



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:
NEUROCIÊNCIAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE**

TESE DE DOUTORADO

**TRANSTORNOS DE ANSIEDADE E LINGUAGEM EM CRIANÇAS
E ADOLESCENTES: ESTUDOS DE NEUROPSICOLOGIA E
NEUROIMAGEM FUNCIONAL**

Rudineia Toazza

Orientadora: Profa. Dra. Gisele Gus Manfro

Porto Alegre

2016

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:
NEUROCIÊNCIAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE**

TESE DE DOUTORADO

**TRANSTORNOS DE ANSIEDADE E LINGUAGEM EM CRIANÇAS
E ADOLESCENTES: ESTUDOS DE NEUROPSICOLOGIA E
NEUROIMAGEM FUNCIONAL**

Rudineia Toazza

Orientadora: Profa. Dra. Gisele Gus Manfro

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências Biológicas: Neurociências, como
requisito parcial para obtenção do título de Doutor.

Porto Alegre

2016

...bem antes de servir para comunicar, a linguagem serve para viver. Se nós colocarmos que à falta de linguagem não haveria nem possibilidade de sociedade sem possibilidade de humanidade, é precisamente porque o próprio da linguagem é, antes de tudo, significar.

-Émile Benveniste

Para meus pais, Valdir e Maria Helena Toazza.

Por me ensinarem que todos os objetivos podem ser alcançados e os obstáculos superados;

Por abrirem mão dos seus próprios sonhos para que a nossa educação fosse prioridade.

AGRADECIMENTOS

*Gostaria de agradecer em primeiro lugar à minha querida orientadora **Prof. Dra. Gisele Gus Manfro**, quem eu admiro muito e tive o privilégio de conhecer e conviver. Obrigada por todo aprendizado nesses anos de trabalho, aprendizado não só técnico e científico, mas também aprendizado emocional. Obrigada por todo carinho e preocupação dispendidos, especialmente nos momentos mais difíceis da academia e da vida.*

*Ao **Prof. Dr. Augusto Buchweitz**, sempre presente desde meados do Mestrado e como co-orientador nesse projeto de Doutorado. Obrigada pelo incentivo, por ajudar na construção e desenvolvimento desse projeto tão ambicioso, assim como o valioso auxílio dos seus alunos **Valentina Cara** e **Cristiano Aguzzoli**. Obrigada por nos manter sempre confiantes à espera de bons resultados.*

*Ao meu marido e colega de trabalho **Prof. Dr. Giovanni Abrahão Salum Junior** por todo suporte emocional e técnico-científico. Obrigada por me auxiliar no desenvolvimento desse trabalho, pelo apoio e amor de todos os dias.*

*Ao **Prof. Dr. Alexandre Rosa Franco**, bem como seus alunos **Nathalia Bianchini Esper** e **Luiz Fernando Dresch**, pelas exaustivas e didáticas análises de dados. Obrigada pela colaboração, paciência e aprendizado, sem ela esse projeto não teria sido possível.*

*Aos colegas do grupo **PROTALA** do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) pelo apoio, aprendizado, discussões e colaboração mútua.*

*Aos colegas do **Instituto do Cérebro do Rio Grande do Sul (InsCer/PUCRS)** pelo apoio, colaboração e atendimento de qualidade aos pacientes desse projeto.*

Ao HCPA e a Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) pelo ensino de qualidade e toda estrutura para o desenvolvimento de pesquisas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Neurociências da UFRGS pelo ensino de qualidade e preocupação genuína com a construção do conhecimento e formação dos alunos.

*Às Professoras colaboradoras **Dra. Jerusa Fumagalli de Salles, Dra. Rochele Paz Fonseca, Dra. Mirela Prando e Dra. Sônia Moojen** por suas excelentes contribuições técnicas e auxílio com material de pesquisa.*

À CAPES e FINE/HCPA pelo suporte financeiro.

*Aos **pacientes** do Projeto **PROTÁIA** por colaborarem conosco nessa nova etapa da pesquisa e ao longo desses últimos 5 anos e aos novos pacientes por confiarem no nosso trabalho.*

*Aos Professores (as) **avaliadores (as)** dessa banca examinadora: **Dra. Rosa Almeida, Dra. Rochele Paz Fonseca, Dra. Lenisa Brandão, Dr. Marino Bianchin e Dra. Renata Rosat**, pela disponibilidade em ler e avaliar este trabalho.*

*À **minha família**, especialmente aos meus pais, Valdir e Maria Helena, e minhas irmãs Michelle e Naiara, pelo incentivo ao estudo, por abrirem mão dos seus próprios sonhos para que a educação fosse prioridade em nossa casa, por serem essas pessoas que eu admiro tanto e por me ensinarem a seguir em frente independentemente dos obstáculos.*

À minha querida Nonna Eleonilde Vendramim Toazza pelo amor e carinho de todas as horas, por me ensinar que o trabalho é uma grande virtude e que devemos sempre ser “valentes” frente as dificuldades da vida.

Às famílias Campos e Salum por todo carinho, compreensão e apoio em todos os momentos. por estarem comigo em todos os passos dessa trajetória.

Aos meus amigos e amigas que torceram genuinamente por mim, pelo carinho, apoio e compreensão dos momentos de ausência.

Sumário

ABREVIATURAS E SIGLAS	10
LISTA DE FIGURAS	11
RESUMO.....	12
ABSTRACT	15
1. INTRODUÇÃO	18
1.1. Bases neurocognitivas dos transtornos de ansiedade: o papel da fluência verbal	19
1.2 Bases neurais dos transtornos de ansiedade.....	22
1.2.1. A linguagem como uma forma de estudar correlatos emocionais em transtornos de ansiedade	27
1.2.2. A conectividade funcional intrínseca e os transtornos de ansiedade.....	30
REFERÊNCIAS	34
2. OBJETIVOS	39
3.1 Objetivo Geral.....	39
3.2 Objetivos Específicos	39
4. HIPÓTESES	41
5. ARTIGO 1.....	42
Verbal fluency and severity of anxiety disorders in young children	42
6. ARTIGO 2.....	58
Anxiety-related down-regulation of thalamic regions in the processing of sad and angry emotional narratives.....	58
7. ARTIGO 3.....	59
Amygdala-based intrinsic functional connectivity and anxiety disorders in adolescents and young adults	89
8. DISCUSSÃO GERAL	111
9. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS	117
10. PERSPECTIVAS FUTURAS	118
11. REFERÊNCIAS	119
11. ANEXOS.....	121
Artigos em colaboração publicados ou submetidos durante o Doutorado.....	121

ABSTRACT	125
Capítulos de livro em colaboração publicados durante o Doutorado	130

ABREVIATURAS E SIGLAS

ACP – Análise de Componentes Independentes

BOLD – *Blood-oxygen-level dependent*/ nível de oxigenação do sangue dependentes

CPF – Córtex Pré-Frontal

dICPF - Córtex Pré-Frontal Dorsolateral

dmCPF – Córtex Pré-Frontal Dorsomedial

DSM - *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*/Manual Diagnóstico e Estatístico dos Transtornos Mentais

FAS – Tarefa de Fluência Verbal que utiliza as letras F, A e S

TAG – Transtorno de Ansiedade Generalizada

TASe – Transtornos de Ansiedade de Separação

TASo – Transtorno de Ansiedade Social

TDAH – Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade

TP – Transtorno do Pânico

vmCPF - Córtex Pré-Frontal Ventromedial

ROI – *Regions of Interest*/Regiões de Interesse

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – (Figura 1 do artigo de Pine) - Modelo neurocientífico de processamento de informação

Figura 2 – (Figura 9 do artigo de Argawal) – Ilustração das principais regiões cerebrais alteradas nos Transtornos de Ansiedade

Figura 3 – (Figura 1 dos autores Mason and Just) – Modelos de redes envolvidas no processamento linguístico

RESUMO

Os transtornos de ansiedade são o grupo de transtornos psiquiátricos mais comum na infância e adolescência. Embora avanços significativos tenham sido feitos para identificar os melhores tratamentos para crianças ansiosas, ainda pouco se sabe sobre a base neural subjacente a esses transtornos. Nesse sentido, essa tese teve por objetivo investigar a linguagem como pano de fundo para o entendimento dos transtornos de ansiedade através de avaliações neuropsicológicas e de neuroimagem funcional, levando em consideração que pobres habilidades de linguagem podem levar a reações negativas no meio de convívio, vieses de interpretação e comportamento de esquiva em situações sociais. Os três artigos aqui apresentados são resultado de dois projetos. O primeiro artigo é resultado da fase de avaliação (linha de base) de crianças (6 -12 anos) participantes de um ensaio clínico randomizado para ansiedade infantil. O segundo e terceiro artigos são resultados de um seguimento de pacientes e indivíduos de comparação - adolescentes e adultos jovens (15 – 20 anos) - acompanhados pelos últimos 5 anos, oriundos de amostra comunitária.

O primeiro artigo (*Verbal fluency and severity of anxiety disorders in young children*) teve como objetivo investigar o desempenho em testes de fluência verbal fonêmica com a gravidade dos sintomas de ansiedade em crianças. Os resultados mostraram uma associação entre sintomatologia ansiosa e o número de *clusters* (agrupamento de palavras que começam com as mesmas duas primeiras letras, diferem em uma única vogal, produzem rima ou homônimos). Os resultados replicam e avançam no entendimento de achados anteriores mostrando que a fluência verbal é consistentemente associada com a gravidade dos transtornos de ansiedade desde a

infância. Além disso, nesse trabalho nós mostramos que essa associação é independente de sintomas comórbidos de Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade. Nossos dados reforçam a importância da fluência verbal como um marcador de gravidade para a ansiedade e incentivam o desenvolvimento de novos estudos com o objetivo de investigar mecanismos acerca da relação entre fluência verbal e ansiedade e suas implicações terapêuticas. O segundo artigo (*Anxiety-related down-regulation of thalamic regions in the processing of sad and angry emotional narratives*) teve como objetivo investigar, através de ressonância magnética funcional, o processamento de narrativas de cunho emocional em comparação com conteúdo neutro, em adolescentes e jovens adultos com transtorno de ansiedade, em relação a um grupo de comparação com desenvolvimento típico. Os resultados mostraram uma hipoativação no tálamo, modulado pela emoção no contraste triste vs. neutro e raiva vs. neutro, em indivíduos com transtorno de ansiedade. Além disso, observou-se efeito da emoção em outras dez áreas cerebrais relacionadas com a linguagem e atenção (junção temporoparietal esquerda, giro pré-frontal medial direito, giro frontal inferior esquerdo, giro frontal medial esquerdo, cíngulo posterior/precuneo, lobo parietal inferior esquerdo, giro temporal medial esquerdo, giro lingual esquerdo, giro temporal medial esquerdo, giro frontal inferior direito). Os resultados sugerem que pacientes com transtornos de ansiedade apresentam menor ativação talâmica relacionada a emoções negativas do que indivíduos de comparação, implicando um processamento aberrante de informações negativas nesses indivíduos. O terceiro artigo (*Amygdala-based intrinsic functional connectivity and anxiety disorders in adolescents and young adults*) teve como objetivo investigar a conectividade intrínseca de sub-regiões da amígdala em pacientes com transtorno de ansiedade quando comparados ao grupo sem o transtorno, através de exame de neuroimagem funcional em repouso. Os resultados mostraram conexões aberrantes entre a amígdala basolateral esquerda e cinco regiões cerebrais: giro

pré-central direito, cíngulo direito, precuneo bilateralmente e giro frontal superior. Essas diferenças entre os grupos se refletem em uma maior coativação entre a amígdala e essas cinco regiões em indivíduos ansiosos, enquanto que em indivíduos não ansiosos ou essa coativação da amígdala com essas regiões não é significativa ou é inversa (como acontece no giro cíngulo direito e precuneo direito). Os dados mostraram importante disfunção na conectividade intrínseca entre a amígdala basolateral esquerda com o córtex motor, em áreas envolvidas na regulação emocional e rede de modo padrão. Os resultados desse conjunto de estudos trazem informações importantes sobre a fisiopatologia da ansiedade em crianças e jovens utilizando métodos de Neuropsicologia e neuroimagem funcional. Espera-se que um melhor entendimento desses mecanismos psicológicos e biológicos em jovens e crianças leve a ideias para o desenvolvimento de novas terapêuticas para pacientes que sofrem com esses transtornos ao longo de toda a vida.

O conjunto de dados encontrados nesses três artigos nos mostram alterações significativas em indivíduos com transtornos de ansiedade a partir de diferentes enfoques de avaliação: Neuropsicologia, Neuroimagem funcional (com realização de tarefa e em repouso). Esses achados iniciais demonstram as potencialidades que a neurociências oferece para o entendimento dos transtornos mentais ao compreender o cérebro humano em suas diferentes redes funcionais, além de fornecer ideias para avanços na personalização terapêutica e desenvolvimento de novas estratégias de tratamento.

ABSTRACT

Anxiety disorders are the most common group of psychiatric disorders in childhood. Although significant advances have been made to identify the best treatments for children with anxiety disorders, little is known about the underlying neural basis for these disorders. This thesis used language as a background for the understanding anxiety disorders throughout neuropsychological and functional neuroimaging studies, taking into consideration that poor language skills can lead to negative reactions, interpretation biases and avoidance behavior in social situations. The three papers presented here are the results of two projects. The first paper is the result of the baseline assessment phase of children (ages 6 – 11) participating in a randomized clinical trial for childhood anxiety. The second and third papers resulted from a cohort of anxiety disorder patients and comparison adolescents and young adults (ages 15 – 20) followed for the past five years from a community sample. The first paper, (*Phonemic verbal fluency and severity of anxiety disorders in young children*) aimed to investigate if performance in a phonemic verbal fluency task is associated with the severity of anxiety symptoms in young children with anxiety disorders. The results showed an association between anxiety symptoms and the number of *clusters* (grouping of words that start with the same first two letters, differ in one vowel, produce rhyme or homonyms). The results replicate and extend previous findings showing that verbal fluency is consistently associated with the severity of anxiety disorders since childhood. Moreover, in this paper we showed that this association was independent from comorbid symptoms of Attention Deficit/Hyperactivity Disorder. We conclude verbal fluency is consistently associated with the severity of anxiety symptoms, as replicated by our current findings. Our data reinforce the importance of verbal fluency

as a marker of severity for anxiety and encourage the development of further studies aiming to investigate biological mechanisms for this association as well as its therapeutic implications. The second manuscript (*Anxiety-related down-regulation of thalamic regions in the processing of sad and angry emotional narratives*) aimed to investigate emotional processing through functional magnetic resonance imaging using narratives with emotional content as compared with neutral content in adolescents and young adults with anxiety disorders, relative to a comparison group. The results demonstrated a hypoactivation of a thalamic region modulated by emotion in sad vs. neutral and angry vs. neutral contrasts in individuals with anxiety disorders if compared to typically developing controls. In addition, there was an effect of emotion activation in ten others brain areas related to language and attention (left temporoparietal junction, right medial prefrontal gyrus, left inferior frontal gyrus/pars orbitalis, left superior/middle frontal gyrus, posterior cingulate/precuneus, left inferior parietal lobe, left middle temporal gyrus, left lingual gyrus, left middle temporal gyrus, right inferior frontal gyrus). The results suggest patients with anxiety disorders have lower activation in a thalamic region during negative emotions, implicating aberrant information processing in this region in anxious adolescents. The third article (*Amygdala-based intrinsic functional connectivity and anxiety disorders in adolescents and young adults*) aimed to investigate the intrinsic connectivity of amygdala subregions in patients with anxiety disorder when compared to the group without the anxiety disorder by examination functional neuroimaging at rest. The results showed aberrant connections between the left basolateral amygdala and five brain regions: right precentral gyrus, right cingulate gyrus, precuneus bilaterally, and right superior frontal gyrus. Between-group differences are reflected in a higher co-activation between the amygdala and these five regions in anxious subjects, whereas in non-anxious individuals that co-activation is not significant or is negatively correlated (as in cingulate

gyrus and right precuneus). The data showed significant dysfunction in the intrinsic connectivity between the left basolateral amygdala with the motor cortex in areas involved in emotional regulation and default mode network. The results from this set of studies provide important information on the pathophysiology of anxiety disorders in children, adolescents and young adults by using neuropsychological methods and functional neuroimaging. It is hoped that better understanding of these mechanisms might shed light on ideas for the development of new therapies for patients suffering from these disorders throughout life.

Results from these three articles show significant changes in individuals with anxiety disorders using different evaluation approaches: Neuropsychology and Functional neuroimaging (with task and at rest). These early findings demonstrate the potential neurosciences offers to the understanding of mental disorders and provide ideas for therapeutic advances in customization and development of new treatment strategies.

1. INTRODUÇÃO

Os transtornos de ansiedade são caracterizados por medo e ansiedade disfuncionais (Blackford & Pine, 2012). Constituem o grupo de transtornos psiquiátricos mais comum da infância, com quase uma em cada três crianças sofrendo com os sintomas em algum momento durante o seu desenvolvimento (Blackford & Pine, 2012; Salum, Desousa, do Rosário, Pine, & Manfro, 2013). O medo e a ansiedade são respostas normais e adaptativas a uma ameaça real ou potencial, sendo que vários deles podem aparecer e desaparecer durante o desenvolvimento das crianças. No entanto, algumas apresentam medos persistentes ou estão constantemente marcadas pelo aparecimento de novos medos, gerando sofrimento e prejuízo e, em alguns casos, perda da funcionalidade (Blackford & Pine, 2012; Salum, Desousa, do Rosário, Pine, & Manfro, 2013). Nesses casos, caracterizados como transtornos de ansiedade, é comum a persistência até a idade adulta, muitas vezes gerando condições crônicas de difícil tratamento. Transtornos de ansiedade em adultos estão associados a altas taxas de ocorrência de outras doenças, mortalidade cardiovascular, mortalidade por suicídio e condições médicas crônicas (Agarwal et al., 2010; Salum, Desousa, do Rosário, Pine, & Manfro, 2013).

Conforme o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais – quinta edição (DSM – 5), os transtornos de ansiedade são classificados em: Transtorno de Ansiedade de Separação (TASe), Transtorno de Pânico (TP), Transtorno de Ansiedade Social (TASo), Transtorno de Ansiedade Generalizada (TAG) e Fobia Específica (FE) (APA, 2013). Esses transtornos compartilham o mesmo construto subjacente da ansiedade e exibem altas taxas de comorbidade entre si, com evidências que respondem similarmente ao tratamento, especialmente no que se refere ao TASe, TASo, TP e TAG (Pine, Cohen, Gurley, Brook, & Ma, 1998).

Ainda há poucos estudos dedicados a compreender as características dos indivíduos com estes transtornos em relação às funções neuropsicolinguísticas, comportamentais e suas bases neurais. Esta tese de Doutorado visa contribuir para o entendimento das bases neurais dos transtornos de ansiedade através de estudos de Neuropsicologia e de neuroimagem funcional.

Nesta introdução discute-se aspectos relevantes da Neuropsicologia e da neuroimagem funcional relacionados aos transtornos de ansiedade. Ela é dividida em duas seções: (1) Bases neurocognitivas dos transtornos de ansiedade (com ênfase nos achados de déficits em fluência verbal); (2) Bases neurais dos transtornos de ansiedade. A seção (2) subdivide-se em dois aspectos principais: (2.1.) A linguagem como uma forma de estudar correlatos emocionais em transtornos de ansiedade; (2.2.) A conectividade funcional intrínseca e os transtornos de ansiedade.

1.1. Bases neurocognitivas dos transtornos de ansiedade: o papel da fluência verbal

A maioria dos estudos sobre cognição dos transtornos de ansiedade investigou a relação de como as funções cognitivas são afetadas frente a ameaças (Bar-Haim, Lamy, Pergamin, Bakermans-Kranenburg, & van IJzendoorn, 2007; Salum et al., 2013). No entanto, alguns estudos têm sugerido que algumas funções cognitivas podem estar comprometidas mesmo em situações onde não há um contexto emocional (Mogg, Garner, & Bradley, 2007; Salum et al., 2013; Toazza et al., 2014).

Um trabalho desenvolvido no nosso grupo mostrou que indivíduos com transtorno de ansiedade, clinicamente diagnosticados, oriundos de uma amostra comunitária de

escolas públicas (idade entre 12 – 17 anos; emparelhado para sexo), tiveram pior desempenho em uma tarefa tempo-dependente de fluência verbal fonêmica. Além disso, o desempenho nessa tarefa específica foi negativamente correlacionado com a gravidade dos transtornos de ansiedade e com a quantidade de diagnósticos de ansiedade presentes. Fomos capazes de demonstrar que não houve diferenças estatisticamente significativas para as demais funções neuropsicológicas avaliadas como: a atenção, percepção, memória, aritmética, linguagem e praxias (Toazza et al., 2014). Esse achado nos fez voltar o interesse para a relação entre fluência verbal e ansiedade.

O teste de fluência verbal oral foi desenvolvido pela primeira vez por Arthur Benton há mais de 40 anos para um teste de avaliação de linguagem em afásicos (alteração de linguagem causada por lesão cerebral) com o nome de *Association Word*. O protocolo mais usado normalmente é o teste que utiliza as letras F, A e S (FAS) dos autores Spreen and Strauss, criado em 1998, e está incluído em diferentes baterias de testagem neuropsicológica (Barry, Bates, & Labouvie, 2008a). A tarefa exige a eficiência para criar, planejar e executar uma sequência de ações não-automáticas, em um tempo limitado. O indivíduo é orientado a gerar palavras que comecem com uma letra específica (denominada fluência verbal fonêmica), num determinado período de tempo, como por exemplo: FAS e CFL.

A tarefa FAS, como outros paradigmas baseados em fluência, é considerada uma tarefa complexa, pois é fundamentada em vários processos das funções executivas. Dentre esses, estão incluídos um conjunto de habilidades como memória de trabalho, inibição e flexibilidade cognitiva. Neste sentido, podemos supor que os testes de fluência verbal envolvem: (1) manutenção e atualização constante da memória de trabalho, (2) escolha do estímulo certo ou regra para orientar a produção da tarefa, (3) inibição de respostas incorretas ou já evocadas, (4) flexibilidade cognitiva para gerar novas respostas

e não reprodução dos mesmos padrões de comportamento anterior, e (5) monitoramento contínuo da evocação das palavras (Barry, Bates, & Labouvie, 2008b).

Nesse sentido, pesquisadores dessa área observaram que as palavras evocadas nessa tarefa tendem a ser produzidas em grupos fonêmicos, ou seja, palavras foneticamente relacionadas. *Cluster* é a definição utilizada para denominar grupos de palavras geradas sucessivamente que ou começam com as mesmas duas primeiras letras (fábula e favela), ou diferem apenas em sons de vogais (faca e foca), ou produzem rima (fogão e feijão), ou eram homônimos (acento e assento). Já os *Switches* foram definidos como transições entre os clusters e/ou entre as palavras isoladas, sugerindo uma mudança de estratégia cognitiva (como por exemplo, **fogão, feijão, ferro, ferida, fedor, figo, firma, filho** – 3 *clusters* e duas mudanças de estratégia de evocação) (Dell, Schwartz, Martin, Saffran, & Gagnon, 1997; Troyer, Moscovitch, & Winocur, 1997). De acordo com alguns autores, os *switches* (ou comutação) refletem fortemente um componente executivo associado à função do lobo frontal, enquanto, os *clusters* ou agrupamentos, refletiriam funções de memória semântica que podem estar associada ao lobo temporal (Troyer et al., 1997).

Nosso estudo prévio mostrou uma forte associação com grande tamanho de efeito entre fluência verbal e transtorno de ansiedade, que no conhecimento dos autores, ainda não havia sido investigado em amostras infantis. Os resultados desse estudo mostraram que adolescentes com transtornos de ansiedade tiveram um pior desempenho em uma tarefa de fluência verbal, dependente de tempo, com critérios fonêmicos-ortográficos em comparação aos adolescentes sem diagnóstico de transtorno de ansiedade e aos adolescentes com transtorno externalizantes (transtorno opositor desafiante, transtorno de déficit de atenção e transtorno de conduta). Essa associação foi particularmente importante para o número de *switches*, o que reforçou um envolvimento dos aspectos

executivos nos transtornos de ansiedade. (Toazza et al., 2014). Como os estudos de neuroimagem que avaliaram pacientes com lesão cerebral, relacionaram a tarefa de fluência verbal diretamente com a função do córtex pré-frontal (Tupak et al., 2012), os achados deste nosso estudo sugeriram que as regiões pré-frontais estão envolvidas na fisiopatologia da ansiedade em jovens (Toazza et al., 2014).

1.2 Bases neurais dos transtornos de ansiedade

Assumindo o modelo neurocientífico de processamento de informação (Pine, 2007), os transtornos mentais são resultado de alterações no processamento de informações que são suportados por circuitos neurais específicos. Esses circuitos estão alterados como resultado de relações causais complexas que envolvem diversos fatores, incluindo tanto genes, quanto ambientes. Essas alterações em viés específicas de processamento de informações resultam nas disfunções que são entendidas como transtornos mentais. Um esquema deste modelo pode ser encontrado abaixo.

634 Daniel S. Pine

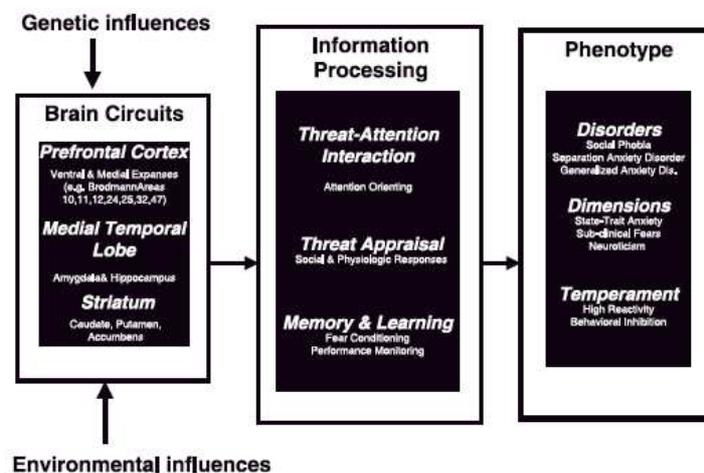


Figure 1 The current framework. This displays relationships among functional aspects of brain circuits, psychological processes, and clinical phenotypes

Parte dos substratos neurobiológicos conhecidos para os transtornos de ansiedade foram definidos através de pesquisas em modelos animais (Blackford & Pine, 2012). A literatura em animais sugere ainda que a amígdala é uma estrutura fundamental para a aquisição, expressão e consolidação do medo (Blackford & Pine, 2012). Um estudo de Timbie e Barbas, mostra que uma via robusta originada da amígdala está conectada com o tálamo e córtex orbitofrontal, formando uma rede estrutural tripartida, sugerindo que os transtornos de ansiedade podem estar associados com uma regulação deficiente da ativação do tálamo como um ponto específico nesta rede de ativação tripartida (Timbie & Barbas, 2015a).

A amígdala, é um grande complexo nuclear situado na porção dorsomedial do lobo temporal, ligada ao hipocampo. Ambos formam uma parte essencial do sistema límbico (Angel, 2012). As funções da amígdala estão principalmente relacionadas com as emoções e modulação da interpretação de estímulos, que também intervém na modulação do humor (Angel, 2012). A informação sensorial atinge a amígdala através do tálamo. O tálamo estimula a amígdala para ativar as respostas comportamentais e autonômicas via projeções para o tronco cerebral, hipotálamo, e outras estruturas límbicas (Agarwal et al., 2010). O estímulo sensorial é então regulado pelo córtex pré-frontal medial, córtex órbito-frontal e córtex cingulado anterior através de uma regulação *top-down* (de cima para baixo). Essa regulação permite modulação da resposta aos estímulos de acordo com a atividade dirigida a objetivo (Etkin & Wager, 2007).

Na figura abaixo, Figura 9 do artigo de Agarwal e colaboradores, uma ilustração das principais alterações no córtex pré-frontal, córtex cingulado anterior, caudado, ínsula, amígdala e hipocampo nos transtornos psiquiátricos e, em destaque, nos transtornos de ansiedade (Agarwal et al., 2010).

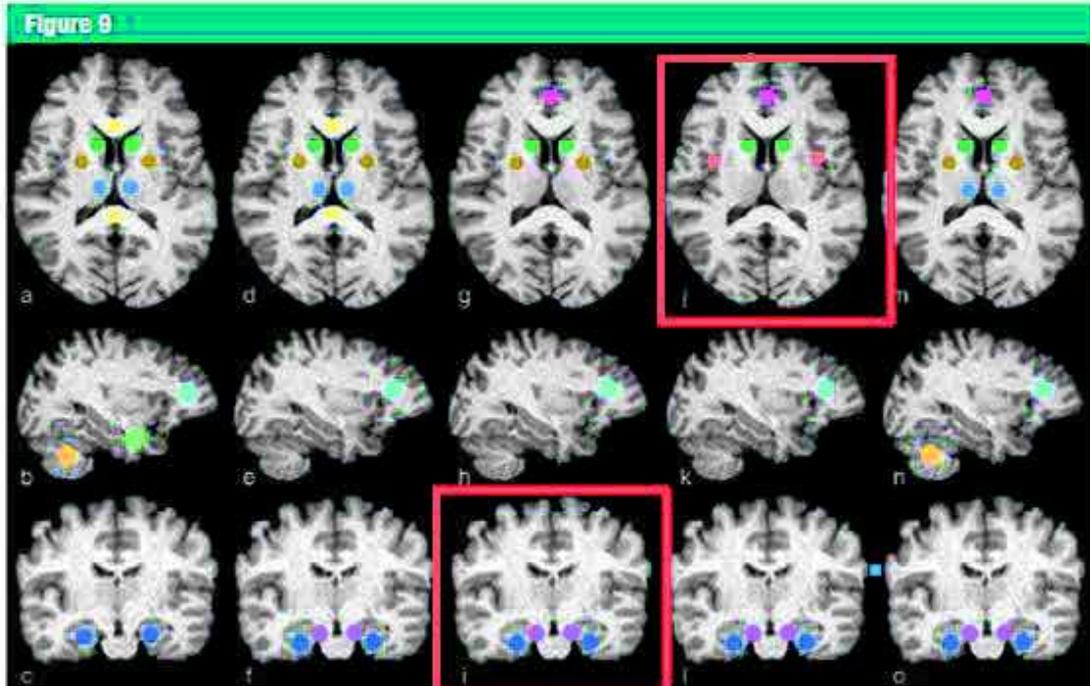


Figure 9: Summary of most reported findings on axial (top row), sagittal (middle row), and coronal (bottom row) MR image sections. **(a–c)** Findings of schizophrenia: The prefrontal cortex (turquoise), striatum (caudate: dark green, putamen: olive), thalamus (light blue), medial temporal lobe (light green), cerebellum (orange), and corpus callosum (yellow) are key areas of functional, structural, and neurochemical alterations. **(d–f)** Findings of bipolar disorder: The prefrontal cortex, anterior cingulate cortex (dark pink), striatum, corpus callosum, and limbic structures such as the hippocampus (dark blue) and amygdala (purple) are frequently reported as altered on MR images. **(g–i)** Findings of major depressive disorder: The prefrontal cortex, anterior cingulate cortex, striatum, basal ganglia (light pink), and limbic structures such as the amygdala and hippocampus are the most reported areas of abnormal structure, function, and neurochemical features. **(j–l)** Findings of anxiety disorders: The prefrontal cortex, anterior cingulate cortex, caudate, insula (dull orange in j), amygdala, and hippocampus are major sites of abnormality. **(m–o)** Findings of attention deficit–hyperactivity disorder: The prefrontal cortex, anterior cingulate cortex, cerebellum, striatum, amygdala, and hippocampus are the most reported areas of alteration.

Enquanto a atividade da amígdala está associada diretamente com o aumento dos sintomas de ansiedade, a atividade do córtex pré-frontal está associada à diminuição dos sintomas ansiosos, sugerindo que o córtex pré-frontal é a estrutura que controla a atividade da amígdala e age como um mecanismo regulatório essencial para os sintomas de ansiedade. Estudos mostraram que a ativação da amígdala e do córtex pré-frontal ventrolateral está aumentada em indivíduos com transtornos de ansiedade em relação a controles saudáveis (Pine, 2007).

Em resumo, a amígdala, tálamo e o córtex pré-frontal são componentes essenciais da neurocircuitaria do medo humano, estando interligados na modulação de respostas a situações ameaçadoras. Os resultados dos estudos sugerem que os transtornos de ansiedade podem ser caracterizados por disfunção cerebral, resultando em “muito gás e freios insuficientes” (*too much gas and not enough brakes*), ou seja, o sistema de produção do medo é muito forte e o sistema de regulação do medo é muito fraco (Blackford & Pine, 2012). Abaixo a ilustração mostrada no artigo citado, de Blackford e Pine, sobre a relação da amígdala e as diversas porções do córtex pré-frontal.

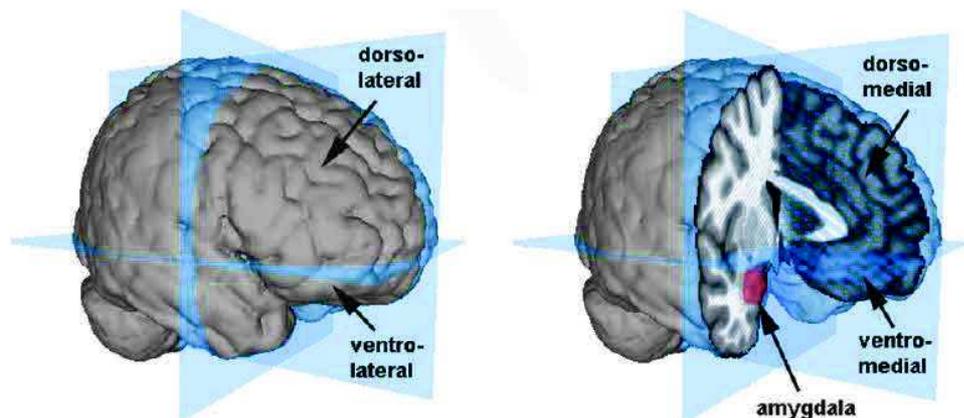


Fig. 1. Illustration of the amygdala and the major divisions of the PFC. The planes (*in blue*) show the major dorsal/ventral and anterior/posterior divisions of the brain. The lateral PFC is shown on the left and the medial PFC and amygdala are shown on the right. Brain images and surface constructions were created using Mango (Research Imaging Center, UTHSCSA; <http://ric.uthscsa.edu/mango/mango.html>) and a Montreal Neurological Institute standard brain.

Dentro os métodos disponíveis para testar aspectos teóricos e transpor achados empíricos de modelos animais para humanos podemos encontrar a ressonância magnética funcional. Trata-se de uma técnica que mede alterações hemodinâmicas neurais. O aumento do fluxo sanguíneo causado pela atividade cognitiva leva a um excedente relativo de oxigênio no sangue local. O sinal medido em ressonância magnética funcional depende desta alteração na oxigenação e é referido como o nível dependente de oxigenação do sangue, ou o sinal *BOLD* (Poldrack, Nichols, & Mumford, [s.d.]). O

processamento de informações, num determinado circuito cerebral, traduz-se por uma intensificação da atividade neuronal, com conseqüente influxo de sangue oxigenado. O gradiente de oxihemoglobina/desoxihemoglobina das vênulas locais provoca uma distorção do campo magnético local (Rosen, Buckner, & Dale, 1998) que pode ser medido pelo aparelho.

O método para análise de imagens de ressonância magnética funcional mais comumente utilizado se vale de comparações estatísticas da média entre um grupo de pacientes com um determinado transtorno neuropsiquiátrico *versus* um grupo controle com voluntários sem transtorno (entre-sujeitos), ou ainda, avaliação estatísticas das mudanças de padrões nas imagens dos mesmos sujeitos estudados em diferentes condições ao longo do tempo (dentre-sujeitos). Através da computação das comparações estatísticas entre os grupos para cada *voxel*, pode-se produzir mapas tridimensionais que mostram a localização cerebral e a extensão dos agrupamentos de *voxels* que apresentam diferença estatística significativa entre os grupos no limiar significativo escolhido (Busatto, Almeida, Cerqueira, & Gorenstein, 2006).

Quanto ao tipo de paradigma, as análises funcionais podem ser divididas em: (1) ativação embasada em tarefas (onde se avalia a ativação cerebral frente a estímulo específicos); (2) ativação embasada no estado de repouso (*resting state funcional connectivity*). Uma das áreas promissoras para entendimento da ansiedade através de estudos de neuroimagem funcional é o estudo de narrativas emocionais. Deste modo utiliza-se a linguagem como um pano de fundo para entender o efeito da manipulação de aspectos emocionais em pacientes com e em transtorno de ansiedade.

1.2.1. A linguagem como uma forma de estudar correlatos emocionais em transtornos de ansiedade

Novas perspectivas sobre modelos de processamento e integração de texto no nível do discurso sugerem que há necessidade de combinações de informações linguísticas com outras não linguísticas, para permitir que o leitor incorpore informações pragmáticas e conecte o texto com seu conhecimento de mundo (Mason & Just, 2006). Pesquisas com neuroimagem sugerem que cinco redes paralelas estejam envolvidas no processamento da linguagem. Essas redes incluem: (1) Rede de processamento semântico (áreas temporais médio e superior direita); (2) Rede de monitoramento de coerência (pré-frontal dorsolateral bilateral); (3) Rede de integração de texto (frontal anteroinferior esquerda/ temporal esquerda); (4) Rede de imagens espaciais (sulco intraparietal bilateral, predominantemente esquerda) e, (5) Rede da Teoria da Mente para a compreensão de uma narrativa (Junção temporoparietal bilateral, predominantemente direita) (Mason & Just, 2009; 2006). Conforme figura esquemática abaixo:

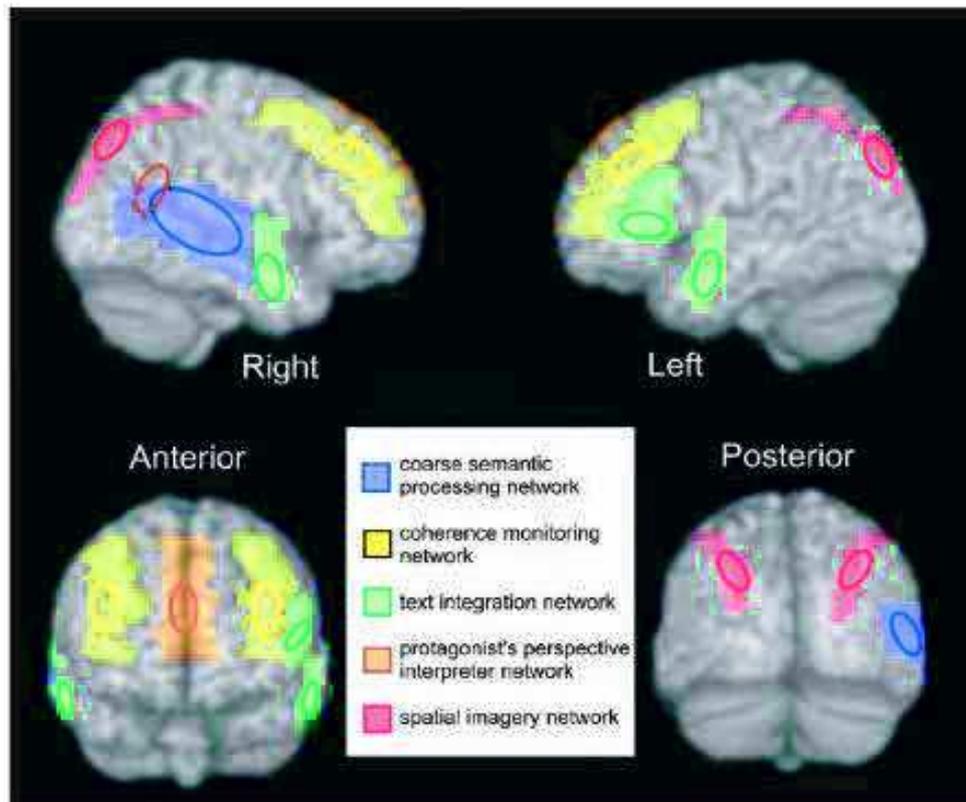


Figure 1. A Schematic representation of the Parallel Networks of Discourse. Shaded regions represent surface rendered anatomical regions as described in the text. A rough localization within anatomical regions are represented by colored ellipses.

O funcionamento adequado dessas redes é particularmente importante em nossa vida e interações sociais. Especialmente em um momento que, com o avanço da tecnologia, grande parte da nossa comunicação diária se faz pela escrita ou interpretação das emoções através de texto - seja por *e-mail*, no uso das redes sociais ou mensagens pelo celular. Dificuldades de linguagem são prevalentes em indivíduos com transtorno de ansiedade, especialmente em indivíduos com transtorno de ansiedade social. Tem sido sugerido que a falta de habilidades sociais de linguagem podem levar a reações negativas no meio de convívio, vieses de interpretação e comportamento de esquiva em situações sociais (Rapee & Spence, 2004).

A compreensão e expressão das emoções regula a interação social, fornecendo informações cruciais para a adaptação às exigências de um ambiente social determinado

(Mason & Just, 2011b). O discurso auxilia na inferência das mensagens emocionais expressas pelo interlocutor e uma ampla rede de estruturas corticais e subcorticais contribui para a decodificação dessas informações (Mason & Just, 2011a).

A compreensão do discurso inclui componentes como processamento de palavras e sentenças, mas também processamento cognitivo de níveis superiores, i.e., atenção, memória, geração de inferências, resolução de problemas, Teoria da Mente e interpretação social. Para se construir uma coerência entre as frases e compreender o discurso é necessário fazer inferências, ativar e integrar informações que não tenham ficado claramente expostas (Kuperberg, Lakshmanan, Caplan, & Holcomb, 2006).

As narrativas baseadas em estados mentais e motivação tem sido bastante utilizadas na literatura para avaliação do processamento emocional, pois exigem que o leitor compreenda os objetivos e as intenções do protagonista, entenda e aprecie a história e realize o processamento emocional, se colocando no lugar do protagonista (Kuperberg et al., 2006). Para tanto, as técnicas de neuroimagem são particularmente adequadas para estudar a participação dos diversos subconjuntos de processos cognitivos que constituem o processamento do discurso num determinado episódio que exija compreensão. Processamento do discurso é uma habilidade complexa que serve como um bom protótipo de “pensamento geral”, pois é necessário que muitos níveis de processamento estejam organizados para processar o estímulo e fazer uma representação integrada do texto lido. Entende-se que compreender um texto curto não é muito diferente do que observar e compreender eventos diários no mundo, portanto, o processamento do discurso deve envolver um conjunto de redes corticais de uso geral (Mason & Just, 2011b).

Logo, estudos utilizando paradigmas relacionados ao processamento emocional podem ter grande potencial para desvendar os mecanismos cerebrais envolvidos em pacientes com transtornos neuropsiquiátricos. Por meio de dois exames de ressonância

magnética funcional independentes, pesquisadores investigaram a ativação cerebral em uma tarefa de palavras de cunho ameaçador e neutras. Os resultados mostraram aumento da ativação da amígdala, córtex pré-frontal medial e linguagem de processamento de áreas corticais com palavras de cunho ameaçador em comparação a palavras neutras, sugerindo que, as palavras emocionais podem ser capazes de desencadear aumento do processamento cortical e subcortical (Hoffmann, Mothes-Lasch, Miltner, & Straube, 2015).

1.2.2. A conectividade funcional intrínseca e os transtornos de ansiedade

Inicialmente, os estudos de ressonância magnética funcional eram unicamente baseados em tarefas, utilizando paradigmas de ativação como os descritos acima. Nos últimos anos têm havido um interesse crescente em aplicar técnicas de ressonância magnética funcional em condições de repouso (Biswal, 2012; Joo, Lim, & Lee, 2016). Os estudos de condição de repouso (*resting state functional connectivity*) surgiram com a observação de pesquisadores de que algumas áreas do cérebro aumentavam a ativação durante uma tarefa, enquanto que outras aumentavam a atividades após a finalização de uma tarefa. Esses achados levam pesquisadores a sugerir que algo acontece durante o período de “repouso”, e portanto, convencionou-se chamar de conectividade intrínseca do cérebro. Esta observação levou a investigação desses períodos de repouso ao longo de diversos minutos e foi observado que existia padrões nas correlações de ativação do sinal *BOLD* entre as regiões cerebrais. O estudo desses padrões de correlação deu suporte a toda uma linha de pesquisa de conectividade intrínseca, hoje bastante difundida no meio acadêmico.

Nesses estudos existem três principais técnicas de análise comumente utilizadas para avaliar a conectividade funcional intrínseca (Joo et al., 2016): (1) *Seed-based*, (2) análise de componentes independentes (ACP) e (3) teoria dos grafos. Na análise baseada em *seed*, o pesquisador seleciona uma região de interesse (*ROI*) e extrai a série temporal de ativação nessa região, que é, então, correlacionado com as séries temporais dos *voxels* do cérebro, procurando regiões que sejam correlacionadas umas com as outras (Fox & Raichle, 2007). Na ACP, não é necessário selecionar uma região de referência, todo o conjunto de dados pode ser decomposto em cursos de tempo e mapas espaciais. A ACP procura componentes de ativação que são estatisticamente independentes umas das outras (Beckmann, DeLuca, Devlin, & Smith, 2005). Na teoria dos grafos, estuda-se a relação entre diversos parcelamentos do cérebro (nós), definindo as regiões mais ou menos centrais ou importantes para a rede de conexões (Stam et al., 2009).

As redes mais comumente observadas e descritas na literatura são as descritas por Sylvester e colaboradores (Sylvester et al., 2012), são elas: (1) *Rede cíngulo-opercular*: inclui cíngulado, insula, córtex pré-frontal e tálamo. Esta rede está envolvida no controle cognitivo, processamento de afeto negativo e dor (Liao et al., 2010; Shackman et al., 2011). (2) *Rede fronto-parietal*: inclui porções bilaterais anteriores do córtex pré-frontal dorsolateral, lóbulo parietal inferior, porções do giro cíngulado medial e porções do precuneo. É referida como papel importante no controle executivo, monitoramento para detectar desvios de conduta, assinalando assim a eventual necessidade de ajuste de estratégia (Seeley et al., 2007). (3) *Rede de modo padrão*: incluem cíngulado, precuneo, córtex parietolateral, córtex pré-frontal medial, giro temporal inferior, giro parahipocampal e córtex frontal superior. Envolvida nas funções introspectivas, planejamento futuro, auto-monitoramento e regulação emocional (Raichle et al., 2001). (4) *Rede de atenção ventral*: inclui o córtex pré-frontal ventrolateral, junção temporo-

parietal e porções dos giros temporais superiores. Esta rede está envolvida no processamento de atenção automática a estímulos, sugerindo envolvimento em funções como cognição social (Corbetta, Patel, & Shulman, 2008).

Além dessas redes anteriormente descritas, é muito comum na literatura de ansiedade investigar a conectividade intrínseca da amígdala, dada a importância que essa região tem para o medo e ansiedade. Na última década, surgiram estudos mostrando conectividade funcional intrínseca aberrante na amígdala, em adultos (Etkin, Prater, Schatzberg, Menon, & Greicius, 2009; Geiger et al., 2015; Roy et al., 2009; Yoon, Han, Yoon, Kim, & Yi, 2015) e adolescentes ansiosos (Hamm et al., 2014; He, Xu, Zhang, & Zuo, 2016; Liu et al., 2015; Roy et al., 2009; Sylvester et al., 2012) conforme descrito na tabela abaixo:

CRIANÇAS E ADOLESCENTES				
AUTOR E ANO	N/IDADE	TIPO DE ANÁLISE	DIAGNÓSTICO	RESULTADOS
Roy et al., 2013	35 adolescentes (12–17)	<i>seed-based</i>	TAG	Disfunção na conectividade da amígdala com córtex pré-frontal medial, ínsula e cerebelo. Correlação positiva entre severidade da ansiedade entre amígdala, ínsula e giro temporal superior.
Sylvester et al., 2013	80 crianças (3 - 6)	<i>seed-based</i>	TA: TAG, TASE, FS, FE e agorafobia.	Redução da conectividade da rede de atenção ventral (córtex pré-frontal ventrolateral, junção temporoparietal e porções dos giros temporais superiores).
Hamm et al, 2014	33 crianças (13 - 16)	<i>seed-based</i>	TAG, ASo, FS	Hiperconectividade entre amígdala direita e ínsula; Hiperconectividade entre amígdala esquerda e córtex pré-frontal ventromedial e cíngulo posterior.
Liu et al., 2015	26 adolescentes (12–17)	<i>seed-based</i>	TAG	Hipoconectividade da amígdala com dorsolateral córtex pré-frontal; Amígdala contralateral estendendo para o hipocampo; Hiperconectividade com ínsula, cerebelo, estriado, giro temporal superior; Amígdala ipsilateral estendendo para o parahipocampo.
ADULTOS				
AUTOR E ANO	IDADE		DIAGNÓSTICO	RESULTADOS

Etkin et al., 2009	64 adultos (32.5 ± 2.0)	<i>seed-based</i>	TAG	Hiperconectividade entre amígdala basolateral e córtex frontoparietal, córtex pré-frontal medial, ínsula e cíngulo.
Kim et al., 2010	84 adultos (19.6 ± 0.9)	<i>seed-based</i>	TAG e DM	Baixa ansiedade: Hipoconectividade entre amígdala ventral e córtex pré-frontal medial; Alta ansiedade: Hiperconectividade entre amígdala ventral e córtex pré-frontal medial.
Pannekoek et al., 2015	140 adultos	<i>seed-based</i>	TA, depressão maior (DM)	TA e DM: hipoconectividade entre precuneo bilateral, córtex intracalcarino, giro lingual, posterior cíngulo, giro precentral direito, giro frontal inferior e giro frontal medial.
Geiger et al., 2016	33 adultos	ACP	TASo	Hipoconectividade no giro orbitofrontal; Hiperconectividade no giro frontal medial; Hiperconectividade entre giro orbitofrontal esquerdo e amígdala esquerda.
He et al., 2016	280 adultos (18–83.5)	<i>seed-based</i>	Estado ou traço de ansiedade	Hiperconectividade entre amígdala esquerda e córtex sensoriomotor, rede de atenção dorsal; Hiperconectividade entre amígdala direita, córtex frontoparietal e rede de atenção ventral.

Conforme vimos acima, vários estudos prévios foram capazes de mostrar, através de ressonância magnética funcional, importantes informações sobre a conectividade intrínseca nos transtornos de ansiedade envolvendo várias áreas de conectividade aberrante entre a amígdala e diversas regiões do córtex. Entretanto, os estudos em adolescentes e jovens adultos ainda são escassos e contraditórios. Uma das possíveis razões para a inconsistência dos achados é o fato de que a maioria dos estudos não investiga de forma separada as sub-regiões da amígdala. No entanto, é sabido que diferentes núcleos da amígdala apresentam conectividades funcionais diferentes (Roy et al 2013). Portanto, o estudo pormenorizado da conectividade das sub-regiões da amígdala ainda guarda um potencial inexplorado para o entendimento dos transtornos de ansiedade em crianças.

REFERÊNCIAS

Agarwal, N., Port, J. D., Bazzocchi, M., & Renshaw, P. F. (2010). Update on the Use of MR for Assessment and Diagnosis of Psychiatric Diseases. *Radiology*, *255*(1), 23–41. <http://doi.org/10.1148/radiol.09090339>

Angel, M. (2012). Neuroimaging of the Amygdala: Quantitative Mechanistic Approach. In B. Ferry (Org.), *The Amygdala - A Discrete Multitasking Manager*. InTech. Recuperado de <http://www.intechopen.com/books/the-amygdala-a-discrete-multitasking-manager/neuroimaging-of-the-amygdala-quantitative-mechanistic-approach>

Bar-Haim, Y., Lamy, D., Pergamin, L., Bakermans-Kranenburg, M. J., & van IJzendoorn, M. H. (2007). Threat-related attentional bias in anxious and nonanxious individuals: a meta-analytic study. *Psychological Bulletin*, *133*(1), 1–24. <http://doi.org/10.1037/0033-2909.133.1.1>

Barry, D., Bates, M. E., & Labouvie, E. (2008a). FAS and CFL Forms of Verbal Fluency Differ in Difficulty: A Meta-analytic Study. *Applied neuropsychology*, *15*(2), 97–106. <http://doi.org/10.1080/09084280802083863>

Barry, D., Bates, M. E., & Labouvie, E. (2008b). FAS and CFL forms of verbal fluency differ in difficulty: a meta-analytic study. *Applied Neuropsychology*, *15*(2), 97–106. <http://doi.org/10.1080/09084280802083863>

Beckmann, C. F., DeLuca, M., Devlin, J. T., & Smith, S. M. (2005). Investigations into resting-state connectivity using independent component analysis. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, *360*(1457), 1001–1013. <http://doi.org/10.1098/rstb.2005.1634>

Biswal, B. B. (2012). Resting state fMRI: a personal history. *NeuroImage*, *62*(2), 938–944. <http://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2012.01.090>

Blackford, J. U., & Pine, D. S. (2012). Neural substrates of childhood anxiety disorders: a review of neuroimaging findings. *Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America*, *21*(3), 501–525. <http://doi.org/10.1016/j.chc.2012.05.002>

Busatto, G., Almeida, J. C. de, Cerqueira, C. T., & Gorenstein, C. (2006). Neuroanatomical correlates of emotions mapped with functional neuroimaging techniques. *Psicologia USP*, *17*(4), 135–157. <http://doi.org/10.1590/S0103-65642006000400008>

Corbetta, M., Patel, G., & Shulman, G. L. (2008). The reorienting system of the human brain: from environment to theory of mind. *Neuron*, 58(3), 306–324. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.04.017>

Dell, G. S., Schwartz, M. F., Martin, N., Saffran, E. M., & Gagnon, D. A. (1997). Lexical access in aphasic and nonaphasic speakers. *Psychological Review*, 104(4), 801–838.

Etkin, A., Prater, K. E., Schatzberg, A. F., Menon, V., & Greicius, M. D. (2009). Disrupted amygdalar subregion functional connectivity and evidence of a compensatory network in generalized anxiety disorder. *Archives of General Psychiatry*, 66(12), 1361–1372. <http://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2009.104>

Etkin, A., & Wager, T. D. (2007). Functional Neuroimaging of Anxiety: A Meta-Analysis of Emotional Processing in PTSD, Social Anxiety Disorder, and Specific Phobia. *American Journal of Psychiatry*, 164(10), 1476–1488. <http://doi.org/10.1176/appi.ajp.2007.07030504>

Fox, M. D., & Raichle, M. E. (2007). Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging. *Nature Reviews. Neuroscience*, 8(9), 700–711. <http://doi.org/10.1038/nrn2201>

Geiger, M. J., Domschke, K., Ipser, J., Hattingh, C., Baldwin, D. S., Lochner, C., & Stein, D. J. (2015). Altered executive control network resting-state connectivity in social anxiety disorder. *The World Journal of Biological Psychiatry: The Official Journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry*, 1–11. <http://doi.org/10.3109/15622975.2015.1083613>

Hamm, L. L., Jacobs, R. H., Johnson, M. W., Fitzgerald, D. A., Fitzgerald, K. D., Langenecker, S. A., ... Phan, K. L. (2014). Aberrant amygdala functional connectivity at rest in pediatric anxiety disorders. *Biology of Mood & Anxiety Disorders*, 4. <http://doi.org/10.1186/s13587-014-0015-4>

He, Y., Xu, T., Zhang, W., & Zuo, X.-N. (2016). Lifespan anxiety is reflected in human amygdala cortical connectivity. *Human Brain Mapping*, 37(3), 1178–1193. <http://doi.org/10.1002/hbm.23094>

Hoffmann, M., Mothes-Lasch, M., Miltner, W. H. R., & Straube, T. (2015). Brain activation to briefly presented emotional words: Effects of stimulus awareness. *Human Brain Mapping*, 36(2), 655–665. <http://doi.org/10.1002/hbm.22654>

Joo, S. H., Lim, H. K., & Lee, C. U. (2016). Three Large-Scale Functional Brain Networks from Resting-State Functional MRI in Subjects with Different Levels of Cognitive Impairment. *Psychiatry Investigation*, 13(1), 1–7. <http://doi.org/10.4306/pi.2016.13.1.1>

Kuperberg, G. R., Lakshmanan, B. M., Caplan, D. N., & Holcomb, P. J. (2006). Making sense of discourse: an fMRI study of causal inferencing across sentences. *NeuroImage*, 33(1), 343–361. <http://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.06.001>

Liao, W., Chen, H., Feng, Y., Mantini, D., Gentili, C., Pan, Z., ... Zhang, W. (2010). Selective aberrant functional connectivity of resting state networks in social anxiety disorder. *NeuroImage*, 52(4), 1549–1558. <http://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2010.05.010>

Liu, W., Yin, D., Cheng, W., Fan, M., You, M., Men, W., ... Zhang, F. (2015). Abnormal functional connectivity of the amygdala-based network in resting-state FMRI in adolescents with generalized anxiety disorder. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 21, 459–467. <http://doi.org/10.12659/MSM.893373>

Mason, R. A., & Just, M. A. (2006). Neuroimaging contributions to the understanding of discourse processes. In *Handbook of Psycholinguistics*. Amsterdam: Elsevier.

Mason, R. A., & Just, M. A. (2011a). Differentiable cortical networks for inferences concerning people's intentions versus physical causality. *Human brain mapping*, 32(2), 313–329. <http://doi.org/10.1002/hbm.21021>

Mason, R. A., & Just, M. A. (2011b). Differentiable cortical networks for inferences concerning people's intentions versus physical causality. *Human Brain Mapping*, 32(2), 313–329. <http://doi.org/10.1002/hbm.21021>

Mogg, K., Garner, M., & Bradley, B. P. (2007). Anxiety and orienting of gaze to angry and fearful faces. *Biological Psychology*, 76(3), 163–169. <http://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2007.07.005>

Pine, D. S. (2007). Research review: a neuroscience framework for pediatric anxiety disorders. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, 48(7), 631–648. <http://doi.org/10.1111/j.1469-7610.2007.01751.x>

Pine, D. S., Cohen, P., Gurley, D., Brook, J., & Ma, Y. (1998). The risk for early-adulthood anxiety and depressive disorders in adolescents with anxiety and depressive disorders. *Archives of General Psychiatry*, 55(1), 56–64.

Poldrack, R.A. Nichols, T.E., & Mumford, J.A. ([s.d.]). Handbook of Functional MRI Data Analysis | Statistics for life sciences, medicine and health. Recuperado 23 de fevereiro de 2015, de <http://www.cambridge.org/br/academic/subjects/statistics-probability/statistics-life-sciences-medicine-and-health/handbook-functional-mri-data-analysis?format=HB>

Raichle, M. E., MacLeod, A. M., Snyder, A. Z., Powers, W. J., Gusnard, D. A., & Shulman, G. L. (2001). A default mode of brain function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *98*(2), 676–682. <http://doi.org/10.1073/pnas.98.2.676>

Rapee, R. M., & Spence, S. H. (2004). The etiology of social phobia: empirical evidence and an initial model. *Clinical Psychology Review*, *24*(7), 737–767. <http://doi.org/10.1016/j.cpr.2004.06.004>

Rosen, B. R., Buckner, R. L., & Dale, A. M. (1998). Event-related functional MRI: Past, present, and future. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *95*(3), 773–780.

Roy, A. K., Shehzad, Z., Margulies, D. S., Kelly, A. M. C., Uddin, L. Q., Gotimer, K., ... Milham, M. P. (2009). Functional connectivity of the human amygdala using resting state fMRI. *NeuroImage*, *45*(2), 614–626. <http://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2008.11.030>

Salum, G. A., Desousa, D. A., do Rosário, M. C., Pine, D. S., & Manfro, G. G. (2013). Pediatric anxiety disorders: from neuroscience to evidence-based clinical practice. *Revista Brasileira De Psiquiatria (São Paulo, Brazil: 1999)*, *35 Suppl 1*, S03–21. <http://doi.org/10.1590/1516-4446-2013-S108>

Seeley, W. W., Menon, V., Schatzberg, A. F., Keller, J., Glover, G. H., Kenna, H., ... Greicius, M. D. (2007). Dissociable intrinsic connectivity networks for salience processing and executive control. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *27*(9), 2349–2356. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5587-06.2007>

Shackman, A. J., Salomons, T. V., Slagter, H. A., Fox, A. S., Winter, J. J., & Davidson, R. J. (2011). The integration of negative affect, pain and cognitive control in the cingulate cortex. *Nature Reviews. Neuroscience*, *12*(3), 154–167. <http://doi.org/10.1038/nrn2994>

Stam, C. J., de Haan, W., Daffertshofer, A., Jones, B. F., Manshanden, I., van Cappellen van Walsum, A. M., ... Scheltens, P. (2009). Graph theoretical analysis of magnetoencephalographic functional connectivity in Alzheimer's disease. *Brain: A Journal of Neurology*, *132*(Pt 1), 213–224. <http://doi.org/10.1093/brain/awn262>

Sylvester, C. M., Corbetta, M., Raichle, M. E., Rodebaugh, T. L., Schlaggar, B. L., Sheline, Y. I., ... Lenze, E. J. (2012). Functional network dysfunction in anxiety and anxiety disorders. *Trends in Neurosciences*, *35*(9), 527–535. <http://doi.org/10.1016/j.tins.2012.04.012>

Timbie, C., & Barbas, H. (2015). Pathways for Emotions: Specializations in the Amygdalar, Mediodorsal Thalamic, and Posterior Orbitofrontal Network. *The Journal of*

Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 35(34), 11976–11987. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2157-15.2015>

Toazza, R., Salum, G. A., Flores, S. M., Jarros, R. B., Pine, D. S., de Salles, J. F., & Manfro, G. G. (2014). Phonemic verbal fluency is associated with pediatric anxiety disorders: evidence from a community study. *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology*, 24(3), 149–157. <http://doi.org/10.1089/cap.2013.0086>

Troyer, A. K., Moscovitch, M., & Winocur, G. (1997). Clustering and switching as two components of verbal fluency: evidence from younger and older healthy adults. *Neuropsychology*, 11(1), 138–146.

Tupak, S. V., Badewien, M., Dresler, T., Hahn, T., Ernst, L. H., Herrmann, M. J., ... Ehlis, A.-C. (2012). Differential prefrontal and frontotemporal oxygenation patterns during phonemic and semantic verbal fluency. *Neuropsychologia*, 50(7), 1565–1569. <http://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2012.03.009>

Yoon, T. H., Han, S. J., Yoon, T. S., Kim, J. S., & Yi, T. I. (2015). Therapeutic effect of repetitive magnetic stimulation combined with speech and language therapy in post-stroke non-fluent aphasia. *NeuroRehabilitation*, 36(1), 107–114. <http://doi.org/10.3233/NRE-141198>

2. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

3.1.1 ARTIGO 1: Investigar se a gravidade dos transtornos de ansiedade está relacionada com desempenho em uma tarefa de fluência verbal fonêmica em crianças com diagnóstico de transtornos de ansiedade.

3.1.2 ARTIGO 2: Investigar diferenças no processamento emocional entre adolescentes e adultos jovens com e sem transtornos de ansiedade.

3.1.3 ARTIGO 3: Investigar diferenças na conectividade de diferentes sub-regiões da amígdala com todo o entre adolescentes e adultos jovens com e sem transtorno de ansiedade.

3.2 Objetivos Específicos

3.2.1 ARTIGO 1:

1. Avaliar a correlação entre desempenho numa tarefa de fluência verbal fonêmica e sintomas de ansiedade em diferentes informantes (crianças, pais e avaliação clínica);

2. Investigar se as associações entre fluência verbal fonêmica e sintomas de ansiedade são independentes de sintomas comórbidos de desatenção e hiperatividade;
3. Investigar se essas associações podem estar relacionadas de forma específica a formação de *clusters* ou de *switches*.

3.2.2 ARTIGO 2:

1. **Processamento emocional versus linguístico:** Avaliar se há diferenças na ativação cerebral entre narrativas de conteúdos emocionais de alegria, raiva, tristeza (processamento linguístico e emocional) em comparação com narrativas de conteúdo neutro (processamento linguístico) em toda a amostra;
2. **Análise de grupo:** Avaliar se há diferenças na ativação cerebral de processamento de narrativas (independente do conteúdo emocional) entre os sujeitos com transtorno de ansiedade em comparação com sujeitos sem transtorno de ansiedade;
3. **Interações:** Avaliar interações entre processamento emocional e diferença entre os grupos de indivíduos com e sem transtorno de ansiedade.

3.2.3 ARTIGO 3:

1. Investigar diferenças na conectividade intrínseca de subdivisões da amígdala com todo o cérebro entre indivíduos com e sem transtorno de ansiedade.

4. HIPÓTESES

4.1 ARTIGO 1: Nossa hipótese é que os déficits de fluência verbal estariam consistentemente associados com a gravidade dos sintomas de ansiedade em crianças pequenas, independentemente do informante e dos sintomas de Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH).

4.2 ARTIGO 2: Neste artigo temos duas hipóteses, além de um objetivo exploratório:

(1) **Processamento emocional *versus* linguístico:** Não há hipótese específica para esse objetivo (análise exploratória);

(2) **Análise de grupo:** todos os participantes apresentariam uma ativação diferenciada no tálamo, amígdala, córtex pré-frontal dorsomedial, pólo temporal, córtex cingulado posterior e junção têmporo-parietal no processamento de narrativas emocionais se comparadas a narrativas neutras.

(3) **Interações:** pacientes com transtornos de ansiedade apresentaria uma rede de ativação diferenciada no tálamo, amígdala e córtex pré-frontal ventromedial para narrativas com conteúdo emocional negativo, quando comparadas com emoções neutras;

4.3 ARTIGO 3: Nossa hipótese é que indivíduos com transtorno de ansiedade apresentariam conectividade funcional intrínseca aberrante entre subdivisões da amígdala com regiões do córtex pré-frontal medial, ínsula, cerebelo e giro temporal superior.

5. ARTIGO 1

Verbal fluency and severity of anxiety disorders in young children

ACEITO na revista *Trends in Psychiatry and Psychotherapy*



Trends

in Psychiatry and Psychotherapy

onbehalfof+mksantanna+gmail.com@manuscriptcentral.com

Hoje em 1:55 PM

Para rudineiatoazza@yahoo.com.br

08-Mar-2016

Dear Mrs. Toazza:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Phonemic verbal fluency and severity of anxiety disorders in young children" in its current form for publication in the Trends in Psychiatry and Psychotherapy.

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of the Trends in Psychiatry and Psychotherapy, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,

Dr. Marcia Kauer-Sant'Anna

Editor-in-Chief, Trends in Psychiatry and Psychotherapy

mksantanna@gmail.com

6. ARTIGO 2

Anxiety-related down-regulation of thalamic regions in the processing of sad and angry emotional narratives

7. ARTIGO 3

Amygdala-based intrinsic functional connectivity and anxiety disorders in adolescents and young adults

ACEITO no *Psychiatry Research: Neuroimaging*

Journal Metrics

Source Normalized Impact per Paper (SNIP): **0.901** 

SCImago Journal Rank (SJR): **1.412** 

Impact Factor: **2.424** 

5-Year Impact Factor: **3.411** 



8. DISCUSSÃO GERAL

Esta tese de Doutorado teve como objetivo estudar mecanismos fisiopatológicos associados aos transtornos de ansiedade utilizando estudos neuropsicológicos e de neuroimagem funcional. Foram apresentados três artigos produzidos a partir de dois projetos. O primeiro artigo como resultado de uma avaliação com crianças participantes de um ensaio clínico randomizado para ansiedade infantil. O segundo e terceiro artigos como resultados de um seguimento de pacientes adolescentes e adultos jovens acompanhados pelos últimos 5 anos.

No **artigo 1** (*Verbal fluency and severity of anxiety disorders in young children*) o objetivo principal foi investigar se o desempenho em testes de fluência verbal fonêmica estaria relacionado com a gravidade dos sintomas em crianças com transtorno de ansiedade, e, se essa associação seria independente dos sintomas de Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH), uma comorbidade frequente.

Os resultados mostraram que a gravidade dos sintomas de ansiedade foram negativamente correlacionados com o número de *clusters* (agrupamentos) e que essa associação não pode ser explicada por sintomas de TDAH. Estes dados replicam um trabalho anterior de nosso grupo que mostram uma forte associação entre transtornos de ansiedade e pior desempenho em tarefas de fluência verbal.

Essa replicação reforça a importância da fluência verbal como um marcador de gravidade para a ansiedade e incentiva o desenvolvimento de novos estudos que investiguem de maneira mais aprofundada medidas neurobiológicas e implicações terapêuticas desses resultados atuais. Intervenções que visem mecanismos envolvidos na fluência verbal, tal como funções executivas, memória e linguagem, em idades precoces,

podem ser um caminho para minimizar problemas futuros e morbidades associadas aos transtornos de ansiedade.

O **artigo 2** (*Anxiety-related down-regulation of thalamic regions in the processing of sad and angry emotional narratives*) – entendido como o principal artigo da tese - teve como objetivo principal investigar o processamento emocional em pacientes com transtorno de ansiedade. Este artigo é o primeiro – para nosso conhecimento- a usar narrativas que transmitam emoção para estudar transtornos emocionais. O paradigma construído para utilização na ressonância magnética funcional foi desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa e foi capaz de revelar aspectos emocionais das narrativas e diferenças entre indivíduos ansiosos e não ansiosos quanto ao processamento emocional.

Os nossos resultados mostraram que o tálamo esteve consistentemente associado a um processamento aberrante de narrativas que veicularam conteúdo negativo (tristeza e raiva) se comparados ao conteúdo neutro – uma interação processamento emocional vs. grupo. Este achado é parcialmente consistente com a nossa hipótese inicial de que esperávamos ativações diferenciadas no tálamo, amígdala e córtex pré-frontal condizente com a literatura nessa área. Além disso, demonstramos efeitos pronunciados, relacionados com o processamento emocional no córtex pré-frontal dorsomedial, pólo temporal, córtex cingulado posterior e junção temporoparietal. Contudo, contrariamente às nossas hipóteses, a ativação na amígdala não foi detectada neste estudo. Nós também mostramos agrupamentos relacionados com processamento emocional em áreas relacionadas com a linguagem e processamento da atenção. Não detectamos diferenças no processamento de narrativas de cunho neutro relacionadas com o transtorno de ansiedade.

Uma possibilidade de termos encontrado disfunções talâmicas mais evidentes, e não ativação na amígdala, conforme era o esperado, pode ser devido ao tipo de tarefa.

Disfunções talâmicas podem ser mais evidentes em paradigmas baseados em narrativas, tendo em vista que exigem uma integração de diversas fontes de informação (linguísticas e não linguísticas) a fim de provocar o processamento emocional. Paradigmas com faces ou palavras de cunho ameaçador, em contrapartida, podem provocar modulações regulatórias mais rápidas em regiões como o córtex pré-frontal e amígdala, os quais são facilmente salientes para os sistemas de detecção de ameaças e podem exigir uma menor integração de regiões do tálamo. Outra possibilidade é, também, uma limitação deste estudo, é o nosso pequeno tamanho amostral, que pode ter restringido nossa capacidade de identificar diferenças mais sutis na ativação cerebral com essa tarefa. Além disso, a amostra incluiu comorbidades, que apesar de comuns aos transtornos de ansiedade, possam ter limitado nossa capacidade de fazer inferências específicas para a ansiedade.

Em suma, os resultados desse estudo destacam a importância do tálamo como uma região de interesse para a investigação da circuitaria dos transtornos de ansiedade - como parte de uma rede tripartite formada pela amígdala e o córtex pré-frontal. Além disso, a observação sistemática da interação dessas três regiões pode ajudar a elucidar os mecanismos neurais de processamento emocional nos transtornos de ansiedade. Esses resultados são especificamente relevantes num momento onde grande parte das informações emocionais são veiculadas através de narrativas, como mensagens de texto.

No **artigo 3** (*Amygdala-based intrinsic functional connectivity and anxiety disorders in adolescents and young adults*), o objetivo foi investigar a conectividade intrínseca da amígdala humana, usando mapas probabilísticos de cada subdivisão (basolateral, centromedial and superficial) em indivíduos com transtornos de ansiedade em comparação com indivíduos sem o transtorno. Baseado em evidências prévias de Roy e colaboradores (Roy et al., 2013), nós hipotetizamos que sujeitos com transtornos de ansiedade apresentam alterações significativas na conectividade funcional intrínseca,

relacionada com as subdivisões da amígdala e conexões com regiões do córtex pré-frontal, ínsula, cerebelo e giro temporal superior. Entretanto, dado os escassos estudos nessa área, foi usada uma análise de todo cérebro para explorar outras áreas possivelmente relacionadas.

Nossos resultados mostram uma conectividade funcional aberrante entre a amígdala basolateral esquerda e cinco regiões no cérebro relacionadas à ansiedade. Essa associação significa que encontramos correlações positivas entre a amígdala basolateral esquerda e giro precentral direito, giro cíngulado direito, precúneo bilateral e giro frontal superior direito nos indivíduos com transtorno de ansiedade (uma hiperconectividade entre a amígdala e essas cinco regiões). Nos indivíduos comparação a maioria dessas correlações não é significativa e, além disso, encontramos uma correlação inversa entre a amígdala basolateral esquerda e duas regiões (cíngulo e precúneo direitos). Não encontramos diferenças estatisticamente significativas entre os sexos.

Corroborando com a literatura, nós encontramos conectividade intrínseca aberrantes em pacientes com transtornos de ansiedade. Contudo, contrariando às nossas hipóteses, nós não encontramos nenhuma conexão com córtex pré-frontal medial, ínsula, cerebelo e giro temporal superior (Roy et al., 2013). Apesar disso, os resultados encontrados apresentam forte associação com transtornos de ansiedade e com grande tamanho de efeito (Cohen's $d > 1.5$).

O presente trabalho estende os escassos resultados prévios da literatura em adolescentes e jovens adultos com transtorno de ansiedade e fornece novos conhecimentos sobre a neuroanatomia funcional da amígdala, suportando a hipótese de que adolescentes e jovens adultos com esses transtornos exibem alterações nos circuitos relacionados com esta estrutura cerebral, bem conhecidos por alterações no aprendizado do medo em adultos. Em suma, esses dados convergem com estudos prévios e estudos

utilizando modelos animais, que suportam a validade deste déficit na psicopatologia e no neurodesenvolvimento.

O conjunto de dados encontrados nesses três artigos nos mostram alterações significativas em indivíduos com transtornos de ansiedade a partir de diferentes enfoques de avaliação: Neuropsicologia, neuroimagem funcional com realização de tarefa e neuroimagem funcional em repouso. Os estudos em crianças e adolescentes, especialmente os estudos em neuroimagem funcional ainda estão emergindo na literatura, com muitas lacunas a serem preenchidas, sobretudo no que se refere aos estudos de conectividade cerebral. Os poucos estudos publicados nessa área ainda apresentam resultados inconsistentes e com grande variabilidade metodológica, o que dificulta a generalização dos achados.

Desde os primeiros resultados encontrados no mestrado (Toazza et al., 2014) e associado aos resultados encontrados nesse estudo, a investigação de aspectos da linguagem nos transtornos de ansiedade mostrou-se frutífera para revelar déficits associados a estes transtornos mentais. Esses achados vão ao encontro das teorias propostas por Sylvester e colaboradores (Sylvester et al., 2012) que propõem o envolvimento de 4 redes funcionais envolvidas em diferentes aspectos da cognição que estariam alterados em indivíduos com transtornos de ansiedade.

(1) *Rede cíngulo-opercular*: inclui cíngulo, insula, córtex pré-frontal e tálamo.

Acredita-se que esta rede esteja envolvida no controle cognitivo, processamento de afeto negativo e dor (Liao et al., 2010; Shackman et al., 2011).

(2) *Rede fronto-parietal*: inclui porções bilaterais anteriores do córtex pré-frontal dorsolateral, lóbulo parietal inferior, porções do giro cíngulo media e porções do precuneo. É referida como tendo papel importante no controle

executivo, monitoramento para detectar desvios de conduta, assinalando assim a eventual necessidade de ajuste de estratégia (Seeley et al., 2007).

(3) *Rede de modo padrão*: incluem cíngulo, precuneo, córtex parietolateral, córtex pré-frontal medial, giro temporal inferior, giro parahipocampal e córtex frontal superior. A hipótese é que essa rede esteja envolvida na realização de funções introspectivas, planejamento futuro, auto-monitoramento e regulação emocional (Raichle et al., 2001).

(4) *Rede de atenção ventral*: inclui o córtex pré-frontal ventrolateral, junção temporoparietal e porções dos giros temporais superiores. Estaria envolvida no processamento de atenção automática a estímulos, sugerindo envolvimento em funções como cognição social (Corbetta et al., 2008)

Indivíduos com transtorno de ansiedade exigiriam um controle executivo adicional para processar a emoção na presença de estímulos de cunho emocional, quando comparados a sujeitos do grupo de comparação (Goldin, Manber-Ball, Werner, Heimberg, & Gross, 2009), por uma dificuldade nessa modulação emocional (Cisler, Olatunji, Feldner, & Forsyth, 2010). Além disso, está bem descrito na literatura, também, que esses pacientes apresentam um viés para estímulos ameaçadores (Pine, 2007), alteração em alguns aspectos da função executiva, tais como o controle inibitório (Micco et al., 2009) e flexibilidade cognitiva (Toren et al., 2000). Essas alterações vão ao encontro de diferentes resultados levantados por nossos artigos nos indivíduos com transtornos de ansiedade, tais como alteração na fluência verbal, alteração no processamento emocional para estímulos negativos e alteração na conectividade intrínseca em repouso.

Um estudo recente mostra diferenças de conectividade intrínseca de repouso entre a amígdala esquerda e regiões envolvidas no processamento de emoções faciais,

aprendizado do medo e dor, quando comparando homens e mulheres. Esses dados sugerem que a conectividade intrínseca da amígdala é bem regulado pelos efeitos do cortisol e, por isso, diferiria entre homens e mulheres (Kogler et al., 2016). A influência do sexo nos estudos com transtornos de ansiedade é uma questão importante de ser discutida, levando em consideração que alguns artigos sugerem uma maior predominância de mulheres com esses transtornos. No nosso conjunto de artigos não encontramos diferenças estatisticamente significativas, no primeiro e no segundo artigo os resultados se mantiveram com a mesma magnitude quando controlados para o sexo, no terceiro, foi incluído como covariável e não encontramos diferenças. Entretanto, fica como uma sugestão para estudos futuros investigar a relação do cortisol nos estudos com neuroimagem.

A infância e adolescência são um período crítico e importante para o desenvolvimento do cérebro humano e mudanças sutis durante esta fase podem ser exponencialmente ampliadas por diferentes influências, tais como transtornos psiquiátricos. Essas influências podem gerar consequências em longo prazo persistindo até a vida adulta. Os estudos em ressonância magnética na última década têm nos oferecido uma oportunidade sem precedentes para estudar o neurodesenvolvimento *in vivo*.

Em suma, os dados dessa tese trazem contribuições importantes para o entendimento dos transtornos de ansiedade sob a perspectiva da Neurociência, Neuropsicologia, Psiquiatria e Fonoaudiologia. Esses achados iniciais demonstram as potencialidades que a neurociência oferece para o entendimento dos transtornos mentais ao compreender cérebro humano em suas diferentes redes funcionais. E fornecem ideias para avanços na personalização terapêutica e desenvolvimento de novas estratégias de tratamento.

9. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados encontrados nesses três artigos que compõe esta tese nos trazem importantes contribuições sobre o desenvolvimento da ansiedade e dos circuitos neurais envolvidos em crianças e adolescentes. Os dados nos mostram alterações significativas na fluência verbal e alterações na conectividade cerebral, tanto em repouso quanto baseado em tarefas, presentes nos transtornos de ansiedade, trazendo novas informações que são importantes para o entendimento da origem dessas alterações.

A tese contribui também com o desenvolvimento de um paradigma para avaliação de processamento emocional utilizando narrativas. Esse produto pode ser utilizado por outros investigadores interessados em estudar processamento emocional.

Identificar no cérebro trajetórias comportamentais que possam estar associadas à ansiedade pode nos informar sobre aspectos mecânicos do desenvolvimento dos transtornos, assim como sugerir novas metas para tratamento. Os resultados desses estudos podem sugerir novos caminhos para o desenvolvimento de tratamentos, além de novas terapias farmacológicas ou comportamentais poderem capitalizar-se sobre achados da neurociência almejando habilidades de regulação emocional em crianças ansiosas.

As contribuições podem ser no âmbito de novas terapias de funções relacionadas com a fluência verbal, as quais envolvem habilidades de linguagem e memória, podendo evitar a piora de sintomas de ansiedade. No campo da Fonoaudiologia e Neuropsicologia, nos ajudam a entender os mecanismos linguísticos, trazendo possibilidades de novas terapêuticas em diferentes quadros clínicos, levando em consideração a alta comorbidade de quadros com lesão ou disfunção cognitiva e transtornos psiquiátricos.

10. PERSPECTIVAS FUTURAS

Como pesquisadora, minhas perspectivas futuras são seguir com linhas que envolvam Neuropsicologia, linguagem e Neurociências em um possível pós-doutorado. Dentro dessa perspectiva tenho a intenção de avançar os conhecimentos nesta área integrando novos métodos que envolvam novas terapias, com medidas comportamentais e neurobiológicas antes e após tratamento, para entender mecanismos de funcionamento das alternativas terapêuticas disponíveis.

11. REFERÊNCIAS

- Cisler, J. M., Olatunji, B. O., Feldner, M. T., & Forsyth, J. P. (2010). Emotion Regulation and the Anxiety Disorders: An Integrative Review. *Journal of Psychopathology and Behavioral Assessment*, 32(1), 68–82. <http://doi.org/10.1007/s10862-009-9161-1>
- Corbetta, M., Patel, G., & Shulman, G. L. (2008). The reorienting system of the human brain: from environment to theory of mind. *Neuron*, 58(3), 306–324. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.04.017>
- Goldin, P. R., Manber-Ball, T., Werner, K., Heimberg, R., & Gross, J. J. (2009). Neural mechanisms of cognitive reappraisal of negative self-beliefs in social anxiety disorder. *Biological Psychiatry*, 66(12), 1091–1099. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.07.014>
- Kogler, L., Müller, V. I., Seidel, E.-M., Boubela, R., Kalcher, K., Moser, E., ... Derntl, B. (2016). Sex differences in the functional connectivity of the amygdalae in association with cortisol. *NeuroImage*, 134, 410–423. <http://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.03.064>
- Liao, W., Chen, H., Feng, Y., Mantini, D., Gentili, C., Pan, Z., ... Zhang, W. (2010). Selective aberrant functional connectivity of resting state networks in social anxiety disorder. *NeuroImage*, 52(4), 1549–1558. <http://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2010.05.010>
- Micco, J. A., Henin, A., Biederman, J., Rosenbaum, J. F., Petty, C., Rindlaub, L. A., ... Hirshfeld-Becker, D. R. (2009). Executive functioning in offspring at risk for depression and anxiety. *Depression and Anxiety*, 26(9), 780–790. <http://doi.org/10.1002/da.20573>
- Pine, D. S. (2007). Research review: a neuroscience framework for pediatric anxiety disorders. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, 48(7), 631–648. <http://doi.org/10.1111/j.1469-7610.2007.01751.x>
- Raichle, M. E., MacLeod, A. M., Snyder, A. Z., Powers, W. J., Gusnard, D. A., & Shulman, G. L. (2001). A default mode of brain function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(2), 676–682. <http://doi.org/10.1073/pnas.98.2.676>
- Roy, A. K., Fudge, J. L., Kelly, C., Perry, J. S. A., Daniele, T., Carlisi, C., ... Ernst, M. (2013). Intrinsic functional connectivity of amygdala-based networks in adolescent generalized anxiety disorder. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 52(3), 290–299.e2. <http://doi.org/10.1016/j.jaac.2012.12.010>

Seeley, W. W., Menon, V., Schatzberg, A. F., Keller, J., Glover, G. H., Kenna, H., ... Greicius, M. D. (2007). Dissociable intrinsic connectivity networks for salience processing and executive control. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 27(9), 2349–2356. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5587-06.2007>

Shackman, A. J., Salomons, T. V., Slagter, H. A., Fox, A. S., Winter, J. J., & Davidson, R. J. (2011). The integration of negative affect, pain and cognitive control in the cingulate cortex. *Nature Reviews. Neuroscience*, 12(3), 154–167. <http://doi.org/10.1038/nrn2994>

Sylvester, C. M., Corbetta, M., Raichle, M. E., Rodebaugh, T. L., Schlaggar, B. L., Sheline, Y. I., ... Lenze, E. J. (2012). Functional network dysfunction in anxiety and anxiety disorders. *Trends in Neurosciences*, 35(9), 527–535. <http://doi.org/10.1016/j.tins.2012.04.012>

Toazza, R., Salum, G. A., Flores, S. M., Jarros, R. B., Pine, D. S., de Salles, J. F., & Manfro, G. G. (2014). Phonemic verbal fluency is associated with pediatric anxiety disorders: evidence from a community study. *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology*, 24(3), 149–157. <http://doi.org/10.1089/cap.2013.0086>

Toren, P., Sadeh, M., Wolmer, L., Eldar, S., Koren, S., Weizman, R., & Laor, N. (2000). Neurocognitive correlates of anxiety disorders in children: a preliminary report. *Journal of Anxiety Disorders*, 14(3), 239–247.

11. ANEXOS

Artigos em colaboração publicados ou submetidos durante o Doutorado

- *Impulsivity-based thrifty eating phenotype and the protective role of n-3 PUFAs intake in adolescents.*
Aceito para publicação na Translational Psychiatry (FI: 4.360)
- *A role for the cingulate cortex in dyslexia: activation and underconnectivity in a study of Brazilian children.*
Submetido para Developmental Neuropsychology (FI: 2.241)
- *Interaction Between Stress Responsiveness and Insulin Sensitivity on Eating Behavior In Adolescents*
Submetido para Obesity Research & Clinical Practice (FI: 1.177)
- *Intrauterine growth programming of adolescent feeding behavior and related brain mechanisms*
Dados ainda não submetidos
- *Interaction between perceived maternal care, anxiety symptoms and the neurobehavioral response to palatable foods in adolescents*
Submetido na Stress (FI: 2.715)
- *Assessment of Anxiety Severity and Impairment in Community and Clinical Contexts*
Dados ainda não submetidos

**Impulsivity-based thrifty eating phenotype and the protective role of n-3 PUFAs
intake in adolescents.**

Roberta Sena Reis¹, Roberta Dalle Molle¹, Tânia Diniz Machado¹, Amanda Brondani Mucellini³, Danitsa Marcos Rodrigues², Andressa Bortoluzzi², Solange Mara Bigonha⁴, Rudineia Toazza², Giovanni Abrahão Salum³, Luciano Minuzzi⁵, Augusto Buchweitz^{6,7,9}, Alexandre Franco^{6,7,8}, Maria do Carmo Gouveia Pelúzio⁴, Gisele Gus Manfro^{2,3}, Patrícia Pelufo Silveira^{1,2}

ABSTRACT

Impulsivity and poor inhibitory control are important behavioral traits moderating non-adaptive feeding in intrauterine growth restriction (IUGR) children. We hypothesized that IUGR affects brain responses to palatable foods in a brain fMRI task and DHA could moderate the association between IUGR and brain responses and/or behavioral responses to palatable foods, decreasing non-adaptive behaviors. A brain fMRI in a task facing the visualization of palatable foods, neutral foods and neutral items had brain activation as the outcome, serum DHA and birth weight ratio (BWR) as continuous predictors (multiple regression). In the contrast Palatable Food>Neutral Items we found an activation in the right superior frontal gyrus with BWR as the most important predictor; the lower the BWR (indicative of IUGR) the greater the activation of this region involved in impulse control/decision making facing the viewing of palatable food pictures vs. neutral items. At the behavioral level, a GLM model predicting External Eating using the Dutch Eating Behavior Questionnaire showed a significant interaction between DHA and

IUGR status; in IUGR individuals, the higher the serum DHA, the lower External Eating. In conclusion, we suggest that IUGR moderates brain responses when facing stimuli related to palatable foods, activating an area related to impulse control. Moreover, higher intake of n-3 PUFAs can protect IUGR individuals of developing inappropriate behaviors, especially decreasing intake in response to external food cues in adolescents/young adults.

Keywords: n-3 PUFAs, intrauterine growth restriction, feeding behavior.

Developmental Neuropsychology

A role for the cingulate cortex in dyslexia: activation and underconnectivity in a study of Brazilian children.

Abstract

The goal of the present study was to investigate functional and connectivity differences in dyslexic children relative to typical readers in the brain. The results show (1) more activation of the anterior cingulate cortex for typical readers; and (2) decreased connectivity in dyslexic's occipitotemporal (visual word form area) region and the posterior cingulate cortex. The results suggest executive control processes associated with typical reading development, and impaired connectivity between a key area for reading and the brain's posterior cingulate cortex. The results are discussed in the light of noninvasive brain imaging evidence on atypical brain function in dyslexia.

Keywords

Dyslexia; fMRI; Visual Word Form Area; Cingulate Cortex

Dear Ms Rudineia Toazza:

A manuscript titled A role for the cingulate cortex in dyslexia: activation and underconnectivity in a study of Brazilian children. (HDVN-2016-0025) has been submitted by Dr Augusto Buchweitz to Developmental Neuropsychology.

You are listed as a co-author for this manuscript. The online peer-review system, ScholarOne Manuscripts, has automatically created a user account for you.

**INTERACTION BETWEEN STRESS RESPONSIVENESS AND INSULIN
SENSITIVITY: EFFECT ON SATIETY AND EATING BEHAVIOR IN
ADOLESCENTS**

NATASHA K. O. FONSECA¹; TANIA MACHADO², ROBERTA DALLE MOLLE⁵,
ROBERTA SENA REIS², AMANDA BRONDANI MUCELINI³, DANITSA
RODRIGUES⁴, RUDINEIA TOAZZA⁴; ANDRESSA BORTOLUZZI⁴; GIOVANNI
SALUM^{3,5}; GISELE G. MANFRO^{3,4,6}, PATRICIA P. SILVEIRA^{2,4,5}

ABSTRACT

Introduction: The modern lifestyle is associated with daily exposure to stressful events. Increasing exposure to stress often induces higher consumption of so-called comfort foods and decreased intake of fruits and vegetables. Thereby, obesity can be related to behavioral and metabolic modifications in response to stress. **Methods:** Twenty-four teenagers were assessed throughout the Dutch Eating Behaviour Questionnaire (DEBQ) in order to evaluate feeding behavior. Blood was collected after fasting to quantify insulin levels. Salivary samples were collected for cortisol measurement before, shortly after, and 30 minutes after the exposure to an acute stressor. Meal-induced satiety was evaluated by measuring subjective feelings of hunger before and after a standard snack. **Results:** There was a significant interaction between the stress responsiveness and insulin sensitivity in our sample with an effect on eating behavior. We found an increase in emotional eating in response to stress in insulin-resistant adolescents, but not in those having normal insulin sensitivity [Wald = 4.394; df = 1; $P = 0.036$]. This interaction was specific for emotional eating and did not affect meal-induced satiety scores. **Conclusion:**

This study demonstrates that the metabolic profile related to insulin sensitivity plays a decisive role in eliciting the cortisol effect on emotional eating. This finding emphasizes the development of non-eating strategies to deal with stress as important tool in the management of obesity, which is often seen in concomitance with insulin resistance. The chronic and recurrent use of comfort foods to relieve stress symptoms can be a perpetual driver of obesity in these individuals. Adding new strategies to cope with stress, allied with reasonable nutritional guidance, appears to be essential to controlling weight gain in this population.

Keywords: stress, insulin, satiety, eating behavior, obesity.

Interaction between perceived maternal care, anxiety symptoms and the neurobehavioral response to palatable foods in adolescents

Authors: Tania Diniz Machado¹, Roberta Dalle Molle¹, Roberta Sena Reis¹, Danitsa Marcos Rodrigues³, Amanda Brondani Mucellini⁴, Luciano Minuzzi², Alexandre Rosa Franco^{6,7,8}, Augusto Buchweitz^{6,7,9}, Rudineia Toazza³, Bárbara Cristina Ergang⁴, Ana Carla de Araújo Cunha⁴, Giovanni Abrahão Salum⁵, Gisele Gus Manfro^{3,5}, Patrícia Pelufo Silveira^{1,3}

Abstract

Introduction: Studies in rodents have shown that early life trauma leads to anxiety and increased stress responses to threatening situations and modifies food intake in a new environment. However, these associations are still to be tested in humans **Objectives:** We aimed at verifying complex interactions among anxiety diagnosis, maternal care and baseline cortisol on food intake in a new environment in humans. **Methods:** A community sample of 32 adolescents and young adults was evaluated for psychiatric diagnosis using standardized interviews, maternal care using the Parental Bonding Instrument (PBI), caloric consumption in a new environment (meal choice at a snack bar) and salivary cortisol. They also performed a brain fMRI task including the visualization of palatable foods vs. neutral items. **Results and discussion:** We found a three-way interaction between anxiety diagnosis, maternal care and baseline cortisol levels on total calories consumption (snack) in a new environment. This interaction means that for those with high maternal care there were no significant associations between cortisol levels and food

intake in a new environment. However, for those with low maternal care, which have an anxiety disorder (affected), cortisol was associated with higher food intake; whereas for those with low maternal care, which did not have an anxiety disorder (resilient), cortisol was negatively associated with lower food intake. In addition, higher anxiety symptoms was associated with a decreased activation in superior and middle frontal gyrus when visualizing palatable vs. neutral items only in those reporting high maternal care. These results in humans mimic experimental research findings and demonstrate that a combination of anxiety diagnosis and maternal care moderate the relationship between HPA axis functioning and feeding behavior in adolescents and young adults.

Keywords: poor maternal care; feeding behavior; obesity; anxiety; functional fMRI

Title Page

Title: Intrauterine growth programming of adolescent feeding behavior and related brain mechanisms

Authors: Roberta Dalle Molle^a, Luciano Minuzzi^b, Tania Diniz Machado^a, Roberta Sena Reis^a, Danitsa Marcos Rodrigues^c, Amanda Brondani Mucellini^d, Alexandre Rosa Franco^{e,f,g}, Augusto Buchweitz^{e,h}, Rudineia Toazza^c, Andressa Bortoluzzi^c, Giovanni Abrahão Salum^d, Gisele Gus Manfro^{c,d}, Patricia Pelufo Silveira^{a,c}

Abstract

Low birth weight for a given gestational age (SGA) is associated with an increased preference for palatable foods from the beginning of life to adulthood, which could contribute to increased risk for developing obesity and related chronic diseases. We aimed at investigating the effect of SGA on adolescents' feeding behavior, as well as verify changes in brain resting state connectivity in regions that may be related to the behavioral changes. Participants were classified in SGA or controls and had anthropometric data and feeding behavior (food choice task, in which everyone received a monetary value to purchase a snack; and Dutch Eating Behavior Questionnaire - DEBQ) assessed. Resting state fMRI was also performed, and connectivity between brain regions related to reward and self-control were analyzed. We showed that healthy SGA adolescents have a different behavior for buying a snack and lower resting state connectivity for a network of areas that includes the orbitofrontal cortex, dorsolateral prefrontal cortex, dorsal striatum, and amygdala. We also observed that the restrictive eating dimension of the DEBQ increases with the decrease of birth weight ratio and the increase of body mass index. This study confirms the hypothesis that SGA is associated to changes in feeding behavior. It also introduces the idea that SGA individuals, when compared to controls, have a different brain resting state connectivity for a network of areas related to reward and decision-making.

Keywords: small for gestational age; feeding behavior; functional connectivity; resting state fMRI

Capítulos de livro em colaboração publicados durante o Doutorado

SALLES, J. F.; HAASE, V. G.; MALLOY-DINIZ, L. F. (Org.). **Neuropsicologia do desenvolvimento**: infância e adolescência. Porto Alegre: Artmed, 2016.



- *Aspectos Neuropsicológicos nos Transtornos de Ansiedade na infância e na adolescência*
Autores: Rafaela Behs Jarros; Rudineia Toazza; Gisele Gus Manfro.
- *Ambulatório de aprendizagem do projeto ACERTA (Avaliação de Crianças Em Risco de Transtorno de Aprendizagem): métodos e resultados em dois anos*
Autores: Adriana Correa Costa; Rudineia Toazza; Ana Bassôa; Mirna Wetters Portuguez; Augusto Buchweitz.