

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
CURSO DE CIÊNCIAS MOLECULARES

PROJETO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA
CICLO AVANÇADO
TURMA: 18
SEMESTRE: 2º / ANO: 2010

Estudo do efeito da variação de atividade
motora na modulação da atividade de
áreas da default-mode network

Aluno: Paulo Rodrigo Bazán
n° USP: 6435191
E-mail: prbazan@uol.com.br

Orientador : Edson Amaro Junior
E-mail: eamaro@usp.br
Unidade: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
Depto: NIF Neuroimagem Funcional - LIM44, INRAD
Tel.: 3069-7619

Co-orientador: João Ricardo Sato
E-mail: jrsatobr@gmail.com
Unidade: Universidade Federal do ABC
Depto: Centro de Matemática, Computação e Cognição

Introdução

A ressonância magnética funcional é uma técnica que vindo sendo utilizada há vários anos e que teve um grande desenvolvimento durante a década de 90. Nessa época, acreditava-se que durante a realização de um paradigma (ex: olhar palavras exibidas em uma tela, memorizá-las e depois em uma nova série de palavras identificar quais estavam presentes na primeira lista), o indivíduo apresentaria apenas uma atividade maior nas regiões relacionadas com a tarefa realizada. Porém, observou-se que certas áreas de cérebro apresentam desativação com relação ao estado de repouso durante a realização de tarefas (Raichle and Snyder 2007). Além disso, essas áreas, não são reconhecidas como de um mesmo sistema (ex: motor, auditivo, etc). A partir disso, as regiões que apresentam essas desativações para uma série de tarefas foram denominadas de *default-mode network* (DMN).

Outra característica importante é a conectividade do estado de repouso (*resting state connectivity* - RSC) apresentada pela DMN. Essa conectividade é caracterizada pela correlação das flutuações de baixa frequência das séries temporais de diferentes regiões do cérebro. Sustenta-se a hipótese de que essas correlações representam variações sincronizadas da atividade neuronal (Birn, Murphy et al. 2008). Porém, variações na taxa e na profundidade de respiração influenciar os dados obtidos, pois apresentam oscilações em frequências similares às observadas na DMN. Dessa forma, uma análise cuidadosa dos dados é fundamental para a interpretação correta dos dados.

Recentemente, estudos de doenças de Alzheimer, de esquizofrenia e com indivíduos autistas mostram que as correlações da DMN nesses casos são diferentes das encontradas em indivíduos saudáveis (Birn, Murphy et al. 2008). Isso mostra a possível aplicação desta característica com um marcador biológico.

Apesar disso, ainda não se sabe ao certo quais são as funções da DMN, nem qual é a sua relação com o funcionamento geral do cérebro. Alguns estudos indicam que ela seja responsável por processos introspectivos, como julgamento moral, memória, pensamento prospectivo, entre outros (Harrison, Pujol et al. 2008).

Em busca de um melhor entendimento da DMN, pesquisas avaliando a modulação da atividade dessas regiões por diversos fatores, como a idade (Sambataro, Murty et al.), doenças de Parkinson (van Eimeren, Monchi et al. 2009), de Alzheimer (Greicius, Srivastava et al. 2004), transtorno de estresse pós-traumático (Bluhm, Williamson et al. 2009), depressão (Sheline, Barch et al. 2009), modulação por acupuntura (Dhond, Yeh et al. 2008), e por atividade induzida por estímulo (Northoff, Qin et al.).

Dentro dessa linha, e impulsionado por estudos que mostraram a participação de DMN na estimação temporal, e a modulação gerada por atividade motora na RSC, esta pesquisa visa avaliar a modulação da detecção de regiões da DMN com variância de atividade motora, estudando o efeito da previsibilidade dessa atividade. Dessa forma, buscamos um maior esclarecimento da função da DMN e mais especificamente sua relação com a atividade motora.

Motivação

Apesar de do grande número de estudos analisando a RSC e principalmente da DMN realizados nos últimos anos, ainda não ficou clara a relação entre a variação da atividade motora e a modulação da atividade das áreas da DMN. Alguns estudos avaliaram a participação da DMN na estimação temporal (Morillon, Kell et al. 2009). Outros estudos avaliaram a modulação da conectividade das regiões motoras durante o repouso e durante a realização de uma tarefa motora (Jiang, He et al. 2004; Newton, Morgan et al. 2007). Dessa forma, nos parece interessante propor um estudo para avaliar o efeito da previsibilidade da atividade motora na modulação da atividade das regiões da DMN.

Este estudo será importante para tentar esclarecer a participação das áreas da DMN na realização de uma tarefa motora, já que a função dessas regiões ainda não foi completamente compreendida. Ainda, alguns experimentos alternam a movimentação manual com repouso, e os pesquisadores que utilizam estes períodos de repouso para análise da DMN - porém não está claro o quanto o estado de preparação (neste caso,

condicionado pelo experimento) é modulador da resposta hemodinâmica. Por outro lado, essencialmente não se sabe exatamente qual é a natureza dos processos subjacentes a este sistema (DMN), que parece estar associado a processos introspectivos, como julgamento moral, memória, pensamento prospectivo, entre outros (Harrison, Pujol et al. 2008).

Principais Dificuldades Esperadas

Neste experimento esperamos encontrar alguma dificuldade em manter sob controle a condição de previsibilidade. É possível que este desenho experimental leve à aumento da previsibilidade, mesmo mantendo as condições variadas entre os trials. Esta dificuldade metodológica poderá ser sanada com seleção de momentos iniciais do experimento. Outras dificuldades gerais em relação à recursos materiais e humanos para o projeto não são especialmente desafiadores neste projeto. Pelo contrário, optamos por utilizar voluntários supostamente saudáveis nos experimentos, que não envolvem caráter invasivo, e tem risco mínimo de execução.

Hipóteses

Neste experimento esperamos que o efeito da previsibilidade cause uma maior atividade da DMN no intervalo entre estímulos, pois partimos da suposição que estas áreas estão envolvidas nos processos de introspecção e planejamento. Dessa forma esperamos que a DMN esteja mais presente e sua detecção seja mais fácil (consistência do sinal) nos experimentos com intervalo constante entre estímulos. Além disso, como intervalos maiores são mais difíceis de reconhecer, supõe-se que as regiões da DMN estarão menos ativadas nos casos em que intervalo for maior.

Outra hipótese é que as áreas da DMN que apresentarão maior atividade serão no vmPFC, pois esta região apresenta correlação negativa com a atenção temporal (Uddin, Kelly et al. 2009).

Objetivos

Objetivo geral:

- Estudar a relação das regiões da DMN com a atividade motora, avaliando efeito da variação dessa atividade na modulação da detecção de regiões da DMN, utilizando fMRI.

Objetivos específicos:

- Verificar o efeito da previsibilidade da atividade motora na modulação da DMN;
- Verificar o efeito que os diferentes intervalos entre estímulos produzem na modulação da DMN, avaliando a relação entre duração do intervalo e modulação da DMN.

Material e Métodos

O estudo proposto é prospectivo com voluntários normais e aleatorizados. É também um estudo unicêntrico.

Participantes:

Participarão deste estudo 20 pacientes normais. Este número poderá ser acrescido de até aproximadamente cerca de 10 pacientes, de acordo com comportamento da amostra em análise inicial. Para tal, serão avaliados os primeiros 10 indivíduos, e a partir de teste de diferença entre médias nas condições da tarefa (vide abaixo), o tamanho da amostra final deverá ser ajustado para um poder de 80%, assumindo uma diferença de 1,1 desvios-padrão entre as médias. O recrutamento dos participantes será realizado inicialmente por e-mail destinado a diversas pessoas com a indicação que encaminhem a seus contatos, de forma a abordar um número maior de pessoas e garantindo a aleatoriedade. Confirmando que o voluntário possui as características descritas no critério de inclusão e não apresenta nenhuma das apresentadas nos critérios de exclusão, o sujeito preencherá o consentimento informado e será marcado seu exame.

Características da Amostra: A população de interesse são pessoas normais com idade entre 18 e 40 anos, para evitar possíveis modulações associadas à idade, e que tenham nível de educação formal de pelo menos 8 anos.

Critérios de inclusão: Idade entre 18 - 40 anos; sem alteração neurológica conhecida; nível de educação primário – escolaridade mínima de 8 anos

Critérios de exclusão: voluntários que apresentem contra-indicação ao exame de Ressonância Magnética (marcapasso, neuroestimulador, clipe intracraniano, implante coclear etc); voluntários com história de epilepsia, neurocirurgia, trauma

craniano ou outras alterações neurológicas; paciente com dependência química; doença orgânica grave não controlada que possa interferir na condução do estudo, como neoplasias, cardiopatias, patologias digestivas, diabetes mellitus tipo I ou tipo II; presença de lesões em parênquima encefálico nas imagens estruturais; presença de artefatos de dentística que causem distúrbios no campo magnético ou quaisquer fontes de variação da susceptibilidade magnética; qualquer outra condição que na opinião do investigador responsável torne problemática a inclusão do voluntário em um ensaio com dessa natureza, assim como voluntários que não aderem ou não cooperam.

Instrumentos de seleção e diagnóstico: será realizada uma entrevista estruturada para averiguar antecedentes neurológicos / psiquiátricos. Será aplicado o questionário SRQ20 para descartar doenças psiquiátricas mais prevalentes e utilizado o inventário de Beck para Depressão. Para análise de índice de dextridade será utilizado o questionário de Edinburgo.

Exame de Imagem:

A imagem será obtida com a ressonância magnética funcional (sinal BOLD) dos voluntários no estado de repouso e realizando o *finger-tapping* de acordo com os procedimentos explicados abaixo. Utilizaremos um sistema de Ressonância Magnética 3.0 T (Achieva - Philip, Holanda), gradiente de 50 mT/m, bobina de 8 canais. Este equipamento é auferido por controle de qualidade diário do comportamento da máquina ao longo da coleta dos dados deste estudo. Os voluntários estarão deitados na máquina de ressonância, olhando para cima, visualizando a tela onde aparecerão os sinais para realizar um movimento de oposição, aqui denominado de *finger-tapping*: movimento de pinça entre o polegar e demais dedos, realizado sequencialmente uma vez a partir do dedo indicador até o dedo mínimo.

Aquisição das Imagens:

1. Localização 1: seqüência de localização em 3 planos, com 3 cortes em cada um, TR= 86s, TE= 4s , t= 0:37s, Matrix 256 x 128, Espessura: 7 mm, Espaçamento: 1mm.
2. Localização 2: seqüência sagital FSE T2, com 6 cortes, TR= 200s , TE= 93s, Matrix 512 x 128, Espessura: 5 mm, Espaçamento: 0,7 mm., , t=0:20s. Orientada a partir do localizador coronal ou axial de maior desvio em relação ao posicionamento ideal, no intuito de corrigi-lo.
3. Volumétrica SPGR com aquisição axial, TR= 20 s, TE= 3 s , Matriz: 256 x 192, FOV 22, Flip: 20, Espessura: 1,0 mm com 124 níveis incluindo todo o segmento cefálico, t=6:20s.
4. EPI GRE T2 – BOLD: TR 2000, TE 40, voxels isotrópicos de 3 mm, 41 fatias, SENSE factor de 2,3, total de aquisição 200 volumes, desprezando os primeiros 4 TR's, referentes ao decaimento do sinal.

Procedimento:

Cada paciente realizará 5 experimentos. Um no estado de repouso (controle) e 4 realizando o finger-tapping de acordo com uma indicação visual. Em 3 desses runs o intervalo entre estímulos (ISI) será constante, sendo um dos runs com ISI de 8s, outro com 10s e o último com 12s. O quarto experimento apresentará ISI variável, de acordo com a distribuição de Poisson. Em cada um dos experimentos com finger-tapping, o sujeito receberá 15 vezes o sinal visual para apertar o botão. Dessa forma, o run com ISI de 8s deve durar 2,5min, o com ISI de 10s deve durar 3min, o com ISI de 12s deve durar 3,5min e o teste do com ISI variável deve durar 3,2min.

Treinamento: será realizado antes dos exames para prepará-lo para o finger-tapping. O paciente receberá a informação de que ao ver o sinal deverá apertar o botão, mas não será avisado do padrão de exibição do sinal. Ao final do experimento perguntaremos aos sujeitos se eles identificaram algum padrão de exibição nos diversos experimentos. Dessa forma, o tempo

total para a coleta de dados de um voluntário deve ser de 50min. Durante todos os experimentos, serão medidas as frequências cardíacas dos voluntários e suas taxas de respiração. Esses dados serão utilizados para avaliar e retirar a influência da taxa de respiração e dos batimentos cardíacos no sinal BOLD obtido.

Análise estatística

Aplicaremos a técnica de análise de componentes independentes (ICA).

O ICA é um método estatístico que decompõe uma base de dados de variáveis não gaussianas em componentes independentes (Hyvärinen and Oja 2000). Dessa forma os dados obtidos na ressonância, que são formados por uma “mistura” de diversas componentes, passam por um processo de remoção da correlação, de forma a encontrarmos as subunidades independentes.

Podemos expressar os dados obtidos na seguinte relação:

$$x = Ay,$$

ou

$$y = Wx,$$

onde x é um vetor com os dados obtidos, y é um vetor que apresenta as componentes independentes e A é a matriz que “mistura” os dados em y de forma a obter x e W é a matriz inversa de A .

Fazendo a seguinte mudança de variáveis:

$$z = A^T w$$

e

$$q = w^T x,$$

onde w é um vetor a ser determinado, então:

$$q = w^T x = w^T Ay = z^T y.$$

Partindo do fato que uma mistura de variáveis independentes é mais gaussiana que as variáveis originais (Teorema do limite central), vemos que

para minimizar a distribuição gaussiana apenas uma das componentes do vetor z será diferente de 0 (assumindo que as componentes do vetor y apresentem uma distribuição idêntica), pois como q expressa a mistura de y , sua distribuição será no mínimo tão gaussiana quanto uma única componente. Assim uma das componentes independentes é encontrada. Para encontramos outras componentes, basta encontrar os máximos locais da otimização da distribuição não gaussiana no espaço n -dimensional dos vetores w .

No caso dos dados obtidos por fMRI, ainda podemos adaptar a relação inicial o o fator do ruído gaussiano (Beckmann, DeLuca et al. 2005):

$$x = Ay + n,$$

onde y é o vetor dos sinais das fontes não gaussianas e n é o vetor do ruído gaussiano.

Neste estudo, utilizaremos o software FSL (FMRIB software library), mais especificamente a ferramenta Melodic (<http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/melodic/>), assim como Birn, Murphy et al., 2008. Esse software fornece uma boa base de ferramentas para aplicação do estudo e é um programa amplamente utilizado nos estudos de fMRI que utilizam o ICA.

Ética

O estudo será conduzido de acordo com os requerimentos do comitê de ética do IIEP e também baseado nas recomendações estabelecidas na Declaração de Helsinki (1964), conforme emenda em Tóquio (1975), Veneza (1983) e Hong-Kong (1989).

Todos os voluntários sadios terão pleno conhecimento dos objetivos e métodos do experimento e deverão dar seu consentimento por escrito (termo de consentimento livre e esclarecido). Serão devidamente avisados de que todas as informações fornecidas são estritamente sigilosas.

Cronograma

A depender da disponibilidade, estimado em 12 meses.

	Bimestre 1	Bimestre 2	Bimestre 3	Bimestre 4	Bimestre 5	Bimestre 6
Revisão da Literatura	x			x		X
Seleção dos participantes	x	X				
Coleta de dados	x	X				
Análise de dados	X	X	X	x	x	X
Submissão para Publicação						X

A partir dos resultados obtidos, novos estudos serão propostos, dando continuidade ao projeto de iniciação científica.

Pessoal envolvido

Médicos radiologistas e biomédicos: para análise das imagens estruturais, e aquisição das imagens, respectivamente.

Custo

Horário de máquina RM: Será utilizado o horário de pesquisa do equipamento de 3T, dedicado à projetos como este

Processamento das imagens: será realizado pelo pesquisador; recursos computacionais providos pelo Departamento de Radiologia

Estatística: será realizado pelo pesquisador; recursos computacionais providos pelo Departamento de Radiologia

Armazenamento de dados: recursos providos pelo Departamento de Radiologia

Resultados esperados

Publicação em literatura especializada. Divulgação intra-mural e extra-mural em mídia eletrônica. Participação dos resultados em congressos.

Riscos envolvidos

Não há riscos para os participantes, ambientais ou de biossegurança envolvidos.

Infra-estrutura necessária

Utilizaremos o aparelho de ressonância magnética de 3.0 T do Departamento de Radiologia, que também conta com equipamentos de para monitoramento cardíaco e de taxa de respiração compatíveis com ambiente de ressonância magnética. Os programas para análise computacional dos dados e ferramentas necessárias para análise estatística e de edição para publicação serão fornecidos pelo Departamento.

Responsabilidades

Pesquisador: garantir a legitimidade dos dados, promover para que todas as fases do estudo sejam realizadas de acordo com o cronograma,

coordenar os demais pesquisadores envolvidos, responder quaisquer dúvidas dos participantes, e enviar o resultado para publicação.

Instituição: garantir as condições para que o estudo seja realizado conforme o que se propõe, fornecer condições (tempo e recursos primários de funcionamento) para utilização dos equipamentos descritos, permitir o acesso dos voluntários ao local da pesquisa e dispor de recursos de comunicação.

Patrocinador: garantir que os recursos financeiros necessários a esta pesquisa estejam disponíveis nas diversas etapas.

Divulgação Pública

Os resultados deste estudo serão publicados em revista indexada, além de divulgados em congressos e cursos intra ou extra institucionais.

Referências

- Beckmann, C. F., M. DeLuca (2005). "Investigations into resting-state connectivity using independent component analysis." *Phil. Trans. R. Soc. B* 360, 1001-1013.
- Birn, R. M., K. Murphy, et al. (2008). "The effect of respiration variations on independent component analysis results of resting state functional connectivity." *Hum Brain Mapp* 29(7): 740-50.
- Bluhm, R. L., P. C. Williamson, et al. (2009). "Alterations in default network connectivity in posttraumatic stress disorder related to early-life trauma." *J Psychiatry Neurosci* 34(3): 187-94.
- Dhond, R. P., C. Yeh, et al. (2008). "Acupuncture modulates resting state connectivity in default and sensorimotor brain networks." *Pain* 136(3): 407-18.
- Greicius, M. D., G. Srivastava, et al. (2004). "Default-mode network activity distinguishes Alzheimer's disease from healthy aging: evidence from functional MRI." *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(13): 4637-42.
- Harrison, B. J., J. Pujol, et al. (2008). "Consistency and functional specialization in the default mode brain network." *Proc Natl Acad Sci U S A* 105(28): 9781-6.
- Hyvärinen, A. and E. Oja (2000). "Independent Component Analysis: Algorithms and Applications." *Neural Networks*, 13(4-5):411-430.
- Jiang, T., Y. He, et al. (2004). "Modulation of functional connectivity during the resting state and the motor task." *Hum Brain Mapp* 22(1): 63-71.
- Morillon, B., C. A. Kell, et al. (2009). "Three stages and four neural systems in time estimation." *J Neurosci* 29(47): 14803-11.
- Newton, A. T., V. L. Morgan, et al. (2007). "Task demand modulation of steady-state functional connectivity to primary motor cortex." *Hum Brain Mapp* 28(7): 663-72.

- Northoff, G., P. Qin, et al. "Rest-stimulus interaction in the brain: a review." Trends Neurosci **33**(6): 277-84.
- Raichle, M. E. and A. Z. Snyder (2007). "A default mode of brain function: a brief history of an evolving idea." Neuroimage **37**(4): 1083-90; discussion 1097-9.
- Sambataro, F., V. P. Murty, et al. "Age-related alterations in default mode network: impact on working memory performance." Neurobiol Aging **31**(5): 839-52.
- Sheline, Y. I., D. M. Barch, et al. (2009). "The default mode network and self-referential processes in depression." Proc Natl Acad Sci U S A **106**(6): 1942-7.
- Uddin, L. Q., A. M. Kelly, et al. (2009). "Functional connectivity of default mode network components: correlation, anticorrelation, and causality." Hum Brain Mapp **30**(2): 625-37.
- van Eimeren, T., O. Monchi, et al. (2009). "Dysfunction of the default mode network in Parkinson disease: a functional magnetic resonance imaging study." Arch Neurol **66**(7): 877-83.

Disciplinas que pretendo cursar no ciclo avançado:

SEMESTRE	SIGLA	NOME DA DISCIPLINA	CRÉDITOS
Primeiro	4300204	Física Matemática I	6
	BMA0112	Neuroanatomia Humana	4
	MAE0212	Introdução à Probabilidade e Estatística II	4
	BMB0114	Neurofisiologia	6
	CCM0318	Iniciação à Pesquisa I	12
Segundo	4300404	Atenção e memória	6
	MAE0328	Análise de Regressão	4
	MDR5723	Percepção ação	6
	PSC0356	Neurociência e aprendizagem	5
	CCM0328	Iniciação à Pesquisa II	12
Terceiro	MAE0325	Séries Temporais	4
	MAE0330	Análise Multivariada de Dados	6
	MNE5754	Bases da Ressonância Magnética Funcional*	6
	CCM0418	Iniciação à Pesquisa III	12
Quarto	5945835	Neurobiologia do Desenvolvimento I: Tópicos em Migração Neuronal *	6
	NEC5745	Fisiologia de membranas	4
	CCM0428	Iniciação à Pesquisa IV	12
*matérias de pós-graduação		Total:	115

Outras disciplinas de interesse, caso alguma da grade acima tenha que ser substituída por questão de oferecimento:

SIGLA	NOME DA DISCIPLINA	CRÉDITOS
MFT0741	Linguagem, Cognição e Desenvolvimento Neuropsicomotor	2
RCG0167	Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto Disciplinas Interdepartamentais da FMRP Eletrofisiologia e Canais Iônicos	3
BMB5748	Estudo da Circuitaria Neural*	6
BMB5788	Comunicação Celular no Sistema Nervoso*	6
5945835	Neurobiologia do Desenvolvimento I: Tópicos em Migração Neuronal*	6
PSI5788	Redes de Neurônios Artificiais com Bifurcação e Dinâmica Caótica*	6
QBQ2508	Instituto de Química Transporte e Sinalização Celular	2
*matérias de pós-graduação		