do Instituto de Medicina Física e Reabilitação (IMREA) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC/FMUSP) e do Instituto de Ortopedia (IOT) do HC/FMUSP. OS CS foram recrutados nos serviços de condicionamento físico da terceira idade, igrejas da capital de São Paulo e casas de repouso da terceira idade. A proposta inicial era o recrutamento de 31 pacientes e 31 CS, para compor os seguintes grupos:

- (a) Pacientes com dor por OA grave de joelho, unilateral ou bilateral.
- (b) CS sem OA grave de joelho.

4.3.1 Critérios de inclusão – Doentes com OA de joelho

- 1) Idade: acima de 60 (sessenta) anos.
- 2) Gênero: masculino e feminino.
- 3) Diagnóstico clínico de artrose de joelho.
- 4) Presença de dor de intensidade moderada a grave: escala visual analógica (EVA) >4.
- 5) Duração da dor no joelho ≥ 3 meses.
- 6) Ausência de acompanhamento psiquiátrico.
- 7) Ausência de fibromialgia associada.
- 8) Ausência de doenças reumatológicas associadas.
- 9) Ausência de história de neoplasias.
- 10) Ausência de cirurgia prévia no joelho.
- 11) Outorga por escrito do termo de consentimento informado para participar do estudo.

4.3.2 Critérios de inclusão – Voluntários saudáveis

- 1) Idade: acima de 60 (sessenta) anos
- 2) Gênero: masculino e feminino
- 3) Ausência de sintomas ou queixas clínica
- 4) Ausência de dor nos joelhos nos últimos seis meses
- 5) Nível de atividade física – sedentários ou atividade física leve
- 6) Ausência de alteração psiquiátrica grave que necessita de acompanhamento psiquiátrico
- 7) Ausência de fibromialgia associada
- 8) Ausência de doenças reumatológicas associadas
- 9) Ausência de história de neoplasias
- 10) Ausência de cirurgia prévia no joelho
- 11) Outorga por escrito do termo de consentimento informado para participar do estudo.

4.4 Avaliação clínica e instrumentos de avaliação clínica

Avaliação Clínica:

Anamnese: Consistiram na coleta de dados sobre a idade, sexo, tempo de dor (em meses), intensidade da dor, doenças associadas e ocupação profissional habitual.

Exame físico: Medidas de peso corpóreo e altura.

Instrumentos de Avaliação Clínica:

A – Dor

- 1) Escala Visual Analógica (EVA)

Foi avaliada por meio de uma régua de dez centímetros com escala de zero a dez sendo “zero” ausência de dor e “dez” dor de máxima intensidade.

B – Funcional

1) WOMAC: Consistiu em um questionário específico para avaliar a função em doentes com OA de joelho já validado no Brasil. Avalia a dor, a rigidez e a dificuldade para a realização das atividades de vida diária e da capacidade física (Bellamy et al., 1988).

4.5 Aquisição de imagens neuro radiológicas

As imagens de RM foram realizadas em aparelho da marca Siemens 1,5 Tesla (Siemens, Alemanha) no Instituto de Radiologia (INRAD) do HC/FMUSP. As imagens anatômicas foram registradas em alta resolução, através de protocolo em T1. Cada imagem foi submetida a uma correção automatizada. As imagens de RM dos volumes corticais foram normalizadas espacialmente de acordo com o Registro de Mapeamento Cerebral padrão. A classificação do tecido cerebral em SC, SB e líquido cefalo-raquidiano foi realizada através de classificador universal.

Todas as imagens foram inspecionadas visualmente por um radiologista experiente com o propósito de identificar artefatos durante a aquisição e a presença de lesões cerebrais silenciosas.

4.6 Análise Estatística

O volume total de SC total foi calculado usando o script `get_totals` do MATLAB 2009a, implementado para estatística mapas paramétricos (SPM) (Friston et al., 2003) versão 8 usando a segmentação de imagens no espaço nativo para cada participante. As diferenças na SC total entre os grupos no foram testadas usando o modelo linear geral (GLM) calculado com o SAS® *University Edition*.

Realizamos uma comparação exploratória *voxel-wise* de volumes regionais totais de SC. As comparações de cérebro total entre grupos foram realizadas utilizando um modelo de análise de covariância (ANCOVA) no SPM. O volume tota de SC também foi utilizado como covariável inicial. Os limites para os resultados estatísticos foram estabelecidos como nível de significância $p < 0,001$ (não corrigido para análises múltiplas) ($Z = 3,09$) e mostradas como SPMs no espaço anatômico padrão. Os achados nessas análises exploratórias foram considerados

significantes caso sobrevivessem à correção *family-wise error* (FWE) para múltiplas comparações pelo cérebro todo ($p_{fwe} \leq 0,05$). Esses mapas foram então inspecionados para a presença de diferenças de *clusters* (aumento ou diminuição). Apenas regiões com o mínimo de 10 *voxels* contíguos foram reportadas.

Subsequentemente, a ferramenta correção para volumes pequenos (SVC) foi aplicada nas regiões cerebrais *a priori* baseadas em estudos anteriores que correlacionam dor e volume cerebral (ínsula, córtex pré-frontal, córtex dorsolateral, córtex ventrolateral, córtex temporal, córtex parietal, cíngulo e tálamo),

Cada região de SC foi delimitada espacialmente pela aplicação de máscaras nos SPMs com base nos volumes anatômicos de interesse que estão disponíveis na caixa de ferramentas do SPM de rotulagem anatômica automática. Cada máscara anatômica foi utilizada separadamente em cada hemisfério, sendo regiões *a priori* determinadas examinadas em ambos hemisférios. Os achados dessas análises baseadas no SVC e dirigidas por hipóteses foram reportadas como significantes se apresentaram-se relevantes depois da correção FWE para comparações múltiplas ($p_{fwe} \leq 0,05$) sobre a pesquisa de volume de cada área *a priori*, com o mínimo de 10 *voxels*.

Adicionalmente, análises de correlações com rigidez e dificuldade funcional foram realizadas para investigar sua influência em diferenças focais entre os grupos pelo total de SC e para as regiões *a priori*.

5. RESULTADOS

5.1 Dados clínicos e demográficos da amostra total

Foi selecionado um total de 57 (cinquenta e sete) imagens, de um total de 62 imagens de pacientes que realizaram exame de RM durante o ano de 2011 – 2012. A Tabela 1 apresenta os dados demográficos e clínicos da amostra divididos de acordo com os grupos: voluntários saudáveis e pacientes com OA de joelho.

Tabela 1 – Características clínicas e demográficas da amostra

| | Controles (n=28) | OA de joelho (n=29) |
|--|-----------------------------|--------------------------------|
| Idade Mulheres | 69,88 (7,16) | 68,33 (6,12) |
| Idade Homens | 71,66 (7,39) | 64,5 (7,04) |
| Gênero Feminino | 23 | 24 |
| Gênero Masculino | 5 | 5 |
| Lado Afetado Bilateral | | 19 |
| Lado Afetado Direito | | 4 |
| Lado Afetado Esquerdo | | 6 |
| Volume Global de SC (mm ³) | 626,26 (47,49) | 621,13 (68,59) |
| Tempo Entre Avaliação Clínica e RM | 18 (11,76) | 11,76 (10,38) |
| Duração da Dor (meses) | | 146,03 (121,145) |
| EVA à Direita | | 5,6 (3,4) |
| EVA à Esquerda | | 7,25 (2,9) |
| Rigidez à Direita | | 2,5 (1,09) |
| Rigidez à Esquerda | | 2,5 (1,1) |
| Dificuldade à Direita | | 4 (0,97) |
| Dificuldade à Esquerda | | 2,59 (0,96) |

Legenda: Médias e desvios padrões, OA: osteoartrose; SC: Substância cinzenta; RM: ressonância magnética; EVA: escala visual analógica;

5.2 Avaliação das imagens

As imagens de RM juntamente com os dados das avaliações clínicas foram enviados para análise no LIM 21/HCFMUSP.

Para as análises de comparação, os sujeitos foram divididos em 6 subgrupos

- Quatro pacientes com dor devido à OA apenas de joelho direito,
- Seis pacientes com dor devido à OA apenas de joelho esquerdo,
- 25 pacientes com dor devido à OA em joelho esquerdo e bilateral,
- 23 pacientes com dor devido à OA em joelho direito e bilateral
- 19 pacientes com dor devido à OA apenas bilateral,
- 28 CS

As análises com utilização das covariáveis rigidez e dificuldade foram realizadas em pacientes com dor apenas em joelho direito; apenas em joelho esquerdo; bilateral e em joelho direito e bilateral e em joelho esquerdo. Após as análises das imagens dos grupos, foram criados mapas cerebrais indicando o grupo utilizado, a região analisada e a significância estatística. Os mapas que apresentaram alteração do volume cerebral com significância estatística de $p_{fwe} < 0,05$ em alguma região *a priori* foram selecionados, e esses resultados foram então analisados e comparados a estudos anteriores relacionando dor e volume cerebral, objetivando observar se há relação entre dor e alteração volume cerebral de pacientes com OA de joelhos.

Em seguida descreveremos o resultado da análise do volume cerebral total de pacientes com dor por OA grave de joelho, seguido da descrição dos resultados dos grupos selecionados que apresentaram alteração de volume cerebral, com indicação da área que houve alteração, se houve aumento ou redução dessa área e a significância estatística dessa alteração, apresentando o p_{fwe} de cada região alterada.

5.3 Resultados da comparação entre grupos na análise *voxel-by-voxel*

Observamos alterações nos volume de SC nos seguintes grupos:

- Pacientes com dor por OA de joelho bilateral apresentaram redução no Precuneus direito ($p_{fwe}=0,029$), conforme descrito na tabela 2.

Tabela 2 – Comparação do volume de substância cinzenta do precuneus direito entre pacientes com OA de joelho, dor bilateral e controles saudáveis, com foco na redução de volume.

| Região cerebral | Tamanho do Cluster ^a | Pico de Escore Z ^b | Coordenadas x,y,z (MNI) ^c | Pf _{we} corrigido ^d |
|-----------------|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|---|
| Precuneus | 107 | 3,64 | 12 -57 37 | 0,029 |

Direito
 OA: osteoartrose; FWE indica *family-wise error*; ^a Número de *voxels* contíguos que ultrapassaram o limite inicial de $p < 0,01$ (não corrigido) no mapa de estatísticas paramétricas; ^b *Z scores* para o *voxel* de máxima significância estatística; ^c Coordenadas MNI (*Montreal Neurological Institute and Hospital*) do *voxel* de máxima significância estatística dentro de cada cluster; ^d Significância estatística após a correção para múltiplas análises; inferências feitas no nível de *voxels* individuais (correção FWE).

- Pacientes com dor por OA de joelho bilateral e à esquerda, apresentaram redução no Precuneus direito ($p_{fwe}=0,027$), conforme descrito na tabela 3.

Tabela 3 - Comparação do volume de substância cinzenta de precuneus direito de pacientes com OA de joelho, com dor bilateral e em joelho esquerdo vs controles saudáveis, com foco na redução de volume.

| Região cerebral | Tamanho do Cluster ^a | Pico de Escore Z ^b | Coordenadas x,y,z (MNI) ^c | Pf _{we} corrigido ^d |
|-----------------|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|---|
| Precuneus | 82 | 3,65 | 14 -57 39 | 0,027 |

Direito
 OA: osteoartrose; FWE indica *family-wise error*; ^a Número de *voxels* contíguos que ultrapassaram o limite inicial de $p < 0,01$ (não corrigido) no mapa de estatísticas paramétricas; ^b *Z scores* para o *voxel* de máxima significância estatística; ^c Coordenadas MNI (*Montreal Neurological Institute and Hospital*) do *voxel* de máxima significância estatística dentro de cada cluster; ^d Significância estatística após a correção para múltiplas análises; inferências feitas no nível de *voxels* individuais (correção FWE).

- Pacientes com dor por OA de joelho bilateral e à esquerda, apresentaram redução no Precuneus direito ($p_{fwe}=0,012$), conforme descrito na tabela 4.

Tabela 4 - Comparação do volume de substância cinzenta do precuneus direito de pacientes com dor por OA de joelho bilateral e à direita vs controles saudáveis, com foco na redução de volume.

| Região cerebral | Tamanho do Cluster ^a | Pico de Escore Z ^b | Coordenadas x,y,z (MNI) ^c | Pf _{we} corrigido ^d |
|-----------------|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|---|
| Precuneus | 226 | 3,90 | 11 -57 37 | 0,012 |

Direito
 OA: osteoartrose; FWE indica *family-wise error*; ^a Número de *voxels* contíguos que ultrapassaram o limite inicial de $p < 0,01$ (não corrigido) no mapa de estatísticas paramétricas; ^b *Z scores* para o *voxel* de máxima significância estatística; ^c Coordenadas MNI (*Montreal Neurological Institute and Hospital*) do *voxel* de máxima significância estatística dentro de cada cluster; ^d Significância estatística após a correção para múltiplas análises; inferências feitas no nível de *voxels* individuais (correção FWE).

- Pacientes com dor por OA de joelho unilateral e bilateral, apresentaram redução no Precuneus direito ($p_{fwe}=0,014$), conforme descrito na tabela 5.

Tabela 5 - Comparação do volume de substância cinzenta do precuneus direito de pacientes com dor por OA de joelho unilateral e bilateral vs controles saudáveis, com foco na redução de volume.

| Região cerebral | Tamanho do Cluster ^a | Pico de Escore Z ^b | Coordenadas x,y,z (MNI) ^c | P _{fwe} corrigido ^d |
|-------------------|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|---|
| Precuneus Direito | 156 | 3,84 | 12 -57 37 | 0,014 |

OA: osteoartrose; FWE indica *family-wise error*; ^a Número de *voxels* contíguos que ultrapassaram o limite inicial de $p<0,01$ (não corrigido) no mapa de estatísticas paramétricas; ^b *Z scores* para o *voxel* de máxima significância estatística; ^c Coordenadas MNI (*Montreal Neurological Institute and Hospital*) do *voxel* de máxima significância estatística dentro de cada cluster; ^d Significância estatística após a correção para múltiplas análises; inferências feitas no nível de *voxels* individuais (correção FWE).

- Pacientes dor por OA de joelho direito, apresentaram redução na Ínsula direita ($p_{fwe}=0,042$), conforme descrito na tabela 6.

Tabela 6 - Comparação do volume de substância cinzenta da ínsula direita de pacientes com OA de joelho e dor à direita vs controles saudáveis, com foco na redução de volume.

| Região cerebral | Tamanho do Cluster ^a | Pico de Escore Z ^b | Coordenadas x,y,z (MNI) ^c | P _{fwe} corrigido ^d |
|-----------------|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|---|
| Ínsula Direita | 12 | 3,42 | 47 15-9 | 0,042 |

OA: osteoartrose; FWE indica *family-wise error*; ^a Número de *voxels* contíguos que ultrapassaram o limite inicial de $p<0,01$ (não corrigido) no mapa de estatísticas paramétricas; ^b *Z scores* para o *voxel* de máxima significância estatística; ^c Coordenadas MNI (*Montreal Neurological Institute and Hospital*) do *voxel* de máxima significância estatística dentro de cada cluster; ^d Significância estatística após a correção para múltiplas análises; inferências feitas no nível de *voxels* individuais (correção FWE).

-Pacientes com dor por OA de joelho direito e bilateral com utilização da covariável dificuldade, apresentaram redução no Amígdala/Hipocampo e Giro Parahipocampal esquerdos ($p_{fwe}=0,045$), Amígdala/Hipocampo e Giro Parahipocampal direitos ($p_{fwe}=0,001$), Cíngulo Anterior Esquerdo ($p_{fwe}=0,013$) e Cíngulo Anterior Direito ($p_{fwe}=0,021$), conforme descrito na Tabela 7.

Tabela 7 - Comparação do volume de substância cinzenta da amígdala, hipocampo e giro parahipocampal bilaterais, cíngulo anterior bilateral de pacientes com dor por OA de joelho bilateral e à direita, considerando a covariável dificuldade vs controles sadios, com foco na redução de volume.

| Região cerebral | Tamanho do Cluster ^a | Pico de Escore Z ^b | Coordenadas x,y,z (MNI) ^c | P _{fwe} corrigido ^d |
|--|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|---|
| Amígdala, Hipocampo e Giro Parahipocampal esquerdo | 47 | 3,40 | -20 -39 -12 | 0,045 |
| Amígdala, Hipocampo e Giro Parahipocampal direito | 1004 | 4,54 | 33 -16 -30 | 0,001 |
| Cíngulo Anterior Esquerdo | 175 | 3,74 | 0 14 30 | 0,013 |
| Cíngulo Anterior Direito | 34 | 3,53 | 2 15 28 | 0,021 |

OA: osteoartrose; FWE indica *family-wise error*; ^a Número de *voxels* contíguos que ultrapassaram o limite inicial de $p < 0,01$ (não corrigido) no mapa de estatísticas paramétricas; ^b *Z scores* para o *voxel* de máxima significância estatística; ^c Coordenadas MNI (*Montreal Neurological Institute and Hospital*) do *voxel* de máxima significância estatística dentro de cada cluster; ^d Significância estatística após a correção para múltiplas análises; inferências feitas no nível de *voxels* individuais (correção FWE).

- Pacientes com dor por OA de joelho direito e bilateral com utilização da covariável rigidez apresentaram redução na Amígdala/Hipocampo e Giro Parahipocampal direitos ($p_{fwe}=0,007$), Cíngulo Anterior esquerdo ($p_{fwe}=0,014$) e Cíngulo Anterior direito ($p_{fwe}=0,011$). Também foi observado aumento do Córtex Orbitofrontal direito ($p_{fwe}=0,006$) e Córtex Temporal Superior direito ($p_{fwe}=0,020$) nesse grupo, conforme descrito nas Tabelas 8 e 9.

Tabela 8 - Comparação do volume de substância cinzenta em amígdala, hipocampo e giro parahipocampal direitos e cíngulo anterior bilateral de pacientes com OA de joelho e dor bilateral e em joelho direito, com utilização da covariável rigidez vs controles saudáveis, com foco na redução de volume.

| Região cerebral | Tamanho do Cluster ^a | Pico de Escore Z ^b | Coordenadas x,y,z (MNI) ^c | Pf _{we} corrigido ^d |
|--|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|---|
| Amígdala, Hipocampo e Giro Parahipocampal Direitos | 456 | 4,02 | 24 -3 -36 | 0,007 |
| Cíngulo Anterior Esquerdo | 219 | 3,70 | 0 20 30 | 0,014 |
| Cíngulo Anterior direito | 110 | 3,74 | 6 18 28 | 0,011 |

OA: osteoartrose; FWE indica *family-wise error*; ^a Número de *voxels* contíguos que ultrapassaram o limite inicial de $p < 0,01$ (não corrigido) no mapa de estatísticas paramétricas; ^b *Z scores* para o *voxel* de máxima significância estatística; ^c Coordenadas MNI (*Montreal Neurological Institute and Hospital*) do *voxel* de máxima significância estatística dentro de cada cluster; ^d Significância estatística após a correção para múltiplas análises; inferências feitas no nível de *voxels* individuais (correção FWE).

Tabela 9 - Comparação do volume de substância cinzenta em córtex orbitofrontal direito e córtex temporal superior direito de pacientes com OA de joelho e dor bilateral e em joelho direito, com utilização da covariável rigidez vs controles saudáveis, com foco no aumento de volume.

| Região cerebral | Tamanho do Cluster ^a | Pico de Escore Z ^b | Coordenadas x,y,z (MNI) ^c | Pf _{we} corrigido ^d |
|----------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|---|
| Córtex Orbitofrontal Direito | 116 | 4,21 | 27 66 -3 | 0,006 |
| Córtex Temporal Superior Direito | 7722 | 4,3,77 | 55 -10 -6 | 0,020 |

OA: osteoartrose; FWE indica *family-wise error*; ^a Número de *voxels* contíguos que ultrapassaram o limite inicial de $p < 0,01$ (não corrigido) no mapa de estatísticas paramétricas; ^b *Z scores* para o *voxel* de máxima significância estatística; ^c Coordenadas MNI (*Montreal Neurological Institute and Hospital*) do *voxel* de máxima significância estatística dentro de cada cluster; ^d Significância estatística após a correção para múltiplas análises; inferências feitas no nível de *voxels* individuais (correção FWE).

-Pacientes com dor por OA de joelho esquerdo e bilateral com utilização da covariável dificuldade, apresentaram redução na Amígdala/Hipocampo e Giro Parahipocampal esquerdos ($p_{fwe}=0,026$), Amígdala/Hipocampo e Giro Parahipocampal direitos ($p_{fwe}=0,014$), Cíngulo Anterior esquerdo ($p_{fwe}<0,001$) e Cíngulo Anterior direito ($p_{fwe}=0,008$). Apresentaram também aumento no Córtex Temporal Superior Direito ($p_{fwe}=0,003$), conforme descrito nas Tabelas 10 e 11.

Tabela 10 - Comparação do volume de substância cinzenta em amígdala, hipocampo e giro parahipocampal bilateral e cíngulo anterior bilateral de pacientes com OA de joelho e dor bilateral e em joelho esquerdo, com utilização da covariável dificuldade vs controles saudáveis, com foco na redução de volume.

| Região cerebral | Tamanho do Cluster ^a | Pico de Escore Z ^b | Coordenadas x,y,z (MNI) ^c | P _{fwe} corrigido ^d |
|---|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|---|
| Amígdala, Hipocampo e Giro Parahipocampal Esquerdos | 72 | 3,57 | -24 -33 -18 | 0,026 |
| Amígdala, Hipocampo e Giro Parahipocampal Direitos | 726 | 3,81 | 26 -27 -26 | 0,014 |
| Cíngulo Anterior Esquerdo | 436 | 4,68 | -6 15 24 | <0,001 |
| Cíngulo Anterior Direito | 122 | 3,80 | 2 15 28 | 0,008 |

OA: osteoartrose; FWE indica *family-wise error*; ^a Número de *voxels* contíguos que ultrapassaram o limite inicial de $p<0,01$ (não corrigido) no mapa de estatísticas paramétricas; ^b *Z scores* para o *voxel* de máxima significância estatística; ^c Coordenadas MNI (*Montreal Neurological Institute and Hospital*) do *voxel* de máxima significância estatística dentro de cada cluster; ^d Significância estatística após a correção para múltiplas análises; inferências feitas no nível de *voxels* individuais (correção FWE).

Tabela 11 - Comparação do volume de substância cinzenta em córtex temporal superior direito de pacientes com OA de joelho e dor bilateral e em joelho esquerdo, com utilização da covariável dificuldade vs controles saudios, com foco no aumento de volume.

| Região cerebral | Tamanho do Cluster ^a | Pico de Escore Z ^b | Coordenadas x,y,z (MNI) ^c | Pf _{we} corrigido ^d |
|----------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|---|
| Córtex Temporal Superior Direito | 764 | 4,31 | 62 -9 -9 | 0,003 |

OA: osteoartrose; FWE indica *family-wise error*; ^a Número de *voxels* contíguos que ultrapassaram o limite inicial de $p < 0,01$ (não corrigido) no mapa de estatísticas paramétricas; ^b *Z scores* para o *voxel* de máxima significância estatística; ^c Coordenadas MNI (*Montreal Neurological Institute and Hospital*) do *voxel* de máxima significância estatística dentro de cada cluster; ^d Significância estatística após a correção para múltiplas análises; inferências feitas no nível de *voxels* individuais (correção FWE).

-Pacientes com dor por OA de joelho esquerdo e bilateral com utilização da covariável rigidez, apresentaram redução no Cíngulo Anterior esquerdo ($p_{fwe}=0,005$) e no Cíngulo Anterior direito ($p_{fwe}=0,011$). Também apresentaram aumento na região do Córtex Temporal Superior direito ($p_{fwe}=0,021$) conforme as Tabela 12 e 13.

Tabela 12 - Comparação do volume de substância cinzenta em cíngulo anterior bilateral de pacientes com OA de joelho e dor bilateral e em joelho esquerdo, com utilização da covariável rigidez vs controles saudios, com foco na redução de volume.

| Região cerebral | Tamanho do Cluster ^a | Pico de Escore Z ^b | Coordenadas x,y,z (MNI) ^c | Pf _{we} corrigido ^d |
|---------------------------|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|---|
| Cíngulo Anterior Esquerdo | 399 | 3,99 | -5 21 21 | 0,005 |
| Cíngulo Anterior Direito | 246 | 3,71 | 2 21 25 | 0,011 |

OA: osteoartrose; FWE indica *family-wise error*; ^a Número de *voxels* contíguos que ultrapassaram o limite inicial de $p < 0,01$ (não corrigido) no mapa de estatísticas paramétricas; ^b *Z scores* para o *voxel* de máxima significância estatística; ^c Coordenadas MNI (*Montreal Neurological Institute and Hospital*) do *voxel* de máxima significância estatística dentro de cada cluster; ^d Significância estatística após a correção para múltiplas análises; inferências feitas no nível de *voxels* individuais (correção FWE).

Tabela 13 - Comparação do volume de substância cinzenta em córtex temporal superior direito de pacientes com OA de joelho e dor bilateral e em joelho esquerdo, com utilização da covariável rigidez vs controles saudáveis, com foco no aumento de volume

| Região cerebral | Tamanho do Cluster ^a | Pico de Escore Z ^b | Coordenadas x,y,z (MNI) ^c | P _{fwe} corrigido ^d |
|----------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|---|
| Córtex Temporal Superior Direito | 336 | 3,73 | 63 -10 -8 | 0,021 |

OA: osteoartrose; FWE indica *family-wise error*; ^a Número de *voxels* contíguos que ultrapassaram o limite inicial de $p < 0,01$ (não corrigido) no mapa de estatísticas paramétricas; ^b *Z scores* para o *voxel* de máxima significância estatística; ^c Coordenadas MNI (*Montreal Neurological Institute and Hospital*) do *voxel* de máxima significância estatística dentro de cada cluster; ^d Significância estatística após a correção para múltiplas análises; inferências feitas no nível de *voxels* individuais (correção FWE).

Na comparação do volume cerebral total de pacientes com dor por OA de joelho vs CS, não foram observadas nem aumento ($p_{fwe}=0,923$) e nem redução ($p_{fwe}=0,313$) no volume cerebral total de SC, conforme as tabelas 14 e 15.

Tabela 14 - Comparação do aumento do volume de substancia cinzenta total de pacientes com OA de joelho vs controles saudáveis, com foco no aumento de volume.

| Região cerebral | Tamanho do Cluster ^a | Pico de Escore Z ^b | Coordenadas x,y,z (MNI) ^c | P _{fwe} corrigido ^d |
|-----------------|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|---|
| Total de SC | 15 | 3,36 | 42 15 9 | 0,923 |

OA: osteoartrose; FWE indica *family-wise error*; ^a Número de *voxels* contíguos que ultrapassaram o limite inicial de $p < 0,01$ (não corrigido) no mapa de estatísticas paramétricas; ^b *Z scores* para o *voxel* de máxima significância estatística; ^c Coordenadas MNI (*Montreal Neurological Institute and Hospital*) do *voxel* de máxima significância estatística dentro de cada cluster; ^d Significância estatística após a correção para múltiplas análises; inferências feitas no nível de *voxels* individuais (correção FWE).

Tabela 15 - Comparação da redução do volume de substancia cinzenta total de pacientes com OA de joelho vs controles saudáveis, com foco na redução de volume.

| Região cerebral | Tamanho do Cluster ^a | Pico de Escore Z ^b | Coordenadas x,y,z (MNI) ^c | P _{fwe} corrigido ^d |
|-----------------|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|---|
| Total de SC | 461 | 3,99 | 20 -70 -36 | 0,313 |

OA: osteoartrose; FWE indica *family-wise error*; ^a Número de *voxels* contíguos que ultrapassaram o limite inicial de $p < 0,01$ (não corrigido) no mapa de estatísticas paramétricas; ^b *Z scores* para o *voxel* de máxima significância estatística; ^c Coordenadas MNI (*Montreal Neurological Institute and Hospital*) do *voxel* de máxima significância estatística dentro de cada cluster; ^d Significância estatística após a correção para múltiplas análises; inferências feitas no nível de *voxels* individuais (correção FWE).

6. DISCUSSÃO

Nosso estudo buscou alteração do volume de SC em pacientes com dor devido a OA grave de joelhos utilizando-se da metodologia da morfometria baseada em *voxel* (VBM). Já há relatos na literatura, descrevendo as alterações do volume de SC em quadros algícos como dor crônica (Rodriguez-Raecke et al., 2009), dor lombar crônica (Apkarian et al., 2004); fibromialgia (Kuchinad et al., 2007); OA do quadril (Gwilym et al., 2010; Barroso et al., 2020)

No entanto, a associação com a dor por OA de joelho, principal causa de disfunção funcional na população acima de 60 anos no Brasil (De Rosis et al., 2010), foi considerada em apenas quatro estudos (Liao et al., 2018; Lewis et al., 2018; Barroso et al., 2020; Kang et al., 2021). Assim, optamos por estudar o volume cerebral de um grupo de pacientes com dor por OA grave de joelho em lista de espera para artroplastia total do joelho, comparando seu volume de SC de regiões cerebrais consideradas *a priori* (ínsula, córtex pré-frontal, córtex dorsolateral, córtex ventrolateral, córtex temporal, córtex parietal, cíngulo e tálamo), com base nos estudos anteriores associando dor e volume cerebral citados previamente nesta discussão, com estas mesmas áreas do grupo de CS,

Nenhuma alteração no volume cerebral total foi observada em nosso estudo. Na análise *Voxel-by-Voxel*, observamos alterações em regiões cerebrais. Houve redução de SC nas áreas do cíngulo anterior bilateral; amígdala, hipocampo e giro parahipocampal bilateral; córtex orbitofrontal bilateral; ínsula direita e precuneus direito. Também observamos aumento do volume SC na ínsula direita, no córtex orbitofrontal bilateral e no córtex temporal superior direito. Esses achados estão de acordo com estudos anteriores e corroboram a hipótese de que a dor altera o volume de SC.

Ainda não há estudos específicos na literatura que elucidem a ligação entre estímulo e aumento ou redução na SC. O que foi observado até o momento, em pacientes com enxaqueca sem aura, é que pacientes com quadros de cefaléia menos frequente apresentaram tendência a aumento de SC, e quadros de cefaleia mais frequentes apresentaram tendência a redução de SC (Yu et al., 2021). Observou-se também aumento de SC após tarefas motoras curtas (Olivo et al., 2022) Modelos em ratos utilizando um estímulo único de alta frequência por uma hora

demonstraram aumento do volume cerebral, sendo observado aumento do diâmetro da árvore basal dendrítica (Bezchlibnyk et al., 2017). Estudos anteriores relacionando dor crônica e alteração de volume de SC, demonstraram redução em regiões ativas durante o processamento da dor e associado à multidimensionalidade da dor como tálamo (Apkarian et al., 2004; Gwilym et al. 2010; Liu et al. 2019), ínsula (Geha et al. 2008) e córtex pré-frontal dorsolateral (Apkarian et al., 2004). Dessa forma, sugerimos a hipótese de que estímulos transitórios aumentem o volume de SC, e estímulos frequentes e persistentes reduzam o volume de SC.

Em nosso estudo, a alteração no volume de SC na comparação direta (sem utilização de covariáveis) entre pacientes e CS, demonstrou alterações apenas nas regiões do precuneus e da ínsula. Entretanto, quando foi realizada a análise com utilização das covariáveis rigidez e dificuldade, houve alteração do volume no cíngulo anterior; córtex orbitofrontal; amígdala, hipocampo e giro parahipocampal e córtex temporal superior. Uma vez que essas regiões não participam somente da ampla rede que engloba a dor, mas também das atividades cerebrais como processos cognitivos, tais como memória episódica, processamento espacial e a relação com os processos afetivo-emocionais, esses achados podem sugerir a hipótese de que as alterações de volume de SC não se devem exclusivamente à dor, mas também ao que engloba as consequências da OA de joelho, como a dificuldade motora e rigidez.

Deste modo, observamos que a dor é um fator importante, mas não único, a influenciar a volume de SC. Assim, cada região cerebral com volume de SC alterado em nosso estudo apresenta peculiaridades funcionais que se relacionam de forma diferente às covariáveis estudadas. Essas regiões serão descritas separadamente, para que suas peculiaridades sejam devidamente explicitadas.

Nossos achados apontam para redução do volume de SC na região precuneus à direita, em relação aos voluntários saudáveis. Esse resultado está de acordo com os achados de Barroso et al., 2020. O precuneus está localizado na região central do lóbulo parietal superior, em frente ao cúneo. Sabemos que o núcleo precuneus é uma das estruturas cerebrais envolvidas no processamento da dor, embora a representação cortical da dor não envolva diretamente o precuneus (Cavanna, Trimble, 2006). Ele está relacionado também, à interpretação de quanto doloroso pode ser um determinado estímulo nociceptivo externo (Goffaux et al., 2020). Assim, uma vez que a sensibilidade à dor difere entre os indivíduos, e essa diferença pode estar ligada

a variedades da intensidade da estimulação do precuneus entre indivíduos, nas respostas dolorosas (Goffaux et al., 2020).

Devido ao seu desempenho em tarefas integradas de funções executivas e sensopercepção, incluindo recuperação de memória episódica; operações de autoprocessoamento como o autorreconhecimento através da perspectiva em primeira pessoa (Asakage, Nakano, 2023); construção de imagens visuoespaciais e seu processamento e seu papel na percepção de sensações autorreferenciais (Cavanna, Trimble, 2006), pode-se propor também, que a atividade do precuneus é necessária para integrar experiências funcionalmente significativas na autoconsciência corporal, especialmente se essas experiências envolverem eventos como estímulos nocivos.

O estudo de Fransson e Marrelec, 2008, sugeriu o papel do nó precuneus/região do cíngulo posterior com o restante da rede cerebral padrão, um conjunto de regiões que é ativado espontaneamente em momentos passivos, atuando como um nó de convergência com a cognição e integrando processamento de informações e funções executivas. Assim, o precuneus apresenta-se como uma chave importante em aspectos não só da dor, mas na integração de aspectos fundamentais do autoprocessoamento, podendo assim ser objeto de estudos futuros em relação a aspectos que avaliam relações entre dor, cognição e a rede cerebral padrão.

Dessa forma, a redução volume observado no precuneus observada em nosso estudo, pode ser resultado não apenas de uma hiperativação crônica por consequência da dor, mas também por consequência das transformações das operações de autoprocessoamento determinadas pela formatação do espaço visual, exigidas no cotidiano de pessoas com dor de OA no joelho.

Houve redução do volume da ínsula em nosso estudo, o que está de acordo com estudos que relacionam alterações do volume cerebral e dor. Ela apresenta conexões com áreas frontais, do cíngulo anterior e córtex parietal, se envolvendo em processos de controle cognitivo; conexões com áreas límbicas, com ação no processamento emocional da dor e em processos afetivos; além de apresentar conexões com áreas do processamento sensório-motor.

A ínsula é importante na modulação da nocicepção. Suas projeções do núcleo talâmico medial sugerem seu papel nos componentes afetivo/motivacional da dor, e suas projeções para os circuitos pré-frontais mesolímbicos/mesocorticais participam do processo de integração nociceptiva e sensório-motora. Também atua no controle inibitório descendente da dor por meio

de suas projeções ao tronco encefálico, agindo também na modulação da dor (Barazanji et al., 2022; Chen et al., 2006; Kim et al., 2017; Ansell et al., 2012).

Por conseguinte, hiperativação crônica insular devido a processos que incluem não apenas a dor crônica, mas também de abrangência emocional que envolve o processos dolorosos, pode ajudar a explicar sua redução de volume nos pacientes por nós estudados.

Observamos redução de volume nas regiões da amígdala, hipocampo e do giro parahipocampal quando da utilização das covariáveis dificuldade e rigidez. Esta redução apresentou-se também no estudos que relacionam alterações de volume cerebral e dor. A amígdala está relacionada a uma função importante para o reconhecimento de emoções, comportamento e processamento de informações multimodais. Ela se apresenta como um grupo de núcleos heterogêneos na porção medial do córtex temporal. Outro papel importante desempenhado pela amígdala é a expressão de respostas de medo condicionadas (palovianas) (Fanselow, LeDoux, 1999; Maren et al., 2008; Yu et al., 2023). Os neurônios da amígdala diferenciam a valência da resposta ao estímulo (significado afetivo positivo ou negativo) e, por meio de suas interconexões com o córtex pré-frontal, auxiliam na representação de valores necessários para a tomada de decisão baseada em recompensa.

A amígdala também desempenha um papel no dimensionamento da dor com sua relação emocional e, assim, por meio da interação com áreas corticais, também contribui para a tomada de decisões relacionadas à dor (Hao et al., 2023; Djerdjaj et al. 2023).

O hipocampo tem função importante na construção e ativação da memória episódica, sendo importante não apenas no recordar de eventos dolorosos, mas também reconhecimento de condições ambientais com potencial de gerar dano ao indivíduo (Auguste et al., 2023; Jun et al., 2023; Flanagan et al., 2023; Knierim, 2015) .

O giro parahipocampal desempenha um papel no reconhecimento da cena visual espacial. Juntamente com a amígdala, eles podem desempenhar um papel na investigação das condições do ambiente, antecipando a dor e trabalhando na interpretação emocional da dor.

Em nosso estudo, a amígdala, o hipocampo e o giro parahipocampal, componentes do sistema límbico e estudados conjuntamente devido não somente a sua proximidade espacial, mas também à sua interrelação funcional, apresentaram redução somente quando foram avaliadas utilizando-se as covariáveis rigidez e dificuldade. Esse fato pode indicar que sua hiperativação crônica pela dor talvez não seja suficiente para sua redução ser significativa, mas somando-se à dor as transformações emocionais impostas pelo prejuízo da relação sujeito-

ambiente consequentes da OA de joelho, essa hiperativação crônica acaba por resultar em redução nessas áreas.

No presente estudo, observamos aumento de volume de SC no giro temporal superior direito de pacientes com dor por OA de joelho, quando analisada utilizando-se as covariáveis rigidez e dificuldade. Estudos anteriores relacionando dor e alterações no volume da SC não demonstraram alteração no volume dessa região. O giro temporal superior está relacionado às memórias dolorosas, que influenciam a experiência da dor. Também atua no processamento espacial centrado no estímulo. Dessa forma, a dor parece não ser a responsável pelo seu aumento, e sim a sua utilização intermitente e repetida na presença do processamento espacial em conjunto com o estímulo, muito recorrente em pacientes com OA grave de joelho

Observamos também, aumento de volume de SC na região orbitofrontal em pacientes com dor por OA grave de joelho, utilizando-se as covariáveis rigidez e dificuldade. Esse achado não foi observado em estudos anteriores. A região orbitofrontal está relacionada à tomada de decisão (Noonan et al., 2017), e seu aumento pode estar correlacionado à necessidade intermitente e frequente de uma tomada de decisão mais eficiente em situações de comprometimento da locomoção. Dessa forma, possivelmente, seu aumento não se daria pela dor, e sim pela necessidade de sua utilização para a recorrente adaptação ambiental na locomoção do paciente com OA grave de joelho.

O cíngulo anterior apresentou redução de seu volume no lado contralateral à dor quando a análise foi realizada utilizando-se as covariáveis dificuldade e rigidez. Estudos anteriores demonstram relação direta entre a redução do cíngulo anterior e a dor. Em nosso estudo, sem a análise das covariáveis rigidez e dificuldade de movimentos, a dor, isoladamente, não evidenciou uma redução nesta região. Sabe-se que cíngulo anterior contribui para a parte emocional da dor, atuando na interpretação dos estímulos dolorosos (Ansell et al., 2012; Xiao, Zhang, 2018). Atua também na modulação da dor neuropática (Lançon et al., 2012; Wang et al., 2021; Tsuda et al. 2017), além de uma função adaptativa rápida a mudanças externas (Barrett et al., 2019) e resolução de problemas (Zhu Xet al., 2021). Assim, o processamento emocional da dor pode sim influenciar na sua ativação e consequente redução. Porém, em nosso estudo, essa ativação pela dor foi insuficiente para haver redução significativa do volume cerebral dessa área. A ação conjunta que a tríade dor, rigidez e dificuldade impõe à relação do indivíduo com OA de joelho e o meio externo, resulta na necessidade adaptativa persistente do

indivíduo, possivelmente resultando na ativação crônica do cíngulo anterior, que pode explicar essa redução de volume.

Os dados observados do presente estudo demonstram uma possível conexão entre estrutura cerebral e estímulo. As causas dessa modificação da estrutura cerebral por estímulo ainda não estão completamente elucidadas. Ainda não se sabe se essas alterações de morfologia cerebral decorrentes de estímulo determinam alterações cognitivas e emocionais transitórias ou permanentes. Estudos anteriores (Seminowicz et al., 2013; Lewis et al., 2018; Seminowicz et al., 2021) já apontavam para a reversibilidade do processo de redução do volume cerebral. O estudo com pacientes com OA de joelho demonstra a reversibilidade das alterações estruturais no cérebro com a artroplastia total do joelho (Lewis et al., 2018).

Desta forma, este estudo ajuda a abrir novos campos para a compreensão de que não somente a dor e seu componente emocional, mas também a necessidade de adaptação ambiental imposta pela própria etiologia que causa a dor, podem influenciar morfologicamente o cérebro. Nossos resultados suportam a hipótese de alteração volumétrica cerebral em pacientes com dor relacionada à OA de joelho. As características cerebrais demonstram envolvimento de áreas relacionadas ao processamento visuoespacial, processamento da dor, tomada de decisão e interpretação emocional da dor, o que indica não apenas alterações em regiões diretamente ligadas à dor, mas também na sua interpretação e na forma como nos relacionamos com a dor. Tais achados podem ser úteis na busca de biomarcadores e podem iniciar a busca por alterações cognitivas relacionadas à dor e a tomada de decisão para uma intervenção mais agressiva na dor.

Como limitações de nosso estudo, destacamos que não realizamos a análise do estado cognitivo de pacientes com dor por OA de joelho e voluntários saudáveis, não sendo possível analisar possíveis consequências cognitivas das alterações de volume cerebral encontradas. Consideramos também como limitação a não realização de uma análise histopatológica, que forneceria informações importantes sobre o motivo fisiopatológico da variação de volume e os possíveis impactos da essas mudanças nas funções cerebrais do indivíduo.

7. CONCLUSÃO:

Há alterações volumétricas cerebrais em pacientes com dor relacionada à osteoartrose primária grave do joelho em comparação com controles saudáveis.

Há menor volume da substância cinzenta no precuneus direito, cíngulo anterior bilateral; amígdala, hipocampo e giro parahipocampal bilateral e insula direita nas pessoas com osteoartrose grave dos joelhos.

Há aumento no córtex temporal superior direito e córtex orbitofrontal direito nas pessoas com osteoartrose grave dos joelhos.

Não há diferenças na substância cinzenta cerebral total.

8. REFERÊNCIAS

Ansell EB, Rando K, Tuit K, Guarnaccia J, Sinha R. Cumulative adversity and smaller gray matter volume in medial prefrontal, anterior cingulate, and insula regions. *Biol Psychiatry*. 2012 Jul 1;72(1):57-64.

Apkarian AV, Sosa Y, Sonty S, Levy RM, Harden RN, Parrish TB, Gitelman DR. Chronic back pain is associated with decreased prefrontal and thalamic gray matter density. *J Neurosci*. 2004 Nov 17;24(46):10410-5.

Asakage S, Nakano T. The salience network is activated during self-recognition from both first-person and third-person perspectives, *Hum Brain Mapp*. 2023 Feb 1;44(2):559-70.

Auguste A, Fourcaud-Trocme N, Meunier D, Gros A, Garcia S, Messaoudi B, Thevenet M, Ravel N, Veyrac A. Distinct brain networks for remote episodic memory depending on content and emotional experience. *Prog Neurobiol*. 2023 Feb 15:102422.

Bannuru RR, Osani MC, Vaysbrot EE, Arden NK, Bennell K, Bierma-Zeinstra SMA, Kraus VB, Lohmander LS, Abbott JH, Bhandari M, Blanco FJ, Espinosa R, Haugen IK, Lin J, Mandl LA, Moilanen E, Nakamura N, Snyder-Mackler L, Trojian T, Underwood M, McAlindon TE. OARSI guidelines for the non-surgical management of knee, hip, and polyarticular osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2019 Nov;27(11):1578-89.

Barazanji N, et al. Irritable bowel syndrome in women: Association between decreased insular subregion volumes and gastrointestinal symptoms. *Neuroimage Clin.*, 2022;35:103128, Epub 2022 Jul 28.

Barazanji N, Paul Hamilton J, Icenhour A, Simon RA, Bednarska O, Tapper S, Tisell A, Lundberg P, Engström M, Walter S. Irritable bowel syndrome in women: Association between decreased insular subregion volumes and gastrointestinal symptoms. *Neuroimage Clin.* 2022;35:103128.

Barrett AM, Abdou A, Caulfield MD. The cingulate cortex and spatial neglect, *Handb Clin Neurol.* 2019;166:129-150.

Barroso J, Vigotsky AD, Branco P, Reis AM, Schnitzer TJ, Galhardo V, Apkarian AV. Brain gray matter abnormalities in osteoarthritis pain: a cross-sectional evaluation. *Pain.* 2020 Sep 1;161(9):2167-78.

Bezchlibnyk YB, Stone SSD, Hamani C, Lozano AM, High frequency stimulation of the infralimbic cortex induces morphological changes in rat hippocampal neurons. *Brain Stimul.* 2017 Mar-Apr;10(2):315-23.

Cavanna AE, Trimble MR. The precuneus: a review of its functional anatomy and behavioural correlates. *Brain.* 2006 Mar;129(Pt 3):564-83.

Chen PS, McQuoid DR, Payne ME, Steffens DC. White matter and subcortical gray matter lesion volume changes and late-life depression outcome: a 4-year magnetic resonance imaging study. *Int Psychogeriatr.* 2006 Sep;18(3):445-56.

De Rosis RG, Massabki PS, Kairalla M. Osteoarthritis: clinical and epidemiological assessment of elderly patients in institution of long-stay. *Rev Bras Clin Med* 2010;8(2):101-8.

Djerdjaj A, Rieger NS, Brady BH, Carey BN, Ng AJ, Christianson JP. Social affective behaviors among female rats involve the basolateral amygdala and insular cortex. *bioRxiv [Preprint].* 2023 Feb 3:2023.02.02.526780.

Duran F, *Análise morfométrica voxel-a-voxel de estudos de ressonância magnética do crânio em transtornos psiquiátricos e neurológicos: implementação e otimização de métodos*. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Psiquiatria da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2008.

Fanselow MS, LeDoux JE. Why we think plasticity underlying Pavlovian fear conditioning occurs in the basolateral amygdala. *Neuron*. 1999 Jun;23(2):229-32.

Flanagin VL, Klinkowski S, Brodt S, Graetsch M, Roselli C, Glasauer S, Gais S. The precuneus as a central node in declarative memory retrieval. *Cereb Cortex*. 2023 Jan 4:bhac476.

Fransson P, Marrelec G. The precuneus/posterior cingulate cortex plays a pivotal role in the default mode network: Evidence from a partial correlation network analysis. *Neuroimage*. 2008 Sep 1;42(3):1178-84.

Databases. Springer, Boston, MA. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1079-6> 16

GBD 2017 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2018 Nov 10;392(10159):1789-858.

Geha PY, Baliki MN, Harden RN, Bauer WR, Parrish TB, Apkarian AV. The brain in chronic CRPS pain: abnormal gray-white matter interactions in emotional and autonomic regions. *Neuron*. 2008 Nov 26;60(4):570-81.

Goffaux P, Girard-Tremblay L, Marchand S, Daigle K, Whittingstall K. Individual differences in pain sensitivity vary as a function of precuneus reactivity. *Brain Topogr.* 2014 May;27(3):366-74.

Gonzalez RC, Woods RE. *Processamento de Imagens Digitais*. Edgard Blücher, 2000.

Gwilym SE, Filippini N, Douaud G, Carr AJ, Tracey I. Thalamic atrophy associated with painful osteoarthritis of the hip is reversible after arthroplasty: a longitudinal voxel-based morphometric study. *Arthritis Rheum.* 2010 Oct;62(10):2930-40.

Hao, Z., Li, H., Ouyang, L., Sun, F., Wen, X., & Wang, X. (2023). Pain avoidance and functional connectivity between insula and amygdala identifies suicidal attempters in patients with major depressive disorder using machine learning. *Psychophysiology*, 60(1), e14136.

Imamura M, Imamura ST, Kaziyama HH, Targino RA, Hsing WT, de Souza LP, Cutait MM, Fregni F, Camanho GL. Impact of nervous system hyperalgesia on pain, disability, and quality of life in patients with knee osteoarthritis: a controlled analysis. *Arthritis Rheum.* 2008 Oct 15;59(10):1424-31.

Jun S, Kim JS, Chung CK. Hippocampal Neuronal Activity Preceding Stimulus Predicts Later Memory Success. *eNeuro.* 2023 Feb 15;10(2):ENEURO.0252-22.2023.

Kang BX, Ma J, Shen J, Xu H, Wang HQ, Zhao C, Xie J, Zhong S, Gao CX, Xu XR, A XY, Gu XL, Xiao L, Xu J. Altered brain activity in end-stage knee osteoarthritis revealed by resting-state functional magnetic resonance imaging. *Brain Behav.* 2022 Jan;12(1):e2479.

Kim JH, Impaired insula functional connectivity associated with persistent pain perception in patients with complex regional pain syndrome, PLoS One, 2017 Jul 10;12(7):e0180479.

Knierim JJ, The hippocampus. Curr Biol. 2015 Dec 7;25(23):R1116-21.

Kuchinad A, Schweinhardt P, Seminowicz DA, Wood PB, Chizh BA, Bushnell MC. Accelerated brain gray matter loss in fibromyalgia patients: premature aging of the brain? J Neurosci. 2007 Apr 11;27(15):4004-7.

Lançon K, Qu C, Navratilova E, Porreca F, Séguéla P, Decreased dopaminergic inhibition of pyramidal neurons in anterior cingulate cortex maintains chronic neuropathic pain, Cell Rep. 2021 Nov 30;37(9):109933.

Lewis GN, Parker RS, Sharma S, Rice DA, McNair PJ. Structural Brain Alterations Before and After Total Knee Arthroplasty: A Longitudinal Assessment. Pain Med. 2018 Nov 1;19(11):2166-76.

Liao X, Mao C, Wang Y, Zhang Q, Cao D, Seminowicz DA, Zhang M, Yang X. Brain gray matter alterations in Chinese patients with chronic knee osteoarthritis pain based on voxel-based morphometry. Medicine (Baltimore). 2018 Mar;97(12):e0145.

Liu J, Gu L, Huang Q, Hong S, Zeng X, Zhang D, Zhou F, Jiang J. Altered gray matter volume in patients with herpes zoster and postherpetic neuralgia. J Pain Res. 2019 Feb 7;12:605-16.

Mallio CA, Bernetti C, Agostini F, Mangone M, Paoloni M, Santilli G, Martina FM, Quattrocchi CC, Zobel BB, Bernetti A. Advanced MR Imaging for Knee Osteoarthritis: A Review on Local and Brain Effects. Diagnostics (Basel). 2022 Dec 24;13(1):54.

Maren, S. (2008) Pavlovian fear conditioning as a behavioral assay for hippocampus and amygdala function: cautions and caveats. *European Journal of Neuroscience*, 28(8), 1661-66.

Mole TB, MacIver K, Sluming V, Ridgway GR, Nurmikko TJ. Specific brain morphometric changes in spinal cord injury with and without neuropathic pain. *Neuroimage Clin*. 2014 Jun 2;5:28-35.

Moriarty O, Finn DP. Cognition and Pain, *Curr Opin Support Palliat Care*. 2014 Jun;8(2):130-6.

Neugebauer V. Amygdala pain mechanisms. *Handb Exp Pharmacol*. 2015;227:261-84.

Obermann M, Nebel K, Schumann C, Holle D, Gizewski ER, Maschke M, Goadsby PJ, Diener HC, Katsarava Z. Gray matter changes related to chronic posttraumatic headache. *Neurology*. 2009 Sep 22;73(12):978-83.

Okada T, Tanaka M, Kuratsune H, Watanabe Y, Sadato N. Mechanisms underlying fatigue: a voxel-based morphometric study of chronic fatigue syndrome. *BMC Neurol*. 2004 Oct 4;4(1):14.

Puig-Junoy J, Ruiz Zamora A. Socio-economic costs of osteoarthritis: a systematic review of cost-of-illness studies. *Semin Arthritis Rheum*. 2015 Apr;44(5):531-41.

Rodriguez-Raecke R, Niemeier A, Ihle K, Ruether W, May A. Brain gray matter decrease in chronic pain is the consequence and not the cause of pain. *J Neurosci*. 2009 Nov 4;29(44):13746-50.

Safiri S, Kolahi AA, Smith E, Hill C, Bettampadi D, Mansournia MA, Hoy D, Ashrafi-Asgarabad A, Sepidarkish M, Almasi-Hashiani A, Collins G, Kaufman J, Qorbani M, Moradi-Lakeh M, Woolf AD, Guillemin F, March L, Cross M. Global, regional and national burden of osteoarthritis 1990-2017: a systematic analysis of the Global Burden of Disease Study 2017. *Ann Rheum Dis.* 2020 Jun;79(6):819-28.

Schmidt-Wilcke T, Leinisch E, Straube A, Kämpfe N, Draganski B, Diener HC, Bogdahn U, May A. Gray matter decrease in patients with chronic tension type headache. *Neurology.* 2005 Nov 8;65(9):1483-6.

Squarzoni P. *Alterações cerebrais associadas à presença de déficits cognitivos em idosos: um estudo usando morfometria voxel-a-voxel por ressonância magnética.*. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Psiquiatria da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2010.

Seminowicz DA, Shpaner M, Keaser ML, Krauthamer GM, Mantegna J, Dumas JA, Newhouse PA, Filippi CG, Keefe FJ, Naylor MR. Cognitive-behavioral therapy increases prefrontal cortex gray matter in patients with chronic pain. *J Pain.* 2013 Dec;14(12):1573-84.

Seminowicz DA, Wideman TH, Naso L, Hatami-Khoroushahi Z, Fallatah S, Ware MA, Jarzem P, Bushnell MC, Shir Y, Ouellet JA, Stone LS. Effective treatment of chronic low back pain in humans reverses abnormal brain anatomy and function. *J Neurosci* 2011;31(20):7540–50.

Shah-Basak PP, The role of the right superior temporal gyrus in stimulus-centered spatial processing, *Neuropsychologia.* 2018 May;113:6-13.

Talairach J, Tournoux P. *Co-Planar Stereotaxic Atlas of the Human Brain.* New York: Thieme Medical Publishers Inc, 1998.

Tsuda M, Koga K, Chen T, Zhuo M. Neuronal and microglial mechanisms for neuropathic pain in the spinal dorsal horn and anterior cingulate cortex, *J Neurochem*. 2017 May;141(4):486-98.

Villarreal G, Hamilton DA, Petropoulos H, Driscoll I, Rowland LM, Griego JA, Kodituwakku PW, Hart BL, Escalona R, Brooks WM. Reduced hippocampal volume and total white matter volume in posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry*. 2002 Jul 15;52(2):119-25.

Wang YQ, Wang J, Xia SH, Gutstein HB, Huang YH, Schlüter OM, Cao JL, Dong Y. Neuropathic pain generates silent synapses in thalamic projection to anterior cingulate cortex. *Pain*. 2021 May 1;162(5):1322-33.

Xiao X, Zhang YQ. A new perspective on the anterior cingulate cortex and affective pain. *Neurosci Biobehav Rev*. 2018 Jul;90:200-211.

Xie F, Kovic B, Jin X, He X, Wang M, Silvestre C. Economic and Humanistic Burden of Osteoarthritis: A Systematic Review of Large Sample Studies. *Pharmacoeconomics*. 2016 Nov;34(11):1087-100.

Xie YF, Huo FQ, Tang JS. Cerebral cortex modulation of pain. *Acta Pharmacol Sin*. 2009 Jan;30(1):31-41.

Yu Y, Zhao H, Dai L, Su Y, Wang X, Chen C, Shang Y, Ke J, Hu C. Headache frequency associates with brain microstructure changes in patients with migraine without aura. *Brain Imaging Behav*. 2021 Feb;15(1):60-67.

Yu Z, Kisner A, Bhatt A, Polter AM, Marvar PJ. Central amygdala angiotensin type 1 receptor (Agt1) expressing neurons contribute to fear extinction. *Neuropharmacology*. 2023 Feb 17;229:109460.

Zhu X, Oh Y, Chesebrough C, Zhang F, Kounios J, Pre-stimulus brain oscillations predict insight versus analytic problem-solving in an anagram task. *Neuropsychologia*. 2021 Nov 12;162:108044.