

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSIQUIATRIA
E CIÊNCIAS DO COMPORTAMENTO**



TESE DE DOUTORADO

**CONTRIBUIÇÕES AO ENTENDIMENTO DA TRAJETÓRIA DO
TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO/HIPERATIVIDADE
DA INFÂNCIA A ADOLESCÊNCIA E DO TRATAMENTO EM ADULTOS:
O PAPEL DA RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL
EM ESTADO DE REPOUSO**

FELIPE ALMEIDA PICON

Porto Alegre, Dezembro de 2018

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSIQUIATRIA
E CIÊNCIAS DO COMPORTAMENTO**

Tese de Doutorado

**CONTRIBUIÇÕES AO ENTENDIMENTO DA TRAJETÓRIA DO
TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO/HIPERATIVIDADE
DA INFÂNCIA A ADOLESCÊNCIA E DO TRATAMENTO EM ADULTOS:
O PAPEL DA RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL
EM ESTADO DE REPOUSO**

FELIPE ALMEIDA PICON

Tese apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Psiquiatria e Ciências do Comportamento, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Luis Augusto Paim Rohde

Co-Orientador: Prof. Dr. João Ricardo Sato

Porto Alegre, Brasil, 2018

Ficha Catalográfica

*Para minhas filhas Martina e Giovana,
Como exemplo para suas vidas futuras
de que o trabalho e a dedicação
são o único caminho
na busca da excelência*

AGRADECIMENTOS

Ao professor Luis Augusto Paim Rohde, pelo convite para participar da coleta de neuroimagem do Instituto Nacional de Psiquiatria do Desenvolvimento para a Infância e Adolescência em Porto Alegre (de 2010 a 2016), e por toda sua disponibilidade em me orientar.

Ao professor João Ricardo Sato, por sua imensa generosidade e sabedoria em ter sido um co-orientador que me permitiu “voar mais alto” ao me estimular a fazer todas as análises de neuroimagem independentemente.

Aos professores Eugenio Horacio Grevet e Claiton Henrique Dotto Bau que primeiro me receberam no “mundo da pesquisa”, no ambulatório de pesquisa em Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade em Adultos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, ainda em 2005.

Aos amigos e colegas do Programa de Transtornos de Déficit de Atenção/Hiperatividade em Adultos que sempre estiveram ao meu lado tanto nos momentos de comemoração, mas principalmente nos momentos de maior dificuldade.

Aos amigos e colegas do Instituto Nacional de Psiquiatria do Desenvolvimento para a Infância e Adolescência - Marco Del'Aquilla, Pedro Pan, Walther Miranda, Ary Gadelha, Andrea Jackowsky e Rodrigo Affonseca-Bressan – pela confiança, irrestrito apoio e ajuda em diversos momentos desse projeto.

Aos amigos e colegas da “TI”- Alexandre Franco, Igor Porciuncula, e Alecsandro Ganzer – pela disponibilidade irrestrita em me auxiliar nos piores momentos de dificuldades instalação e linhas de comando no Linux, estruturas de arquivos dicom e processamento de imagem no Matlab.

Às servidoras Clarissa Paim e Claudia Grabinski por me ajudarem em diversos momentos nesses anos todos.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre e ao PPG Psiquiatria por toda minha formação médica, psiquiátrica e de pesquisador.

Ao professor Francisco Xavier Castellanos, da New York University, que desde 2008 me incentivou a adentrar o mundo da neuroimagem do TDAH.

A todos os pacientes e familiares que se voluntariaram para participarem nos estudos aqui descritos.

Aos membros da banca professores Anderson Winkler, Augusto Buchweitz, Pedro Schestatksy e Ives Passos que prontamente aceitaram meu convite independentemente da data da defesa ou da distância geográfica.

A toda minha família e amigos pelas diversas contribuições para minha formação como pessoa e como pesquisador.

Aos amigos Cristian Zeni, Rafael Karam, Luciano Isolan e André Kohmann pela amizade, parceria científica e ajuda nos momentos mais difíceis. Aos irmãos Cássio e Maurício Garcez pelas inúmeras indicações de leituras e incentivo a busca da verdade.

A Sueli da Silva e a minha eterna segunda mãe Amélia da Silva (in memoriam) por todo o suporte e carinho desde sempre.

A minha mãe, Julieta Almeida Picon, por sempre ter me dado o exemplo do pragmatismo e estoicismo na busca da excelência acadêmica e profissional.

Ao meu pai, José Dornelles Picon, por sempre ter me dado o exemplo de que o único caminho correto é o caminho do estudo e do trabalho e que “tudo está nos livros”

A minha esposa, Caroline Buzzatti Machado, por todo amor e suporte incansável nas fases mais difíceis desses últimos oito anos (mestrado e doutorado) e por ser a melhor esposa e mãe que qualquer homem poderia desejar.

As minhas filhas amadas, Martina e Giovana Buzzatti Machado Picon, que vieram ao mundo durante o doutorado para trazer alegria e significado para todo o sacrifício inerente a um trabalho desse porte e para as quais eu dedico esse trabalho como forma de continuidade do exemplo de dedicação e trabalho que me foi passado pelos meus pais.

*“Great achievement is usually born of great sacrifice,
and is never the result of selfishness”*

— *Napoleon Hill, 1938*

“There is no substitute for hard work”

— *Thomas A. Edison, 1925*

SUMÁRIO

1 ABREVIATURAS E SIGLAS.....	09
2 RESUMO.....	10
3 ABSTRACT.....	11
4 APRESENTAÇÃO.....	12
5 INTRODUÇÃO.....	14
6 REVISÃO DA LITERATURA	
6.1 Neuroimagem do TDAH.....	16
6.2 Ressonância magnética funcional em estado de repouso em crianças e adolescentes com TDAH.....	25
6.3 Ressonância magnética funcional em estado de repouso no tratamento farmacológico de adultos com TDAH.....	29
7 OBJETIVOS	
7.1 Objetivo Geral.....	32
7.2 Objetivos Específicos.....	32
8 JUSTIFICATIVAS.....	33
9 HIPÓTESES.....	34
10 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	35
11 ARTIGO #1.....	36
12 ARTIGO #2.....	68
13 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	92
14 REFERÊNCIAS.....	94
15 ANEXOS.....	104

1 ABREVIATURAS E SIGLAS

aCompCor - Anatomical component correction

ADHD - Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder

ART - Artifact reduction toolbox

BOLD - Blood oxygenation level-dependent

CSF - Cerebrospinal fluid

DMN - Default Mode Network

DSM - Diagnostic and statistical manual of mental disorders

FC - Conectividade Funcional

FDR - False discovery rate

fMRI - functional magnetic resonance imaging

FWHM - Full width half maximum

GLM - General Linear Model

GM - Grey matter

HRC - High Risk Cohort

ICA - Independent component analysis

INPD - Instituto Nacional de Psiquiatria do Desenvolvimento

MPH - Metilfenidato

MRI - Magnetic resonance imaging

NIMH - National Institute of Mental Health

PCA - Principal component analysis

ProDAH-A - Programa de Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade em Adultos

R-fMRI - Resting state functional connectivity

RDoC - Research Domain Criteria

ROI - Region of interest

TDAH - Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade

WISC - Wechsler intelligence scale

WM - White matter

2 RESUMO

O estudo das bases neurobiológicas do Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade (TDAH) vem sendo realizado por diversas áreas do conhecimento, em especial, pela análise de imagens cerebrais. Dentro do campo da neuroimagem, a ressonância magnética funcional em estado de repouso (R-fMRI) tem sido a técnica de escolha para a investigação do padrão de conectividade funcional (FC) cerebral em crianças, adolescentes e adultos. Contudo, a literatura ainda carece de detalhamento de como a FC é caracterizada nas trajetórias do curso do TDAH da infância para a adolescência e no tratamento medicamentoso em adultos. Com o objetivo de contribuir com essas lacunas, a presente tese apresenta dois estudos que analisaram imagens de R-fMRI na trajetória do TDAH da infância para a adolescência e no tratamento com metilfenidato (MPH) em adultos com TDAH. No artigo #1 descrevemos os diferentes padrões de FC entre novos casos de TDAH, TDAH persistentes e TDAH remitentes em relação a controles. Nossos achados de conectividade funcional aumentada envolvendo o tálamo direito e a complexa coleção de achados de conectividade em diversas áreas de processamento sensorio-visual-auditivo acrescentam complexidade aos modelos de compreensão do TDAH, sugerindo a necessidade de ampliação das investigações para além das redes mais estudadas, ligadas aos circuitos pré-frontais e aos circuitos cortico-striato-talâmicos. No artigo #2, encontramos aumento de uma das conexões dentro da DMN após o uso de MPH, o que contribui para o entendimento de como a medicação altera a conectividade de uma rede implicada nas alterações típicas do TDAH. Nossos resultados corroboram a hipótese do TDAH ser um transtorno do neurodesenvolvimento na qual o MPH pode modificar o padrão de conectividade da DMN para um padrão mais interconectado que, em última análise, seria considerado mais maduro (mais funcional). A presente tese colabora para o entendimento da neurobiologia do TDAH através da aplicação de um método de análise de imagens funcionais cerebrais que especifica como cada região cerebral se conecta/comunica com as demais.

Palavras Chave: TDAH, Ressonância magnética em estado de repouso, conectividade intrínseca, fMRI, R-fMRI, tálamo, metilfenidato

3 ABSTRACT

The study of the neurobiological bases of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD) has been carried out by several areas of knowledge, in particular, by the analysis of brain images. Within the field of neuroimaging, resting state magnetic resonance imaging (R-fMRI) has been the technique of choice towards the investigation of functional connectivity patterns (FC) in children, adolescents, and adults. However, the literature still lacks detailing on how FC is characterized during the trajectories of ADHD from childhood to adolescence and in adult ADHD treatment. In order to contribute to these shortcomings, the present thesis presents two studies that analyzed images of R-fMRI in the trajectory of ADHD from childhood to adolescence and in the treatment with methylphenidate (MPH) in adults with ADHD. In article #1 we described the different FC patterns between new cases of ADHD, ADHD Persisters, and ADHD Remitters in relation to controls. Our findings of increased functional connectivity involving the right thalamus and the complex collection of connectivity findings in various areas of sensory-visual-auditory processing add complexity to the understanding models of ADHD, suggesting the need to broaden the investigations beyond the most studied networks, connected to the prefrontal circuits and the cortico-striato-thalamic circuits. In article #2, we found increased FC in one of the connections within DMN after the use of MPH, which contributes to the understanding of how the medication alters the connectivity of a network implicated in the typical alterations of ADHD. Our results corroborate the hypothesis that ADHD is a neurodevelopmental disorder in which methylphenidate can modify the connectivity pattern of DMN to a more interconnected pattern that would ultimately be considered more mature (more functional). The present thesis collaborates to the understanding of the neurobiology of ADHD through the application of a method of analysis of cerebral functional images that specifies how each cerebral region communicates with the others.

Key Words: ADHD, Resting-state magnetic resonance imaging, intrinsic connectivity, fMRI, R-fMRI, methylphenidate

4 APRESENTAÇÃO

Este trabalho consiste na tese de doutorado intitulada “Contribuições ao entendimento da trajetória do Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade da infância a adolescência e do tratamento em adultos: o papel da ressonância magnética funcional em estado de repouso”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Psiquiatria e Ciências do Comportamento da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em 21 de Dezembro de 2018, em Porto Alegre, RS, Brasil.

Os estudos que compõem essa tese foram desenvolvidos em dois projetos de pesquisa distintos realizados pelo Instituto Nacional de Psiquiatria do Desenvolvimento para Crianças e Adolescentes (INPD) e pelo Programa de Transtornos de Déficit de Atenção/Hiperatividade em Adultos (ProDAH-A).

O artigo #1 é fruto de uma análise de imagens cerebrais por ressonância magnética em estado de repouso (resting-state functional magnetic resonance imaging – resting-state fMRI) adquiridas de uma sub-amostra de um grande projeto de base comunitária que ainda segue sendo realizado nas cidades de São Paulo e Porto Alegre, pela equipe do INPD (*Brazilian High Risk Cohort Study for the Development of Childhood Psychiatric Disorders - HRC*). Este projeto do INPD vem sendo realizado por pesquisadores da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Universidade de São Paulo (USP) e Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) em São Paulo e Porto Alegre. Minha participação nesse projeto iniciou no segundo semestre de 2010 (quando ainda era aluno de mestrado), coordenando a coleta de imagens de ressonância magnética em Porto Alegre no Hospital Dom Vicente Scherer (Santa Casa de Porto Alegre) na primeira e segunda fase desse estudo. A segunda fase de coleta de imagens ocorreu três anos depois. Neste estudo, caracterizamos as diferenças de conectividade cerebral utilizando imagens cerebrais da linha de base (*baseline*) em relação as características clínicas da linha de base e do seguimento depois de três anos (*follow-up*). Comparamos quatro grupos de crianças e adolescentes: (1) aquelas que não apresentavam nenhum diagnóstico psiquiátrico na linha de base e acabaram desenvolvendo TDAH em três anos (novos casos de TDAH – new ADHD); (2) aquelas que apresentavam TDAH no início da pesquisa e persistiram com TDAH em três anos (TDAH persistente – ADHD Persisters); (3) aquelas que apresentavam TDAH na linha

de base e deixariam de apresentar o transtorno (remissão do TDAH – ADHD Remitters) em três anos e (4) aquelas crianças e adolescentes que não apresentaram nenhum transtorno psiquiátrico em ambas avaliações (crianças e adolescentes com desenvolvimento típico).

O artigo #2 foi o resultado de um Quase-Experimento realizado com uma amostra de homens adultos que nunca haviam sido previamente diagnosticados ou tratados para TDAH e que não apresentavam nenhuma comorbidade psiquiátrica ou clínica ou qualquer uso de medicação psiquiátrica. Esses sujeitos são oriundos do ambulatório de pesquisa em TDAH em adultos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (ProDAH-Adultos) do qual faço parte desde 2005. As avaliações clínicas, tratamentos e ressonâncias iniciaram em 2011 e somente foram finalizadas em 2016, devido ao rigor e seletividades dos critérios de inclusão e exclusão, visando a obtenção de uma amostra com a menor variabilidade possível do ponto de vista fenomenológico. Os sujeitos selecionados realizaram ressonância magnética funcional em estado de repouso antes e depois de receberem tratamento com Metilfenidato. A análise das diferenças entre as imagens de antes e depois do tratamento com Metilfenidato demonstraram o efeito do tratamento sob a conectividade funcional da rede cerebral padrão (*default mode network - DMN*).

Esta tese está organizada na ordem que segue: Introdução, Objetivos, Artigo #1 (submetido para a revista *The Journal of Child Psychology and Psychiatry*) Artigo #2 (publicado na revista *Journal of Attention Disorders*), Conclusões e Considerações Finais e Anexos. Os anexos contêm documentos que foram utilizados durante a condução dos dois estudos aqui apresentados e os resumos de outros estudos realizados no período do doutorado, na qualidade de co-autor.

5 INTRODUÇÃO

O Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade (TDAH) é um dos transtornos psiquiátricos mais frequentes na infância e adolescência, afetando 5,3% dessa faixa etária ao redor do mundo^{1,2} e cerca de 2,5% dos adultos^{3,4}. O TDAH é caracterizado pela presença de um padrão exagerado de sintomas de desatenção, hiperatividade e/ou impulsividade⁵, tomando como base a etapa de desenvolvimento do sujeito. Outros sintomas como baixa tolerância a frustração, labilidade emocional⁶ e comportamentos desafiadores também encontram-se comumente associados aos três referidos acima, acarretando maior prejuízo social, acadêmico, profissional e familiar. As comorbidades psiquiátricas associadas ao TDAH prejudicam ainda mais o funcionamento geral do indivíduo⁷. Trata-se de um problema relevante de saúde pública que representa um grande custo para os pacientes, familiares e sociedade^{8,9}.

As bases patofisiológicas e os mecanismos envolvidos na gênese do TDAH vem sendo investigados a partir de diversos vértices, sendo os principais deles: genético^{10,11} (epidemiologia genética, genética molecular¹²), fatores de risco ambientais¹³ (estilo parental, fatores pré-natais e perinatais, organofosforados, chumbo), interação gene-ambiente (modificações epigenéticas¹⁴), neuropsicologia¹⁵ (funções executivas, controle inibitório), modelo animal, bioquímica (neurotransmissores e biomarcadores periféricos) e neuroimagem. A busca pelo entendimento desses mecanismos recebeu novo vigor a partir do lançamento do projeto Research Domain Criteria (RDoC) por parte do Instituto Nacional de Saúde Mental dos EUA (*National Institute of Mental Health - NIMH, USA*) no início de 2010¹⁶. O incentivo para a busca de medidas objetivas (pelo estudo da neuropsicologia, neuroimagem, genética e fatores ambientais) que marquem o surgimento/desenvolvimento de transtornos psiquiátricos, visando o desenvolvimento futuro de um diagnóstico mais preciso em psiquiatria e, conseqüentemente, abordagens terapêuticas mais específicas e efetivas, coloca a neuroimagem como importante ferramenta nessa busca¹⁷.

O presente trabalho se propõe a estudar a neurobiologia da trajetória do TDAH em crianças e adolescentes e do tratamento medicamentoso do TDAH em adultos através da análise de imagens cerebrais adquiridas com a técnica de ressonância magnética funcional em estado de repouso (R-fMRI – Resting state functional Magnetic

resonance imaging). A Revisão da Literatura será dividida em três seções. Na primeira serão apresentados os conceitos e as técnicas de análises de imagem cerebral utilizadas em pesquisas com TDAH. Na segunda, serão apresentados os principais achados aplicando-se a metodologia de R-fMRI em crianças e adolescentes com TDAH. Na terceira seção serão apresentados achados existentes de R-fMRI na investigação da neurobiologia do tratamento medicamentoso de adultos com TDAH.

6 REVISÃO DA LITERATURA

6.1 Neuroimagem do TDAH

Dentro do campo da neuroimagem, as diversas técnicas existentes são divididas, primordialmente entre técnicas estruturais e funcionais. As abordagens estruturais incluem as modalidades que evidenciam a anatomia do sistema nervoso central, primeiramente com o uso da Tomografia Computadorizada de crânio (atualmente comumente utilizada na prática clínica de neurologistas) e subsequentemente com uso da ressonância magnética estrutural (MRI – *Magnetic Resonance Imaging*). A ressonância estrutural, por sua vez, expandiu as possibilidades de estudo da anatomia cerebral por fornecer imagens com maior resolução espacial em comparação às imagens fornecidas pelas tomografias. Além disso, atualmente permite o estudo específico da substância cinzenta (GM – *grey matter*) e da substância branca (WM – *White Matter*) a partir do tipo de sequência de aquisição de imagens utilizada. Essas ramificações atualmente disponíveis a partir do dado fornecido pela ressonância magnética estrutural, constituem campos de pesquisa específicos, inclusive, por vezes, segmentados pela forma como as imagens são processadas após serem adquiridas.

A aplicação da ressonância magnética estrutural na investigação das bases neurobiológicas do TDAH já ocorre desde 1990¹⁸. Achados de associação de menor volume cerebral total de crianças e adolescentes¹⁹ e adultos²⁰ com TDAH em comparação a controles saudáveis, menores volumes de globo pálido direito, putamen direito, caudado²¹ e cerebelo²² evidenciam que as alterações estruturais são heterogêneas, com inúmeras regiões cerebrais associadas ao transtorno.

Tabela 1. Ressonância Magnética Estrutural:

	Crianças	Adolescentes	Adultos
Menor Volume Cerebral Total	X	X	X
Menores Volumes de:	X	X	X
Globo Pálido Direito	X	X	X
Putamen Direito	X	X	X
Caudado	X	X	X
Cerebelo	X	X	X

Com uma abordagem com foco no desenvolvimento cerebral, Shaw et al.²³ evidenciaram, do ponto de vista estrutural a partir da aferição da espessura do córtex cerebral, que crianças e adolescentes com TDAH apresentavam um atraso na maturação cerebral. Os portadores de TDAH atingiram o pico de espessura cortical (utilizado como parâmetro de maturação do córtex), em média, três anos mais tarde do que os controles saudáveis, principalmente em regiões de córtex pré-frontal, que está envolvido em funções cognitivas (atenção, funções executivas, planejamento) que frequentemente estão prejudicadas no TDAH.

Em relação a estudos com foco específico nas alterações cerebrais de substância branca, a primeira meta-análise demonstrou alterações dispersas pelo cérebro, mais consistentemente encontradas em corona radiata anterior direita, fórceps minor direito, cápsula interna bilateralmente e cerebelo esquerdo²⁴. Contudo, uma meta-análise mais recente demonstrou que a literatura utilizando análise de imagens de substância branca (imagens por tensor de difusão – Diffusion Tensor Imaging – DTI) segue crescendo e apresenta diversos achados que sugerem conexões inter-hemisféricas atípicas nos pacientes com TDAH. Contudo os autores salientam para a necessidade de se tomar com cautela os resultados atuais devido a possibilidade dos efeitos de movimento (*head movement effects*) não terem sido propriamente considerados nos estudos prévios. As diversas metodológicas dos estudos que utilizam imagens estruturais de substância branca também são um fator adicional que pode estar contribuindo para a heterogeneidade dos achados²⁵.

Do ponto da neuroimagem funcional, técnicas que surgiram nos anos 1980, como a Tomografia Computadorizada por Emissão de Fóton Único (*SPECT – Single Positron Emission Computerized Tomography*) ou a Tomografia por Emissão de Pósitrons (*PET – Positron Emission Tomography*) fornecem dados específicos em nível molecular cerebral (devido a ligação de um radioisótopo a uma molécula de interesse), contudo acarretam risco ao indivíduo de pesquisa devido a radiação ionizante envolvida²⁶. Essa característica diminui sua aplicabilidade em populações de crianças e adolescentes, apesar de fornecerem dados úteis em populações de adultos. Nesse contexto, considerando a não-emissão de radiação ionizante, o fornecimento de imagens de alta resolução e o aumento da possibilidade de acesso ao exame (aumento

do número de *scanners* pelo mundo), a ressonância magnética funcional passou a ser a técnica de imagem cerebral funcional mais utilizada em pesquisas de neurociências.

A partir de 1990²⁷, quando a primeira sequência de ressonância funcional foi desenvolvida, inúmeros grupos de pesquisa dedicados ao estudo do funcionamento cerebral *“in-vivo”* (de humanos e animais) passaram a adotar cada vez mais a ressonância magnética funcional como técnica de escolha. O funcionamento do cérebro começou a poder ser aferido pela ressonância magnética a partir do descobrimento do sinal BOLD (*Blood-Oxygen-Level Dependent*). Como a ressonância magnética se utiliza da propriedade magnética dos prótons (principalmente do próton de hidrogênio presente na molécula de água), é a partir da diferença de comportamento magnético da hemoglobina com e sem oxigênio que o sinal BOLD oscila. Quando a hemoglobina está oxigenada ela apresenta um comportamento “neuro” (diamagnético) e quando ela já liberou o oxigênio para os neurônios, estando de-oxigenada, ela apresenta um comportamento magnético distinto (para-magnético). A captação dessa diferença de magnetismo pelas bobinas do aparelho de ressonância magnética possibilita a inferência do funcionamento das regiões cerebrais. Assim, obtendo-se imagens de todo o cérebro (*whole-brain*) ao longo do tempo (exames que podem variar de 3 a 10 minutos) é possível, posteriormente (após o processamento das imagens) se construir uma série temporal com valores que demonstrem a oscilação do sinal BOLD nas diferentes áreas do cérebro.

Tradicionalmente, as investigações de funcionamento cerebral dentro da ressonância magnética funcional utilizam a aplicação de tarefas (por exemplo tarefas visuais, auditivas, motoras, neuropsicológicas, gustativas, olfativas, táteis, nociceptivas) enquanto as imagens do cérebro vão sendo adquiridas. A partir de uma sincronização temporal das imagens adquiridas e do momento em que a pessoa está executando a tarefa em estudo, evidenciam-se quais regiões cerebrais estão mais ativas naquele momento (diminuição do valor do sinal BOLD quando a pessoa está realizando a tarefa do valor do sinal BOLD quando a pessoa não estava realizando a tarefa (durante o “repouso”). Esse é o funcionamento dos estudos que utilizam ressonância magnética funcional baseada em tarefas (*Task-based functional MRI*)²⁸.

Desde o primeiro estudo²⁹ utilizando ressonância funcional (fMRI) há 20 anos atrás, centenas estudos com sujeitos com TDAH foram publicados aplicando-se as mais diversas tarefas cognitivas aos sujeitos dentro do scanner. Os primeiros achados demonstravam ativação diminuída de regiões fronto-estriatais e achados subsequentes demonstraram envolvimento de outras regiões cerebrais, incluindo córtex pré-frontal lateral, córtex medial pré-frontal, cíngulo e região orbito-frontal, além de dissociações fronto-parietais, fronto-límbicas e fronto-cerebelares. Meta-análises mais recentes dos achados de estudos de fMRI com tarefas neuropsicológicas em pacientes com TDAH demonstram que há alterações de circuitos cerebrais para além do circuito pré-frontal, acometendo múltiplos circuitos por todo cérebro³⁰.

Diferentemente dessa abordagem, a ressonância magnética funcional em estado de repouso (*Resting State functional MRI*)³¹ se baseia nos mesmos princípios de formação da imagem baseada no sinal BOLD, descritas acima, porém sem a realização de nenhuma tarefa enquanto as mesmas são obtidas. Historicamente, houve uma certa confusão em relação ao nome dessa metodologia, por incluir a palavra “repouso” (*rest, resting-state*)³², quando se sabe que não há verdadeiro repouso do funcionamento cerebral de um ser vivo, nem mesmo durante o sono ou coma. O uso dessa terminologia veio a partir da tradição de se realizar os estudos funcionais aplicando-se tarefas sempre em comparação ao período de “repouso”, quando o sujeito não estava realizando a tarefa em estudo. Como não há aplicação de nenhuma tarefa, essa metodologia apenas evidencia como o sinal BOLD oscila no cérebro, o que mostra que a atividade cerebral é intrínseca, espontânea e independente de qualquer estímulo externo para acontecer. Com o advento dessa abordagem metodológica, iniciou-se o estudo de como as diferentes regiões cerebrais se relacionavam entre si, se “comunicam” umas com as outras. Apesar da primeira descrição desse método ter ocorrido em 1995³³, somente a partir de 2000 a ressonância magnética em estado de repouso (R-fMRI) passou a ser mais utilizada e sua aplicação cresce cada vez mais nos estudos de neuroimagem do TDAH.

O fato de não usar nenhuma tarefa é de grande vantagem no estudo de populações pediátricas e, principalmente de sujeitos com TDAH (que tendem a se mover mais que os demais), pois a organização funcional cerebral pode ser examinada

independentemente de qualquer instrução que o sujeito tenha que cumprir e as imagens podem ser coletas em períodos curtos de 3-10 minutos de duração dentro da ressonância. Assim, não há necessidade de crianças serem treinadas numa tarefa específica e crianças com TDAH podem realizar a ressonância em um tempo curto, que as ajuda a ficarem imóveis dentro do aparelho durante o tempo de aquisição das imagens. Essas características tornam essa metodologia particularmente interessante para o estudo das bases fisiopatológicas do TDAH, principalmente quando aplicadas a tamanhos amostrais grandes, já que sua aplicabilidade é mais facilitada em comparação as abordagens de ressonância magnética funcional baseada em tarefas.

Além disso, devido ao fato da R-fMRI permitir o estudo da conectividade funcional (FC), sua aplicação evidencia o funcionamento dos circuitos cerebrais. As redes cerebrais estão em funcionamento simultaneamente e, a partir do processamento do sinal BOLD aferido sem nenhuma tarefa realizada, é possível separar o funcionamento de cada rede cerebral. As principais redes cerebrais frequentemente estudadas são: (1) rede cerebral padrão (default mode network – DMN); (2) rede de controle executivo (executive control network); (3) rede de saliência (saliency network); (4) rede atencional dorsal (dorsal attention network); (5) rede auditiva (auditory network); (6) rede sensório-motora (sensori-motor network); e (7) rede visual (visual network).

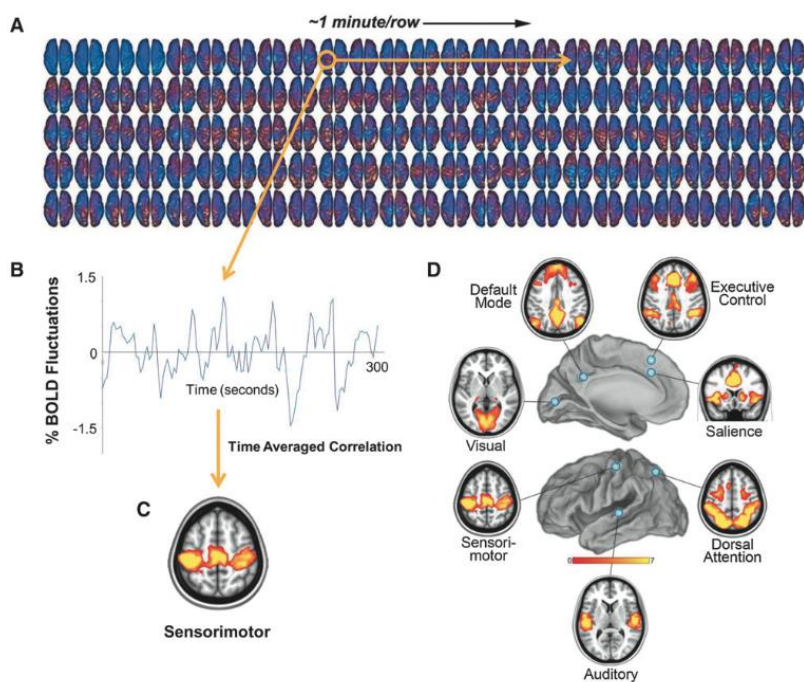


Figura 1. Na parte superior da figura (A) cada linha contém 25 cérebros e representa a quantidade de imagens de cérebro-total (whole-brain) adquiridas no decorrer de 1 minuto, totalizando 125 aquisições de cérebro-total em 5 minutos. Abaixo, em (B) está demonstrado um gráfico da variação do sinal BOLD ao longo do tempo que foi extraído de uma região específica do córtex; em (C) está representada a rede cerebral que a respectiva série temporal do sinal BOLD origina, no caso, a rede sensório-motora; em (D) estão ilustradas as redes cerebrais que podem ser construídas a partir do processamento das imagens de ressonância funcional em estado de repouso, formadas com seus respectivos traçados de flutuação do sinal do BOLD ao longo do tempo de aquisição de imagens (Raichle, 2011)³⁴

Cada uma das redes cerebrais demonstradas na figura acima é proveniente de um processamento do sinal BOLD extraído de uma região específica do cérebro, tecnicamente chamada de região-de-interesse (ROI – Region-of-interest). ROI também pode ser denominada “semente” (*seed*) e dessa nomenclatura em inglês advém o nome de uma das técnicas de pós-processamento do sinal BOLD, chamada de análise baseada-em-semente (seed-based analysis - SBA). Esse tipo de análise é que permite a construção das imagens que compõe a figura 1 acima³⁴. No caso específico demonstrado na figura, uma *seed* (ou ROI) foi escolhida na região do córtex motor, o sinal BOLD foi extraído, e, em seguida, todas as correlações (correlações de Pearson) existentes entre o sinal BOLD da ROI inicial foram mapeados num cérebro-padrão, gerando o mapa da rede sensório-motora. Esse mesmo procedimento foi realizado para gerar as imagens das demais redes cerebrais, ilustradas acima. Quando uma correlação entre duas ROIs é positiva entende-se que essas duas regiões estão “se comunicando”, devido a variação de seu sinal BOLD ao longo do tempo estar predominantemente em sincronia. Quando uma correlação é negativa, entende-se que

as duas regiões cerebrais não estão pareadas, tendo seu funcionamento predominantemente ocorrendo de forma alternada (quando uma ROI está com preponderância de conectividade com outras regiões a ROI que está anti-correlacionada está com sua conectividade diminuída).

Uma das redes cerebrais que mais tem sido estudada em diversos transtornos neurológicos³⁵ e psiquiátricos é a DMN^{36,37}. A DMN é anatomicamente formada pelo córtex pré-frontal medial (MPFC), córtex do cíngulo posterior (PCC)/Precuneus, córtex parietal lateral esquerdo (LLP) e córtex parietal lateral direito (RLP), e lóbulo temporal³⁸.

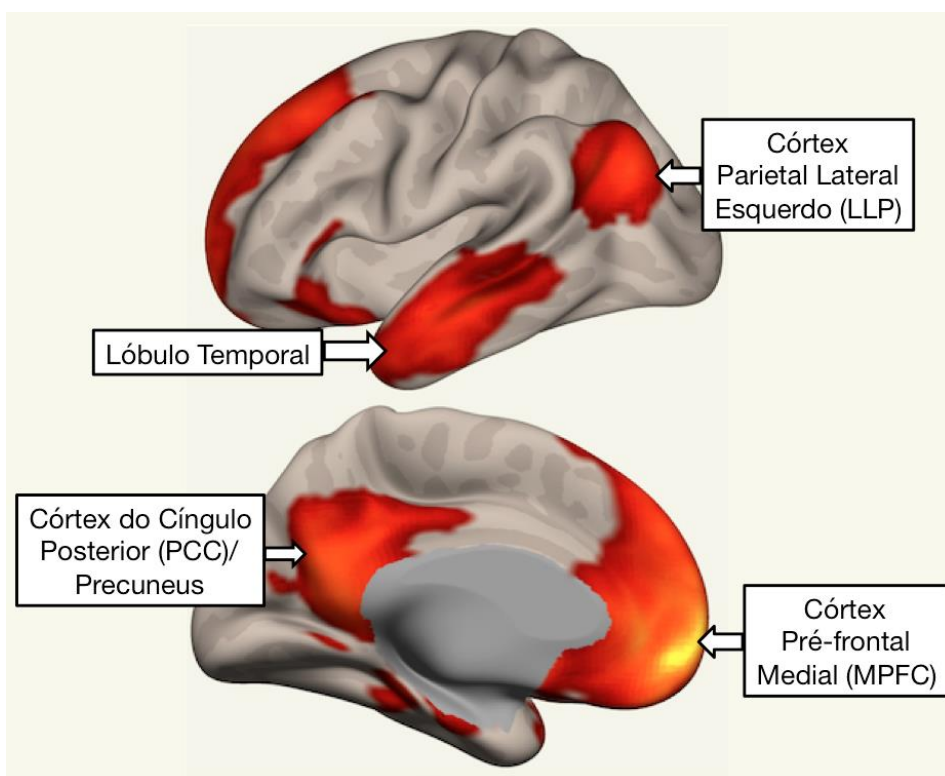


Figura 2. Rede Cerebral Padrão (Default Mode Network – DMN) com suas principais regiões em destaque (imagem do autor)

Estudos prévios demonstraram que a atividade da DMN está associada a sonhar-acordado (*mind-wandering*), recordar eventos do passado, planejar o futuro e considerar as perspectivas das outras pessoas³⁸. A diminuição da atividade da DMN foi detectada em estudos que aplicavam tarefas cognitivas que orientavam a atenção do sujeito para a tarefa em questão (atenção direcionada para “fora”, em relação a “dentro” se referir aos processos mentais descritos acima como relacionados a DMN). Estudos com adultos saudáveis verificaram que lapsos de atenção estavam relacionados com o aumento da atividade da DMN⁴⁰. Baseados nisso, Castellanos e Sonuga-Barke

hipotetizaram que os lapsos de desatenção presentes no TDAH poderiam ser decorrentes de interferências da atividade da DMN durante o funcionamento das redes direcionadas a execução de tarefas cognitivas específicas⁴¹.

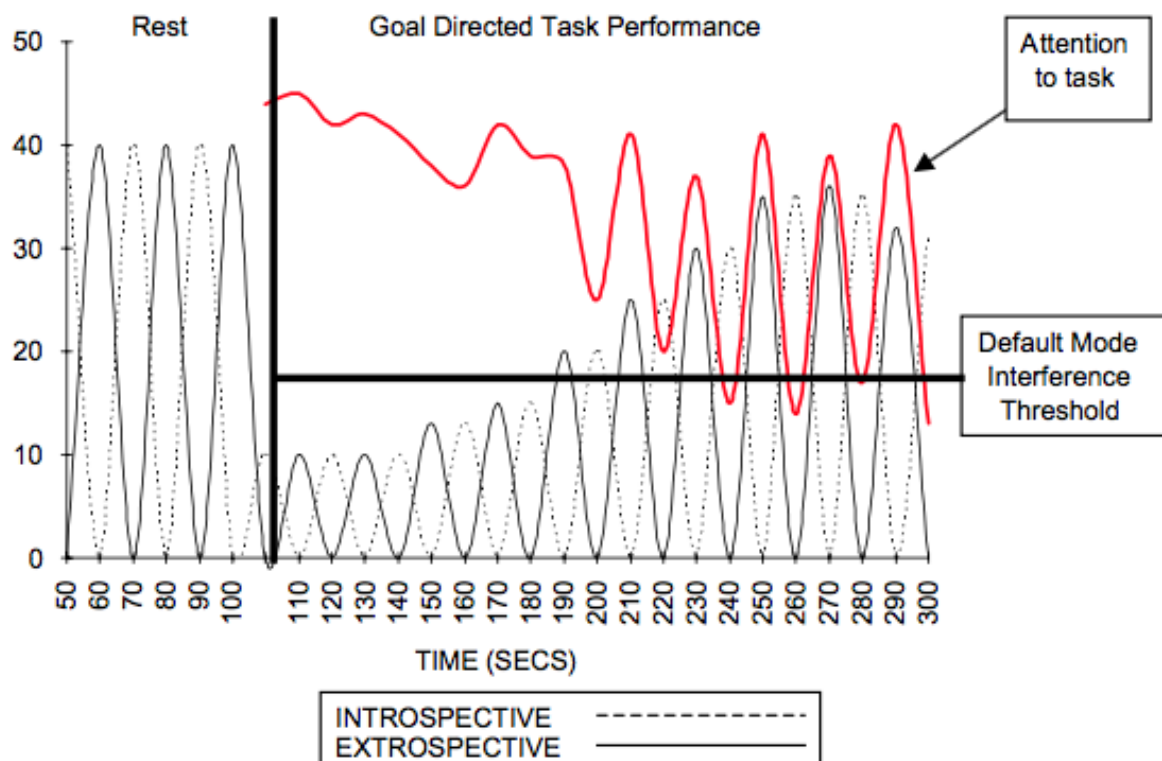


Figura 3. Gráfico demonstrando a interferência da atividade da DMN no nível de atenção direcionada a tarefa (linha em vermelho). Há uma diminuição da intensidade de oscilação (diminuição de atividade) da DMN no início da tarefa e logo em seguida a intensidade do funcionamento da DMN volta a crescer, até que a partir do segundo 200 (eixo x do gráfico) a linha vermelha (de atenção direcionada a tarefa) começa a oscilar. Seria nesse momento que a atenção passaria a ficar interrompida, significando o déficit atencional e subsequente prejuízo no desempenho na realização da tarefa⁴¹.

A partir dessa hipótese diversos grupos de pesquisa começaram a estudar o comportamento da DMN em pacientes com TDAH. Fair et al. demonstraram que a FC dentro da Default Mode Network (DMN) de crianças com TDAH era atípica em relação a controles, considerando ser devido a uma perturbação ou falha no processo do desenvolvimento/maturação cerebral^{42,43}. O conhecimento das diferenças da DMN em relação a etapa do desenvolvimento foi evidenciado também por Fair et al. em um estudo anterior com crianças e adultos saudáveis que evidenciou que a coerência da DMN aumentava com a idade⁴⁴. Em 2014, Sripada et al⁴⁵. evidenciaram significativo atraso da maturação das conexões da DMN e nas interconexões da DMN com duas redes atencionais: rede frontoparietal e rede de atenção ventral. Esses estudos evidenciam um dos focos de investigação das bases neurológicas do TDAH, a investigação do papel da DMN nos sintomas.

Apesar dos avanços na investigação de redes funcionais cerebrais permitidos pela aplicação de R-fMRI e sua facilidade de replicação e utilização em diversos tipos de pacientes, por não necessitar a realização de tarefas durante a aquisição de imagens, esse método apresenta limitações e desafios a serem superados. Além das limitações que já existem no campo da neuroimagem como um todo (escala espacial-temporal na qual a ressonância magnética atual consegue obter os dados cerebrais (na casa de 1-4mm); inexistência de um parâmetro de normalidade funcional cerebral; crescente número de abordagens metodológicas na aquisição de imagens, no pré-processamento de imagens, no pós-processamento de imagens; contínuo desenvolvimento de abordagens estatísticas para os dados funcionais cerebrais), a R-fMRI pode ser completamente prejudicada pela presença de movimento cerebral enquanto as imagens são adquiridas. Como as imagens funcionais de cérebro-todo (whole-brain) são obtidas a cada 2 segundos (na maioria dos estudos), se numa dessas imagens o sujeito se mexer mais que 0.5mm os resultados já serão corrompidos, já que um sinal BOLD adquirido 0.5mm mais para a esquerda (por exemplo) já significaria uma captação de uma área cortical diferente. Variações que podem parecer pequenas ao olhar humano, na análise de imagens são altamente prejudiciais. Apesar de inúmeros métodos de pos-processamento terem sido desenvolvidos e ainda estarem sendo desenvolvidos (essa é uma área de pesquisa por si própria), sempre que iniciamos um

estudo de R-fMRI precisamos ter o máximo de cuidado no exato momento em que a imagem está sendo adquirida para que os possíveis erros ocasionados pelo movimento sejam minimizados. Visando essa diminuição de movimento dentro da ressonância, algumas técnicas foram utilizadas em ambas pesquisas, aqui apresentadas, tais como: treinamento dos pacientes antes da realização da ressonância com simulações do exame (apresentando os sons típicos da ressonância enquanto os sujeitos permaneciam deitados dentro de um túnel de pano, simulando o “tubo” da ressonância magnética); alongamentos dos músculos vertebrais, membros superiores, inferiores e pescoço, visando diminuir a necessidade de movimentar-se e possibilitando a permanência de mais tempo parados enquanto deitados; colocação de espumas anatômicas ao redor da cabeça e embaixo das pernas para que os pacientes se sentissem o mais confortavelmente possível dentro da ressonância; explicações detalhadas sobre o funcionamento do exame para os pacientes visando a diminuição da ansiedade e possível medo da experiência e, por fim, conferência da qualidade das imagens logo que as mesmas foram adquiridas visando a verificação da possível necessidade de repetição do exame até que a qualidade necessária fosse atingida. Além das técnicas descritas e realizadas no momento da obtenção das imagens, utilizamos como metodologia de correção de movimentos uma das abordagens mais efetivas que inclui dentro do modelo estatístico, como co-variáveis, as intensidades de movimentação em cada eixo e subtrai do modelo imagens pontuais que excederem o limiar de oscilação permitido (especificamente optamos por utilizar o limiar mais conservador presente na literatura que compara os níveis de movimento com o percentil 95 da população normativa, excluindo as imagens que excederem esse limite)⁴⁶.

6.2 Ressonância magnética funcional em estado de repouso em crianças e adolescentes com TDAH

A ressonância magnética funcional em estado de repouso (R-fMRI) começou a ser utilizada em crianças e adolescentes com TDAH em 2006, antes de serem publicados estudos com adultos com essa metodologia. Atualmente a literatura nesse campo tornou-se mais extensa englobando diversos tipos de modalidade metodológicas dentro do campo da R-fMRI do TDAH. Essa variabilidade ocorre na forma como o sinal

BOLD é processado depois de ser adquirido. Até o presente momento, há seis metodologias que foram mais utilizadas nos estudos com TDAH e esse número tende a crescer, tendo em vista as necessidades de aprimoramento necessárias para o método poder lidar com movimentos da cabeça e conseguir extrair outras informações a partir do dado de R-fMRI. As principais metodologias de processamento das imagens de R-fMRI são: (1) análise baseada em semente (SBA – *Seed-based Analysis*); (2) análise dos componentes independentes (ICA – *Independent component analysis*); (3) análise de agrupamento (*clustering*); (4) análise classificatória de padrões (*pattern classification, que inclui metodologias de aprendizado de máquina como support vector machine - SVM*); (5) teoria dos grafos (*graph theory*); (6) análises locais/regionais (*ReHo, regional homogeneity, ALFF – amplitude of low-frequency fluctuation*)⁴⁷. A diversidade metodológica aplicada nos estudos visa buscar um melhor entendimento do fenômeno cerebral captado pela R-fMRI, contudo dificulta, até o presente momento, uma compilação de todos os dados disponíveis, por seus resultados não serem plenamente comparáveis⁴⁸. Conforme apresentado acima na hipótese de interferência da DMN, os demais estudos aqui compilados também se utilizaram dessa mesma metodologia de processamento das imagens de R-fMRI, análise baseada em semente (SBA), por ser a metodologia mais tradicional e que, geralmente, é utilizada a partir de uma hipótese definida a priori. Alguns dos outros métodos analíticos mencionados tem como característica preponderante serem utilizados para investigação exploratória dos dados (ICA,SVM), partindo-se das características que os dados apresentam e, então, indo para o seu significado neurológico (*data-driven approach*). A definição de qual metodologia é mais apropriada para cada tipo de investigação é um tópico de intensa discussão entre os pesquisadores de R-fMRI^{49,50}.

Partindo de achados prévios da literatura de fMRI sobre a origem neurológica do TDAH em regiões de circuitos fronto-estriatais, a aplicação da R-fMRI iniciou com uma amostra pequena de oito meninos adolescentes que apresentaram FC aumentada em relação a controles entre o córtex do cíngulo anterior dorsal (dACC) e tálamo, cerebelo, insula e ponte (todos bilateralmente)⁵¹. Também com uma amostra de adolescentes, utilizando-se da mesmo ROI (dACC) Sun et al.⁵² encontraram diminuição de FC negativa (anti-correlação) entre dACC e os nodos anteriores e posteriores da

DMN nos sujeitos com TDAH, demonstrando em adolescentes achado semelhante ao que fora encontrado por Castellanos et al.⁵³ em adultos. O achado de uma menor anti-correlação entre dACC e o PCC nos adolescentes com TDAH em relação aos controles sugere que há um desequilíbrio ou interação anormal entre as duas atividades: manter a atenção direcionada a tarefa (externamente) e os pensamentos internos (predomínio de funcionamento da DMN), corroborando a hipótese de alteração da DMN no TDAH. Também investigando o papel da DMN, da mesma forma que Fair et al.⁴² (já mencionado acima), Chabernaud et al. encontraram relações consistentes entre a FC da DMN e sintomas externalizantes e internalizantes em crianças com TDAH⁵⁴.

Cao et al.⁵⁵ utilizaram como ROI inicial o putamen, que junto com o núcleo caudado formam o núcleo estriado (*striatum*) que é uma das estruturas que formam os núcleos da base, implicado na neurobiologia do TDAH em estudos de ressonância estrutural. A partir de uma amostra de adolescentes, os autores encontraram diminuição de FC entre o putamen e o giro sub-calosal, giro frontal superior, precuneus, giro superior temporal. Encontraram também FC aumentada na comparação com controles na conectividade do putamen com globo pálido direito e tálamo direito. Utilizando-se de ROIs colocados em putamen (regiões dorsais e ventrais) e regiões ventrais e dorsais do núcleo caudado bilateralmente, Hong et al. encontraram diminuição de FC entre caudado dorsal e regiões frontais (giro superior esquerdo e giro médio direito) na comparação de crianças com TDAH em relação a controles saudáveis. Também evidenciaram diminuição de FC entre caudado ventral e a porção inferior do lobo frontal (giro reto) e córtex órbita-frontal direito nos que respondera bem ao tratamento medicamento em relação aos que não responderam tão bem⁵⁶.

Focando em compreender a contribuição do tálamo do ponto de vista de sua FC, Mills et al.⁵⁷ utilizaram cinco ROIs no tálamo, bilateralmente, para elaborar um mapa da FC dessas cinco áreas com todo o córtex, exemplificando o circuito córtico-estriato-talâmico. Assim, os autores encontraram aumento de FC entre tálamo e os núcleos da base e replicaram seus achados na amostra do ADHD-200⁵⁸. Visando investigar o possível papel do hipocampo no TDAH, Posner et al. utilizaram um ROI no hipocampo bilateralmente e reportou diminuição da FC entre hipocampo esquerdo e córtex órbita-frontal esquerdo nas crianças com TDAH em comparação aos controles. Os achados

também estavam inversamente correlacionados com a presença de sintomas depressivos, mesmo após serem controlados para os sintomas do TDAH. Os autores sugeriram, preliminarmente, que poderia haver uma relação entre anomalias hipocâmpais e a susceptibilidade maior para depressão em jovens com TDAH⁵⁹. Visando investigar as relações das alterações neurobiológicas do TDAH com alterações emocionais, que muitas vezes estão associadas, Hulvershorn et al. aferiram índices de labilidade emocional em crianças com TDAH em comparação a controles e encontraram aumento de labilidade emocional associada a um maior FC entre amígdala e córtex do cíngulo anterior região rostral. Os autores utilizaram ROI em amígdala baseados previamente na hipótese da ligação da amígdala com manifestações de desregulação emocional, como agressividade, crises de birra e irritabilidade⁶⁰.

Na busca de melhor compreender o papel do núcleo accumbens, previamente estudado em TDAH com fMRI, Costa Dias et al. utilizaram ROI nessa região subcortical e evidenciaram que a FC entre núcleo accumbens e regiões do córtex pré-frontal eram atípicas nas crianças com TDAH em comparação a controles. Os autores descreveram também a relação dessa FC com dados clínicos de impulsividade⁶¹. Numa amostra de crianças e adolescentes comparando quatro grupos: TDAH, dispraxia desenvolvimental, TDAH+dispraxia desenvolvimental e controles saudáveis, McLeod et al. demonstraram diminuição de FC entre córtex motor primário e giro frontal inferior, giro supramarginal direito, giro angular, córtex insular, amígdala, putamen e globo pálido tanto no grupo de TDAH quando no grupo de dispraxias. Esse estudo coloca em destaque o estudo do córtex motor em pacientes com TDAH e os autores sugerem a possibilidade de substratos neurofisiológicos similares entre alterações motoras e os sintomas de TDAH⁶².

Com foco voltado para as redes DMN e rede cíngulo-opercular, Barber et al. demonstrou que o grupo de crianças com TDAH tinham FC aumentada dentro dos nodos das redes Cingulo-Opercular (CON) e DMN, apresentavam aumento da anti-correlação entre DMN e regiões occipitais associadas com menor variabilidade de tempo de reação, aumento de anti-correlação entre DMN e córtex pré-frontal lateral direito associado com menor número de erros por omissões. A CON está envolvida na manutenção do controle da tarefa. Autores ainda demonstraram que a anti-correlação

entre CON e DMN estava associada a melhora da atenção no grupo com TDAH, mas não em controles, ao que os autores sugerem que a melhora atencional em controles se deva a atuação de outros circuitos cerebrais⁶³. Também com foco para o papel de redes cerebrais na neurobiologia do TDAH, Lin et al. investigaram a rede fronto-parietal com ROIs em córtex pré-frontal. A partir de imagens de crianças com TDAH em comparação a controles, os autores demonstraram diminuição de FC entre o PFC anterior direito e PFC ventro-lateral direito e diminuição de FC entre PFC anterior esquerdo e lóbulo parietal inferior direito. Os autores relacionaram as anormalidades de FC com sintomas de oposição e impulsividade⁶⁴.

Achados de R-fMRI em crianças e adolescentes com TDAH em comparação a controles saudáveis foram demonstrados a partir de diversas ROIs: dACC^{51,52}, putamen⁵⁵, tálamo⁵⁷ (envolvendo circuitos fronto-estriatais), PCC (envolvendo a DMN)^{42,54}, hipocampo⁵⁹, amígdala⁶⁰, núcleo accumbens⁶¹, cortex motor⁶², rede cingulo-opercular⁶³, rede fronto-parietal⁶⁴. A variabilidade de áreas investigadas demonstra a heterogeneidade de alterações encontradas no TDAH. É necessário salientar que os estudos a aplicação de R-fMRI na investigação das bases neurobiológicas do TDAH em crianças e adolescentes tem sido realizada predominantemente de forma transversal, conforme descrito acima. Grupos de pesquisa ao redor do mundo já estão coletando dados de R-FMRI com desenhos longitudinais, pois é necessário identificarmos as características de conectividade cerebral que acabarão desencadeando o TDAH, antes que o mesmo ocorra^{65,66}. Nosso trabalho visa contribuir para a investigação longitudinal das bases neurobiológicas do TDAH em crianças e adolescentes, principalmente com foco nas alterações de conectividade funcional que precedam o surgimento do transtorno.

6.3 Ressonância magnética funcional em estado de repouso no tratamento farmacológico de adultos com TDAH

Dentre todas opções de tratamento psicofarmacológicas disponíveis, o metilfenidato (MPH) é o medicamento mais frequentemente prescrito em todo mundo para o tratamento do TDAH^{67,68}. Sua efetividade clínica já foi amplamente documentada em amostras de crianças, adolescentes e adultos⁶⁹. Devido a importância clínica que o

MPH possui, faz-se necessário compreender melhor sua atuação do ponto de vista de conectividade funcional em adultos com TDAH.

Efeitos do MPH sob o funcionamento cerebral de crianças, adolescentes e adultos com TDAH já vem sendo investigados com aplicação de fMRI^{70,71} há mais tempo. Contudo, o número de estudos utilizando especificamente R-fMRI em adultos com TDAH ainda não é tão extenso. Yang et al.⁷² realizou estudo com foco no efeito do tratamento farmacológico do TDAH com a utilização de R-fMRI em adultos. Incluindo 21 controles saudáveis que realizaram R-fMRI na linha de base, 16 adultos com TDAH de ambos os sexos (sendo desses 11 homens) realizaram R-fMRI antes e depois de três semanas de tratamento com uso de sais racêmicos de anfetamina (dextroanfetamina/anfetamina) ou Lis-dex-anfetamina. Os autores encontraram alterações no padrão de conectividade funcional entre o córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo (DLPFC) e o córtex pré-frontal medial (MPFC). Análises subsequentes utilizando essas duas regiões como regiões de interesse (ROIs, Seed-regions), demonstraram que o tratamento diminuiu a conectividade funcional aumentada entre DLPFC e o córtex da Insula, DLPFC e o córtex do cíngulo anterior e entre MPFC e o córtex da Insula para níveis mais próximos aos níveis encontrados nos controles saudáveis. A conclusão foi que o tratamento com estimulantes aumentou a segregação funcional do DLPFC (região central do controle cognitivo), do MPFC (região central da DMN) e do córtex da Insula (região central da rede de saliência) e que esse resultado estava correlacionado positivamente com a melhora clínica dos sintomas de TDAH.

Outro estudo detalhando os efeitos do tratamento psicofarmacológico sobre a conectividade funcional de adultos com TDAH foi realizado por Cary et al.⁷³. Foram incluídos 22 adultos com TDAH de ambos sexos (sendo 8 homens) que faziam uso de MPH (7 sujeitos) ou dextroanfetamina/anfetamina (mistura racêmica de sais de anfetamina, medicação não disponível no Brasil) e 31 sujeitos sem TDAH. O protocolo do estudo previa que as imagens de R-fMRI seriam adquiridas primeiramente sob efeito agudo da medicação e posteriormente logo após o término do tratamento, após ser realizado um período de *washout* de 48 a 72 horas. O foco do estudo era de verificar as alterações causadas pelo tratamento na conectividade das redes cerebrais aferidas pela R-fMRI. Os autores evidenciaram que o funcionamento de todas as redes

investigas apresentavam mais semelhantes (não iguais) ao funcionamento das mesmas nos controles saudáveis. Especificamente em relação ao efeito farmacológico sobre a conectividade da DMN, os autores relataram que o efeito de diminuição das diferenças de conectividade em relação aos controles foi menor quando comparado ao efeito sob as outras redes, mas foi igualmente no sentido de se assemelhar a conectividade dos controles, quando sob efeito das medicações.

Ambos estudos obtiveram resultados que demonstram o efeito positivo dos estimulantes sobre o perfil de conectividade funcional dos adultos com TDAH. Contudo, faz-se importante, para fins de melhor compreensão do efeito dos estimulantes sobre a conectividade funcional, salientar algumas características dos estudos: (1) ambos incluíam em suas amostras sujeitos de pesquisa de ambos os sexos; e (2) ambos estudos não excluíram pacientes que poderiam já ter feito uso de estimulantes no passado. Essas duas características podem acarretar diferenças na comparação da conectividade, quando se formam grupos de pacientes em comparação a controles, pois sabe-se que o perfil de conectividade cerebral de homens é diferente do perfil de conectividade cerebral de mulheres⁷⁴ e que o uso passado de estimulantes pode ter efeitos que alteram o padrão de conectividade cerebral⁷⁵. Além dessas duas características, cabe salientar que ambos não se utilizaram de uma uniformidade de medicação, misturando MPH com sais de anfetamina e Lis-dex-anfetamina.

7 OBJETIVOS

7.1 Objetivo Geral

Investigar a neurobiologia da trajetória do Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade da infância a adolescência e do tratamento de adultos através de ressonância magnética funcional em estado de repouso.

7.2 Objetivos Específicos

- Investigar a conectividade funcional no *baseline* através da análise de imagens cerebrais de ressonância magnética funcional em estado de repouso nas diferentes trajetórias do Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade da infância até a adolescência, comparando os grupos de novos casos, TDAH persistentes, TDAH remitentes e controles, a partir de dados longitudinais da coorte de alto risco HRC do INPD.
- Investigar o efeito do tratamento com metilfenidato na conectividade funcional da rede cerebral padrão (*default mode network*) de homens adultos que nunca foram tratados para Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade através da análise de imagens cerebrais de ressonância magnética funcional em estado de repouso antes e depois do tratamento.

8 JUSTIFICATIVAS

Justificativa para o estudo da neurobiologia na trajetória do TDAH da infância a adolescência - Artigo #1:

Apesar do crescente número de estudos investigando a neurobiologia do TDAH em crianças e adolescente com a utilização da análise de imagens cerebrais com ressonância magnética funcional em estado de repouso, ainda há a necessidade de se investigar a neurobiologia da trajetória dos sintomas de TDAH ao longo do tempo. A aplicação das técnicas de neuroimagem tem sido realizada em estudos com desenho transversal que não permitem a investigação das diferenças neurobiológicas das diferentes trajetórias do TDAH em crianças e adolescentes. A obtenção desse conhecimento a partir da aplicação de R-fMRI em um desenho longitudinal contribuirá para o entendimento de como o TDAH se inicia, persiste e remite.

Justificativa para o estudo da neurobiologia no tratamento de adultos com TDAH – Artigo #2

Tendo em vista a prevalência do uso de metilfenidato no tratamento medicamentoso do TDAH, a importância da DMN na hipótese de interferência do TDAH e a escassez de estudos que tenham sido rigorosos nos fatores que influenciam a conectividade cerebral, faz-se necessário uma investigação da neurobiologia dos efeitos do metilfenidato especificamente sobre a conectividade da DMN em adultos com TDAH nunca previamente tratados.

9 HIPÓTESES

Artigo #1:

Hipotetizamos que cada uma das trajetórias clínicas do TDAH (novos casos de TDAH, TDAH persistentes, TDAH remitentes) apresentará um padrão de conectividade cerebral distinto no *baseline* com conectividades anormalmente aumentadas entre regiões subcorticais e corticais, demonstrando alterações de circuitos neurais na comparação com crianças e adolescentes com desenvolvimento típico.

Artigo #2:

Hipotetizamos que o tratamento medicamento com metilfenidato aumentará a conectividade entre as regiões que compõe a DMN, concomitantemente com a melhora clínica dos sintomas de TDAH.

10 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O estudo apresentado no artigo #1 foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade de São Paulo [IORG0004884 / Número na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP): 15.457 / Número de registro do projeto: 1132/08]. O termo de consentimento foi assinado pelos pais e/ou cuidadores dos participantes, assim como pelos participantes que puderam ler, escrever e compreendê-lo.

O estudo apresentado no artigo #2 foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre sob número de projeto: 08-543 em 15 de Maio de 2011. O termo de consentimento foi assinado pelos próprios sujeitos de pesquisa, todos adultos, após sua plena compreensão dos riscos relacionados aos procedimentos deste projeto.

11 ARTIGO #1**Association of higher right thalamus functional connectivity with the emergence of ADHD in children in a longitudinal community-based sample**

Artigo completo em vias de publicação, submetido ao *Journal of Child Psychology and Psychiatry*

11.1 Artigo #1

Association of higher right thalamus functional connectivity with the emergence of ADHD in children in a longitudinal community-based sample

Felipe Almeida Picon^{1,2,3}, João Ricardo Sato⁴, Giovanni Abrahão Salum^{2,3}, Maurício Anés^{2,3}, Marco Del Aquilla^{3,5}, Pedro Mario Pan^{3,5}, André Zugman^{3,5}, Luciana Monteiro de Moura⁴, Ary Gadelha^{3,5}, Euripedes Constantino Miguel^{3,6}, Andrea Parolin Jackowski^{3,5}, Rodrigo Affonseca Bressan^{3,5}, Luis Augusto Paim Rohde^{1,2,3}

Affiliations:

¹ADHD Outpatient Program, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil

²Department of Psychiatry, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

³National Institute of Developmental Psychiatry for Children and Adolescents, Brazil, CNPq

⁴Center of Mathematics, Computing and Cognition, Universidade Federal do ABC, Santo André, SP, Brazil

⁵Department of Psychiatry, Universidade Federal de São Paulo, Brazil

⁶Department & Institute of Psychiatry, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

Corresponding Author:

Name: Felipe Almeida Picon

Address: Rua Ramiro Barcelos, 2350, 4 andar

Serviço de Psiquiatria da Infância e Adolescência

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Porto Alegre – RS – Brazil, CEP 90035-003

Phone: +55-51-3359-8413

Email: felipepicon@gmail.com

Abstract:

Background: Aberrant patterns of functional connectivity (FC) have been systematically described in children with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD). However, few studies have investigated their relationship with distinct trajectories of ADHD over time. Our aim is to compare patterns of FC among children and adolescents with distinct ADHD developmental trajectories and contrast with typically developing children.

Methods: A total of 439 children (6-15 years of age) from a large community-based cohort (HRC) were included in the study. Resting-state fMRI (R-fMRI) was assessed using a 6-min protocol. Whole-brain R-fMRI ROI-to-ROI baseline measures were compared among four groups defined longitudinally: new emergent ADHD cases (n=11), ADHD persisters (n=10), ADHD remitters (n=42) and typically developing comparisons (n=376).

Results: The emergence of ADHD was associated with higher FC between the right Thalamus and the left Temporal Occipital Fusiform Cortex when compared to all other three groups; and higher FC between the right Thalamus and the left Superior Parietal Lobule when compared to controls and remitters.

Conclusions: We have found distinct brain functional connectivity in children and adolescents three years before they develop or remit ADHD. Our findings suggest a central role of the right thalamus FC as a vulnerability marker of ADHD conversion. More longitudinal brain functional studies are necessary to further investigate the dynamic brain changes associated with ADHD and its clinical usefulness.

Keywords:

ADHD, fMRI, Resting-state functional connectivity, intrinsic connectivity, thalamus

Introduction

Attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) is one of the most prevalent psychiatric disorders in children and adolescents (Polanczyk et al., 2015). Understanding the neurobiology of ADHD might provide ways of treating and preventing this disorder more effectively (Milham et al., 2017). Several studies have showed aberrant resting-state functional connectivity fMRI (R-fMRI) in children with ADHD (Castellanos & Aoki, 2016). Longitudinal population-based neuroimaging studies applying R-fMRI may provide an unbiased approach to investigate ADHD neurobiology (Paus, 2010).

Previous evidence on R-fMRI and ADHD using different approaches have demonstrated atypical functional connectivity (FC) in the default mode network (Fair et al., 2010; Chabernaud et al., 2012, Fair et al., 2013, Mills et al., 2018), salience network, executive network (Elton et al., 2014), motor network (McLeod et al., 2014), cingulo-opercular network (Barber et al., 2015), frontoparietal control network (Lin et al., 2015), thalamus and basal ganglia (Mills et al., 2012), putamen (Cao et al., 2009, Hong et al., 2015), dorsal anterior cingulate cortex (Tian et al., 2006 Sun et al., 2012), hippocampus (Posner et al., 2014), amygdala (Huovershorn et al., 2014), and accumbens (Costa Dias et al., 2013). These alterations of FC reported in several ROIs across the brain have been demonstrated in cross-sectional studies.

Longitudinal studies detailing ADHD symptomatology trajectories across the life span and investigating adolescent and adult-onset ADHD are recent (Moffitt et al., 2015; Agnew-Blais, 2016; Caye et al., 2016; Riglin et al., 2016; Karam et al., 2017; Cooper et al., 2018). ADHD neuroimaging studies with children and adolescents relying on longitudinal design have already been announced, but their results are still to be released (Silk et al., 2016; Casey et al., 2018). One important neuroimaging initiative, gathering structural MRI from 1104 adolescents reported that brain volumetric differences in ventromedial prefrontal cortex predicted the occurrence of hyperactive/inattentive symptoms in adulthood (Albaugh, et al. 2018). Despite the growing body of knowledge reported, studies of brain connectivity related to the emergence, persistence and remission of ADHD during childhood and adolescence are still scarce.

Our aim is to compare baseline FC patterns among children and adolescents with distinct ADHD developmental trajectories and contrast these findings with those from typically developing children from a non-clinical community-based sample. Using R-fMRI data from baseline and clinical data from baseline and 3-year follow-up of the Brazilian High Risk Cohort Study we hypothesized that whole-brain FC from the new-onset ADHD group would present a distinct pattern of connectivity in comparison to the patterns of persisters, remitters and typically developing comparisons.

Material and Methods

Participants

The children and adolescents included in this study are a subsample from the Brazilian High Risk Cohort Study for the Development of Childhood Psychiatric Disorders (HRC) (Salum et al., 2015). HRC is a still ongoing large community-base cohort, which started screening children in 2010 in two capitals from Brazil, Porto Alegre (POA) and São Paulo (SP). The baseline clinical assessment and neuroimaging acquisition took place from October 2010 until January 2012 in both cities. The follow-up clinical assessment reported here happened on average 3 years afterwards.

As one of the goals of the HRC was to acquire neuroimaging features of those children at high risk to develop future psychopathology, an oversampling procedure was performed in order to select the high-risk group from the initial overall sample (Salum et al., 2015). Initial screening took place in 57 public schools in both cities, gathering 9937 children in the first screening. From those, 2512 children comprise the HRC (957 randomly selected from the initial screened sample and 1554 selected from the oversampling procedure based on their higher risk of future development of psychiatric disorders, which was based on higher levels of both dimensional symptoms and family psychopathology as assessed by the Family History Screen (Weissman et al., 2000)). From the 2512 participants of the HRC, a subsample of 759 children underwent MRI scanning. A total of 685 subjects had good quality R-fMRI scans. From those subjects we first excluded 10 subjects (for not having complete diagnostic assessment), then we excluded 226 subjects (who presented any psychiatric disorder different from ADHD during either baseline or follow-up), and finally we excluded 10 children who were currently receiving psychopharmacological treatment (further detailed in Figure 1). The results presented here derive from a final subsample of 439 subjects.

INSERT FIGURE 1 ABOUT HERE

Diagnostic Assessment

All children were initially evaluated during a household interview by trained personnel applying the Development and Well-Being Assessment (DAWBA) (Goodman, et al., 2000) to a biological parent. The DAWBA is a DSM-IV based structured interview preferably suited for epidemiological screening studies. ADHD diagnosis was based on DSM-IV diagnostic criteria. All DAWBA scores were rated by a group of nine psychiatrists in order to ascertain the diagnosis. Follow-up assessments were conducted on an average of three years after baseline assessments (Mean=3.3 SD=0.8), using the same diagnostic instrument (DAWBA). Considering our goal to investigate whole-brain functional connectivity before the emergence of ADHD, we used the following criteria to form four groups: (1) the typically developing comparisons included children who never presented any psychiatric diagnosis neither during baseline, nor follow-up; (2) the new-ADHD group included only those children that did not present any psychiatric diagnosis during baseline, but presented ADHD in the follow-up assessment; (3) the ADHD Persisters group included all children who had only ADHD in both time points; and (4) the ADHD Remitters group consisted of children who had only ADHD diagnosis during baseline and evolved to not fulfilling ADHD criteria in the re-evaluation.

Intelligence

Intelligence Quotient (IQ) was measured during the household interview using the vocabulary and block design subtests of the Weschsler Intelligence Scale for Children accordingly to Tellegen et. al approach (Tellegen & Briggs, 1967).

Image Acquisition

All scans were acquired in two 1.5T MRI scanners (Signa HDX in site 1 and Signa HD in site 2 – General Electric, USA) with the same image acquisition protocol in both sites. High-resolution T1-weighted structural scans (3D FSPGR sequence) were acquired first using up to 160 axial slices for whole brain coverage (TR=10.916ms, TE=4.2ms, thickness=1.2mm, flip angle=15°, matrix size=256x192, FOV=24.0x18.0cm, NEX=1, bandwidth=122.109). Then the R-fMRI scans were acquired with 26 slices using Echo Planar Imaging (EPI) sequence with the following parameters (TR=2000ms, TE=30ms, slice thickness=4mm, gap=0.5mm, flip angle=80°, matrix size=80x80, NEX=1, scan time 6 min). Prior to each scanning session every children and adolescent underwent a desensitization activity, in which each subject entered a cloth tunnel, and listened to recorded MRI sound, to mimic the scanning experience.

Image Processing

All R-fMRI processing was performed using the pipeline within the CONN toolbox version 18 (www.nitrc.org/projects/conn) (Whitfield-Gabrieli & Nieto-Castanon, 2012) over MATLAB 2016a (MathWorks, Natick, MA, USA). CONN is a MATLAB-based software that applies neuroimaging-processing commands of SPM12 (www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm) (Ashburner, 2012). CONN starts with spatial preprocessing (segmentation of anatomical volumes to compute grey matter, white matter and cerebrospinal fluid masks; slice-timing correction, realignment and unwarp, normalization, smoothing of functional volumes, and then extraction of the BOLD signal timeseries from the functional volumes divided by all the regions of interest (ROIs) pre-

defined by the Harvard-Oxford Atlas (91 cortical regions and 15 subcortical regions)(Makris et al., 2006). The second step is temporal preprocessing (denoising), when first-level covariates (confounding effects) are regressed out from the BOLD signal from each voxel, in order to control residual physiological and motion artifacts (BOLD signal from white matter, and CSF, realignment covariates, scrubbing and the aCompCor approach (Behzadi, Restom, Liau, & Liu, 2007)) and then each individual's BOLD timeseries is band-pass filtered (0.008 - 0.09Hz). The third part of processing is the First-level analyses, when each individual R-fMRI measures are computed from the denoised ROI-timeseries in a ROI-to-ROI analysis, enabling all ROI-to-ROI comparisons. The fourth part of processing is the Second-level analyses when CONN computes all the group-level ROI-to-ROI comparisons results.

Head Motion Effects

In order to address the possible occurrence of spurious correlations due to movement artifacts, we chose to use CONN due to its very effective approach to control confounding effects of movement. During preprocessing we chose the "conservative" threshold settings in which CONN uses ART (Artifact detection/identification toolbox) with the 95th percentile in the normative sample, with a global-signal z-value threshold of 3 and a subject-motion threshold of 0.5mm. The mean Frame-Displacement for each individual was extract from the First-level analyses and used again as a covariate in the second-level analyses to have a more rigid control of movement effect.

Statistical analysis

All second-Level analyses conducted with baseline-acquired images within CONN were performed using the General Linear Model (GLM) approach as applied by the software. In order to account for possible confounders in the second-level analyses, we included age (demeaned), sex (male/female), site (POA/SP), IQ (total IQ measured by WISCIII), and the mean-motion covariate (as extracted from each individual during First-level analyses). Among all group comparisons, all variables that presented a $p < 0.2$ were included in the GLM model within CONN. All second-level comparisons were carried out considering all connections between 106 regions-of-interest of each subject, defining the threshold for ROI-to-ROI connections by intensity with a two-sided seed-level correction of a False Discovery Rate (FDR) $p\text{-FDR} = 0.05$. As a secondary analysis, we applied $p\text{-FDR} = 0.01$ to check which FC would survive.

Results

From the overall 439 children who passed all steps of analyses, 11 children developed ADHD in three-year follow-up, 10 comprised the ADHD-Persisters group, 42 were ADHD-Remitters and 376 were controls, as detailed in Table 1. None of the sociodemographic variables were significantly different among all four groups. Mean Frame-displacement and mean number of removed (scrubbed) volumes were not different between all groups. The differences of functional connectivity between all four groups are detailed in Table 2.

INSERT TABLE 1 ABOUT HERE

The group of new ADHD cases presented higher functional connectivity between right thalamus and left temporal occipital fusiform cortex when compared to all other three groups. It also presented higher functional connectivity between right thalamus and left superior parietal lobule when compared to controls and remitters. In our secondary analysis ($p\text{-FDR}=0.01$), right thalamus continued to show higher FC with left temporal occipital fusiform cortex when the new ADHD group was compared to controls and ADHD Persisters. Comparisons between new ADHD and ADHD Remitters and between ADHD Persisters and controls did not survive the 0.01 thresholds. When comparing ADHD Remitters to controls the right Accubens continued to show higher FC with left middle temporal gyrus temporooccipital part, and two FCs survived in the Remitters vs. Persisters comparisons. All connections are further detailed in Table 2, and Figure 2 (Table 3 and Figures 3-5 can be found in the supplemental material).

INSERT TABLE 2 ABOUT HERE

INSERT FIGURE 2 ABOUT HERE

Discussion

In a longitudinal community-based sample of high-risk children, the emergence of new cases of ADHD was associated with higher FC between right thalamus and left temporal occipital fusiform cortex when compared to all other groups. We also found that new ADHD patients presented higher FC between right thalamus and left superior parietal lobule when compared to controls and remitters, but not to persisters. Remitters

presented lower FC between right superior parietal lobule and bilateral superior temporal gyrus posterior division, and bilateral Planum Temporale when compared to the persisters group.

In accordance with our initial hypothesis all groups showed distinctive patterns of FC. None of the sociodemographic variables were significantly different among all groups, suggesting that different patterns of FC would be mainly due to neurobiological differences among the clinically distinct groups.

Our findings related to the FC patterns between the ADHD groups cannot be fully comparable to previous findings from the literature, due to methodological differences, specially regarding our longitudinal and community-based design. Despite that, in a task-based fMRI study, with a small sample of ten male adolescents (5 persisters and 5 remitters), Schulz et al. (2005) associated higher activation of ventrolateral prefrontal cortex with persistence of ADHD rather than remission during adolescence. Our results did not show higher or lower FC between prefrontal areas or other regions related to the prefrontal cortex networks, traditionally related to ADHD. Wetterling et al. (2015) also applying task-based fMRI, using an adult sample of childhood diagnosed ADHD subjects, described impaired reward processing in the prefrontal cortex differentiating Remitters from Persisters. Differently from their results, we did not document any relationship of prefrontal cortex regions related to the persister or remitters group. Weaker inhibitory function in a still developing thalamus has been previously hypothesized to be related to over amplified thalamocortical activity (Murata, 2018). Our results involving right thalamus could be explained by this hypothesis, since all results in new ADHD group showed higher FC arising from thalamus to cortical regions. Right thalamus was found to be connected with left temporal occipital fusiform cortex, which is

a region, involved in high-level visual input processing, such as face recognition, object recognition and reading (Weiner, 2016). Right thalamus was also connected with left superior parietal lobule, which has been linked to high-order processing of sensory inputs, spatial orientation and attention, and body-environment interactions (Berlucchi, 2018). Both connections are related to key cortical regions related to sensory processing. Its interesting to note that this pattern of FC was happening before the onset of ADHD symptoms and we could speculate the possibility of these alterations in FC could be a first step before other more well-known FC ADHD-related alterations occur, although the new ADHD group also had higher FC in right thalamus when compared to ADHD persisters. This hypothesis should be further investigated in future larger longitudinal studies scanning children before ADHD onset. Our results involving the new ADHD group should be interpreted with caution considering our small number of subjects within the group. Despite that, the results arising from right thalamus survived the 0.01 FDR threshold, which, on the other hand, show the strength of this connectivity. Considering the comparison made with the Persisters and Remitters groups, several brain regions also demonstrated alterations in key regions of auditive-visual-sensory processing areas. The Remitters group presents higher FC between right accubems, which is know by its involvement in the reward system, previously studied as an impaired system in ADHD samples. In opposition to previous findings, our results point to higher FC towards temporal and fusiform regions, also related to auditory and visual processing networks. It is interesting to note that the Remitters groups presented lower FC also between key ROIs related to auditive (left planum temporale), and somatosensorial (postcentral gyrus) processing in comparison to controls. When compared to Persisters bilateral planum temporale has lower FC with right superior Parietal lobule showing that

auditory and visual-spatial processing cortical areas are more loosely connected in Remitters than Persisters.

Despite the novelty of our study presenting FC findings at baseline in emergent new cases ADHD from a community-based sample, it has some limitations. Our FC results are derived from a small number of subjects (emergent new ADHD cases (n=11), ADHD persisters (n=10), ADHD remitters (n=42)), limiting our power. Other limitation is related to the ROI selection, specially regarding the thalamus. Previous neuroimaging and neuroanatomical studies have subdivided thalamus in subregions demonstrating differences of each subregion in relation to cortical connectivity and overall function (Hwang et al., 2017). Our results relative to the right thalamus consist of an overall signal measure accounting all the voxels in the whole thalamus. Perhaps, if we had applied a more detailed atlas with thalamic subdivision, then our results could be more specific regarding FC to different cortical regions. We did not pursue this approach considering the small sample size in each phenotypically defined ADHD sub-group.

Conclusions

In a large community sample of children and adolescents whole-brain R-fMRI analysis at baseline revealed distinctive patterns of FC between emergent new cases of ADHD, ADHD Persisters, and ADHD Remitters. Our results pointed out right thalamus as a key player in the identification of new cases of ADHD. Future larger community samples will be necessary to replicate this finding in order ascertain this distinctive role of thalamus. Our results also highlight the involvement of key sensory-auditory-visual regions in the neurobiology of ADHD trajectories, which, in turn, indicate the need for future studies

focusing on the role of sensory processing networks beyond the fronto-striatal-thalamic model.

Key Points

- Studies examining functional connectivity patterns in children from a large community-based cohort rarely investigate distinct Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder developmental trajectories over time.
- We analyzed Resting-state fMRI images from four groups defined longitudinally (3 year follow-up): new emergent ADHD cases, ADHD persisters, ADHD remitters and typically developing comparisons
- The emergence of ADHD was associated with higher FC between the right thalamus and the left temporal occipital fusiform cortex.
- The study suggests a central role of the right thalamus functional connectivity as a vulnerability marker of ADHD conversion.
- Further larger community-based studies examining the dynamic brain changes associated with different ADHD trajectories across time are necessary to validate our findings.

Acknowledgements

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

This study was supported by the National Institute of Developmental Psychiatry for Children and Adolescent (INPD) Grant: Fapesp 2014/50917-0 CNPq 465550/2014-2

Correspondence to:

Name: Felipe Almeida Picon

Address: Rua Ramiro Barcelos, 2350, 4 andar - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Porto Alegre – RS – Brazil, CEP 90035-003

Phone: +55-51-3359-8413

Email: felipepicon@gmail.com

References

- 01 Polanczyk GV, Salum GA, Sugaya LS, Caye A, Rohde LA. Annual research review: A meta-analysis of the worldwide prevalence of mental disorders in children and adolescents. *J Child Psychol Psychiatry*. 2015 Mar;56(3):345-65. doi: 10.1111/jcpp.12381. Epub 2015 Feb 3.
- 02 Milham MP, Craddock RC, Klein A. Clinically useful brain imaging for neuropsychiatry: How can we get there? *Depress Anxiety*. 2017 Jul;34(7):578-587. doi: 10.1002/da.22627. Epub 2017 Apr 20.
- 03 Castellanos FX, Aoki Y. Intrinsic Functional Connectivity in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A Science in Development. *Biol Psychiatry Cogn Neurosci Neuroimaging*. 2016 May;1(3):253-261.
- 04 Paus T. Population neuroscience: why and how. *Hum Brain Mapp*. 2010 Jun;31(6):891-903. doi: 10.1002/hbm.21069.

- 05 Fair, D. A., Posner, J., Nagel, B. J., Bathula, D., Dias, T. G. C., Mills, K. L., Blythe, M. S., Giwa, A., Schmitt, C. F., & Nigg, J. T. (2010): Atypical default network connectivity in youth with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry* 68:1084–1091. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.07.003>
- 06 Chabernaud C, Mennes M, Kelly C, Nooner K, Di Martino A, Castellanos FX, Milham MP. Dimensional brain-behavior relationships in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry*. 2012 Mar 1;71(5):434-42. doi: 10.1016/j.biopsych.2011.08.013. Epub 2011 Oct 5.
- 07 Fair, D. A., Nigg, J. T., Iyer, S., Bathula, D., Mills, K. L., Dosenbach, N. U. F., Schlaggar, B.L., Mennes, M., Gutman, D., Bangaru, S., Buitelaar, J. K., Dickstein, D. P., Di Martino, A., Kennedy, D. N., Kelly, C., Luna, B., Schweitzer, J. B., Velanova, K., Wang, Y-F., Mostofsky, S., Castellanos, F. X., & Milham, M. P. (2013): Distinct neural signatures detected for ADHD subtypes after controlling for micro-movements in resting state functional connectivity MRI data. *Front Syst Neurosci* 6:80. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2012.00080>
- 08 Mills BD, Miranda-Dominguez O, Mills KL, Earl E, Cordova M, Painter J, Karalunas SL, Nigg JT, Fair DA. ADHD and attentional control: Impaired segregation of task positive and task negative brain networks. *Netw Neurosci*. 2018 Jun 1;2(2):200-217. doi: 10.1162/netn_a_00034. eCollection 2018.
- 09 Elton A, Alcauter S, Gao W. Network connectivity abnormality profile supports a categorical-dimensional hybrid model of ADHD. *Hum Brain Mapp*. 2014 Sep;35(9):4531-43. doi: 10.1002/hbm.22492.
- 10 McLeod KR, Langevin LM, Goodyear BG, Dewey D. Functional connectivity of neural motor networks is disrupted in children with developmental coordination disorder

and attention-deficit/hyperactivity disorder. *Neuroimage Clin.* 2014 Mar 26;4:566-75. doi: 10.1016/j.nicl.2014.03.010. eCollection 2014.

11 Barber AD, Jacobson LA, Wexler JL, Nebel MB, Caffo BS, Pekar JJ, Mostofsky SH. Connectivity supporting attention in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Neuroimage Clin.* 2014 Nov 20;7:68-81. doi: 10.1016/j.nicl.2014.11.011. eCollection 2015.

12 Lin HY, Tseng WY, Lai MC, Matsuo K, Gau SS. Altered resting-state frontoparietal control network in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Int Neuropsychol Soc.* 2015 Apr;21(4):271-84. doi: 10.1017/S135561771500020X. Epub 2015 Apr 30.

13 Mills KL, Bathula D, Dias TG, Iyer SP, Fenesy MC, Musser ED, Stevens CA, Thurlow BL, Carpenter SD, Nagel BJ, Nigg JT, Fair DA. Altered cortico-striatal-thalamic connectivity in relation to spatial working memory capacity in children with ADHD. *Front Psychiatry.* 2012 Jan 25;3:2. doi: 10.3389/fpsyt.2012.00002. eCollection 2012.

14 Cao X, Cao Q, Long X, Sun L, Sui M, Zhu C, Zuo X, Zang Y, Wang Y. Abnormal resting-state functional connectivity patterns of the putamen in medication-naïve children with attention deficit hyperactivity disorder. *Brain Res.* 2009 Dec 15;1303:195-206. doi: 10.1016/j.brainres.2009.08.029. Epub 2009 Aug 20.

15 Hong SB, Harrison BJ, Fornito A, Sohn CH, Song IC, Kim JW. Functional dysconnectivity of corticostriatal circuitry and differential response to methylphenidate in youth with attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Psychiatry Neurosci.* 2015 Jan;40(1):46-57.

16 Tian L, Jiang T, Wang Y, Zang Y, He Y, Liang M, Sui M, Cao Q, Hu S, Peng M, Zhuo Y. Altered resting-state functional connectivity patterns of anterior cingulate cortex

in adolescents with attention deficit hyperactivity disorder. *Neurosci Lett*. 2006 May 29;400(1-2):39-43. Epub 2006 Feb 28.

17 Sun L, Cao Q, Long X, Sui M, Cao X, Zhu C, Zuo X, An L, Song Y, Zang Y, Wang Y. Abnormal functional connectivity between the anterior cingulate and the default mode network in drug-naïve boys with attention deficit hyperactivity disorder. *Psychiatry Res*. 2012 Feb 28;201(2):120-7. doi: 10.1016/j.psychresns.2011.07.001. Epub 2012 Mar 15.

18 Posner J, Siciliano F, Wang Z, Liu J, Sonuga-Barke E, Greenhill L. A multimodal MRI study of the hippocampus in medication-naive children with ADHD: what connects ADHD and depression? *Psychiatry Res*. 2014 Nov 30;224(2):112-8. doi: 10.1016/j.psychresns.2014.08.006. Epub 2014 Aug 19.

19 Hulvershorn LA, Mennes M, Castellanos FX, Di Martino A, Milham MP, Hummer TA, Roy AK. Abnormal amygdala functional connectivity associated with emotional lability in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2014 Mar;53(3):351-61.e1. doi: 10.1016/j.jaac.2013.11.012. Epub 2013 Dec 14.

20 Costa Dias TG, Wilson VB, Bathula DR, Iyer SP, Mills KL, Thurlow BL, Stevens CA, Musser ED, Carpenter SD, Grayson DS, Mitchell SH, Nigg JT, Fair DA. Reward circuit connectivity relates to delay discounting in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2013 Jan;23(1):33-45. doi: 10.1016/j.euroneuro.2012.10.015. Epub 2012 Dec 1.

21 Silk TJ, Genc S, Anderson V, Efron D, Hazell P, Nicholson JM, Kean M, Malpas CB, Sciberras E. Developmental brain trajectories in children with ADHD and controls: a longitudinal neuroimaging study. *BMC Psychiatry*. 2016 Mar 11;16:59. doi: 10.1186/s12888-016-0770-4.

- 22 Casey BJ, Cannonier T, Conley MI, Cohen AO, Barch DM, Heitzeg MM, Soules ME, Teslovich T, Dellarco DV, Garavan H, Orr CA, Wager TD, Banich MT, Speer NK, Sutherland MT, Riedel MC, Dick AS, Bjork JM, Thomas KM, Chararani B, Mejia MH, Hagler DJ Jr, Daniela Cornejo M, Sicut CS, Harms MP, Dosenbach NUF, Rosenberg M, Earl E, Bartsch H, Watts R, Polimeni JR, Kuperman JM, Fair DA, Dale AM; ABCD Imaging Acquisition Workgroup. The Adolescent Brain Cognitive Development (ABCD) study: Imaging acquisition across 21 sites. *Dev Cogn Neurosci*. 2018 Aug;32:43-54. doi: 10.1016/j.dcn.2018.03.001. Epub 2018 Mar 14.
- 23 Murata Y, Colonnese MT. Thalamic inhibitory circuits and network activity development. *Brain Res*. 2018 Oct 23. pii: S0006-8993(18)30536-5. doi: 10.1016/j.brainres.2018.10.024.
- 24 Weiner KS, Zilles K. The anatomical and functional specialization of the fusiform gyrus. *Neuropsychologia*. 2016 Mar;83:48-62. doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2015.06.033. Epub 2015 Jun 25.
- 25 Berlucchi G, Vallar G. The history of the neurophysiology and neurology of the parietal lobe. *Handb Clin Neurol*. 2018;151:3-30. doi: 10.1016/B978-0-444-63622-5.00001-2.
- 26 Hwang K, Bertolero MA, Liu WB, D'Esposito M. The Human Thalamus Is an Integrative Hub for Functional Brain Networks. *J Neurosci*. 2017 Jun 7;37(23):5594-5607. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0067-17.2017. Epub 2017 Apr 27.
- 27 Schulz KP, Newcorn JH, Fan J, Tang CY, Halperin JM. Brain activation gradients in ventrolateral prefrontal cortex related to persistence of ADHD in adolescent boys. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2005 Jan;44(1):47-54.

28 Wetterling F, McCarthy H, Tozzi L, Skokauskas N, O'Doherty JP, Mulligan A, Meaney J, Fagan AJ, Gill M, Frodl T. Impaired reward processing in the human prefrontal cortex distinguishes between persistent and remittent attention deficit hyperactivity disorder. *Hum Brain Mapp.* 2015 Nov;36(11):4648-63. doi: 10.1002/hbm.22944. Epub 2015 Aug 19.

Figure 1. Subject Data

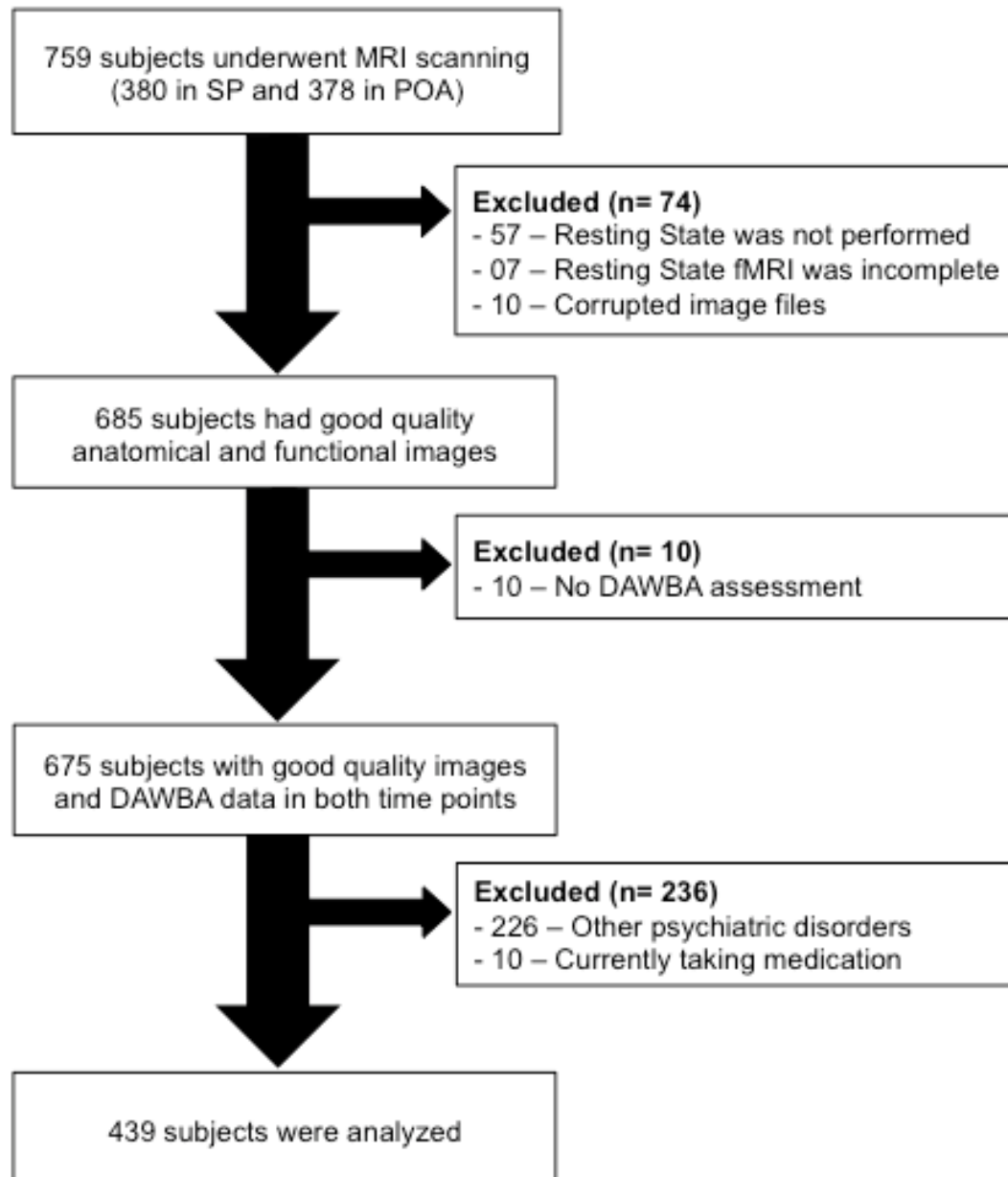


Table 1. Demographic and clinical characteristics of participants

Table 1. Demographic and clinical characteristics of participants

Sociodemographic	ADHD-Emergent Cases		ADHD-Persisters		ADHD-Remitters		Controls		Total		p
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	
Male	7	63.6	6	60.0	32	76.2	212	56.4	257	58.5	0.115
Female	4	36.4	4	40.0	10	23.8	164	43.6	182	41.5	
Total	11		10		42		376		439		
Porto Alegre	5	45.5	5	50.0	26	61.9	167	44.4	203	46.2	0.194
São Paulo	6	54.5	5	50.0	16	38.1	209	55.6	236	53.8	
Total	11		10		42		376		439		
Mother completed High School	2	18.2	4	40.0	18	42.9	127	34.3	151	34.9	0.722
Mother Married or living with biological father	5	45.5	4	40.0	21	50.0	216	57.9	246	56.4	0.928
Children Right-handed	10	91.6	8	80.0	35	83.3	349	92.8	402	91.6	0.123
Sociodemographic	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	p
Age Baseline	9.04	1.18	9.70	1.92	10.18	1.68	9.91	1.90	9.91	1.87	0.337
Age Followup	12.22	1.22	13.05	2.02	13.61	1.68	13.24	1.85	13.24	1.83	0.157
Total IQ (WISC)	94.72	17.03	96.60	13.37	98.09	16.51	103.44	16.73	102.55	16.74	0.052
Movement Parameters	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	p
Mean Movement (mm)	0.28	0.22	0.22	0.19	0.26	0.19	0.23	0.26	0.23	0.25	0.799
Number of scrubbed volumes	32.09	31.45	30.5	26.6	30.78	24.8	24.11	23.45	25.09	23.9	0.215

Table 2. Functional connectivity group comparisons (p-FDR=0.05)

New ADHD > Controls						
ROI	ROI number	ROI	Statistic	p-unc	p-FDR	
Thalamus right	1	2 Temporal Occipital Fusiform Cortex left (TOFusC l)	$I(418) =$	4.78	<0.001	0.0003
Thalamus right	1	3 Superior Parietal Lobule left (SPL l)	$I(418) =$	3.68	0.0003	0.0139
New ADHD > ADHD Persisters						
Thalamus right	1	2 Temporal Occipital Fusiform Cortex left (TOFusC l)	$I(418) =$	4.93	<0.001	0.0001
New ADHD > ADHD Remitters						
Thalamus right	1	3 Superior Parietal Lobule left (SPL l)	$I(418) =$	3.92	0.0001	0.0107
Thalamus right	1	2 Temporal Occipital Fusiform Cortex left (TOFusC l)	$I(418) =$	3.68	0.0003	0.0139
ADHD Persisters > Controls						
Angular Gyrus left (AG l)	4	5 Insular Cortex right (IC r)	$I(418) =$	3.63	0.0003	0.0325
Planum Temporale left (PT l)	6	7 Cuneal Cortex right	$I(418) =$	3.52	0.0005	0.0496
ADHD Remitters > Controls						
Accumbens right	8	9 Middle Temporal Gyrus, temporooccipital part left (toMTG l)	$I(418) =$	4.43	<0.001	0.0012
Accumbens right	8	10 Temporal Fusiform Cortex, anterior division right (aTFusC r)	$I(418) =$	3.35	0.0009	0.0459
Accumbens right	8	11 Middle Temporal Gyrus, posterior division left (pMTG l)	$I(418) =$	3.22	0.0014	0.0486
Superior Frontal Gyrus right (SFG r)	12	13 Paracingulate Gyrus left (PaCIG l)	$I(418) =$	3.53	0.0005	0.0483
Lingual Gyrus left (LG l)	14	15 Middle Frontal Gyrus left (MidFG l)	$I(418) =$	-3.78	0.0002	0.0186
Postcentral Gyrus right (PostCG r)	16	6 Planum Temporale left (PT l)	$I(418) =$	-3.71	0.0002	0.0241
ADHD Remitters > ADHD Persisters						
Subcallosal Cortex (SubCalC)	17	18 Temporal Fusiform Cortex, posterior division right (pTFusC r)	$I(418) =$	4.25	<0.001	0.0027
Superior Parietal Lobule right (SPL r)	19	20 Superior Temporal Gyrus, posterior division right (pSTG r)	$I(418) =$	-3.99	0.0001	0.0082
Superior Parietal Lobule right (SPL r)	19	21 Superior Temporal Gyrus, posterior division left (pSTG l)	$I(418) =$	-3.67	0.0003	0.0143
Superior Parietal Lobule right (SPL r)	19	6 Planum Temporale left (PT l)	$I(418) =$	-3.48	0.0005	0.0190
Superior Parietal Lobule right (SPL r)	19	22 Planum Temporale right (PT r)	$I(418) =$	-3.23	0.0014	0.0352

Figure 2. Functional connectivity results comparing New ADHD with other groups

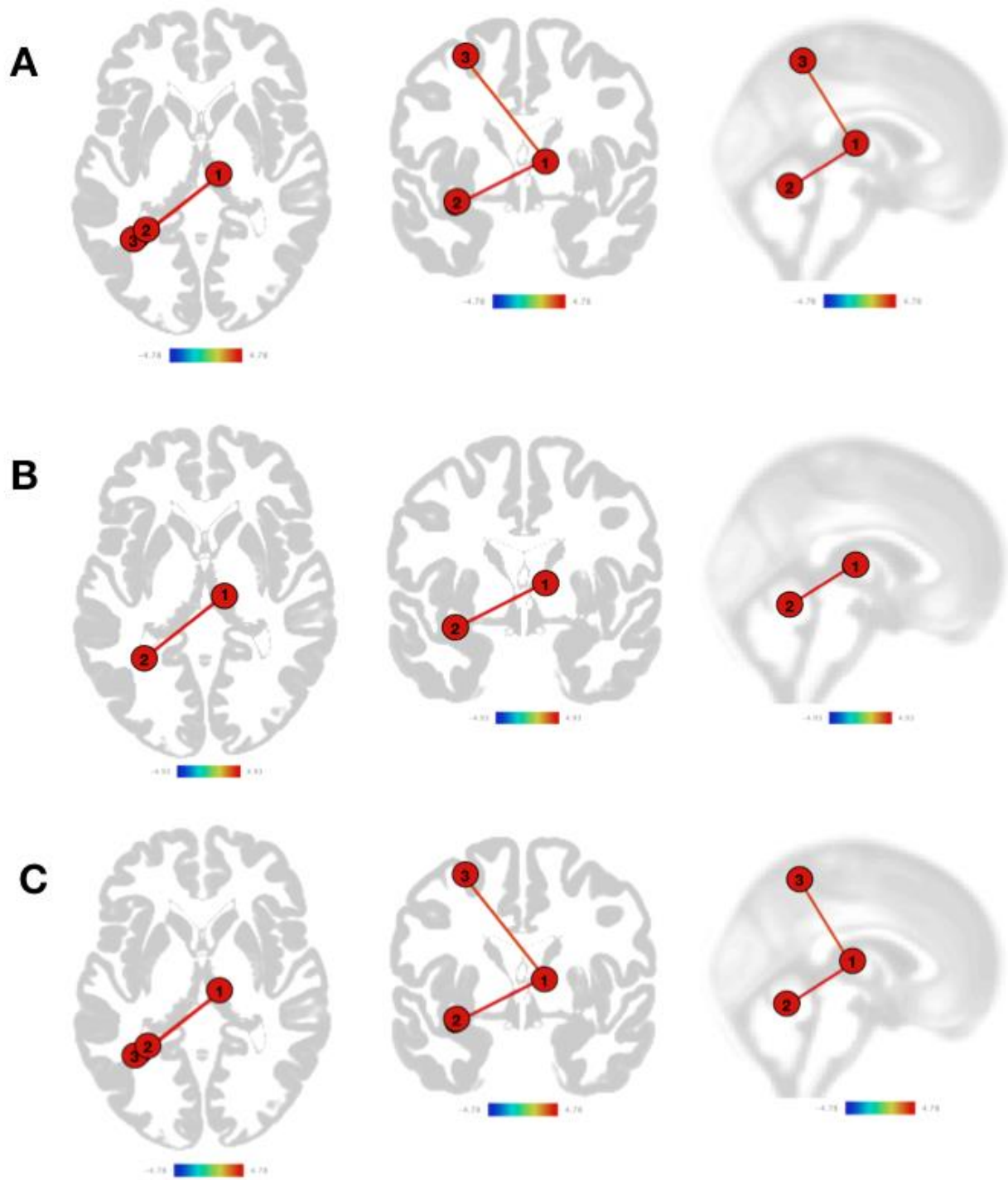


Figure 2. (A) New ADHD > Controls; (B) New ADHD > ADHD Persisters; (C) New ADHD > ADHD Remitters. Regions: (1) right thalamus; (2) left temporal occipital fusiform cortex; (3) left superior parietal lobule

Supplemental Material

Table 3. Functional connectivity group comparisons (p-FDR=0.01)

Table 3. Functional connectivity group comparisons (p-FDR=0.01)						
New ADHD > Controls						
ROI	ROI number	ROI	Statistic	p-unc	p-FDR	
Thalamus Right	1	2	Temporal Occipital Fusiform Cortex Left (TOFusC l)	T(418) = 4.78	<0.001	0.0003
New ADHD > ADHD Persisters						
ROI	ROI number	ROI	Statistic	p-unc	p-FDR	
Thalamus Right	1	2	Temporal Occipital Fusiform Cortex Left (TOFusC l)	T(418) = 4.93	<0.001	0.0001
New ADHD > ADHD Remitters						
None of the connections survived the threshold of p=0.01						
ADHD Persisters > Controls						
None of the connections survived the threshold of p=0.01						
ADHD Remitters > Controls						
ROI	ROI number	ROI	Statistic	p-unc	p-FDR	
Accumbens Right	8	9	Middle Temporal Gyrus, temporooccipital part Left (toMTG l)	T(418) = 4.43	<0.001	0.0012
ADHD Remitters > ADHD Persisters						
ROI	ROI number	ROI	Statistic	p-unc	p-FDR	
Subcallosal Cortex (SubCalC)	17	18	Temporal Fusiform Cortex, posterior division Right (pTFusC r)	T(418) = 4.25	<0.001	0.0027
Superior Parietal Lobule Right (SPL r)	19	20	Superior Temporal Gyrus, posterior division Right (pSTG r)	T(418) = -3.99	0.0001	0.0082

Figure 3. ADHD Persisters > Controls

ADHD Persisters > Controls

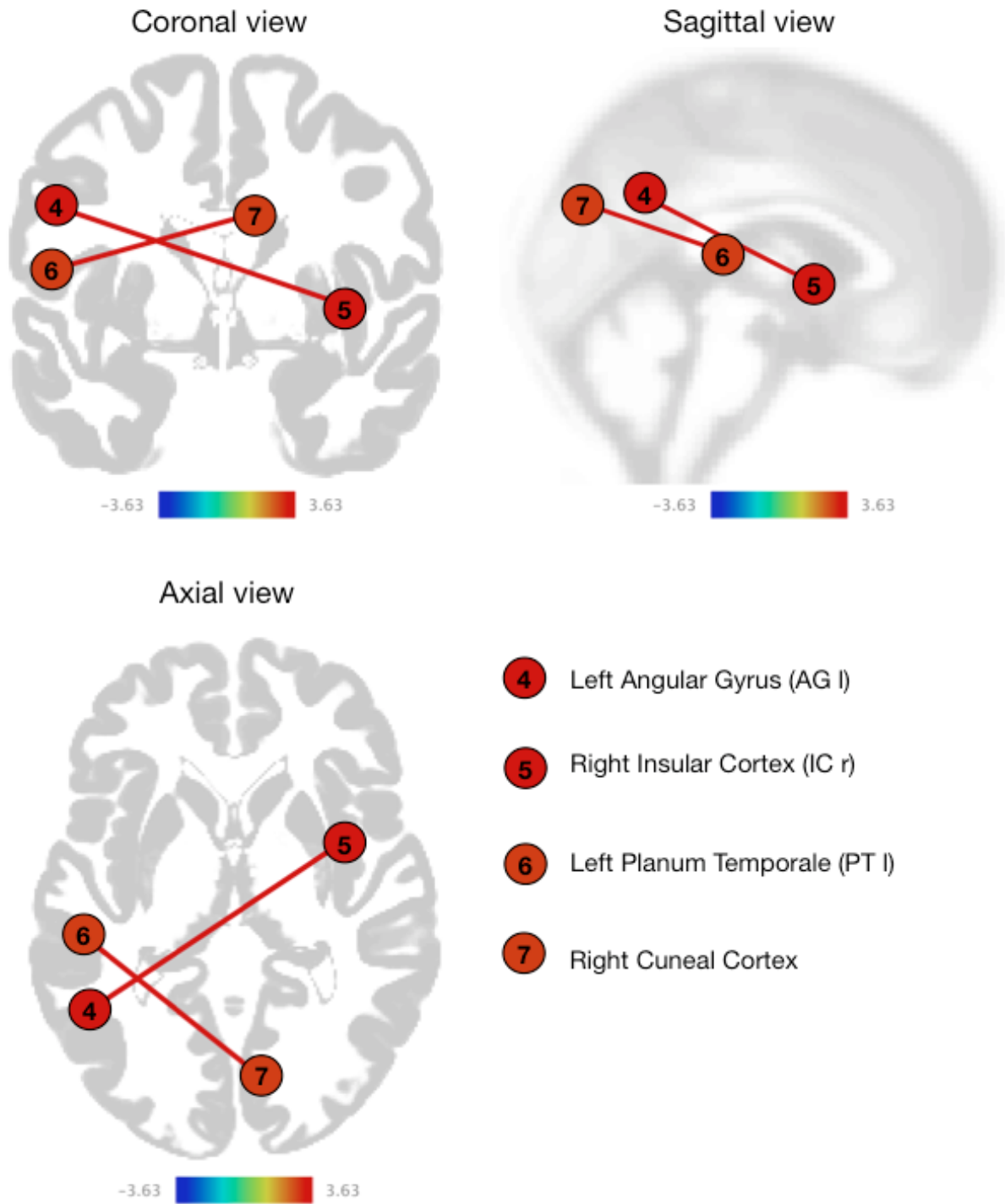


Figure 4. ADHD Remitters > Controls

ADHD Remitters > Controls

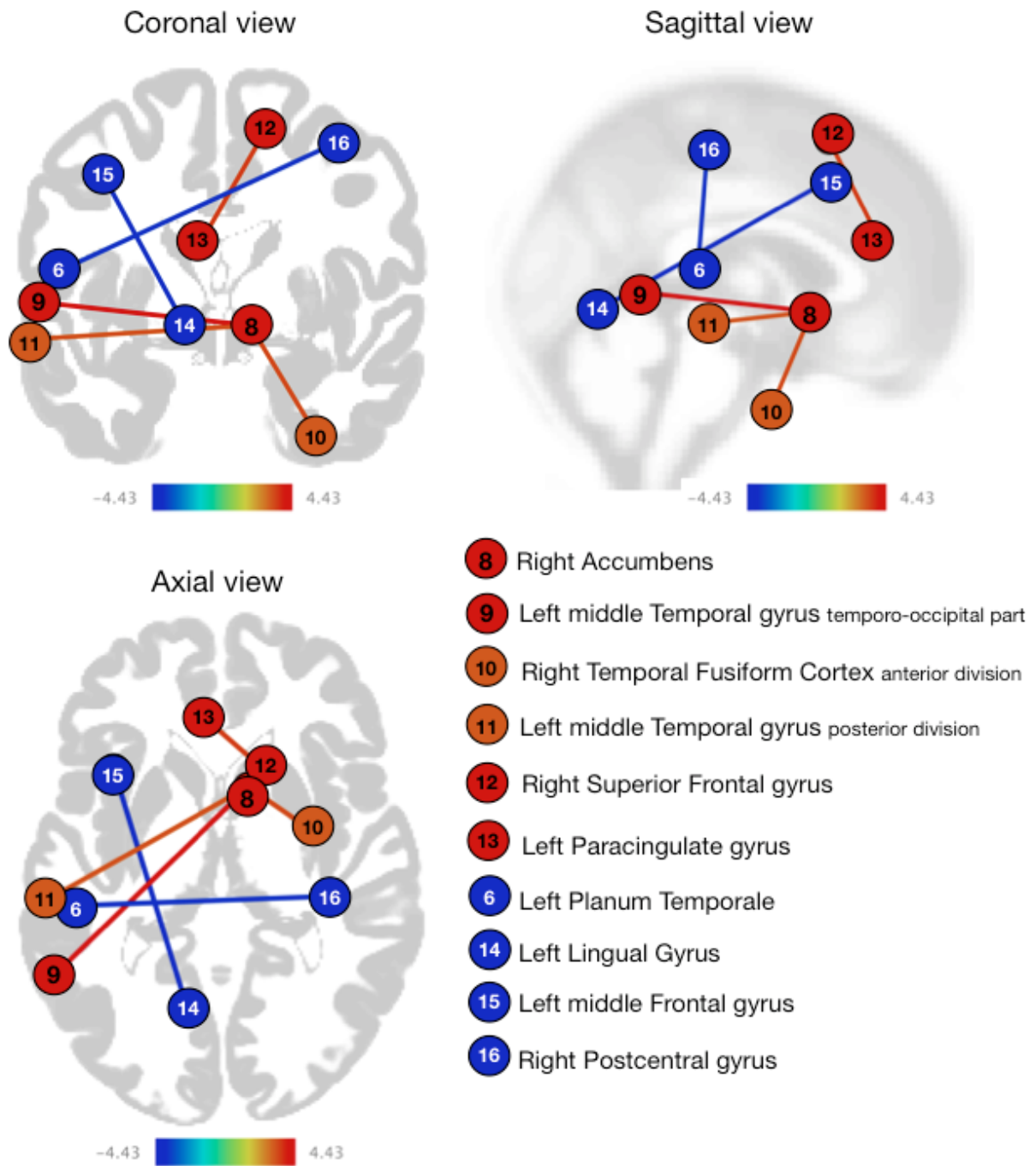
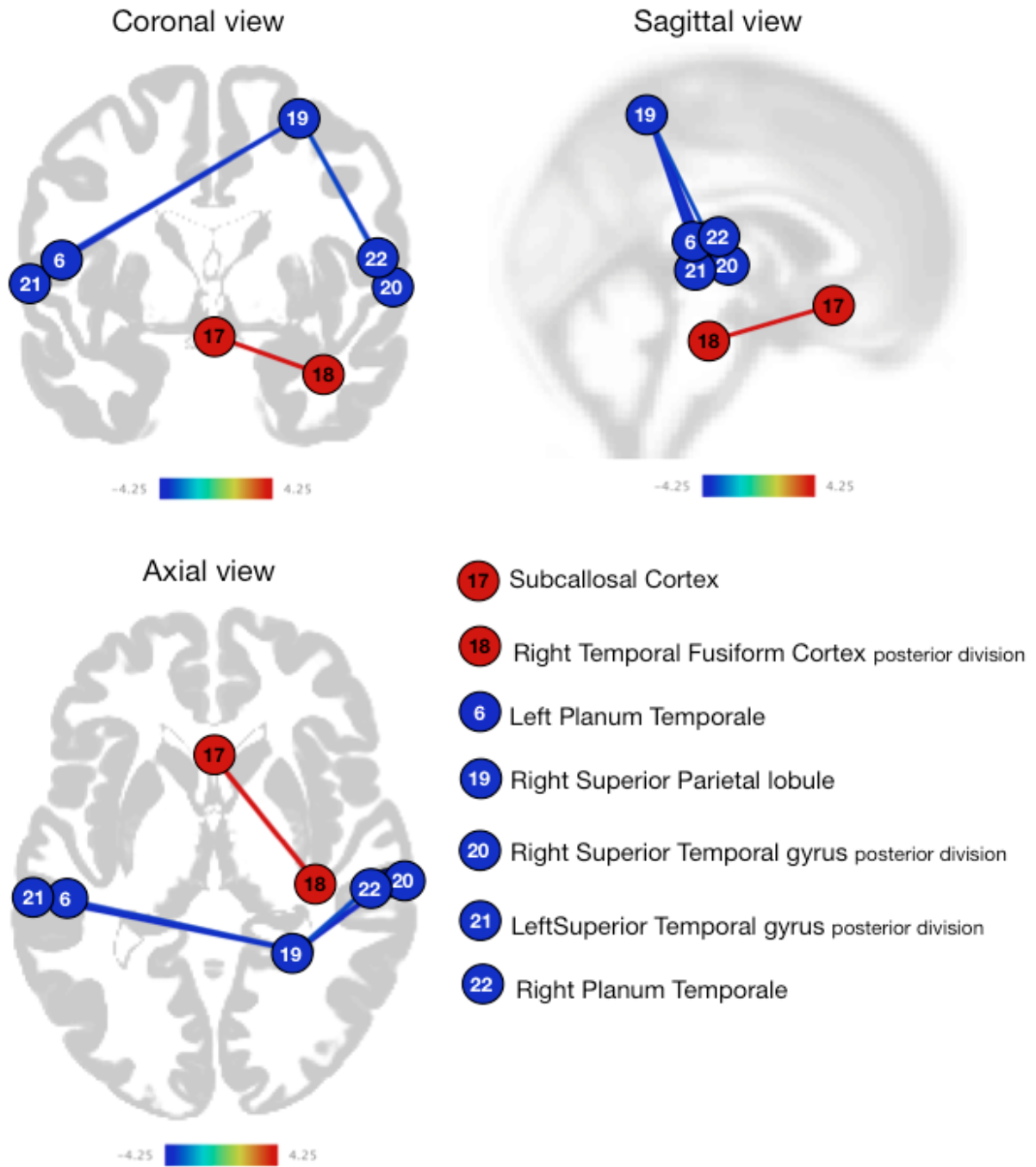


Figure 5. ADHD Remitters > ADHD Persisters

ADHD Remitters > ADHD Persisters



Author Contributions:

FAP had full access to all the data in the study and takes full responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis; FAP, JRS, GAS, and LAR were responsible for the study concept and design; FAP, GAS, MA, PMP, AZ, LMM, MDA, and AG were responsible for the acquisition of data; FAP, JRS, and LAR were responsible for the statistical analysis and interpretation of data; FAP was responsible for the drafting of the manuscript; and FAP, JRS, GAS, and LAR were responsible for the critical revision of the manuscript for important intellectual content. All authors reviewed the manuscript.

Conflict of Interest Disclosures:

Luis Augusto Rohde has been a member of the speakers' bureau/advisory board and/or acted as a consultant for Eli-Lilly, Janssen-Cilag, Medice, Novartis and Shire in the last three years. He receives authorship royalties from Oxford Press and ArtMed. He has also received travel awards from Shire for his participation of the 2017 WFADHD and 2016 AACAP meetings. The ADHD and Juvenile Bipolar Disorder Outpatient Programs chaired by him received unrestricted educational and research support from the following pharmaceutical companies in the last three years: Eli-Lilly, Janssen-Cilag, Novartis, and Shire. All other authors declare that they have no conflicts of interest. In the last 5 years, R.A.B. has received research grants from Janssen Cilag, Roche, and the governmental funding research agencies: ERC, CAPES, CNPq, and FAPESP (2016/022465 and 2011/50740-5); has been a forum consultant for Janssen and Roche; and has participated in speaker bureaus for Ache, Janssen, and Lundbeck, all outside the submitted work.

Funding/Support:

This research was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), and Programa de Déficit de Atenção e Hiperatividade do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (ProDAH-HCPA).

Role of the Sponsor:

The funder had no role in the design of the study; in the collection, analysis, and interpretation of the data; and in the preparation of the manuscript.

12 ARTIGO #2

*Artigo publicado no **Journal of Attention Disorders***

Fator de Impacto (2018): 3.668

12.1 Artigo #2

Methylphenidate alters functional connectivity of Default Mode Network in Drug-Naïve Male Adults with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder

Felipe Almeida Picon^{1,2,3}, João Ricardo Sato^{3,4}, Maurício Anés^{2,5}, Leonardo Modesti Vedolin⁶, Alessandro André Mazzola⁷, Bruna Bressan Valentini⁸, Renata Basso Cupertino^{1,9}, Rafael Gomes Karam¹, Marcelo Moraes Victor^{1,2}, Vitor Breda^{1,2}, Katiane Silva^{1,2}, Neivo da Silva Jr¹⁰, Claiton Henrique Dotto Bau^{1,2,8}, Eugenio Horacio Grevet^{1,2}, Luis Augusto Paim Rohde^{1,2,3}

Affiliations:

¹ ADHD Outpatient Program – Adult Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil

² Department of Psychiatry, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

³ National Institute of Developmental Psychiatry for Children and Adolescents, Brazil

⁴ Center of Mathematics, Computing and Cognition, Universidade Federal do ABC, Santo André, SP, Brazil

⁵ Medical Physics and Radioprotection Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil

⁶ Grupo DASA, São Paulo, SP, Brazil

⁷ PhyMED Medical Physics and Radioprotection Consulting, Porto Alegre, RS, Brazil

⁸ Hospital Moinhos de Vento, Porto Alegre, RS, Brazil

⁹ Department of Genetics, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

¹⁰ Nuclear Medicine Laboratory, Santa Casa de Misericórdia, Porto Alegre, RS, Brazil

Corresponding Author:

Name: Luis Augusto Paim Rohde

Address: Rua Ramiro Barcelos, 2350, 4 andar

Serviço de Psiquiatria da Infância e Adolescência

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Porto Alegre – RS – Brazil, CEP 90035-003

Phone: +55-51-3359-8413

Email: lrohde@terra.com.br

Keywords:

ADHD, MPH, fMRI, resting-state functional connectivity, intrinsic connectivity

Abstract:

Objective: This study evaluated the hypothesis that MPH treatment would improve Default Mode Network (DMN) within-connectivity.

Method: Resting-state functional connectivity of the main nodes of DMN was evaluated in a highly homogenous sample of 18 drug-naïve male adult subjects with ADHD.

Results: Comparing resting-state functional connectivity fMRI scans before and after MPH treatment focusing exclusively on within-DMN connectivity, we evidenced the strengthening of functional connectivity between two nodes of the DMN: posterior cingulate cortex (PCC) and left lateral parietal cortex (LLP).

Conclusion: Our results contribute to the further understanding on how MPH affects functional connectivity within DMN of male adults with ADHD and corroborate the hypothesis of ADHD being a delayed neurodevelopmental disorder.

Keywords: ADHD, neuroimaging, default mode network, methylphenidate, connectivity.

Introduction

Methylphenidate (MPH) is the most prescribed stimulant treatment for Attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) worldwide (Cortese et al., 2017). Its clinical effectiveness has been extensively documented in children, adolescents and adults with ADHD (Clavenna & Bonati, 2017). Although ADHD was historically considered a disorder of prefrontal-striatal-cerebellar circuits, structural (Makris, Biederman, Monuteaux, & Seidman, 2009) and functional magnetic resonance imaging (fMRI) revealed other brain regions also implicated in its pathophysiology during the last decade, such as the temporal lobe (Wolfers et al., 2017), the occipital lobe (Proal et al., 2011), and posterior cingulate cortex (PCC)/precuneus (Castellanos et al., 2008). Core deficits of ADHD have been proposed to be related to disturbances on how discrete regions of the brain interact with each other, constituting alterations in functional networks activity (Castellanos & Aoki, 2016). An important whole-brain method to comprehend the interplay of intrinsic functional networks is the resting-state functional connectivity fMRI (R-fMRI) (Yeo et al., 2011; Smitha et al., 2017).

R-fMRI enables access to how different areas of the brain “communicate” with each other without the dependency on any specific cognitive task. The functional relationship of discrete areas of the brain, known as functional connectivity, is measured by the level of correlation between the blood oxygen-level dependent (BOLD) signals of two different brain areas (Azeez & Biswal, 2017). After a lag of time from its inception in 1995 (Biswal, Yetkin, Haughton, & Hyde, 1995), R-fMRI gained momentum among adult ADHD researchers after 2007 (Castellanos et al., 2008). Despite the growing number of papers on ADHD using R-fMRI, studies focusing specifically on how MPH interacts with resting-state functional connectivity in adults with ADHD are still scarce.

ADHD symptomatology has been hypothesized to be due to the intrusion of Default Mode Network (DMN) activity over task-related networks (also called “task-positive” networks) (Sonuga-Barke & Castellanos, 2007). Previously thought to be more active during rest periods (in PET and fMRI studies) (Raichle, 2015), DMN has been linked to mind-wandering, remembering past events, planning the future, considering the perspectives of others (Buckner, Andrews-Hanna, & Schacter, 2008), and its function is attenuated during externally oriented cognition (Andrews-Hanna, Reidler, Huang, &

Buckner, 2010). It is anatomically distributed among the medial prefrontal cortex (MPFC), PCC/precuneus, left lateral parietal cortex (LLP), and right lateral parietal cortex (RLP). DMN connectivity has been the focus of many studies with ADHD subjects (Castellanos & Aoki, 2016). Findings with children and adolescents show decreased integration of DMN (weakened within-network connectivity) (Fair et al., 2010; Kessler, Angstadt, Welsh, & Sripada, 2014) and atypical connectivity between-networks (Fair et al., 2013; Qiu et al., 2010; Sripada et al., 2014; Sripada, Kessler, & Angstadt, 2014). Investigations with adult ADHD samples also support the hypothesis of a disrupted DMN as one of the possible neurobiological underpinnings of ADHD symptoms (Sato, Hoexter, Castellanos, & Rohde, 2012; Uddin et al., 2007; McCarthy et al., 2013). Insufficient suppression of DMN led to lapses of attention in adults (Weissman, Roberts, Visscher, & Woldorff, 2006) and MPH treatment was found to increase the suppression of DMN as tasks were becoming increasingly difficult (Liddle et al., 2010). Cary et al. (2016) carried out an R-fMRI study where 22 adult ADHD patients (8 males) were scanned firstly under acute effect of treatment with stimulants (15 taking dextroamphetamine/amphetamine and 7 taking MPH) and secondly soon after withdrawn from treatment (48 or 72 hours) in order to examine changes in the organization of functional networks (including the DMN). Authors evidenced a more “control-like” status of all functional networks when patients were under the acute effect of stimulants. Regarding the DMN specifically, authors reported a slightly smaller effect of medication (when comparing with other task-related networks), but also towards the same pattern of healthy controls.

In another R-fMRI study, by Yang et al. (2016), 16 adults diagnosed with ADHD (11 males) were scanned before and after 3 weeks of amphetamine treatment (dextroamphetamine/amphetamine extended release or lisdexamphetamine). Alterations in the patterns of functional connectivity on left dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC) and MPFC were evidenced. Subsequent functional connectivity analysis using these two regions as seeds revealed that treatment decreased positive functional connectivity between DLPFC and insula, DLPFC and anterior cingulate cortex, and MPFC and insula, bringing them toward the connectivity levels observed in healthy controls. Authors concluded that the stimulant treatment increased functional segregation of

DLPFC (core region of cognitive control), MPFC (core region of DMN), and insula (core region of salience) and these changes were positively correlated with clinical improvement of ADHD symptoms.

Considering that the two previous studies using R-fMRI in adult ADHD samples included both males and females, had no uniformity regarding stimulant medications, and did not exclude subjects with previous use of stimulants, our goal was to investigate how MPH influences the functional connectivity within the main nodes of the DMN of drug-naïve male adults with ADHD. We hypothesized MPH treatment would improve DMN integration, through increased functional connectivity among its nodes, as it has been shown that increased levels of dopamine increase functional connectivity (Silberstein et al., 2016; Nagano-Saito et al., 2008).

Material and Methods

Participants

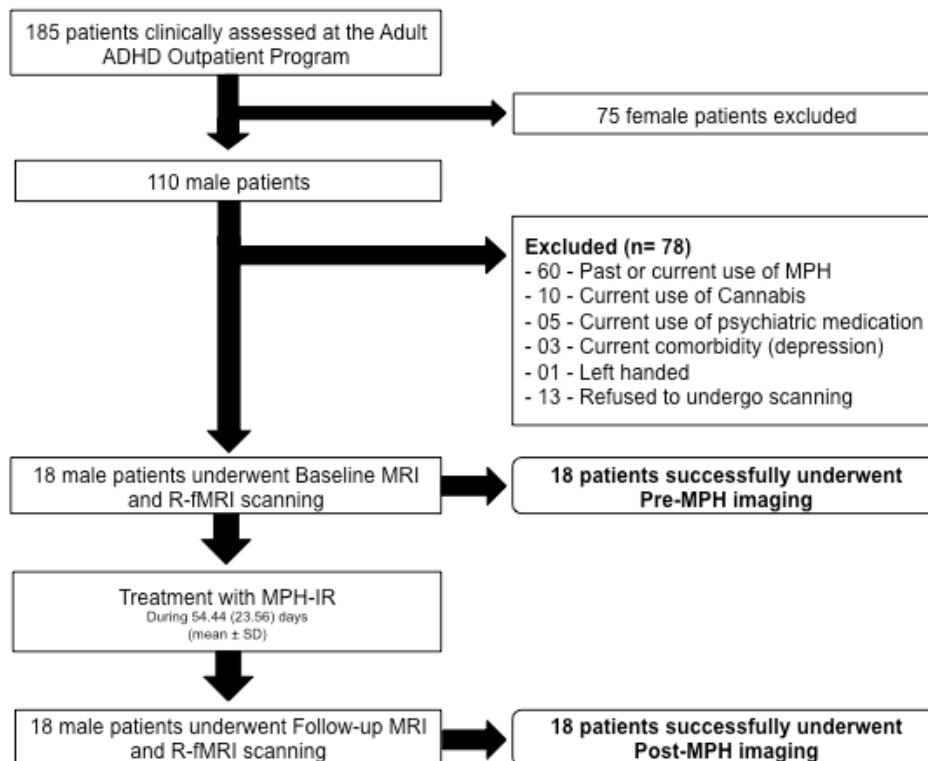
Patients were recruited and evaluated at the ADHD Outpatient Program – Adult Division at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), in Porto Alegre, Brazil. The inclusion criteria at baseline assessment were (1) 18 years or older, (2) male, (3) fulfillment of Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition (DSM-IV) diagnostic criteria for ADHD, both currently and during childhood (APA, 2000), and (4) current indication of treatment with MPH. Exclusion criteria were (1) current psychiatric comorbidity, (2) autism spectrum disorder (ASD) comorbidity, (3) past history of psychosis, (4) current alcohol, tobacco or substance abuse or dependence, (5) use of psychiatric medication currently or in the past 6 months, (6) past use of MPH, (7) contraindication for MPH use, (8) evidence of clinically significant neurological disease (e.g., delirium, dementia, epilepsy, head trauma), (9) intelligence quotient (IQ) \leq 85 (Wechsler, 1981), (10) to be left-handed, (11) history of brain lesions evidenced by MRI, (12) history of injuries with metals, and (13) presence of metals in the body.

From a total of 185 individuals clinically evaluated at our outpatient clinic from 2011 until 2016, 75 were female and were excluded from this study. Of the 110 males, 78 were excluded due to exclusion criteria or refusal to undergo neuroimaging scanning, as shown in figure 1. Past or current use of MPH was the most prevalent reason for

exclusion, followed by the use of cannabis and current psychiatric medication. A total of five patients were excluded due to current medication use (three patients were taking fluoxetine, one was taking carbamazepine and one risperidone) and three had current depression as comorbidity. All patients excluded from this study were clinically assisted and treated in our clinic as part of the standard treatment protocol of our outpatient program.

The 18 remaining male patients underwent all the diagnostic, neuroimaging, and treatment procedures of the study. After that, all of them also were kept on treatment in our program for as long as 12 months. None of them received any financial aid for their participation in the research.

Figure 1. Study subject flow



Diagnostic assessment

All 185 patients were evaluated by four psychiatrists extensively trained in Adult ADHD (FAP, RGK, MMV and VB). The evaluation procedure took place in a three level manner: first through an extensive clinical interview with the patient for the detailed in-depth investigation of ADHD symptomatology during childhood and adulthood, then by the application of our clinical protocol (detailed below), and then, if necessary, with a discussion in a clinical board chaired by a senior psychiatrist (EHG) for the resolution of conflicting cases (further details of this diagnostic procedure can be found elsewhere) (Grevet et al., 2006; Fischer et al., 2007).

The first step of our clinical protocol was the evaluation and confirmation of the childhood and current diagnosis of ADHD, applying the Kiddie Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children, Epidemiological Version (K-SADS-E), Portuguese version (Mercadante et al., 1995). Since K-SADS-E was structured for use with children and adolescents, we adapted the examples of ADHD symptoms descriptions for adult use (Grevet et al., 2005). Conduct disorder and antisocial personality disorder were evaluated using the Brazilian Portuguese version of the Mini-International Neuropsychiatric Interview (MINI) (Sheehan et al., 1998; Amorim, 2000). The Structured Clinical Interview for DSM Disorders (SCID-I) was used to rule out all other psychiatric disorders (First, Spitzer, Gibbon, & Williams, 2002). Handedness was assessed with the Edinburgh Handedness Inventory (Oldfield, 1971).

The Portuguese version of the Swanson, Nolan, and Pelham scale, version IV (SNAP-IV) and the Barkley's current and childhood ADHD symptoms scales were used to assess ADHD symptoms severity and impairment in baseline assessment and when optimal MPH dose was reached.

Methylphenidate treatment

MPH (immediate release form) was first administered once-a-day beginning with 5mg for two days, then a dose of 5mg was given twice daily for four days. Then, doses were increased every five days, raising 5mg each time, first in the morning and then in the afternoon. Doses were increased until there is no room for improvement or with the onset of intolerable adverse effects. MPH was suspended 72 hours prior to the second

R-fMRI acquisition (Loureiro-Vieira et al., 2017). All patients underwent this washout period in order to preserve the comparability between before and after treatment, excluding the plausible confounding acute effect of MPH on the functional networks of the brain.

Image acquisition

The selected 18 subjects underwent MRI scanning in a whole-body Siemens Magnetom Avanto 1.5T scanner using a 12-channel head coil at Hospital Moinhos de Vento, in Porto Alegre, Brazil. All subjects were instructed on how MRI works and sounds previously to the scanning day, in order to improve the subjects' engagement to the procedure. Foams on both sides of the head of each subject were carefully placed in order to diminish head movement. A resting-state functional connectivity fMRI and high-resolution structural MRI sequences were acquired for each individual before and after the treatment period with MPH. The R-fMRI sequence was an echo planar imaging (EPI) with 34 slices of T2* weighted images with the following acquisition parameters: TE = 30ms, TR = 2500 ms, flip angle 70°, 64 x 64 matrix, in-plane voxels size = 4.00 x 4.00 mm, slice thickness = 4.5 mm, gap = 0.5 mm, FOV = 240 mm, lasting for 6:15 min. For cortical thickness analysis and spatial normalization purposes, high-resolution structural images were acquired using a T1-weighted 3D magnetization prepared rapid acquisition with gradient echoes (MPRAGE) sequence with 160 slices, TE = 3.61 ms, TR = 2400 ms, TI = 1000 ms, flip angle = 8°, 192 x 192 matrix, in-plane voxel size 1.25 x 1.25 mm, slice thickness 1.2 mm, no gap, FOV = 240 mm, lasting for 7:42 min.

Image processing

All image processing was performed using CONN 15 (<http://www.nitrc.org/projects/conn>) (Whitfield-Gabrieli & Nieto-Castanon, 2012), SPM12 (www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm) (Ashburner, 2012), and MATLAB 2015b (MathWorks, Natick, MA, USA). CONN (a MATLAB-based cross-platform software for the computation, display, and analysis of functional connectivity fMRI) applies spatial preprocessing steps of SPM12: realignment and unwarp, slice-timing correction, segmentation of gray matter, white matter, and cerebrospinal fluid (CSF), normalization, and spatial smoothing. Then a CompCor

(Behzadi, Restom, Liao, & Liu, 2007) approach was applied in order to reduce interference of confounding effects (white matter, CSF, realignment, scrubbing) by regressing them out from the BOLD signal from each voxel, and then the data was band-pass filtered (0.008 - 0.09Hz).

Functional connectivity analysis

First-level ROI-to-ROI functional correlations were measured between the DMN regions (Fox et al., 2005): MPFC, PCC, RLP, and LLP from each individual. For the second-level analysis, we applied two conditions to the whole group of patients: (1) Before-MPH, and (2) After-MPH. Second-level General Linear Model analysis was performed through a between-conditions contrast using the BOLD signal from the DMN regions in order to assess if MPH would increase the intrinsic connectivity between PCC and any of the three other DMN regions. False positives were controlled using Bonferroni correction for three comparisons (α corrected $0.05/3 = 0.0166$).

Results

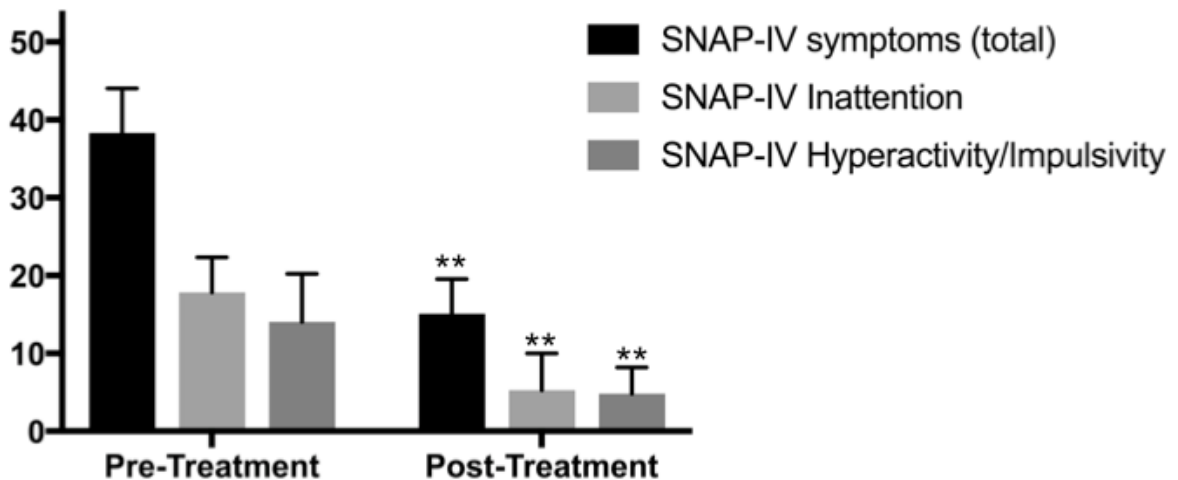
A description of the characteristics of the 18 patients that met inclusion and exclusion criteria is detailed in Table 1. ADHD symptomatology was significantly reduced from baseline to follow-up, as shown by the difference in the SNAP scores after treatment with MPH (Figure 2). The optimal doses of MPH were reached individually with a mean dose prior to the follow-up scanning of 29.72mg/daily (0.37mg/kg/day) and mean duration of treatment of 54.44 days. All subjects present minimal movement in both phases of scanning (below 0.2mm).

Table 1. Sample Characteristics

	Baseline (Before MPH)	Follow-up (After-MPH)	<i>p</i> (comparison)
Age [years] (mean ± SD)	30.67 (7.41)	---	---
Education [years] (mean ± SD)	13.94 (2.07)	---	---
IQ (mean ± SD)	110.0 (16.53)	---	---
MPH Dose [mg/kg/day] (mean ± SD)	---	0.37 (0.15)	---
Days of MPH Treatment (mean ± SD)	---	54.44 (23.56)	---
Movement [mm] (mean ± SD)	0.19 (0.07)	0.20 (0.11)	0.594
ADHD subtype (% [n])			
Combined	66.7 (12)	---	---
Inattentive	33.3 (6)	---	---
Socioeconomic Status (% [n])			
A	22.2 (4)	---	---
B	55.6 (10)	---	---
C	22.2 (4)	---	---
SNAP-IV Scores (mean ± SD)			
Total	38.33 (11.47)	15.11 (8.94)	<0.001
Inattention	17.83 (4.48)	5.28 (4.73)	<0.001
Hyperactivity/Impulsivity	14.06 (6.16)	4.83 (3.40)	<0.001

SD = Standard Deviation; IQ = Intelligence Quotient; MPH = Methylphenidate; mm = millimeters; SNAP-IV = Swanson, Nolan and Pelham Questionnaire version IV.

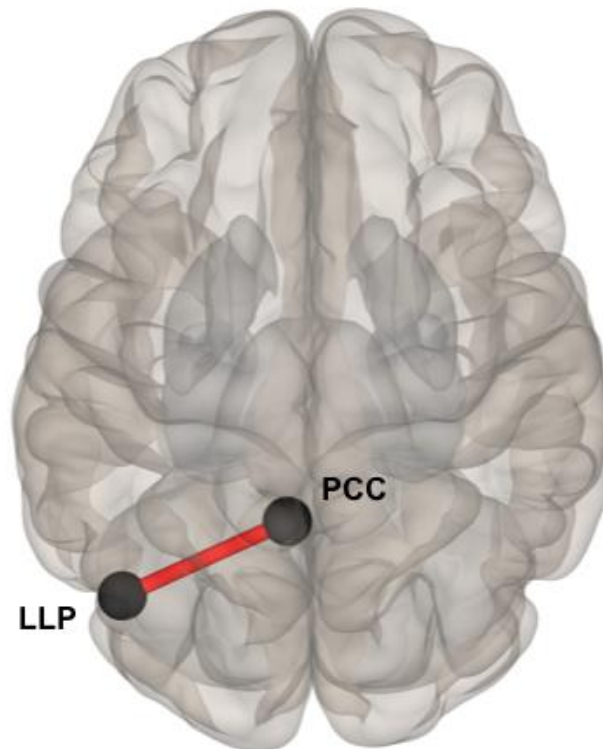
Figure 2. SNAP-IV scores pre and post-treatment

** $p < 0.001$ 

The results of the second-level analysis showing correlations among the PCC and the three other DMN areas after treatment with MPH are shown in Table 2. We found an increase in the functional connectivity between the PCC and the LLP after MPH treatment, that remained statistically significant after Bonferroni correction (Figure 3). We could not find any statistically significant correlations between age, years of education, IQ, MPH dose, or duration of MPH treatment and the increase in functional connectivity between the PCC and the LLP. Despite the clinical improvement seen in all patients, it was not correlated with the increase in PCC-LLP functional connectivity.

Table 2. General Linear Model Second-level analysis: Results of Functional Connectivity between Posterior Cingulate Cortex and the DMN regions (After-Before MPH treatment)		
	beta	p-unc
Left Lateral Parietal Cortex (LLP)	0.15	0.0114
Right Lateral Parietal Cortex (RLP)	0.02	0.3168
Medial Prefrontal Cortex (MPFC)	0.01	0.4571
(Bonferroni alpha-corrected for 3 comparisons: $0.05/3=0.0166$)		

Figure 3. Increased functional connectivity after MPH treatment



LLP = Left Lateral Parietal Cortex, PCC = Posterior Cingulate Cortex

Discussion

In a homogenous sample of right-handed drug-naïve male adults with ADHD without comorbidities, we found a strengthening of functional connectivity within DMN, between the PCC and the LLP, after treatment with immediate-release MPH.

Our results did not show an increased functional connectivity among all areas of the DMN after MPH treatment, as we had hypothesized. Instead, we were only able to document strengthening of connectivity between PCC and LLP. The lateral parietal cortex is known as an associative cortex, which integrates sensory inputs, and has been linked to successful retrieval of previously learned items (Raichle, 2015). PCC is a crucial hub of the DMN and it has been hypothesized to have a central role in supporting internally directed cognition (Leech & Sharp, 2013), having increased activity when

individuals are planning the future and recollecting autobiographical memories (Gusnard & Raichle, 2001). Fair et al. (Fair et al., 2008) described that the connections within DMN regions become more functionally strongly connected (more integrated) in healthy individuals during DMN development from childhood to adulthood. Therefore, we can hypothesize that strengthening the functional connectivity within the DMN, through the use of MPH, could be a way to make the network function in a more mature manner, which could then be related to ADHD symptomatology improvement.

Even though clinical improvement in both inattention and hyperactivity/impulsivity symptoms was seen in all patients, this improvement was not correlated with the increase in PCC-LLP functional connectivity. The absence of correlation can possibly be explained by at least three hypotheses. The first one is related to our sample size, in the sense that 18 subjects could not give enough power to show this correlation. A second possible explanation is that these two findings are in fact unrelated. A third possibility is that the strengthening of functional connectivity between PCC-LLP could subsequently generate other non-detected effects that would indeed be related to the decrease of symptoms, or vice-versa.

The characteristics of our study differ from previous studies that applied the same R-fMRI methodology. We assessed 18 right-handed males without any psychiatric comorbidity and who had never used MPH, in order to test our hypothesis in the most homogenous sample possible. Psychiatric comorbidities are very common among ADHD patients, but are known to bring different patterns of functional connectivity disturbances depending on the assessed psychiatric disorder (Takamura & Hanakawa, 2017; Barkhof, Haller, & Rombouts, 2014). Similarly, the past use of stimulants might alter functional connectivity, which could bias the interpretation of the results from studies that included individuals with previous use of MPH (Konova, Moeller, Tomasi, & Goldstein, 2015). Cary et al. (Cary et al., 2016) evaluated 8 males along with 14 female subjects in the ADHD group and Yang et al. (Yang et al., 2016) had 11 males grouped with 5 females. Due to these differences in sampling, our findings might not be fully comparable with the ones from these previous studies, despite some similar results. Gender has also been linked to differences in functional connectivity and therefore

groups comparisons including males and females in the same analysis might reveal different results (Satterthwaite et al., 2014; Ingahlalkar et al., 2013).

In agreement with Cary et al. (2016), we also found that stimulant treatment brought DMN within-connectivity to a more integrated pattern. Due to the fact that we chose to only ascertain the DMN within-connectivity before and after MPH, we cannot compare our findings with results from studies that evaluated how MPH would interfere in the segregation and integration of networks, as reported by Yang et al. (2016).

Our study has some limitations. The first limitation is that our sample comprised only men; therefore, our results cannot be extrapolated to women. Another limitation is the small sample size, which could be expected due to our restrictive inclusion criteria. However, this is a unique opportunity to address the effects of MPH on DMN without the effects of possible confounders brought by psychiatric comorbidity, past MPH treatment, handedness, and functional connectivity differences between males and females.

Conclusion

Employing a focused R-fMRI analysis in a very selective sample, our study was able to contribute to the further understanding of the effects of MPH over within-connectivity of the DMN in male adults with ADHD. Our results corroborate the hypothesis of ADHD as a neurodevelopmental disorder in which MPH treatment might change the DMN functional pattern between some areas to a more interconnected one. Studies with larger samples are still needed to conclusively elucidate MPH actions upon DMN in adults with ADHD.

Acknowledgments

We thank all the participants in this study. We would like to acknowledge the support of Hospital Moinhos de Vento (HMV), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), and Programa de Déficit de Atenção e Hiperatividade do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (ProDAH-HCPA).

References

- American Psychiatric Association. (2000): *Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-IV-TR*. Washington, DC: American Psychiatric Association.
- Amorim, P. (2000): Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevista breve para diagnóstico de transtornos mentais. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 22(3), 106-115. <https://doi.org/10.1590/S1516-44462000000300003>
- Andrews-Hanna, J. R., Reidler, J. S., Huang, C., & Buckner, R. L. (2010): Evidence for the default network's role in spontaneous cognition. *J Neurophysiol* 104:322–335. <https://doi.org/10.1152/jn.00830.2009>
- Ashburner, J. (2012): SPM: a history. *Neuroimage* 62:791-800. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.10.025>
- Azeez, A. K., & Biswal, B. B. (2017): A Review of Resting-State Analysis Methods. *Neuroimaging Clin N Am* 27:581–592. <https://doi.org/10.1016/j.nic.2017.06.001>
- Barkhof, F., Haller, S., & Rombouts, S. A. R. B. (2014): Resting-state functional MR imaging: a new window to the brain. *Radiology* 272:29–49. <https://doi.org/10.1148/radiol.14132388>
- Behzadi, Y., Restom, K., Liau, J., & Liu, T. T. (2007): A component based noise correction method (CompCor) for BOLD and perfusion based fMRI. *Neuroimage* 37:90–101. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2007.04.042>
- Biswal, B., Yetkin, F. Z., Haughton, V. M., & Hyde, J. S. (1995): Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI. *Magn Reson Med* 34:537–541.
- Buckner, R. L., Andrews-Hanna, J. R., & Schacter, D. L. (2008): The brain's default network: anatomy, function, and relevance to disease. *Ann N Y Acad Sci* 1124:1–38. <https://doi.org/10.1196/annals.1440.011>
- Cary, R. P., Ray, S., Grayson, D. S., Painter, J., Carpenter, S., Maron, L., Sporns, O., Stevens, A. A., Nigg, J. T., & Fair, D. A. (2016): Network Structure among Brain Systems in Adult ADHD is Uniquely Modified by Stimulant Administration. *Cereb Cortex* 27:3970–3979. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhw209>

- Castellanos, F. X., & Aoki, Y. (2016): Intrinsic Functional Connectivity in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A Science in Development. *Biol Psychiatry Cogn Neurosci Neuroimaging* 1:253–261. <https://doi.org/10.1016/j.bpsc.2016.03.004>
- Castellanos, F. X., Margulies, D. S., Kelly, C., Uddin, L. Q., Ghaffari, M., Kirsch, A., Shaw, D., Shehzad, Z., Di Martino, A., Biswal, B., Sonuga-Barke, E. J. S., Rotrosen, J., Adler, L. A., & Milham, M. P. (2007): Cingulate-precuneus interactions: a new locus of dysfunction in adult attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry* 63:332–337. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2007.06.025>
- Clavenna, A., & Bonati, M. (2017): Pediatric pharmacoepidemiology - safety and effectiveness of medicines for ADHD. *Expert Opin Drug Saf* 16:1335–1345. <https://doi.org/10.1080/14740338.2017.1389894>
- Cortese, S., D'Acunto, G., Konofal, E., Masi, G., & Vitiello, B. (2017): New Formulations of Methylphenidate for the Treatment of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: Pharmacokinetics, Efficacy, and Tolerability. *CNS Drugs* 31:149–160. <https://doi.org/10.1007/s40263-017-0409-0>
- Fair, D. A., Nigg, J. T., Iyer, S., Bathula, D., Mills, K. L., Dosenbach, N. U. F., Schlaggar, B.L., Mennes, M., Gutman, D., Bangaru, S., Buitelaar, J. K., Dickstein, D. P., Di Martino, A., Kennedy, D. N., Kelly, C., Luna, B., Schweitzer, J. B., Velanova, K., Wang, Y-F., Mostofsky, S., Castellanos, F. X., & Milham, M. P. (2013): Distinct neural signatures detected for ADHD subtypes after controlling for micro-movements in resting state functional connectivity MRI data. *Front Syst Neurosci* 6:80. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2012.00080>
- Fair, D. A., Posner, J., Nagel, B. J., Bathula, D., Dias, T. G. C., Mills, K. L., Blythe, M. S., Giwa, A., Schmitt, C. F., & Nigg, J. T. (2010): Atypical default network connectivity in youth with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry* 68:1084–1091. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.07.003>
- Fair, D. A., Cohen, A. L., Dosenbach, N. U. F., Church, J. A., Miezin, F. M., Barch, D. M., Raichle, M. E., Petersen, S. E., & Schlaggar, B. L. (2008): The maturing architecture of the brain's default network. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:4028–4032. <https://doi.org/10.1073/pnas.0800376105>

- First, M. B., Spitzer, R. L., Gibbon, M., & Williams, J. B. W. (2002): *Structured Clinical Interview for DSM-IV-TR Axis I Disorders, Research Version, Patient Edition*. (SCID-I/P). New York: Biometrics Research, New York State Psychiatric Institute.
- Fischer, A. G., Bau, C. H. D., Grevet, E. H., Salgado, C. A. I., Victor, M. M., Kalil, K. L. S., Sousa, N. O., Garcia, C. R., & Belmonte-de-Abreu, P. (2007): The role of comorbid major depressive disorder in the clinical presentation of adult ADHD. *J Psychiatr Res* 41:991–996. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2006.09.008>
- Fox, M. D., Snyder, A. Z., Vincent, J. L., Corbetta, M., Van Essen, D. C., & Raichle, M. E. (2005): The human brain is intrinsically organized into dynamic, anticorrelated functional networks. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:9673–9678. <https://doi.org/10.1073/pnas.0504136102>
- Grevet, E. H., Bau, C. H., Salgado, C. A., Fischer, A., Victor, M. M., Garcia, C., de Sousa, N. O., Nerung, L., & Belmonte-De-Abreu, P. (2005): [Interrater reliability for diagnosis in adults of attention deficit hyperactivity disorder and oppositional defiant disorder using K-SADS-E]. *Arq Neuropsiquiatr* 63:307–310.
- Grevet, E. H., Bau, C. H. D., Salgado, C. A. I., Fischer, A. G., Kalil, K., Victor, M. M., Garcia, C. R., Sousa, N. O., Rohde, L. A., & Belmonte-De-Abreu, P. (2006): Lack of gender effects on subtype outcomes in adults with attention-deficit/hyperactivity disorder: Support for the validity of subtypes. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 256:311–319. <https://doi.org/10.1007/s00406-006-0639-5>
- Gusnard, D. A., & Raichle, M. E. (2001): Searching for a baseline: functional imaging and the resting human brain. *Nat Rev Neurosci* 2:685–694. <https://doi.org/10.1038/35094500>
- Ingalhalikar, M., Smith, A., Parker, D., Satterthwaite, T. D., Elliott, M. A., Ruparel, K., Hakonarson, H., Gur, R. E., Gur, R. C., & Verma, R. (2013): Sex differences in the structural connectome of the human brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 111:823–828. <https://doi.org/10.1073/pnas.1316909110>
- Kessler, D., Angstadt, M., Welsh, R. C., & Sripada, C. (2014): Modality-spanning deficits in attention-deficit/hyperactivity disorder in functional networks, gray matter, and white matter. *J Neurosci* 34:16555–16566. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3156-14.2014>

- Konova, A. B., Moeller, S. J., Tomasi, D., & Goldstein, R. Z. (2015): Effects of chronic and acute stimulants on brain functional connectivity hubs. *Brain Res* 1628:147–156. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.02.002>
- Leech, R., & Sharp, D. J. (2013): The role of the posterior cingulate cortex in cognition and disease. *Brain* 137:12–32. <https://doi.org/10.1093/brain/awt162>
- Liddle, E. B., Hollis, C., Batty, M. J., Groom, M. J., Totman, J. J., Liotti, M., Scerif, G., & Liddle, P. F. (2010): Task-related default mode network modulation and inhibitory control in ADHD: effects of motivation and methylphenidate. *J Child Psychol Psychiatry* 52:761–771. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.2010.02333.x>
- Loureiro-Vieira, S., Costa, V. M., de Lourdes Bastos, M., Carvalho, F., & Capela, J. P. (2017): Methylphenidate effects in the young brain: friend or foe? *International Journal of Developmental Neuroscience*. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2017.04.002>
- Makris, N., Biederman, J., Monuteaux, M. C., & Seidman, L. J. (2009): Towards conceptualizing a neural systems-based anatomy of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Dev Neurosci* 31:36–49. <https://doi.org/10.1159/000207492>
- McCarthy, H., Skokauskas, N., Mulligan, A., Donohoe, G., Mullins, D., Kelly, J., Johnson, K., Fagan, A., Gill, M., Meaney, J., & Frodl, T. (2013): Attention network hypoconnectivity with default and affective network hyperconnectivity in adults diagnosed with attention-deficit/hyperactivity disorder in childhood. *JAMA Psychiatry* 70:1329–1337. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2013.2174>
- Mercadante, M. T., Asbahar, F., Rosário, M. C., Ayres, A. M., Karman, L., Ferrari, M. C., Assumpção, F. B., & Miguel, E. C. (1995): *K-SADS, entrevista semi-estruturada para diagnóstico em psiquiatria da infância, versão epidemiológica*. São Paulo, Brazil: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
- Nagano-Saito, A., Leyton, M., Monchi, O., Goldberg, Y. K., He, Y., & Dagher, A. (2008): Dopamine depletion impairs frontostriatal functional connectivity during a set-shifting task. *J Neurosci* 28:3697–3706. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3921-07.2008>
- Oldfield, R. C. (1971): The assessment and analysis of handedness: The Edinburgh inventory. *Neuropsychologia* 9:97–113.

- Proal, E., Reiss, P. T., Klein, R. G., Mannuzza, S., Gotimer, K., Ramos-Olazagasti, M. A., Lerch, J. P., He, Y., Zijdenbos, A., Kelly, C., Milham, M. P., & Castellanos, F. X. (2011): Brain gray matter deficits at 33-year follow-up in adults with attention-deficit/hyperactivity disorder established in childhood. *Arch Gen Psychiatry* 68:1122–1134. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2011.117>
- Qiu, M., Ye, Z., Li, Q., Liu G., Xie, B., & Wang, J. (2010): Changes of brain structure and function in ADHD children. *Brain Topogr* 24:243–252. <https://doi.org/10.1007/s10548-010-0168-4>
- Raichle, M. E. (2015): The brain's default mode network. *Annu Rev Neurosci* 38:433–447. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-071013-014030>
- Sato, J. R., Hoexter, M. Q., Castellanos, X. F., & Rohde, L. A. (2012): Abnormal brain connectivity patterns in adults with ADHD: a coherence study. *PLoS ONE* 7:e45671. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045671>
- Satterthwaite, T. D., Wolf, D. H., Roalf, D. R., Ruparel, K., Erus, G., Vandekar, S., Gennatas, E. D., Elliott, M. A., Smith, A., Hakonarson, H., Verma, R., Davatzikos, C., Gur, R. E., & Gur, R. C. (2014): Linked Sex Differences in Cognition and Functional Connectivity in Youth. *Cereb Cortex* 25:2383–2394. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhu036>
- Sheehan, D. V., Lecrubier, Y., Sheehan, K. H., Amorim, P., Janavs, J., Weiller, E., Hergueta, T., Baker, R., & Dunbar, G. C. (1998): The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): The development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *Journal of Clinical Psychiatry* Vol. 59, pp 22–33.
- Silberstein, R. B., Pipingas, A., Farrow, M., Levy, F., & Stough, C. K. (2016): Dopaminergic modulation of default mode network brain functional connectivity in attention deficit hyperactivity disorder. *Brain Behav* 6:e00582. <https://doi.org/10.1002/brb3.582>
- Smitha, K. A., Raja, K. A., Arun, K. M., Rajesh, P. G., Thomas, B., Kapilamoorthy, T. R., & Kesavadas, C. (2017): Resting state fMRI: A review on methods in resting state connectivity analysis and resting state networks. *Neuroradiol J* 30:305–317. <https://doi.org/10.1177/1971400917697342>

- Sonuga-Barke, E. J. S., & Castellanos, F. X. (2007): Spontaneous attentional fluctuations in impaired states and pathological conditions: a neurobiological hypothesis. *Neurosci Biobehav Rev* 31:977–986.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2007.02.005>
- Sripada, C. S., Kessler, D., & Angstadt, M. (2014a): Lag in maturation of the brain's intrinsic functional architecture in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Proc Natl Acad Sci USA* 111:14259–14264. <https://doi.org/10.1073/pnas.1407787111>
- Sripada, C., Kessler, D., Fang, Y., Welsh, R. C., Kumar, K. P., & Angstadt, M. (2014b): Disrupted network architecture of the resting brain in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Hum Brain Mapp* 35:4693–4705. <https://doi.org/10.1002/hbm.22504>
- Sun, L., Cao, Q., Long, X., Sui, M., Cao, X., Zhu, C., Zuo, X., An, L., Song, Y., Zang, Y., & Wang, Y. (2012): Abnormal functional connectivity between the anterior cingulate and the default mode network in drug-naïve boys with attention deficit hyperactivity disorder. *Psychiatry Res* 201:120–127.
<https://doi.org/10.1016/j.psychresns.2011.07.001>
- Takamura, T., & Hanakawa, T. (2017): Clinical utility of resting-state functional connectivity magnetic resonance imaging for mood and cognitive disorders. *J Neural Transm* 124:821–839. <https://doi.org/10.1007/s00702-017-1710-2>
- Uddin, L. Q., Kelly, A. M. C., Biswal, B. B., Margulies, D. S., Shehzad, Z., Shaw, D., Ghaffari, M., Rotrosen, J., Adler, L. A., Castellanos, F. X., & Milham, M. P. (2007): Network homogeneity reveals decreased integrity of default-mode network in ADHD. *J Neurosci Methods* 169:249–254. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2007.11.031>
- Wechsler, D. (1981): *WAIS-R, Wechsler Adult Intelligence Scale- Revised, Manual*. The Psychological Corporation.
- Weissman, D. H., Roberts, K. C., Visscher, K. M., & Woldorff, M. G. (2006): The neural bases of momentary lapses in attention. *Nat Neurosci* 9:971–978.
<https://doi.org/10.1038/nn1727>
- Whitfield-Gabrieli, S., & Nieto-Castanon, A. (2012): Conn: A Functional Connectivity Toolbox for Correlated and Anticorrelated Brain Networks. *Brain Connect* 2:125–141. <https://doi.org/10.1089/brain.2012.0073>.

- Wolfers, T., Arenas, A. L., Onnink, A. M. H., Dammers, J., Hoogman, M., Zwiers, M. P., Buitelaar, J. K., Franke, B., Marquand, A. F., & Beckmann, C. F. (2017): Refinement by integration: aggregated effects of multimodal imaging markers on adult ADHD. *J Psychiatry Neurosci* 42:386–394. <https://doi.org/10.1503/jpn.160240>
- Yang, Z., Kelly, C., Castellanos, F. X., Leon, T., Milham, M. P., & Adler, L. A. (2016): Neural Correlates of Symptom Improvement Following Stimulant Treatment in Adults with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 26:527–536. <https://doi.org/10.1089/cap.2015.0243>
- Yeo, B. T. T., Krienen, F. M., Sepulcre, J., Sabuncu, M. R., Lashkari, D., Hollinshead, M., Roffman, J. L., Smoller, J. W., Zöllei, L., Polimeni, J. R., Fischl, B., Liu, H., & Buckner, R. L. (2011): The organization of the human cerebral cortex estimated by intrinsic functional connectivity. *J Neurophysiol* 106:1125–1165. <https://doi.org/10.1152/jn.00338.2011>

13 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente tese colabora para o entendimento da neurobiologia do TDAH através da aplicação de um método de análise de imagens funcionais cerebrais que especifica como cada região cerebral se conecta/comunica com as demais. Essa abordagem foi aplicada em dois momentos distintos do ciclo vital, na infância e adolescência e em adultos e em dois desenhos metodológicos distintos: coorte populacional e quase-experimento. Essas diferenças acabam sendo complementares no sentido de oferecerem contribuições sobre a conectividade funcional antes do próprio início do TDAH na infância e adolescência e durante seu processo de remissão e persistência nessa faixa etária. Por fim, traz dados sobre conectividade funcional em indivíduos tratados enquanto adultos.

No artigo #1 os achados de conectividade funcional aumentada envolvendo o tálamo direito e a complexa coleção de achados de conectividade em diversas áreas de processamento sensório-visual-auditivo acrescentam complexidade aos modelos de compreensão do TDAH, sugerindo a necessidade de ampliação das investigações para além das redes mais estudadas, ligadas aos circuitos pré-frontais e aos circuitos cortico-striato-talâmicos, classicamente conhecidos por seu envolvimento no TDAH. Nosso estudo apresenta limitações, principalmente relacionadas ao número de sujeitos que compõe cada um dos grupos de TDAH, limitando a extrapolação dos nossos achados. Além disso, a não investigação das subregiões do tálamo, considerando que utilizamos uma metodologia de parcelamento do cérebro que não prevê subregiões talâmicas, restringe nossas conclusões sobre quais subregiões talâmicas estariam de fato envolvidas em nossos achados.

No artigo #2, nossos achados de aumento de uma das conexões dentro da DMN após o uso de metilfenidato contribuem para o entendimento de como a medicação mais utilizada para o tratamento do TDAH interfere na conectividade de uma rede implicada nas alterações típicas do TDAH. Nossos resultados corroboram a hipótese do TDAH ser um transtorno do neurodesenvolvimento na qual o Metilfenidato pode modificar o padrão de conectividade da DMN para um padrão mais interconectado que, em última análise, seria considerado mais maduro (mais funcional). A maior limitação de nosso estudo é o pequeno tamanho amostral, que provavelmente foi o causador da

não verificação de nossa hipótese de forma completa. Apesar disso, nosso estudo é o primeiro que utilizou uma amostra altamente selecionada de sujeitos que nunca haviam sido diagnosticados e tratados para TDAH sem a interferência de comorbidades, uso prévio de estimulantes ou mistura dos sexos na compilação dos achados.

A utilização de imagens cerebrais para a compreensão dos transtornos psiquiátricos é uma área que envolve o conhecimento de diversas outras áreas científicas além do campo da medicina (física, informática, estatística avançada). Isso se deve ao fato de que o entendimento dos mecanismos do órgão mais complexo do corpo humano não poderia ser apreendido sem a junção de diversas áreas do conhecimento. Essa tarefa, de mapear o funcionamento cerebral diferenciando estados de normalidade de estados psicopatológicos é, sem dúvida, uma tarefa que demandará esforços ainda maiores dos que vem sendo possíveis até o presente momento. Nossos achados contribuem para essa busca de conhecimento, especificamente relacionada ao TDAH e especificamente relacionada ao padrão de conectividade cerebral de crianças, adolescente e adultos. Outros grupos vem realizando estudos longitudinais populacionais, arrolando pessoas de todas as idades, com as mais diversas patologias, a fim de se chegar um pouco mais perto de uma compreensão útil do funcionamento cerebral. Futuros trabalhos nesse campo deverão persistir no objetivo de obtenção de grandes tamanhos amostrais que possam elucidar, do ponto de vista populacional, os mecanismos neurobiológicos envolvidos na gênese, persistência, remissão e tratamento do TDAH.

14 REFERÊNCIAS

01. Polanczyk G, de Lim. MS, Horta BL, Biederman J, Rohde LA. The worldwide prevalence of ADHD: a systematic review and metaregression analysis. *Am J Psychiatry*. 2007 Jun;164(6):942–8.
02. Polanczyk GV, Willcutt EG, Salum GA, Kieling C, Rohde LA. ADHD prevalence estimates across three decades: an updated systematic review and meta-regression analysis. *Int J Epidemiol*. 2014 Apr;43(2):434-42. doi: 10.1093/ije/dyt261. Epub 2014 Jan 24.
03. Simon V, Czobor P, Bálint S, Mészáros A, Bitter I. Prevalence and correlates of adult attention-deficit hyperactivity disorder: meta-analysis. *Br J Psychiatry*. 2009 Mar;194(3):204–11.
04. Cortese S, Coghill D. Twenty years of research on attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD): looking back, looking forward. *Evid Based Ment Health*. 2018 Nov;21(4):173-176. doi: 10.1136/ebmental-2018-300050. Epub 2018 Oct 9.
05. American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5*. 5th ed. Washington, DC: American Psychiatric Publishing; 2013.
06. Posner J, Rauh V, Gruber A, Gat I, Wang Z, Peterson BS. Dissociable attentional and affective circuits in medication-naïve children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Psychiatry Res*. 2013 Jul 30;213(1):24-30. doi: 10.1016/j.psychresns.
07. Katzman MA, Bilkey TS, Chokka PR, Fallu A, Klassen LJ. Adult ADHD and comorbid disorders: clinical implications of a dimensional approach. *BMC Psychiatry*. 2017 Aug 22;17(1):302. doi: 10.1186/s12888-017-1463-3.
08. Matza LS, Paramore C, Prasad M. A review of the economic burden of ADHD. *Cost Eff Resour Alloc*. 2005 Jun 9;3:5.
09. Erskine HE, Ferrari AJ, Polanczyk GV, Moffitt TE, Murray CJ, Vos T, Whiteford HA, Scott JG. The global burden of conduct disorder and attention-deficit/hyperactivity disorder in 2010. *J Child Psychol Psychiatry*. 2014 Apr;55(4):328-36. doi: 10.1111/jcpp.12186. Epub 2014 Jan 22.
10. Franke, B. et al. The genetics of attention deficit/ hyperactivity disorder in adults, a review. *Mol. Psychiatry* 17, 960–987 (2012).

11. Faraone SV, Perlis RH, Doyle AE, Smoller JW, Goralnick JJ, Holmgren MA, Sklar P. Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry*. 2005 Jun 1;57(11):1313-23. Epub 2005 Jan 21.
12. Asherson P, Gurling H. Quantitative and molecular genetics of ADHD. *Curr Top Behav Neurosci*. 2012;9:239-72. doi: 10.1007/7854_2011_155.
13. Burt SA. Rethinking environmental contributions to child and adolescent psychopathology: a meta-analysis of shared environmental influences. *Psychol Bull*. 2009 Jul;135(4):608-37. doi: 10.1037/a0015702.
14. Mill J, Petronis A. Pre- and peri-natal environmental risks for attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD): the potential role of epigenetic processes in mediating susceptibility. *J Child Psychol Psychiatry*. 2008 Oct;49(10):1020-30. doi: 10.1111/j.1469-7610.2008.01909.x. Epub 2008 May 19.
15. Pineda-Alhucema W, Aristizabal E, Escudero-Cabarcas J, Acosta-López JE, Vélez JI. Executive Function and Theory of Mind in Children with ADHD: a Systematic Review. *Neuropsychol Rev*. 2018 Sep;28(3):341-358. doi: 10.1007/s11065-018-9381-9. Epub 2018 Aug 30.
16. Insel T, Cuthbert B, Garvey M, Heinssen R, Pine DS, Quinn K, et al. Research domain criteria (RDoC): toward a new classification framework for research on mental disorders. *Am J Psychiatry*. 2010 Jun 17;167(7):748–51.
17. Insel TR. The NIMH Research Domain Criteria (RDoC) Project: Precision Medicine for Psychiatry. *Am J Psychiatry*. 2014 Apr 1;171(4):395–7.
18. Hynd GW, Semrud-Clikeman M, Lorys AR, Novey ES, Eliopoulos D. Brain morphology in developmental dyslexia and attention deficit disorder/hyperactivity. *Arch Neurol*. 1990 Aug;47(8):919-26.
19. Castellanos FX, Lee PP, Sharp W, Jeffries NO, Greenstein DK, Clasen LS, Blumenthal JD, James RS, Ebens CL, Walter JM, Zijdenbos A, Evans AC, Giedd JN, Rapoport JL. Developmental trajectories of brain volume abnormalities in children and adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder. *JAMA*. 2002 Oct 9;288(14):1740-8.
20. Hoogman M, Rijpkema M, Janss L, Brunner H, Fernandez G, Buitelaar J, Franke B, Arias-Vásquez A. Current self-reported symptoms of attention deficit/hyperactivity

disorder are associated with total brain volume in healthy adults. *PLoS One*. 2012;7(2):e31273. doi: 10.1371/journal.pone.0031273. Epub 2012 Feb 10.

21. Greven CU, Bralten J, Mennes M, O'Dwyer L, van Hulzen KJ, Rommelse N, Schweren LJ, Hoekstra PJ, Hartman CA, Heslenfeld D, Oosterlaan J, Faraone SV, Franke B, Zwiers MP, Arias-Vasquez A, Buitelaar JK. Developmentally stable whole-brain volume reductions and developmentally sensitive caudate and putamen volume alterations in those with attention-deficit/hyperactivity disorder and their unaffected siblings. *JAMA Psychiatry*. 2015 May;72(5):490-9. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2014.3162.

22. Stoodley CJ, Schmahmann JD. Functional topography in the human cerebellum: a meta-analysis of neuroimaging studies. *Neuroimage*. 2009 Jan 15;44(2):489-501. doi: 10.1016/j.neuroimage.2008.08.039. Epub 2008 Sep 16.

23. Shaw P, Eckstrand K, Sharp W, Blumenthal J, Lerch JP, Greenstein D, Clasen L, Evans A, Giedd J, Rapoport JL. Attention-deficit/hyperactivity disorder is characterized by a delay in cortical maturation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Dec 4;104(49):19649-54. Epub 2007 Nov 16.

24. van Ewijk H, Heslenfeld DJ, Zwiers MP, Buitelaar JK, Oosterlaan J. Diffusion tensor imaging in attention deficit/hyperactivity disorder: a systematic review and meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev*. 2012 Apr;36(4):1093-106. doi: 10.1016/j.neubiorev.2012.01.003. Epub 2012 Jan 24.

25. Aoki Y, Cortese S, Castellanos FX. Research Review: Diffusion tensor imaging studies of attention-deficit/hyperactivity disorder: meta-analyses and reflections on head motion. *J Child Psychol Psychiatry*. 2018 Mar;59(3):193-202. doi: 10.1111/jcpp.12778. Epub 2017 Jul 3.

26. Krause J. SPECT and PET of the dopamine transporter in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Expert Rev Neurother*. 2008 Apr;8(4):611-25. doi: 10.1586/14737175.8.4.611.

27. Kim SG, Ogawa S. Biophysical and physiological origins of blood oxygenation level-dependent fMRI signals. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2012 Jul;32(7):1188-206. doi: 10.1038/jcbfm.2012.23. Epub 2012 Mar 7.

28. Bandettini PA. Twenty years of functional MRI: the science and the stories. *Neuroimage*. 2012 Aug 15;62(2):575-88. doi: 10.1016/j.neuroimage.2012.04.026. Epub 2012 Apr 20.
29. Vaidya CJ, Austin G, Kirkorian G, Ridlehuber HW, Desmond JE, Glover GH, Gabrieli JD. Selective effects of methylphenidate in attention deficit hyperactivity disorder: a functional magnetic resonance study. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Nov 24;95(24):14494-9.
30. Rubia K. Cognitive Neuroscience of Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) and Its Clinical Translation. *Front Hum Neurosci*. 2018 Mar 29;12:100. doi: 10.3389/fnhum.2018.00100.
31. Greicius M. Resting-state functional connectivity in neuropsychiatric disorders. *Curr Opin Neurol*. 2008 Aug;21(4):424-30. doi: 10.1097/WCO.0b013e328306f2c5.
32. Raichle ME. The brain's default mode network. *Annu Rev Neurosci*. 2015 Jul 8;38:433-47. doi: 10.1146/annurev-neuro-071013-014030. Epub 2015 May 4.
33. Biswal BB, Yetkin FZ, Haughton VM, Hyde JS. Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI. *Magn. Reson. Med*. 1995;34:537-541.
34. Raichle ME. The restless brain. *Brain Connect*. 2011;1(1):3-12. doi: 10.1089/brain.2011.0019.
35. Mohan A, Roberto AJ, Mohan A, Lorenzo A, Jones K, Carney MJ, Liogier-Weyback L, Hwang S, Lapidus KA. The Significance of the Default Mode Network (DMN) in Neurological and Neuropsychiatric Disorders: A Review. *Yale J Biol Med*. 2016 Mar 24;89(1):49-57. eCollection 2016 Mar.
36. Buckner RL. The brain's default network: origins and implications for the study of psychosis. *Dialogues Clin Neurosci*. 2013 Sep;15(3):351-8.
37. Picon F, Volpe U, Sterzer P, Heinz A. Translational neuroimaging. In: Fiorillo A, Volpe U, Bhugra D, editors. *Psychiatry in practice: Education, Experience, and Expertise*. Oxford: Oxford University Press; 2016. p. 475-490. DOI: 10.1093/med/9780198723646.001.0001.

38. Buckner, R. L., Andrews-Hanna, J. R., & Schacter, D. L. (2008): The brain's default network: anatomy, function, and relevance to disease. *Ann N Y Acad Sci* 1124:1–38. <https://doi.org/10.1196/annals.1440.011>
39. Andrews-Hanna, J. R., Reidler, J. S., Huang, C., & Buckner, R. L. (2010): Evidence for the default network's role in spontaneous cognition. *J Neurophysiol* 104:322–335. <https://doi.org/10.1152/jn.00830.2009>
40. Weissman, D. H., Roberts, K. C., Visscher, K. M., & Woldorff, M. G. (2006): The neural bases of momentary lapses in attention. *Nat Neurosci* 9:971–978. <https://doi.org/10.1038/nn1727>
41. Sonuga-Barke, E. J. S., & Castellanos, F. X. (2007): Spontaneous attentional fluctuations in impaired states and pathological conditions: a neurobiological hypothesis. *Neurosci Biobehav Rev* 31:977–986. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2007.02.005>
42. Fair, D. A., Posner, J., Nagel, B. J., Bathula, D., Dias, T. G. C., Mills, K. L., Blythe, M. S., Giwa, A., Schmitt, C. F., & Nigg, J. T. (2010): Atypical default network connectivity in youth with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry* 68:1084–1091. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.07.003>
43. Fair, D. A., Nigg, J. T., Iyer, S., Bathula, D., Mills, K. L., Dosenbach, N. U. F., Schlaggar, B.L., Mennes, M., Gutman, D., Bangaru, S., Buitelaar, J. K., Dickstein, D. P., Di Martino, A., Kennedy, D. N., Kelly, C., Luna, B., Schweitzer, J. B., Velanova, K., Wang, Y-F., Mostofsky, S., Castellanos, F. X., & Milham, M. P. (2013): Distinct neural signatures detected for ADHD subtypes after controlling for micro-movements in resting state functional connectivity MRI data. *Front Syst Neurosci* 6:80. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2012.00080>
44. Fair, D. A., Cohen, A. L., Dosenbach, N. U. F., Church, J. A., Miezin, F. M., Barch, D. M., Raichle, M. E., Petersen, S. E., & Schlaggar, B. L. (2008): The maturing architecture of the brain's default network. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:4028–4032. <https://doi.org/10.1073/pnas.0800376105>
45. Sripada, C. S., Kessler, D., & Angstadt, M. (2014a): Lag in maturation of the brain's intrinsic functional architecture in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Proc Natl Acad Sci USA* 111:14259–14264. <https://doi.org/10.1073/pnas.1407787111>

46. Behzadi Y, Restom K, Liao J, Liu TT. A component based noise correction method (CompCor) for BOLD and perfusion based fMRI. *Neuroimage*. 2007 Aug 1;37(1):90-101. Epub 2007 May 3.
47. Margulies DS, Böttger J, Long X, Lv Y, Kelly C, Schäfer A, Goldhahn D, Abbushi A, Milham MP, Lohmann G, Villringer A. Resting developments: a review of fMRI post-processing methodologies for spontaneous brain activity. *MAGMA*. 2010 Dec;23(5-6):289-307. doi: 10.1007/s10334-010-0228-5. Epub 2010 Oct 24.
48. Castellanos FX, Aoki Y. Intrinsic Functional Connectivity in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A Science in Development. *Biol Psychiatry Cogn Neurosci Neuroimaging*. 2016 May;1(3):253-261.
49. Irajli A, Calhoun VD, Wiseman NM, Davoodi-Bojd E, Avanaki MRN, Haacke EM, Kou Z. The connectivity domain: Analyzing resting state fMRI data using feature-based data-driven and model-based methods. *Neuroimage*. 2016 Jul 1;134:494-507. doi: 10.1016/j.neuroimage.2016.04.006. Epub 2016 Apr 12.
50. Song X, Panych LP, Chen NK. Data-Driven and Predefined ROI-Based Quantification of Long-Term Resting-State fMRI Reproducibility. *Brain Connect*. 2016 Mar;6(2):136-51. doi: 10.1089/brain.2015.0349. Epub 2015 Nov 18.
51. Tian L, Jiang T, Wang Y, Zang Y, He Y, Liang M, Sui M, Cao Q, Hu S, Peng M, Zhuo Y. Altered resting-state functional connectivity patterns of anterior cingulate cortex in adolescents with attention deficit hyperactivity disorder. *Neurosci Lett*. 2006 May 29;400(1-2):39-43. Epub 2006 Feb 28.
52. Sun L, Cao Q, Long X, Sui M, Cao X, Zhu C, Zuo X, An L, Song Y, Zang Y, Wang Y. Abnormal functional connectivity between the anterior cingulate and the default mode network in drug-naïve boys with attention deficit hyperactivity disorder. *Psychiatry Res*. 2012 Feb 28;201(2):120-7. doi: 10.1016/j.psychresns.2011.07.001. Epub 2012 Mar 15.
53. Castellanos FX, Margulies DS, Kelly C, Uddin LQ, Ghaffari M, Kirsch A, Shaw D, Shehzad Z, Di Martino A, Biswal B, Sonuga-Barke EJ, Rotrosen J, Adler LA, Milham MP. Cingulate-precuneus interactions: a new locus of dysfunction in adult attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry*. 2008 Feb 1;63(3):332-7. Epub 2007 Sep 21.

54. Chabernaud C, Mennes M, Kelly C, Nooner K, Di Martino A, Castellanos FX, Milham MP. Dimensional brain-behavior relationships in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry*. 2012 Mar 1;71(5):434-42. doi: 10.1016/j.biopsych.2011.08.013. Epub 2011 Oct 5.
55. Cao X, Cao Q, Long X, Sun L, Sui M, Zhu C, Zuo X, Zang Y, Wang Y. Abnormal resting-state functional connectivity patterns of the putamen in medication-naïve children with attention deficit hyperactivity disorder. *Brain Res*. 2009 Dec 15;1303:195-206. doi: 10.1016/j.brainres.2009.08.029. Epub 2009 Aug 20.
56. Hong SB, Harrison BJ, Fornito A, Sohn CH, Song IC, Kim JW. Functional dysconnectivity of corticostriatal circuitry and differential response to methylphenidate in youth with attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Psychiatry Neurosci*. 2015 Jan;40(1):46-57.
57. Mills KL, Bathula D, Dias TG, Iyer SP, Fenesy MC, Musser ED, Stevens CA, Thurlow BL, Carpenter SD, Nagel BJ, Nigg JT, Fair DA. Altered cortico-striatal-thalamic connectivity in relation to spatial working memory capacity in children with ADHD. *Front Psychiatry*. 2012 Jan 25;3:2. doi: 10.3389/fpsy.2012.00002. eCollection 2012.
58. HD-200 Consortium. The ADHD-200 Consortium: A Model to Advance the Translational Potential of Neuroimaging in Clinical Neuroscience. *Front Syst Neurosci*. 2012 Sep 5;6:62. eCollection 2012
59. Posner J, Siciliano F, Wang Z, Liu J, Sonuga-Barke E, Greenhill L. A multimodal MRI study of the hippocampus in medication-naive children with ADHD: what connects ADHD and depression? *Psychiatry Res*. 2014 Nov 30;224(2):112-8. doi: 10.1016/j.psychres.2014.08.006. Epub 2014 Aug 19.
60. Hulvershorn LA, Mennes M, Castellanos FX, Di Martino A, Milham MP, Hummer TA, Roy AK. Abnormal amygdala functional connectivity associated with emotional lability in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2014 Mar;53(3):351-61.e1. doi: 10.1016/j.jaac.2013.11.012. Epub 2013 Dec 14.
61. Costa Dias TG, Wilson VB, Bathula DR, Iyer SP, Mills KL, Thurlow BL, Stevens CA, Musser ED, Carpenter SD, Grayson DS, Mitchell SH, Nigg JT, Fair DA. Reward circuit connectivity relates to delay discounting in children with attention-

- deficit/hyperactivity disorder. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2013 Jan;23(1):33-45. doi: 10.1016/j.euroneuro.2012.10.015. Epub 2012 Dec 1.
62. McLeod KR, Langevin LM, Goodyear BG, Dewey D. Functional connectivity of neural motor networks is disrupted in children with developmental coordination disorder and attention-deficit/hyperactivity disorder. *Neuroimage Clin*. 2014 Mar 26;4:566-75. doi: 10.1016/j.nicl.2014.03.010. eCollection 2014.
63. Barber AD, Jacobson LA, Wexler JL, Nebel MB, Caffo BS, Pekar JJ, Mostofsky SH. Connectivity supporting attention in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Neuroimage Clin*. 2014 Nov 20;7:68-81. doi: 10.1016/j.nicl.2014.11.011. eCollection 2015.
64. Lin HY, Tseng WY, Lai MC, Matsuo K, Gau SS. Altered resting-state frontoparietal control network in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Int Neuropsychol Soc*. 2015 Apr;21(4):271-84. doi: 10.1017/S135561771500020X. Epub 2015 Apr 30.
65. Silk TJ, Genc S, Anderson V, Efron D, Hazell P, Nicholson JM, Kean M, Malpas CB, Sciberras E. Developmental brain trajectories in children with ADHD and controls: a longitudinal neuroimaging study. *BMC Psychiatry*. 2016 Mar 11;16:59. doi: 10.1186/s12888-016-0770-4.
66. Casey BJ, Cannonier T, Conley MI, Cohen AO, Barch DM, Heitzeg MM, Soules ME, Teslovich T, Dellarco DV, Garavan H, Orr CA, Wager TD, Banich MT, Speer NK, Sutherland MT, Riedel MC, Dick AS, Bjork JM, Thomas KM, Chaarani B, Mejia MH, Hagler DJ Jr, Daniela Cornejo M, Sicut CS, Harms MP, Dosenbach NUF, Rosenberg M, Earl E, Bartsch H, Watts R, Polimeni JR, Kuperman JM, Fair DA, Dale AM; ABCD Imaging Acquisition Workgroup. The Adolescent Brain Cognitive Development (ABCD) study: Imaging acquisition across 21 sites. *Dev Cogn Neurosci*. 2018 Aug;32:43-54. doi: 10.1016/j.dcn.2018.03.001. Epub 2018 Mar 14.
67. Cortese, S., D'Acunto, G., Konofal, E., Masi, G., & Vitiello, B. (2017): New Formulations of Methylphenidate for the Treatment of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: Pharmacokinetics, Efficacy, and Tolerability. *CNS Drugs* 31:149–160. <https://doi.org/10.1007/s40263-017-0409-0>

68. Spencer TJ, Brown A, Seidman LJ, Valera EM, Makris N, Lomedico A, Faraone SV, Biederman J. Effect of psychostimulants on brain structure and function in ADHD: a qualitative literature review of magnetic resonance imaging-based neuroimaging studies. *J Clin Psychiatry*. 2013 Sep;74(9):902-17. doi: 10.4088/JCP.12r08287.
69. Czerniak SM, Sikoglu EM, King JA, Kennedy DN, Mick E, Frazier J, Moore CM. Areas of the brain modulated by single-dose methylphenidate treatment in youth with ADHD during task-based fMRI: a systematic review. *Harv Rev Psychiatry*. 2013 May-Jun;21(3):151-62. doi: 10.1097/HRP.0b013e318293749e.
70. Rubia K, Alegria AA, Cubillo AI, Smith AB, Brammer MJ, Radua J. Effects of stimulants on brain function in attention-deficit/hyperactivity disorder: a systematic review and meta-analysis. *Biol Psychiatry*. 2014 Oct 15;76(8):616-28. doi: 10.1016/j.biopsych.2013.10.016. Epub 2013 Oct 24.
71. Schweren LJ, de Zeeuw P, Durston S. MR imaging of the effects of methylphenidate on brain structure and function in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2013 Oct;23(10):1151-64. doi: 10.1016/j.euroneuro.2012.10.014.
72. Yang, Z., Kelly, C., Castellanos, F. X., Leon, T., Milham, M. P., & Adler, L. A. (2016): Neural Correlates of Symptom Improvement Following Stimulant Treatment in Adults with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 26:527–536. <https://doi.org/10.1089/cap.2015.0243>
73. Cary, R. P., Ray, S., Grayson, D. S., Painter, J., Carpenter, S., Maron, L., Sporns, O., Stevens, A. A., Nigg, J. T., & Fair, D. A. (2016): Network Structure among Brain Systems in Adult ADHD is Uniquely Modified by Stimulant Administration. *Cereb Cortex* 27:3970–3979. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhw209>
74. Satterthwaite, T. D., Wolf, D. H., Roalf, D. R., Ruparel, K., Erus, G., Vandekar, S., Gennatas, E. D., Elliott, M. A., Smith, A., Hakonarson, H., Verma, R., Davatzikos, C., Gur, R. E., & Gur, R. C. (2014): Linked Sex Differences in Cognition and Functional Connectivity in Youth. *Cereb Cortex* 25:2383–2394. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhu036>

75. Konova, A. B., Moeller, S. J., Tomasi, D., & Goldstein, R. Z. (2015): Effects of chronic and acute stimulants on brain functional connectivity hubs. *Brain Res* 1628:147–156. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.02.002>

15 ANEXOS

15.1 Documentos do estudo #1

15.1.1 Termo de Consentimento Livre Esclarecido

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

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(OBRIGATÓRIO PARA PESQUISAS CIENTÍFICAS EM SERES HUMANOS -

RESOLUÇÃO Nº 196 - CNS)

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M F
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO: Nº APTO:
BAIRRO: CIDADE:
CEP: TELEFONE: DDD (.....)

5

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

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA

**“Esquizofrenia e Transtorno Afetivo Bipolar: identificação de estado mental de risco (EMR),
caracterização de endofenótipos e impacto de intervenções para prevenção”.**

2. PESQUISADOR RESPONSÁVEL: EURÍPEDES CONSTANTINO MIGUEL FILHO.

CARGO/FUNÇÃO: PROFESSOR ASSOCIADO INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 45280

UNIDADE DO HCFMUSP: Departamento de Psiquiatria

Investigadores executantes:

- Rodrigo Affonseca Bressan
Professor Adjunto da Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP.
Inscrição no Conselho Regional no 72193 (CRM-SP)

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO RISCO MÉDIO X
RISCO BAIXO RISCO MAIOR

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : A duração total deste projeto é prevista em 3 anos.

PROPOSTA DA PESQUISA

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa sobre problemas de saúde mental na infância e adolescência. Essa pesquisa é uma nova fase do Estudo Epidemiológico da Saúde Mental do Escolar Brasileiro do qual você participou anteriormente e tem como objetivo ajudar os médicos e psicólogos a conhecer melhor dois dos problemas de saúde mental que podem afetar crianças e adolescentes. Ao conhecer melhor os fatores de risco para desenvolver a esquizofrenia e o transtorno afetivo bipolar esperamos poder, no futuro, planejar estratégias para prevenir seu aparecimento. Essa é a primeira vez que uma pesquisa nesse tema está sendo realizada no Brasil. A partir dos dados da primeira pesquisa foram selecionadas pessoas consideradas em risco para desenvolver estes transtornos e pessoas consideradas fora de risco. A participação de todos é muito importante para o sucesso dessa pesquisa.

Se você der sua autorização para participar da pesquisa, poderá participar de um programa de avaliação médica e neuropsicológica. Você será convidado também a preencher um questionário para responder perguntas sobre os próprios sentimentos e comportamentos no dia-a-dia. Como parte da pesquisa será convidado a fazer coleta de sangue e saliva para estudos genéticos e um exame de ressonância magnética. Você poderá optar por receber ou não receber o resultado dos exames realizados. Deixamos claro que os exames solicitados têm finalidade de pesquisa e não têm significado clínico definido, não sendo possível, a partir de nosso conhecimento atual, definir o diagnóstico de uma doença ou forma de tratamento através desses exames.

Após iniciar a pesquisa você será convidado a participar de um acompanhamento por 3 anos por uma equipe de profissionais de saúde composta por médicos psiquiatras e psicólogos. Serão realizadas avaliações a cada 6 meses durante esse período. A amostra de sangue será colhida no início do estudo. As amostras de saliva serão colhidas durante todas as visitas durante o primeiro ano da pesquisa. A ressonância magnética será feita 2 vezes, uma no início, a outra no final do estudo.

Alguns participantes do estudo serão selecionados aleatoriamente através de um sorteio para participarem com suas famílias de um programa de educação sobre os transtornos mentais. Esse programa consiste de reuniões semanais por 1 mês, seguidas de reuniões mensais por 6 meses e reuniões bimensais por mais um ano. Nessas reuniões, elementos básicos dos transtornos mentais mais comuns serão discutidos com os participantes, além de um espaço para questões e dúvidas sobre saúde mental.

Em qualquer momento do estudo você poderá solicitar sua retirada do protocolo de pesquisa sem que isso apresente qualquer consequência para o seguimento médico. Para tanto, somente pedimos que seja comunicado o desligamento ao corpo clínico da pesquisa. Se necessário (persistência de dúvida quanto a manutenção ou não do paciente no protocolo) será solicitado parecer da comissão de ética do Hospital das Clínicas.

6

RISCOS E INCONVENIÊNCIAS

As tarefas a serem realizadas para a conclusão deste projeto possuem alguns riscos e inconveniências para o participante.

- Coleta de amostra de sangue.** Neste procedimento pode ocorrer o aparecimento de manchas arroxeadas no local de onde o sangue foi tirado. Todos os participantes serão previamente orientados com relação a este risco e sobre os cuidados necessários caso ocorra. Além disso, raramente o local de onde foi retirada amostra de sangue pode inflamar e necessitar de cuidados locais (limpeza e pomadas) por alguns dias. Exames de sangue são necessários para dois objetivos :1. Avaliar a saúde de seu filho através de exames laboratoriais de rotina; 2. Duas das amostras de sangue (volume equivalente a 2 colheres de chá) coletadas serão utilizadas para estudos que avaliarão o envolvimento de alguns genes com o estado mental de risco.
- Coleta de saliva:** Não há riscos físicos envolvidos. Pode gerar angústia ou ansiedade para aqueles que considerem o procedimento desagradável.
- Ressonância Magnética de Crânio:** Durante o exame o único desconforto é um ruído intermitente. No entanto para amenizar o desconforto, serão fornecidos tapa-ouvidos. O exame, entretanto, pode gerar angústia ou ansiedade, pois durante o procedimento exige-se que o participante permaneça imóvel dentro da máquina. Uma das vantagens da RM é o fato de não utilizar radiações ionizantes, ao contrário de outros exames como a tomografia computadorizada. Portanto, não existem efeitos nocivos ao organismo dentro das condições normalmente utilizadas.
- Preenchimento dos questionários:** Lembramos que os participantes podem ficar cansados com o preenchimento dos questionários, já que demora mais ou menos uma hora para responder todas as perguntas. Também podem se sentir ansiosos por responderem perguntas sobre os próprios sentimentos e comportamentos no dia-a-dia, pois os conteúdos envolvem emoções que podem ser desagradáveis. Tentaremos minimizar estes possíveis efeitos utilizando avaliadores treinados e instrumentos curtos.

Caso você se sinta em qualquer momento desconfortável durante algum dos procedimentos listados acima, você poderá pedir para que a avaliação seja interrompida.

Caso ocorra qualquer problema relacionado ao procedimento realizado, o nosso serviço se responsabiliza pelos custos de atendimento relativos aos riscos envolvidos.

BENEFÍCIOS

Não há benefício direto para os indivíduos que participarem deste estudo além de possibilitar a identificação precoce de transtornos mentais. Isso ocorrendo possibilita a instituição mais rápida do tratamento. O potencial benefício para a sociedade é que este estudo pode aumentar o conhecimento sobre a detecção precoce e possibilidade de prevenção da Esquizofrenia e do Transtorno Afetivo Bipolar.

USO DE MATERIAL

Durante a pesquisa, amostras de sangue serão colhidas para análises genéticas. Essas amostras serão armazenadas e poderão ser utilizadas em pesquisas futuras. Toda nova pesquisa a ser feita com o material será submetida antes a aprovação do Comitê de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo – CAPPesq e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa CONEP. Caso deseje, a qualquer momento, não participar mais desta pesquisa, todos os dados genéticos serão retirados da análise.

SIGILO E PRIVACIDADE

As informações produzidas nesta tarefa serão mantidas em lugar seguro, codificadas e a identificação só poderá ser realizada pelo pessoal envolvido diretamente com o projeto. Caso o material venha a ser utilizado para publicação científica ou atividades didáticas, não serão utilizados nomes que possam vir a identificá-lo.

Em qualquer momento do estudo você poderá obter mais informações com a Dr. Rodrigo Affonseca Bressan, pelo telefone (0XX11) 5573-3599, que está apto a solucionar suas dúvidas. Você poderá solicitar informações de qualquer conhecimento significativo descoberto durante este projeto.

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br

DESPESAS E COMPENSAÇÕES

Não há despesas pessoais, ou seja, não será cobrado nada do participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira ou qualquer tipo de pagamento relacionado à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será custeada pelo orçamento da pesquisa.

Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), o participante tem direito a tratamento médico na Instituição.

7

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo: “Esquizofrenia e Transtorno Afetivo Bipolar: identificação de estado mental de risco (EMR), caracterização de endofenótipos e impacto de intervenções para prevenção”.

Eu discuti com o Dr. **Rodrigo Affonseca Bressan** sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que a minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente na minha participação e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Desejo receber os resultados das avaliações a que serei submetido bem com ser esclarecido sobre seus significados (os resultados serão enviados por carta para o endereço fornecido): () 1 SIM () 2 Não (marque a opção desejada)

Assinatura do representante legal

Data ____ / ____ / ____

Assinatura da testemunha

Data ____ / ____ / ____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto). Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo

Data ____ / ____ / ____

15.2 Documentos do estudo #2

15.2.1 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

GRUPO CONTROLE ADULTO

Projeto: Neuroimagem no Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade

Antes de participar deste estudo, gostaríamos que você tomasse conhecimento sobre alguns detalhes envolvidos no mesmo. Abaixo, seguem alguns esclarecimentos sobre dúvidas que você possa ter. Em caso de qualquer outra dúvida quanto ao estudo ou sobre os seus direitos, você poderá contatar o Dr Luis Rohde ou Dr Felipe Piccon (departamento de psiquiatria HCPA) pelo telefone 33598094 ou através do Comitê de ética em Pesquisa do HCPA pelo telefone 33598304.

Muitos indivíduos têm problemas de atenção, ficam facilmente distraídos, inquietos, esquecem coisas que se propõem a fazer, movimentam-se constantemente e excessivamente em suas atividades, são impulsivos e se intrometem nos assuntos dos outros. Este problema de saúde mental chama-se Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH). Vários estudos têm demonstrado que a integração de exames de imagem na avaliação deste transtorno agrega informações relevantes ao manejo clínico.

1. Qual o objetivo desta pesquisa?

Este é um estudo que visa pesquisar, através dos **métodos de diagnóstico por imagem cerebral** (SPECT e Ressonância funcional), o padrão do Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade. Estas informações ajudarão na avaliação e na conduta clínica destes pacientes. Serão realizados exames de imagem (**exame que mostram como está funcionando o cérebro**) em indivíduos normais para correlação dos achados.

2. Qual a minha participação?

Você está sendo convidado a participar deste estudo porque não apresenta o transtorno de déficit de atenção e hiperatividade. Este grupo irá gerar o modelo padrão normal cerebral, servirá como modulador dos estudos de imagem em investigação. A importância deste grupo está baseada no fato de que a comparação das imagens ocorre através do programa que constrói mapas estatísticos do cérebro, necessitando de um grupo controle para correlação. Você fará um exame chamado de SPECT/CT cerebral basal/ativado, trodat, e ressonância.

O SPECT será realizado uma semana após sua seleção para este estudo. O exame será realizado no Complexo Hospitalar Santa Casa (Hospital Santa Rita, no laboratório de medicina nuclear).

A ressonância será realizada na semana seguinte ao SPECT. O exame será realizado no Hospital Moinhos de Vento.

3. O que é o exame SPECT/CT? Como é realizado?


O SPECT basal/ativado é um exame que mostra a chegada de sangue nas células cerebrais (perfusão cerebral). Para isso, uma dose pequena de substância radioativa que é eliminada completamente do seu corpo em 24 horas é administrada numa veia do braço. O exame consiste de três etapas. Uma equipe médica vai acompanhá-lo durante todo exame e estimamos que

Comitê de Ética em Pesquisa
GPPG/HCPA

VERSÃO APROVADA

15/09/2011

08513 THV

HCPA/GPPG
RECEBIDO
23 AGO 2011
Por 
Proj. nº 08513

you permanecerá aproximadamente 1 hora sob nossos cuidados: 1) na primeira etapa, você receberá uma injeção numa veia do braço para administração do radiotraçador (**radiotraçador é o nome dado a substância que será injetada, ele é que vai permitir que façamos imagens (fotos) de como seu cérebro está funcionando**) ; 2) na segunda etapa (40 minutos após a injeção), você deitará na máquina onde fará o exame (a câmara de SPECT). Você permanecerá na câmara por 25 minutos, durante este tempo pede-se que permaneça imóvel para que as imagens sejam adquiridas com perfeição. Caso você decida, poderá ser retirado do aparelho a qualquer momento. O exame SPECT/CT (trodat) é realizado 3 horas após a injeção.

Você tem a liberdade de desistir do estudo a qualquer momento, sem precisar fornecer um motivo. Se a qualquer momento você se sentir pior, ou contrair qualquer doença, informe um dos médicos responsáveis. Se o exame não parecer ideal ou tolerável para você, ele pode ser interrompido. Você será comunicado sobre qualquer nova informação, durante o estudo, que possa afetar a sua disposição de continuar.

3.1 O que é o exame de ressonância? Como é realizado?

A ressonância funcional é um exame que avalia qual área cerebral é responsável pelo estímulo gerado por um teste de ativação (como por exemplo reconhecer letras) e como esta área responde a este estímulo. Para isso você será colocado na posição adequada na mesa de RM e um dispositivo chamado de Bobina será colocado em volta da área de interesse do exame (é como se fosse um capacete). Esta bobina é usada para receber as imagens do seu corpo. A seguir, o operador vai colocá-lo dentro do equipamento, movimentando a mesa para dentro. A mesa da RM na qual você está deitado deslizará suavemente para dentro do aparelho, onde permanecerá durante todo o exame. O técnico sairá da sala, mas ficará em constante contato com você através de um aparelho de comunicação interna. Relaxe e permaneça o mais imóvel possível. Em caso de qualquer desconforto haverá uma campainha para você fazer contato com a equipe. Durante o exame você ouvirá um barulho parecido com batidas em intervalos regulares. Isto significa que as imagens estão sendo adquiridas. O seu exame terá uma duração, aproximada, de 30 minutos.

4. Quais os riscos em participar?

Assim como qualquer exame, há riscos imprevistos, mas ainda não foram descritos efeitos danosos causados por estes exames. A dose de radiação para o SPECT corresponde à exposição que uma pessoa recebe ao fazer um exame de Raio-X simples de pulmão, por exemplo. Algumas vezes ao injetar a substância no acesso venoso, pequenos vasinhos podem romper formando uma pequena área de hematoma (concentração de sangue). Este tipo de exame já foi realizado, por nossa equipe, em mais de 100 crianças e nenhum efeito danoso foi identificado. A ressonância magnética não utiliza administração de matérias, não apresentando riscos.

Na presença de qualquer efeito colateral, embora nenhum evento tenha sido relatado na literatura nem na nossa experiência de mais de 100 exames iguais ao que você irá realizar, você terá atendimento da equipe médica envolvida no estudo.

5. O que você ganha com este estudo?

Você poderá receber alguns benefícios por participar deste estudo: poderá se beneficiar por ter identificado, eventualmente, um problema que antes não era identificado e que, a partir disso, poderá vir a ter um tratamento superior e mais

Comitê de Ética em Pesquisa
GPPG/HCPA

VERSÃO APROVADA

15/05/2011

08543 TAV

específico que também lhe beneficiará. Também poderá contribuir com uma população grande de pessoas que não utiliza este exame por falta de melhor padronização.

Você estará contribuindo com um estudo inédito em nosso meio, que poderá ajudar várias crianças e adolescentes.

6. Quais são os seus direitos?

Embora não seja esperado que você venha a sofrer quaisquer problemas de saúde pela participação neste estudo, você poderá contar com os serviços do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), para problemas de saúde que possam surgir. Você não precisa provar que a culpa é de terceiros, se surgir qualquer problema devido ao teste, você será imediatamente avaliado.

6.1 Os seus registros médicos serão sempre tratados confidencialmente. Todos os resultados dos testes e exames realizados só serão acessados pela equipe de pesquisador responsável por este estudo.

6.2 Os resultados deste estudo poderão ser publicados em um jornal científico.

6.3 Sua participação no estudo é voluntária, de forma que, caso você decida não participar, isto não afetará o tratamento normal ao qual você tem direito.

Sua participação no estudo é voluntária, de forma que, caso você decida não participar, isto não afetará o tratamento normal ao qual você tem direito.

FORMULÁRIO DE CONSENTIMENTO PARA PACIENTES

Eu _____, li ou me foi lido as informações contidas neste consentimento e entendi o que está sendo proposto. Tive as minhas dúvidas respondidas e sei que poderei tirar futuras dúvidas caso as tenha. Eu sei que posso ou não participar desta pesquisa. Caso decida não participar não terei prejuízo nas avaliações clínicas e orientação de tratamento que tenho direito, caso seja necessário. Sei que posso sair da pesquisa a qualquer momento. Entendi que não terei custos nem despesas ao participar deste estudo. Sei que todos os dados pessoais serão preservados.

Declaro que aceito participar da pesquisa (neuroimagem em crianças e adolescentes com TDAH).

Assinatura do participante: _____

Data: ____/____/____

Comitê de Ética em Pesquisa
GPPG/HCPA

VERSÃO APROVADA

15, 09, 2011

08543 THV

15.2.2 Protocolo Critérios de Inclusão e Exclusão dos casos com TDAH

UFRGS - HCPA - PRODAH-A - PROGRAMA DE DÉFICIT DE ATENÇÃO/HIPERATIVIDADE EM ADULTOS

PROJETO: 08-543

NEUROIMAGEM EM ADULTOS COM TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO E HIPERATIVIDADE CASOS-TDAH

Nome Completo:		Número:	
-----------------------	--	----------------	--

CASOS critérios de inclusão:		
idade superior a 18 anos	SIM	Não
sexo masculino	SIM	Não
diagnóstico de TDAH pelos critérios do DSM-IV (atual e passado), com indicação de tratamento medicamentoso com MFD	SIM	Não

CASOS critérios de EXCLUSÃO:		
uso de metilfenidato no passado	sim	NÃO
doença neurológica	sim	NÃO
uso de medicação psiquiátrica nos últimos 6 meses	sim	NÃO
uso continuado de álcool ou de qualquer outra substância psicoativa	sim	NÃO
doença clínica que afete o estado geral	sim	NÃO
QI total inferior a 70	sim	NÃO
diagnóstico de Transtorno de Humor Bipolar	sim	NÃO
lesão estrutural evidenciada na RNM	sim	NÃO
contra indicação clínica de uso de MFD	sim	NÃO
uso de marcapasso, placa de metal, pino ou qualquer outro implante metálico, válvula cardíaca artificial e grampo de aneurisma	Sim	NÃO

Idade:	
---------------	--

Lateralidade:	Predominância ESQUERDA	Predominância DIREITA
----------------------	------------------------	-----------------------

15.2.3 Protocolo Inventário de Dominância Lateral de Edimburgo

UFRGS - HCPA - PRODAH-A - PROGRAMA DE DÉFICIT DE ATENÇÃO/HIPERATIVIDADE EM ADULTOS
PROJETO: 08-543

**NEUROIMAGEM EM ADULTOS COM
TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO E HIPERATIVIDADE
Inventário de Dominância Lateral de Edimburgo (Edinburgh Handedness Inventory)**

Nome Completo:		Número:	
-----------------------	--	----------------	--

Indique a sua mão de preferência na realização das seguintes atividades marcando na coluna apropriada. Onde a preferência for tão intensa ao ponto de você nunca tentar utilizar a outra mão, a menos que de forma absolutamente forçada, coloque duas vezes. Se for indiferente qual mão você utiliza, coloque um em ambas colunas.

Algumas das atividades abaixo utilizam ambas as mãos. Nessas perguntas, a parte da tarefa ou objeto para a qual se utiliza a mão preferencial esta indicada entre parênteses.

Tente responder todas as perguntas e deixe em branco apenas se você não tiver experiência alguma com a atividade ou nunca a tenha realizado.

	Mão Esquerda		Mão Direita	
1. Escrever				
2. Desenhar				
3. Arremessar				
4. Cortar com tesoura				
5. Escovar os dentes				
6. Cortar com faca (sem garfo)				
7. Comer com colher				
8. Varrer (mão superior)				
9. Acender fósforo (mão segurando o fósforo)				
10. Abrindo uma caixa (mão segurando a tampa)				
TOTAL:				

Diferença	Total cumulativo	RESULTADO

Adicione o numero de "checks" nas colunas Mao Esquerda e Mao Direita colocando o resulta no TOTAL de cada coluna. Adicione os valores totais de ambas colunas e coloque na casela "total cumulativo". Subtraia o total da Mao Esquerda pelo total da Mao Direita e coloque na casela "diferença". Divida a "diferença" pelo "total cumulativo" (arredonde para dois dígitos, se necessário) e multiplique por 100; coloque o resultado final na casela "Resultado".

Lateralidade EDINBURGH:	Predominância ESQUERDA	Predominância DIREITA
--------------------------------	------------------------	-----------------------

15.2.4 Protocolo Checklist de Screening Pré-Ressonância Magnética

UFRGS - HCPA - PRODAH-A - PROGRAMA DE DÉFICIT DE ATENÇÃO/HIPERATIVIDADE EM ADULTOS
PROJETO: 08-543

NEUROIMAGEM EM ADULTOS COM TDAH CHECKLIST DE SCREENING PRÉ-RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

Nome Completo:		Número:	
-----------------------	--	----------------	--

Já realizou Ressonância magnética previamente?	sim	NÃO
Tem história de Trauma Crânio-Encefálico (TCE)?	sim	NÃO
Geralmente você sente Claustrofobia?	sim	NÃO
Faz hemodiálise?	sim	NÃO
Utiliza lentes de contato?	sim	NÃO
Já realizou alguma cirurgia previamente?	sim	NÃO
Que tipo de cirurgia?		
Possui marcapasso cardíaco?	sim	NÃO
Possui válvula cardíaca artificial metálica?	sim	NÃO
Possui stent cardíaco?	sim	NÃO
Já fez clipagem de aneurisma?	sim	NÃO
Possui algum tipo de neuro ou bioestimulador implantado em seu corpo?	sim	NÃO
Possui qualquer tipo de bombas de infusão subcutâneas ou implantadas?	sim	NÃO
Possui placa, clip metálico, pinos, parafusos, prótese metálica no corpo?	sim	NÃO
Já foi ferido com arma de fogo?	sim	NÃO
Já trabalhou com metais ou frequentava metalurgia ou serralheria?	sim	NÃO
Tem história de trauma ocular com metais?	sim	NÃO
Possui qualquer tipo de metal no corpo (farpas, projeteis e outros)?	sim	NÃO
Utiliza prótese dentária móvel (dentadura, aparelho dentário móvel)?	sim	NÃO
Utiliza aparelho dental fixo?	sim	NÃO
Utiliza agulhas de acupuntura na orelha?	sim	NÃO
Utiliza aparelho para Surdez?	sim	NÃO
Possui implante coclear?	sim	NÃO
Utiliza patch transdérmico (nicotina, hormônio ou outros)	sim	NÃO
Possui tatuagem?	sim	NÃO
Qual o local da tatuagem no corpo?		
Há quanto tempo tem a tatuagem?		
Possui maquiagem definitiva?	sim	NÃO
Em que local do corpo realizou maquiagem definitiva?		
Existe a possibilidade de você estar grávida?	sim	NÃO
Possui DIU?	sim	NÃO

15.2.5 Protocolo Questionário de Consumo de Cafeína

UFRGS - HCPA - PRODAH-A - PROGRAMA DE DÉFICIT DE ATENÇÃO/HIPERATIVIDADE EM ADULTOS
PROJETO: 08-543

NEUROIMAGEM EM ADULTOS COM TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO E HIPERATIVIDADE QUESTIONÁRIO DE CONSUMO DE CAFEÍNA

Nome Completo:		Número:	
		Data:	

Anote todos os itens que você consome em um dia. Atente para as quantidades (em xícaras ou em latinhas ou copo) de cada um dos produtos nas listas abaixo.

CAFÉ Em Xícaras pequenas (30ml)	Manhã (06:00 às 12:00)	Tarde (12:00 às 18:00)	Noite (18:00 às 02:00)	Madrugada (02:00 às 06:00)	Total /dia
Café Passado					
Expresso					
Café Instantâneo (ex: Nescafé)					
Café Descafeinado					
Outras Bebidas que contém Cafeína:	Manhã (06:00 às 12:00)	Tarde (12:00 às 18:00)	Noite (18:00 às 02:00)	Madrugada (02:00 às 06:00)	Total /dia
Chá (xícara grande - 60ml)					
Achocolatado (Nescau, Toddy) (Copo)					
Coca-Cola, Pepsi (350ml = Lata)					
Coca-Cola Zero, Diet ou Pepsi Diet (350ml = Lata)					
Guaraná ou Diet (350ml = Lata)					
Energético (RedBull, Burn, etc) (Lata)					
Chimarrão					
Outros Alimentos que contém Cafeína:	Manhã (06:00 às 12:00)	Tarde (12:00 às 18:00)	Noite (18:00 às 02:00)	Madrugada (02:00 às 06:00)	Total /dia
Chocolate (Barra pequena)					

Bebida (ml)	Cafeína (mg)
Café xícara pequena (30ml)	20mg
Café Descafeinado xícara pequena (30ml)	Menos de 1mg
Expresso (30ml)	35mg
Chá xícara grande (60ml)	17mg
Chá verde xícara grande (60ml)	7mg
Energéticos (RedBull) Lata (350ml)	250mg
Chocolate Quente (350ml)	15mg
Refrigerantes com cafeína (350ml)	40-60mg
Barra de chocolate pequena	20mg

Consumo Total de Cafeína/dia

15.3 Outros trabalhos publicados durante o período do Doutorado na qualidade de Co-Autor.

15.3.1 Artigo anexo #01 (resumo)

Publicado no periódico Neuroimage

Fator de Impacto (2015)= 5.463

Neuroimage.

2015 Jan 1;104:44-51.

<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2014.09.063>. Epub 2014 Oct 5.

Decreased centrality of subcortical regions during the transition to adolescence: a functional connectivity study.

João Ricardo Sato, Giovanni Abrahão Salum, Ary Gadelha, Gilson Vieira, André Zugman, **Felipe Almeida Picon**, Pedro Mario Pan, Marcelo Queiroz Hoexter, Mauricio Anés, Luciana Monteiro Moura, Marco Antonio Gomes Del'Aquilla, Nicolas Crossley, Edson Amaro Junior, Philip Mcguire, Acioly L. T. Lacerda, Luis Augusto Rohde, Euripedes Constantino Miguel, Andrea Parolin Jackowski, Rodrigo Affonseca Bressan.

Investigations of brain maturation processes are a key step to understand the cognitive and emotional changes of adolescence. Although structural imaging findings have delineated clear brain developmental trajectories for typically developing individuals, less is known about the functional changes of this sensitive development period. Developmental changes, such as abstract thought, complex reasoning, and emotional and inhibitory control, have been associated with more prominent cortical control. The aim of this study is to assess brain networks connectivity changes in a large sample of 7- to 15-year-old subjects, testing the hypothesis that cortical regions will present an increasing relevance in commanding the global network. Functional magnetic resonance imaging (fMRI) data were collected in a sample of 447 typically developing children from a Brazilian community sample who were submitted to a resting state acquisition protocol. The fMRI data were used to build a functional weighted graph from which eigenvector centrality (EVC) was extracted. For each brain region (a node of the graph), the age-dependent effect on EVC was statistically tested and the developmental trajectories were estimated using polynomial functions. Our findings show that angular gyrus become more central during this maturation period, while the caudate; cerebellar tonsils, pyramis, thalamus; fusiform, parahippocampal and inferior semilunar lobe become less central. In conclusion, we report a novel finding of an increasing centrality of the angular gyrus during the transition to adolescence, with a decreasing centrality of many subcortical and cerebellar regions.

15.3.2 Artigo anexo #02 (resumo)

Publicado no periódico Human Brain Mapping

Fator de Impacto (2015)= 4.962

Human Brain Mapping.

2015 Dec;36(12):4926-37.

<https://doi.org/10.1002/hbm.22985>. Epub 2015 Sep 9.

**Temporal stability of network centrality in control and default mode networks:
Specific associations with externalizing psychopathology in children and
adolescents.**

João Ricardo Sato, Claudinei Eduardo Biazoli Jr., Giovanni Abrahão Salum, Ary Gadelha, Nicolas Crossley, Theodore D. Satterthwaite, Gilson Vieira, André Zugman, **Felipe Almeida Picon**, Pedro Mario Pan, Marcelo Queiroz Hoexter, Mauricio Anés, Luciana Monteiro Moura, Marco Antonio Gomes Del'aquilla, Edson Amaro Jr., Philip McGuire, Acioly L.T. Lacerda, Luis Augusto Rohde, Euripedes Constantino Miguel, Andrea Parolin Jackowski, Rodrigo Affonseca Bressan.

Abnormal connectivity patterns have frequently been reported as involved in pathological mental states. However, most studies focus on "static," stationary patterns of connectivity, which may miss crucial biological information. Recent methodological advances have allowed the investigation of dynamic functional connectivity patterns that describe non-stationary properties of brain networks. Here, we introduce a novel graphical measure of dynamic connectivity, called time-varying eigenvector centrality (tv-EVC). In a sample 655 children and adolescents (7-15 years old) from the Brazilian "High Risk Cohort Study for Psychiatric Disorders" who were imaged using resting-state fMRI, we used this measure to investigate age effects in the temporal in control and default-mode networks (CN/DMN). Using support vector regression, we propose a network maturation index based on the temporal stability of tv-EVC. Moreover, we investigated whether the network maturation is associated with the overall presence of behavioral and emotional problems with the Child Behavior Checklist. As hypothesized, we found that the tv-EVC at each node of CN/DMN become more stable with increasing age ($P < 0.001$ for all nodes). In addition, the maturity index for this particular network is indeed associated with general psychopathology in children assessed by the total score of Child Behavior Checklist ($P = 0.027$). Moreover, immaturity of the network was mainly correlated with externalizing behavior dimensions. Taken together, these results suggest that changes in functional network dynamics during neurodevelopment may provide unique insights regarding pathophysiology.

15.3.3 Artigo anexo #03 (resumo)

Publicado no periódico The Journal of Child Psychology and Psychiatry

Fator de Impacto (2016)= 6.226

The Journal of Child Psychology and Psychiatry.
2016 Jan;57(1):55-64.
<https://doi.org/10.1111/jcpp.12444>. Epub 2015 Jun 26.

Default mode network maturation and psychopathology in children and adolescents.

João Ricardo Sato, Giovanni Abrahão Salum, Ary Gadelha, Nicolas Crossley, Gilson Vieira, Gisele Gus Manfro, André Zugman, **Felipe Almeida Picon**, Pedro Mario Pan, Marcelo Queiroz Hoexter, Mauricio Anés, Luciana Monteiro Moura, Marco Antonio Gomes Del'Aquilla, Edson Amaro Jr., Philip McGuire, Acioly Luiz Tavares Lacerda, Luis Augusto Rohde, Euripedes Constantino Miguel, Andrea Parolin Jackowski, Rodrigo Affonseca Bressan.

BACKGROUND: The human default mode (DMN) is involved in a wide array of mental disorders. Current knowledge suggests that mental health disorders may reflect deviant trajectories of brain maturation.

METHOD: We studied 654 children using functional magnetic resonance imaging (fMRI) scans under a resting-state protocol. A machine-learning method was used to obtain age predictions of children based on the average coefficient of fractional amplitude of low frequency fluctuations (fALFFs) of the DMN, a measure of spontaneous local activity. The chronological ages of the children and fALFF measures from regions of this network, the response and predictor variables were considered respectively in a Gaussian Process Regression. Subsequently, we computed a network maturation status index for each subject (actual age minus predicted). We then evaluated the association between this maturation index and psychopathology scores on the Child Behavior Checklist (CBCL).

RESULTS: Our hypothesis was that the maturation status of the DMN would be negatively associated with psychopathology. Consistent with previous studies, fALFF significantly predicted the age of participants ($p < .001$). Furthermore, as expected, we found an association between the DMN maturation status (precocious vs. delayed) and general psychopathology scores ($p = .011$).

CONCLUSIONS: Our findings suggest that child psychopathology seems to be associated with delayed maturation of the DMN. This delay in the neurodevelopmental trajectory may offer interesting insights into the pathophysiology of mental health disorders.

15.3.4 Artigo anexo #04 (resumo)

Publicado no periódico Magnetic Resonance Imaging

Fator de Impacto (2016)= 2.225

Magnetic Resonance Imaging.

2016 May;34(4):529-34.

<https://doi.org/10.1016/j.mri.2015.12.021>. Epub 2015 Dec 18.

Age-effects in white matter using associated diffusion tensor imaging and magnetization transfer ratio during late childhood and early adolescence.

Luciana Monteiro Moura, Matthew Kempton, Gareth Barker, Giovanni Salum, Ary Gadelha, Pedro Mario Pan, Marcelo Hoexter, Marco Antonio Gomes Del Aquilla, **Felipe Almeida Picon**, Mauricio Anés, Maria Concepcion Garcia Otaduy, Edson Amaro Jr., Luis Augusto Rohde, Philip McGuire, Rodrigo Affonseca Bressan, João Ricardo Sato, Andrea Parolin Jackowski.

In the last decade, several studies have described the typical brain white matter maturation in children and adolescents. Diffusion tensor imaging (DTI) is the most frequent MRI technique used to investigate the structural changes across development. However, few previous studies have used the magnetization transfer ratio (MTR), which gives a closer measure of myelin content. Here, we employed both techniques for the same sample of 176 typically developing children from 7 to 14 years of age. We investigated the associations between DTI parameters and MTR measure, to assess the myelination in the brain in development. Secondly, we investigated age-effects on DTI parameters (fractional anisotropy, axial, radial and mean diffusivities) and MTR. No significant correlations between MTR and DTI parameters were observed. In addition, a significant age-effect was detected for DTI data but was not visible for MTR data. Thereby, changes in white matter at this age might be primarily correlated with microstructural changes.

15.3.5 Artigo anexo #05 (resumo)

Publicado no periódico Developmental Cognitive Neuroscience

Fator de Impacto (2016)= 4.321

Developmental Cognitive Neuroscience

2016 Aug;20:2-11.

<https://doi.org/10.1016/j.dcn.2016.05.002>. Epub 2016 May 14.

Connectome hubs at resting state in children and adolescents: Reproducibility and psychopathological correlation.

João Ricardo Satoa, Claudinei Eduardo Biazoli Jr., Giovanni Abrahão Salum, Ary Gadelha, Nicolas Crossley, Gilson Vieira, André Zugman, **Felipe Almeida Picon**, Pedro Mario Pan, Marcelo Queiroz Hoexter, Mauricio Anés, Luciana Monteiro Moura, Marco Antonio Gomes Del'Aquilla, Edson Amaro Junior, Philip Mcguire, Luis Augusto Rohde, Euripedes Constantino Miguel, Rodrigo Affonseca Bressan, Andrea Parolin Jackowski

Functional brain hubs are key integrative regions in brain networks. Recently, brain hubs identified through resting-state fMRI have emerged as interesting targets to increase understanding of the relationships between large-scale functional networks and psychopathology. However, few studies have directly addressed the replicability and consistency of the hub regions identified and their association with symptoms. Here, we used the eigenvector centrality (EVC) measure obtained from graph analysis of two large, independent population-based samples of children and adolescents (7-15 years old; total N=652; 341 subjects for site 1 and 311 for site 2) to evaluate the replicability of hub identification. Subsequently, we tested the association between replicable hub regions and psychiatric symptoms. We identified a set of hubs consisting of the anterior medial prefrontal cortex and inferior parietal lobule/intraparietal sulcus (IPL/IPS). Moreover, lower EVC values in the right IPS were associated with psychiatric symptoms in both samples. Thus, low centrality of the IPS was a replicable sign of potential vulnerability to mental disorders in children. The identification of critical and replicable hubs in functional cortical networks in children and adolescents can foster understanding of the mechanisms underlying mental disorders.

15.3.6 Artigo anexo #06 (resumo)

Publicado no periódico Brain Connectivity

(ainda sem fator de impacto publicado)

Brain Connectivity

2016 Sep;6(7):519-23.

<https://doi.org/10.1089/brain.2016.0430>. Epub 2016 Jul 28.

Children with Poor Reading Skills at the Word Level Show Reduced Fractional Anisotropy in White Matter Tracts of Both Hemispheres.

Luciana Monteiro de Moura, Hugo Cogo-Moreira, Clara Regina Brandão de Ávila, Pedro Mario Pan, Ary Gadelha, Tais Moriyama, Marco Antonio Del Aquilla, Marcelo Hoexter, Giovanni Abrahão Salum, **Felipe Almeida Picon**, Mauricio Anés, Marcos Tomanik Mercadante, Acioly Lacerda, Edson Amaro Jr., Euripedes Constantino Miguel, Luis Augusto Rohde, Rodrigo Affonseca Bressan, Philip McGuire, João Ricardo Sato, Jair de Jesus Mari, and Andrea Parolin Jackowski.

Diffusion tensor imaging (DTI) studies showed that microstructural alterations are correlated to reading skills. In this study, we aim to investigate white matter microstructure of a group of Portuguese speakers with poor reading level, using different parameters of DTI. To perform this analysis, we selected children ranging from 8 to 12 years of age, poor readers ($n = 17$) and good readers ($n = 23$), evaluated in the word-level ability based on a Latent Class Analysis (LCA) of Academic Performance Test (TDE). Poor readers exhibited significant fractional anisotropy (FA) reductions in many tracts of both hemispheres, but small and restricted clusters of increased radial diffusivity (RD) in the left hemisphere. Spatial coherence of fibers might be the main source of differences, as changes in FA were not similarly accompanied in terms of extension by changes in RD. Widespread structural alterations in the white matter could prevent good reading ability at word level, which is consistent with recent studies demonstrating the involvement of multiple cortical regions and white matter tracts in reading disabilities.

15.3.7 Artigo anexo #07 (resumo)

Publicado no periódico American Journal of Psychiatry

Fator de Impacto (2017)= 13.391

American Journal of Psychiatry.
2017 Nov 1;174(11):1112-1119.
<https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2017.17040430>. Epub 2017 Sep 26.

Ventral Striatum Functional Connectivity as a Predictor of Adolescent Depressive Disorder in a Longitudinal Community-Based Sample.

Pedro Mario Pan, João R. Sato, Giovanni A. Salum, Luis A. Rohde, Ary Gadelha, Andre Zugman, Jair Mari, Andrea Jackowski, **Felipe Picon**, Eurípedes C. Miguel, Daniel S. Pine, Ellen Leibenluft, Rodrigo A. Bressan, Argyris Stringaris.

OBJECTIVE: Previous studies have implicated aberrant reward processing in the pathogenesis of adolescent depression. However, no study has used functional connectivity within a distributed reward network, assessed using resting-state functional MRI (fMRI), to predict the onset of depression in adolescents. This study used reward network-based functional connectivity at baseline to predict depressive disorder at follow-up in a community sample of adolescents.

METHOD: A total of 637 children 6-12 years old underwent resting-state fMRI. Discovery and replication analyses tested intrinsic functional connectivity (iFC) among nodes of a putative reward network. Logistic regression tested whether striatal node strength, a measure of reward-related iFC, predicted onset of a depressive disorder at 3-year follow-up. Further analyses investigated the specificity of this prediction.

RESULTS: Increased left ventral striatum node strength predicted increased risk for future depressive disorder (odds ratio=1.54, 95% CI=1.09-2.18), even after excluding participants who had depressive disorders at baseline (odds ratio=1.52, 95% CI=1.05-2.20). Among 11 reward-network nodes, only the left ventral striatum significantly predicted depression. Striatal node strength did not predict other common adolescent psychopathology, such as anxiety, attention deficit hyperactivity disorder, and substance use.

CONCLUSIONS: Aberrant ventral striatum functional connectivity specifically predicts future risk for depressive disorder. This finding further emphasizes the need to understand how brain reward networks contribute to youth depression.

15.3.8 Artigo anexo #08 (resumo)

Publicado no periódico The World Journal of Biological Psychiatry

Fator de Impacto (2018)= 3.713

The World Journal of Biological Psychiatry.

2018 Mar;19(2):119-129.

<https://doi.org/10.1080/15622975.2016.1274050>. Epub 2017 Feb 8.

Association between abnormal brain functional connectivity in children and psychopathology: A study based on graph theory and machine learning.

João Ricardo Sato, Claudinei Eduardo Biazoli Jr., Giovanni Abrahão Salum, Ary Gadelha, Nicolas Crossley, Gilson Vieira ORCID Icon, André Zugman, **Felipe Almeida Picon**, Pedro Mario Pan, Marcelo Queiroz Hoexter, Edson Amaro Jr., Mauricio Anés, Luciana Monteiro Moura, Marco Antonio Gomes Del'Aquilla, Philip Mcguire, Luis Augusto Rohde, Euripedes Constantino Miguel, Andrea Parolin Jackowski & Rodrigo Affonseca Bressan

OBJECTIVES: One of the major challenges facing psychiatry is how to incorporate biological measures in the classification of mental health disorders. Many of these disorders affect brain development and its connectivity. In this study, we propose a novel method for assessing brain networks based on the combination of a graph theory measure (eigenvector centrality) and a one-class support vector machine (OC-SVM).

METHODS: We applied this approach to resting-state fMRI data from 622 children and adolescents. Eigenvector centrality (EVC) of nodes from positive- and negative-task networks were extracted from each subject and used as input to an OC-SVM to label individual brain networks as typical or atypical. We hypothesised that classification of these subjects regarding the pattern of brain connectivity would predict the level of psychopathology.

RESULTS: Subjects with atypical brain network organisation had higher levels of psychopathology ($p < 0.001$). There was a greater EVC in the typical group at the bilateral posterior cingulate and bilateral posterior temporal cortices; and significant decreases in EVC at left temporal pole.

CONCLUSIONS: The combination of graph theory methods and an OC-SVM is a promising method to characterise neurodevelopment, and may be useful to understand the deviations leading to mental disorders.

15.3.9 Artigo anexo #09 (resumo)

Publicado no periódico Journal of Psychiatric Research

Fator de Impacto (2018)= 4.000

Journal of Psychiatric Research.

2018 Mar;98:51-58.

<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2017.12.008>. Epub 2017 Dec 20.

Effects of the brain-derived neurotrophic factor variant Val66Met on cortical structure in late childhood and early adolescence.

Celia Mariade Araujo, Andre Zugman, Walter Swardfager, Sintia Iole Nogueira Belangero, Vanessa Kiyomi Ota Leticia Maria Spindola, Hakon Hakonarson, Renata Pellegrino, Ary Gadelha, Giovanni Abrahão Salum, Pedro Mario Pan, Luciana Monteiro de Moura, Marco Del Aquilla, **Felipe Almeida Picon**, Edson Amaro Jr., João Ricardo Sato, Elisa Brietzke, Rodrigo Grassi-Oliveira, Luis Augusto Rohde, Euripedes Constantino Miguel, Rodrigo A. Bressan, Andrea Parolin Jackowski

BACKGROUND: The brain-derived neurotrophic factor (BDNF) Val66Met polymorphism (rs6265) has been associated with several neuropsychiatric disorders and regional structural brain changes in adults, but little is known about Val66Met's effect on brain morphology during typical or atypical neurodevelopment. Windows of vulnerability to psychopathology may be associated with the different alleles of the Val66Met polymorphism during childhood and adolescence.

METHODOLOGY: We investigated the effect of Val66Met on cortical thickness in MRI scans of 718 children and adolescents (6-12 years old) with typical development, and in those meeting DSM criteria for a psychiatric disorder.

RESULTS: Val66Met had a significant effect on cortical thickness. Considering the typically developing group, Met-carriers presented thicker parietal and occipital lobes and prefrontal cortices compared to Val homozygotes. Met-carriers with psychiatric disorders presented thicker medial and lateral temporal cortices than Val homozygotes. Furthermore, a significant genotype × psychiatric diagnosis interaction was found: Met-carriers with a psychiatric diagnosis presented thinner bilateral prefrontal cortices than Val homozygotes.

CONCLUSION: This study provides evidence that Val66Met is associated with cortical maturation in children and adolescents with and without psychiatric disorders.

15.3.10 Artigo anexo #10 (resumo)

Publicado no periódico American Journal of Psychiatry

Fator de Impacto (2018)= 13.391

American Journal of Psychiatry

2018 Jun 1;175(6):555-563.

<https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2017.17050529>. Epub 2018 Mar 2.

Polygenic Risk Score for Alzheimer's Disease: Implications for Memory Performance and Hippocampal Volumes in Early Life.

Luiza K. Axelrud, Marcos L. Santoro, Daniel S. Pine, Fernanda Talarico, Ary Gadelha, Gisele G. Manfro, Pedro M. Pan, Andrea Jackowski, **Felipe Picon**, Elisa Brietzke, Rodrigo Grassi-Oliveira, Rodrigo A. Bressan, Eurípedes C. Miguel, Luis A. Rohde, Hakon Hakonarson, Zdenka Pausova, Sintia Belangero, Tomas Paus, Giovanni A. Salum.

OBJECTIVE: Alzheimer's disease is a heritable neurodegenerative disorder in which early-life precursors may manifest in cognition and brain structure. The authors evaluate this possibility by examining, in youths, associations among polygenic risk score for Alzheimer's disease, cognitive abilities, and hippocampal volume.

METHOD: Participants were children 6-14 years of age in two Brazilian cities, constituting the discovery (N=364) and replication samples (N=352). As an additional replication, data from a Canadian sample (N=1,029), with distinct tasks, MRI protocol, and genetic risk, were included. Cognitive tests quantified memory and executive function. Reading and writing abilities were assessed by standardized tests. Hippocampal volumes were derived from the Multiple Automatically Generated Templates (MAGeT) multi-atlas segmentation brain algorithm. Genetic risk for Alzheimer's disease was quantified using summary statistics from the International Genomics of Alzheimer's Project.

RESULTS: Analyses showed that for the Brazilian discovery sample, each one-unit increase in z-score for Alzheimer's polygenic risk score significantly predicted a 0.185 decrement in z-score for immediate recall and a 0.282 decrement for delayed recall. Findings were similar for the Brazilian replication sample (immediate and delayed recall, $\beta=-0.259$ and $\beta=-0.232$, both significant). Quantile regressions showed lower hippocampal volumes bilaterally for individuals with high polygenic risk scores. Associations fell short of significance for the Canadian sample.

CONCLUSIONS: Genetic risk for Alzheimer's disease may affect early-life cognition and hippocampal volumes, as shown in two independent samples. These data support previous evidence that some forms of late-life dementia may represent developmental conditions with roots in childhood. This result may vary depending on a sample's genetic risk and may be specific to some types of memory tasks.