



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA

Av. Marechal Campos, 1468, Maruípe, Vitória – ES
Cep 29040-090 Tel: 027 3335 7215 Fax: 027 3335 7270

ADRIANO DANIEL PERES MORGADO

**VOLUMES CORTICAL E SUBCORTICAL COMO
PREDITORES DO DESEMPENHO COGNITIVO EM
ALCOOLISTAS: UM ESTUDO DE SEGUIMENTO DE 6 ANOS**

VITÓRIA

2017

ADRIANO DANIEL PERES MORGADO

**VOLUMES CORTICAL E SUBCORTICAL COMO
PREDITORES DO DESEMPENHO COGNITIVO EM
ALCOOLISTAS: UM ESTUDO DE SEGUIMENTO DE 6 ANOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Medicina.

Orientador: Prof.^a Dra. Ester M. Nakamura-Palacios

VITÓRIA

2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

Morgado, Adriano Daniel Peres, 1984

Volumes cortical e subcortical como preditores do desempenho cognitivo em alcoolistas: um estudo de seguimento de 6 anos

/ Adriano Daniel Peres Morgado. – 2017

56 f.

Orientadora: Ester M. Nakamura-Palacios

Dissertação (Mestrado Profissional em Medicina) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Alcoolismo. 2. Substância cinzenta. 3. Volumetria. 4. Acompanhamento. 5. Ressonância Magnética. I. Ester M. Nakamura-Palacios. II. Universidade Federal do Espírito. Centro de Ciências da Saúde. IV. Título

CDU:

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA

“Volumes cortical e subcortical como preditores do desempenho cognitivo em alcoolistas: um estudo de seguimento de 6 anos”

Adriano Daniel Peres Morgado

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Medicina.

Aprovada por:

Profa. Dra. Ester Miyuki Nakamura-Palacios
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientadora

Prof. Dr. Marcos Rosa Júnior
Universidade Federal do Espírito Santo
Membro Interno

Prof. Dr. Felipe Torres Pacheco
Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo
Membro Externo

Vitória-ES, 24 de novembro de 2017.

Agradeço

A Deus por tornar tudo possível,

Aos pacientes e seus familiares que concordaram em participar deste estudo,

Aos meus amigos de residência e alunos de graduação da UFES por sua colaboração,

Aos técnicos e funcionários da radiologia pelos encaixes dos exames e compreensão,

Ao colega Dr. Ronaldo de Oliveira Jr. por sua contribuição na convocação dos pacientes,

À Prof. Dra. Maria da Penha Z. Gomes pelo treinamento oferecido e atenção dispensada,

Ao Dr. Rodrigo Stênio Moll de Souza pelo incentivo e suporte imensuráveis,

À Profª. Dra. Ester M. Nakamura-Palacios por ter me orientado e apoiado nessa empreitada,

À minha esposa Nayara pela compreensão e companheirismo,

Aos meus irmãos, Rodrigo e Ivana, por sempre torcerem por mim,

Aos meus pais, Ivan e Adamyres, pelo amor e apoio incondicionais.

RESUMO

O consumo do álcool provou resultar em atrofia cerebral e deficiência cognitiva, mas como as mudanças em estruturas específicas do cérebro estariam relacionadas as alterações cognitivas é incerta. O estudo explorou alterações do volume da substância cinzenta cortical e subcortical após um intervalo de 6 anos e sua relação com alterações executivas frontais e estado mental cognitivo global. Segmentação cortical e subcortical e correções de imagens de ressonância magnética (1,5 T) adquiridas em 2010 (T1) e 2016 (T2) de 16 alcoolistas (14 homens, idade média 49,8 anos \pm 8.5 DP em T1 e 55.7 anos \pm 8.4 DP em T2) com uso prolongado de álcool (média de 29,8 a 34,7 anos) foram realizados com o FreeSurfer. Os resultados mostraram redução global dos volumes de substância cinzenta e mais especificamente em regiões cerebrais, principalmente de áreas pré-frontais, estruturas subcorticais e córtex do cerebelo, altamente relacionadas à função executiva e à condição de dependência. Mais importante ainda, a redução ao longo do intervalo de 6 anos dos volumes de substância cinzenta do polo frontal direito ($p < 0,01$) e do córtex cerebelar esquerdo ($p < 0,05$) foi preditiva de mudanças no desempenho executivo frontal e a redução do volume do putamen foi preditivo ($p < 0,05$) de mudanças do estado cognitivo global em alcoólatras. Sugerimos que a combinação de análise volumétrica da substância cinzenta de áreas cerebrais específicas com um breve exame da performance frontal executiva e do estado cognitivo global no decorrer do uso de álcool pode ser clinicamente relevante para determinar o grau de comprometimento executivo e cognitivo no alcoolismo.

Palavras-chave: Alcoolismo, Substância cinzenta, Volumetria, Acompanhamento, Ressonância Magnética.

ABSTRACT

Alcohol use has been long proven to result in brain atrophy and cognitive deficiencies, but how changes of specific brain structures would be related to these cognitive changes remains unclear. This study explored changes of gray matter cortical and subcortical volumes of alcoholics after 6-years interval and their relation to changes of frontal executive and global cognitive mental status. Cortical and subcortical segmentation and corrections of magnetic resonance (1.5 T) images acquired in 2010 (T1) and 2016 (T2) from 16 alcoholics (14 males, mean age 49.8 years \pm 8.5 SD in T1 and 55.7 years \pm 8.4 SD in T2) with long-term use of alcohol (mean of 29.8 to 34.7 years) were performed using FreeSurfer. Results showed global reduction of gray matter volumes and more specifically in brain regions, mostly from prefrontal areas, subcortical structures and cerebellum cortex, highly related to the executive function and drug dependence condition. More importantly, reduction over the 6-year interval of gray matter volumes of right frontal pole ($p < .01$) and left cerebellar cortex ($p < .05$) were predictive of changes of frontal executive performance, and reduction of right putamen gray matter volume was predictive ($p < .05$) of changes of global cognitive mental status in alcoholics. We suggest that combination of volumetric analysis of gray matter from specific brain areas with brief examination of frontal executive and global cognitive mental status over the course of alcohol use may be clinically relevant to determine the degree of executive and cognitive commitment in alcoholism.

Key Words: Alcoholism, Gray Matter, Volumetry, Follow-up, Magnetic Resonance.

LISTA DE ABREVIATURAS

CCS= Centro de Ciências da Saúde

DP= desvio padrão

ES= Espírito Santo

FAB= Bateria de avaliação frontal

Fig.= figura

FOV= campo de visão (definido normalmente em unidades de cm²).

GE= General Eletric

HUCAM= Hospital Universitário Cassiano Antônio de Moraes

Hz= Hertz

MEEM= miniexame do estado mental

RM= ressonância magnética

T= tesla

T1= exame de base

T2= exame de seguimento

TC= tomografia computadorizada

TE= tempo de eco (representa o tempo em milissegundos entre a aplicação do pulso de 90 ° e o pico do sinal de eco em sequências de pulsos spin-eco e inversão-recuperação).

TI= tempo de inversão (período de tempo entre a inversão do pulso de 180° e do pulso de excitação de 90° em uma sequência de pulsos de inversão-recuperação).

TR= tempo de repetição (a quantidade de tempo que existe entre sequências de pulsos sucessivos aplicados à mesma fatia)

UFES= Universidade Federal do Espírito Santo

vic= volume intracraniano

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Exames de pneumoencefalografia em pacientes alcoolistas exibindo à esquerda dilatação ventricular de grau acentuado e simétrico associada a atrofia cortical difusa de grau médio e, na imagem à direita, dilatação ventricular discreta com atrofia cortical difusa de grau médio.

Figura 2 – Fluxograma do protocolo experimental.

Figura 3 – Volumes da substância cinzenta (mm^3) normalizado para o volume intracraniano (vic em mm^3) do (A) córtex pré-frontal (CPF) e lobos temporal (TEMP), parietal (PAR) e occipital (OCC), e; (B) separados em hemisférios esquerdo e direito, em 16 alcoolistas examinados em 2010 (T1) e seis anos depois, em 2016 (T2), cuja segmentação foi obtida por reconstrução automática do córtex cerebral pelo programa FreeSurfer de dados de imagem de ressonância magnética de alta resolução em T1. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$ (teste t pareado corrigido para comparações múltiplas de Bonferroni).

Figura 4 – Imagens das médias dos cérebros dos alcoolistas ($n = 16$) obtidas através da segmentação por reconstrução automática do córtex cerebral pelo programa FreeSurfer de dados de imagem de ressonância magnética de alta resolução realizadas em 2010 (T1) e em 2016 (T2) em suas faces lateral e medial dos hemisférios esquerdo (E) e direito (D). E: 1 = frontal superior, 2 = pré-central, 3 = pós-central, 4 = supramarginal, 5 = parietal inferior, 6 = *pars orbitalis*, 7 = orbital frontal lateral, 8 = temporal inferior, 9 = occipital lateral, 10 = lingual; D: 11 = pós-central, 12 = *pars triangularis*, 13 = occipital lateral, 14 = orbital frontal lateral, 15 = polo frontal, 16 = orbital frontal medial, 17 = istmo do cíngulo, 18 = lingual. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$ (teste t pareado corrigido para comparações múltiplas de Bonferroni).

Figura 5 – Análises de Regressão Linear entre as diferenças (T2 – T1, sendo T1 avaliação realizada em 2010 e T2 realizada em 2016) do desempenho da (a.) bateria de avaliação frontal (FAB), em um subgrupo de alcoolistas (n = 8) que apresentaram pontuações igual ou menores em T2 ($T2 \leq T1$) e em outro subgrupo (n = 8) cujos alcoolistas apresentaram pontuações maiores em T2 ($T2 > T1$) e (b.) função cognitiva global (MEEM) em um subgrupo de alcoolistas (n = 11) que apresentaram pontuações igual ou menores em T2, e as diferenças dos volumes (a.) da substância cinzenta do polo frontal direito e do córtex cerebelar esquerdo e (b.) do putamen direito. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características sociodemográficas, padrão de consumo de álcool e desempenho cognitivo global e executivo em alcoólatras (n = 16) examinados em 2010 (T1) e 2016 (T2).

Tabela 2 - Volumes (mm³) dos segmentos frontais normalizados pelo volume intracraniano total (mm³) em alcoólatras examinados em 2010 (T1) e em 2016 (T2). Divisões do córtex pré-frontal (de acordo com Desikan e colaboradores, 2006).

Tabela 3 - Volumes (mm³) dos segmentos temporais, parietais e occipitais normalizados pelo volume intracraniano total em alcoólatras (n = 16) examinados em 2010 (T1) e 2016 (T2).

Tabela 4 - Volumes (mm³) de substância cinzenta subcortical e outros segmentos corticais normalizados pelo volume intracraniano total (mm³) em alcoólatras (n = 16) examinados em 2010 (T1) e 2016 (T2).

Tabela 5 – Performance no FAB em T2 igual ou menor que T1 relacionado às diferenças de volumes de estruturas cortical e subcortical em alcoólatras (n=8).

Tabela 6 - Performance no FAB em T2 maior que T1 relacionado às diferenças de volume de estruturas cortical e subcortical em alcoólatras (n=8).

Tabela 7 – Performance no MEEM em T2 igual ou menor que T1 relacionado às diferenças de volume de estruturas cortical e subcortical em alcoólatras (n=11).

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
	1.1 Alcoolismo.....	14
	1.2 Testes cognitivos em alcoolistas.....	15
	1.3 Morfometria cerebral em alcoolistas.....	16
2	OBJETIVOS	20
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
	3.1 Pacientes.....	21
	3.2 Aquisição das imagens.....	22
	3.2.1 Exame base (T1)	22
	3.2.2 Seguimento (T2)	23
	3.3 Confiabilidade intescanner.....	23
	3.4 Pós-processamento e análise das imagens.....	24
	3.4.1 Composição das estruturas analisadas.....	25
	3.5 Análise dos resultados.....	26
4	RESULTADOS.....	27
	4.1 Característica sociodemográficas.....	28
	4.2 Padrão do uso do álcool.....	28
	4.3 Testes cognitivos.....	28
	4.4 Ressonância magnéticas estrutural e segmentação.....	29
	4.4.1 Segmentação frontal.....	29
	4.4.2 Segmentação temporal, parietal e occipital.....	33
	4.4.3 Segmentação substância cinzenta subcortical e outros.....	35
	4.4.4 Análise de regressões lineares múltiplas.....	36
	4.4.4.1 FAB.....	36
	4.4.4.1.1 Desempenho em T2 igual ou inferior ao de T1.....	36
	4.4.4.1.2 Desempenho em T2 superior ao de T1.....	38
	4.4.4.2 MEEM.....	39
	4.4.4.2.1 Desempenho em T2 igual ou inferior ao de T1.....	39
	4.4.4.2.2 Desempenho em T2 superior ao de T1.....	39
5	DISCUSSÃO.....	40
	5.1 Taxas de atrofia.....	40
	5.2 Relação volumetria cerebral e performance no FAB.....	41

5.3	Relação volumetria cerebral e performance no MEEM.....	44
5.4	Limitações do estudo.....	45
6	CONCLUSÃO.....	46
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
ANEXO 1	53
ANEXO 2	54
ANEXO 3	55
ANEXO 4	56

1. INTRODUÇÃO

1.1 Alcoolismo

O consumo de álcool é um grave problema de saúde pública na atualidade e a proteção das populações através da prevenção e redução do uso nocivo dessa substância é uma prioridade da saúde pública e um dos objetivos da Organização Mundial de Saúde (1). Define-se como "uso nocivo" o ato de beber que causa consequências prejudiciais sociais e à saúde do indivíduo, às pessoas ao seu redor e para a sociedade em geral, bem como os padrões de consumo que estão associados com o aumento do risco de efeitos adversos (2).

O álcool é uma substância psicoativa com propriedades capazes de produzir dependência. O consumo e os problemas relacionados ao álcool variam amplamente em todo o mundo, mas as taxas de alcoolismo e de morte relacionada permanecem significativas na maioria dos países (2). O uso nocivo do álcool está entre os cinco principais fatores de risco para doenças, incapacidades e morte em todo o mundo (3, 4). É um fator causal de mais de 200 doenças e condições de lesão (5). O consumo de álcool está associado a um risco de desenvolvimento de problemas de saúde como a dependência, cirrose hepática, cânceres e lesões a diversos órgãos (6). As últimas relações causais sugeridas por pesquisas são aquelas entre o consumo de álcool e a incidência de doenças infecciosas como tuberculose e HIV / AIDS (7, 8, 9), bem como entre o uso nocivo do álcool e o curso do HIV / AIDS (10).

Estima-se que cerca de 2 bilhões de pessoas em todo o mundo consumam bebidas alcoólicas e que 76,3 milhões tenham diagnóstico de transtorno mental e façam uso de álcool, que é responsável por 4% do total de anos de vida útil perdidos (11). Estatísticas da Organização Mundial de Saúde demonstram que 3,3 milhões de mortes sejam atribuídas ao consumo de álcool, mesmo quando o impacto benéfico de padrões de consumo de baixo risco de uso do álcool em algumas doenças é levado em conta. Assim, o uso nocivo de álcool representa 5,9% de todas as mortes em todo o mundo (2).

O uso nocivo do álcool também pode ter sérias consequências sociais e econômicas

para as pessoas que convivem com o alcoolista e para a sociedade em geral, tais como ausência no trabalho, aumento da violência, danos conjugais e abuso infantil (12).

1.2 Testes cognitivos em alcoolistas

O alcoolismo crônico é conhecido por prejudicar o desempenho de uma variedade de funções cognitivas (13). Trivedi e colaboradores relataram que até 75% dos alcoolistas desintoxicados têm algum tipo de distúrbio cognitivo ou de memória (14). Atenção, memória de trabalho, habilidades visuoespaciais, funções executivas e fluência verbal têm se mostrado prejudicadas com o alcoolismo (15, 16).

Pacientes alcoolistas experimentam um padrão relativamente bem documentado de declínio nas funções cognitivas e motoras, uma vez que este assunto tem sido objeto de estudo e mensuração através de testes clínicos há mais de 4 décadas (17).

Um dos testes utilizados é o miniexame do estado mental (MEEM) que consiste em um grupo de 11 perguntas e testes simples que são administrados ao paciente e se propõe a avaliar cinco áreas da função cognitiva: orientação, registro, atenção e cálculo, memória e linguagem (18). Este método tem sido aplicado afim de demonstrar os efeitos deletérios da intoxicação aguda e do consumo pesado do álcool, bem como os efeitos protetores do consumo leve a moderado a longo prazo (19,20).

Já a bateria de avaliação frontal (FAB) é uma série de testes desenvolvida por Dubois e colaboradores com o objetivo de analisar seis domínios das funções executivas: conceituação (conceituar as relações entre dois objetos da mesma categoria), flexibilidade mental, programação motora, sensibilidade à interferência, controle inibitório e autonomia do ambiente (21). E, assim como o MEEM, é utilizado como ferramenta para mensurar os efeitos do álcool (22,23).

Em um estudo de seguimento (24), os pacientes foram contatados, novamente, dois meses após a primeira avaliação, para reavaliação dos que mantiveram abstinência e dos que recaíram durante o período. Foi observado que, dos 20 dependentes de álcool, onze recaíram e nove se mantiveram abstinentes. Quanto aos resultados, os pesquisadores constataram que os pacientes que recaíram neste período mostraram,

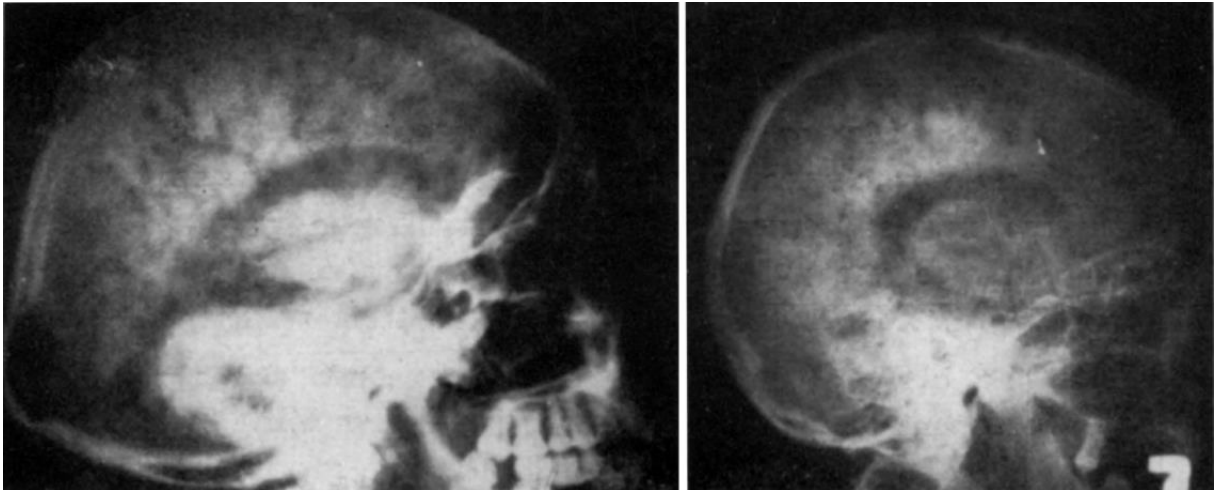
à época da desintoxicação, pior desempenho nos testes que envolviam a inibição do comportamento e a memória operacional, assim como já exibiam maiores alterações frontais em relação aos que se mantiveram abstinentes.

Portanto, os déficits cognitivos encontrados nos dependentes de álcool, principalmente das funções executivas (frontais), têm implicação direta no tratamento, tanto para a escolha de estratégias a serem adotadas como para a análise do prognóstico. Acredita-se que a avaliação neuropsicológica é muito importante para a detecção e avaliação da progressão dessas alterações e que a reabilitação cognitiva tem papel relevante na recuperação dos déficits e reinserção psicossocial destes pacientes (25).

1.3 Morfometria cerebral em alcoolistas

O tamanho do cérebro humano é tópico frequente de estudo nos campos da anatomia e evolução, sendo que os primeiros estudos em pacientes alcoolistas foram realizados nos anos 30 pela medida do peso através da análise *post mortem* (26), com subsequente introdução dos métodos de imagem por pneumoencefalografia (27), tomografia computadorizada (TC) (28) e ressonância magnética (RM) (29).

No que tange a morfometria cerebral através de exames de imagem em alcoolistas os primeiros estudos consistentes de pneumoencefalografia datam da década de 70, que era utilizada para identificar e medir o alargamento ventricular. Tratava-se de uma técnica invasiva e com alto grau de desconforto, pois consistia na injeção de ar nos ventrículos cerebrais que se mostravam mais escuros que o restante das estruturas intracranianas nas projeções radiográficas, como verificado na figura 1 (30, 31).



Fonte: Barini O. Arq. Neuro-Psiquiatr 1959.

Figura 1 – Exames de pneumoencefalografia em pacientes alcoolistas exibindo à esquerda dilatação ventricular de grau acentuado e simétrico associada a atrofia cortical difusa de grau médio e, na imagem à direita, dilatação ventricular discreta com atrofia cortical difusa de grau médio.

A introdução da tomografia computadorizada permitiu que houvesse grande aumento da sensibilidade da detecção da atrofia cerebral em alcoolistas no início da década de 80 (28).

Com o avanço das técnicas radiológicas foi desenvolvida a ressonância magnética, com imagens de alta resolução, permitindo detalhamento de pequenas alterações, inclusive milimétricas do parênquima encefálico, delineando processos atróficos, fornecendo detalhes importantes quanto a localização e alterações funcionais (32).

Técnicas de análises quantitativas possibilitaram estudar em três dimensões o cérebro dos pacientes alcoolistas, permitindo com isso a mensuração e comparação do volume de todo o cérebro e das estruturas cerebrais individuais (33). Estes estudos volumétricos, combinados com especificidade anatômica e morfometria acurada de poderosas ferramentas para análise automatizada do cérebro humano como o Freesurfer (34), conduziram a elaboração de algumas hipóteses sobre a susceptibilidade à toxicidade alcoólica em cada região e correlações com testes psicométricos (32).

Inicialmente estudos transversais demonstraram que a atrofia da substância cinzenta ocorre principalmente em algumas regiões específicas como o córtex frontoparietal, lobo temporal mesial e núcleo caudado (35). Em seguida, foi demonstrada a relação entre a suscetibilidade do cérebro idoso e a atrofia da substância cinzenta decorrente

do alcoolismo (36).

Outros estudos transversais de morfometria cerebral com base em ressonância magnética de indivíduos dependentes de álcool que procuram tratamento durante abstinência precoce de álcool (isto é, de 1 semana a 1 mês de abstinência), mostraram consistentemente que a perda de volume regional de substância cinzenta é mais proeminente no lobo frontal anterior, no lobo parietal posterior, no giro do cíngulo, na ínsula, no hipocampo e no cerebelo (37). A perda de volume da substância branca no abstinentes recente é relatada em todos os quatro lobos, particularmente na substância branca frontal (38).

Estes modelos de trabalho demonstraram que outras diferenças individuais tais como gênero interferem com o resultado das pesquisas, uma vez que estudos radiológicos têm evidenciado que para um equivalente grau de atrofia, as mulheres têm um histórico mais curto e com menores doses de bebida alcoólica, sugerindo que o sexo feminino seja mais suscetível ao dano cerebral pelo álcool (39,40).

O passo seguinte consistiu no acompanhamento dos pacientes alcoolistas através de modelos de estudos longitudinais, tendo como primeiro trabalho mais robusto o desenvolvido por Pfefferbaum e colaboradores, no qual alcoolistas crônicos foram acompanhados por 5 anos, evidenciando que a taxa de atrofia frontal está correlacionada com a quantidade de álcool consumida ao longo do tempo (41).

Trabalhos subsequentes com acompanhamento de pacientes alcoolistas em tratamento demonstraram níveis variáveis de recuperação regional de volume de substância branca e cinzenta durante o primeiro ano de abstinência mantida (42,43). Embora os alcoolistas demonstrem recuperação de volume regional com sobriedade mantida, a maioria dos alcoolistas continua a demonstrar volumes significativamente menores em regiões cerebrais múltiplas após 6-12 meses de abstinência em comparação com os controles (38, 42).

Durazzo e colaboradores demonstraram recuperação significativa de volumes regionais de substância branca e cinzenta durante 7,5 meses de abstinência, sendo que a taxa de mudança de volume para substância branca regional foi maior durante os primeiros 30 dias de abstinência e a recuperação de volume não foi influenciada por comorbidades médicas, psiquiátricas ou uso de substâncias indevidas. Entretanto, alcoolistas fumantes mostraram menor recuperação da substância cinzenta cortical

frontal e total com o aumento da idade do que alcoolistas não fumantes. Apesar da significativa recuperação de volume regional, alcoolistas fumantes e não fumantes continuaram a demonstrar volumes de substância cinzenta significativamente menores na maioria das regiões após 7,5 meses de abstinência sustentada em relação aos pacientes saudáveis (44).

A possibilidade de prever o sucesso do paciente com tratamento é objeto de investigação, uma vez que foi demonstrado que a diminuição da integridade macroestrutural (como evidenciado pelos déficits de volume) do córtex cingulado anterior rostral e caudal direito e da substância cinzenta frontal direita total servem como marcadores endofenotípicos de risco de recidiva aumentado após o tratamento do transtorno de dependência do álcool (45).

Conhecimento sobre o curso natural do envelhecimento e o efeito adicional do alcoolismo sobre o cérebro e o seu desempenho fazem-se pertinentes uma vez que nunca foram estudados antes de forma tão profunda.

2 OBJETIVOS

Este estudo representa a continuidade do estudo iniciado em 2010 (46) no qual foram realizadas medições volumétricas da substância cinzenta dos segmentos corticais e subcorticais de ambos os hemisférios cerebrais em 60 alcoolistas. Nas análises de regressão múltipla incluindo todas as estruturas como variáveis independentes e o desempenho frontal ou cognitivo global como variáveis dependentes foram observados que os volumes da substância cinzenta dos córtices frontal médio rostral e cerebelar esquerdos foram preditivos do desempenho executivo frontal, enquanto nenhuma estrutura foi preditiva do desempenho cognitivo global.

Para o melhor entendimento dos efeitos do álcool sobre o sistema nervoso central e da análise de lesões não detectáveis pelos métodos diagnósticos tradicionais, o presente estudo teve como objetivo demonstrar a utilidade dos protocolos de ressonância magnética com volumetria e pós-processamento para melhor quantificação dos danos cerebrais, avaliando as mudanças volumétricas cerebrais em alcoolistas crônicos no intervalo de 6 anos, correlacionando-os com desempenho executivo frontal e cognitivo.

Nossa hipótese é que pacientes alcoolistas não submetidos a qualquer intervenção durante o período de 6 anos apresentem redução volumétrica da substância cinzenta de estruturas corticais e subcorticais, bem como piora no estado cognitivo global e na função executiva frontal. Nosso objetivo é tentar estabelecer quais estruturas cerebrais poderiam estar relacionadas com tais déficits cognitivos globais e na função executiva frontal.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Pacientes

Materiais e métodos foram descritos previamente em detalhes (46), mas de forma geral no ano de 2010 teve o início do estudo de 74 pacientes ambulatoriais do Programa de Atendimento ao Alcoolista do Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes, do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (PAA/HUCAM/CCS/UFES), dos quais 60 aceitaram participar do estudo.

A seleção dos pacientes neste estudo foi realizada durante a consulta com o médico do PAA/HUCAM/CCS/UFES, sendo o paciente avaliado e informado sobre o estudo e objetivo deste na investigação e das eventuais alterações no sistema nervoso central não detectáveis pelos métodos diagnósticos tradicionais. Os pacientes que aceitaram participar deste estudo foram submetidos à anamnese, análise de prontuários, sendo avaliados quanto às suas funções mentais, executivas e de memória através do MEEM e FAB.

Um dos critérios de inclusão para alcoolista foi o diagnóstico de dependência de álcool (segundo o DSM IV) e o consumo maior que 150 doses de bebidas alcoólicas / mês (1 dose de bebida alcoólica equivalente a 12 g de etanol puro) pelo menos 8 anos antes da sua inclusão no estudo para homens e consumo maior que 80 doses por mês durante pelo menos 6 anos antes do estudo para mulheres.

A partir de novembro de 2015 foi iniciada a reconvocação dos pacientes, sendo evidenciado o falecimento de três e êxito no contato com vinte pacientes, dos quais quatro recusaram-se a realizar nova avaliação e dezesseis concordaram em comparecer no setor de radiologia do HUCAM para submeterem-se a nova bateria de exames, consistindo em anamnese, MEEM, FAB e exame de ressonância, todos realizados no mesmo dia para cada paciente. Não se obteve sucesso no contato com 37 pacientes (Fig. 2). Os pacientes reconvocados foram informados do objetivo do estudo em reanalisar e comparar a volumetria cerebral e testes clínicos, e assinaram termo de consentimento livre e esclarecido.

Cabe ressaltar que o estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do

Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes, do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (PAA/HUCAM/CCS/UFES) (registro 207/2009). Além disso, este estudo foi conduzido em estrita consonância à Declaração de Helsinque e de acordo com os padrões éticos do Comitê de Experiência Humana da Universidade Federal de Espírito Santo, ES, Brasil, onde este estudo foi conduzido.

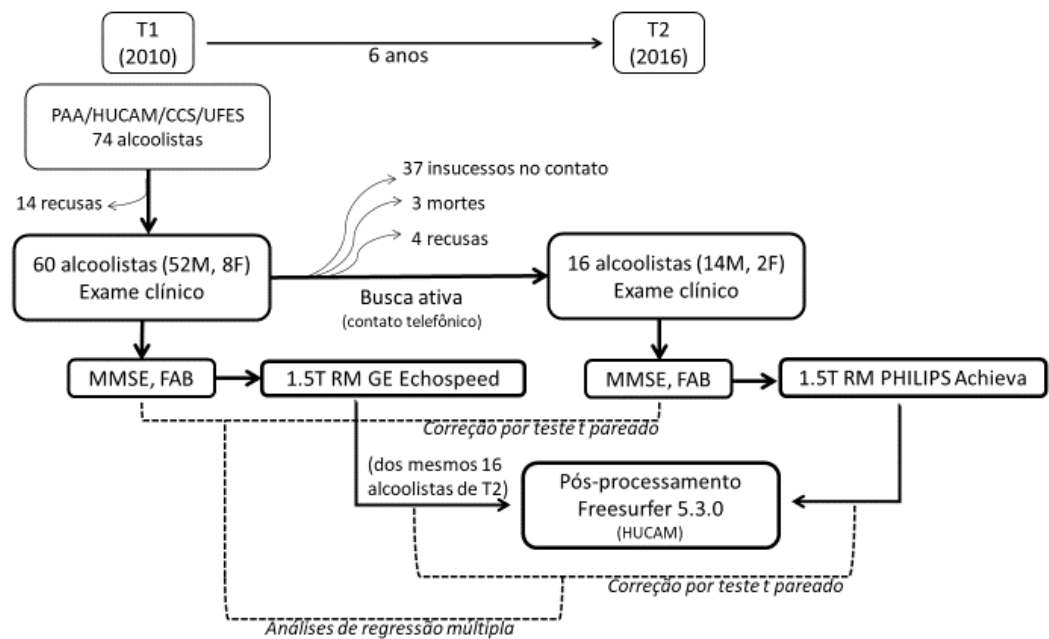


Figura 2 – Fluxograma do protocolo experimental.

3.2 Aquisição das imagens

3.2.1 Exame base (T1)

Os pacientes foram submetidos a exames de RM que duraram em torno de 20 minutos e foram excluídos da avaliação os pacientes com contraindicação absoluta e relativa ao método, a exemplo dos portadores implantes eletrônicos, como marca-passos cardíacos, neuroestimulador e implante coclear.

Os exames de RM foram realizados em aparelho de RM GE Echospeed de 1,5T (GE Medical Systems, Milwaukee, WI) com bobina (antena) específica para crânio de 8 canais, instalado no Serviço de Radiologia do Hospital Evangélico de Cachoeiro de Itapemirim, sem administração do meio de contraste venoso, com o seguinte protocolo:

- T1, 3D, SPGR, isotrópico, plano: sagital, matriz: tamanho do voxel: 1,55 mm³; ângulo de inclinação: 12°; NSA: 2, TE: in fase, FOV: 28, TR: 8,9 ms, TE: 4,2 ms, espessura: 1,3mm; matriz 512 x 512.

A sequência volumétrica ponderada em T1 foi escolhida por possuir alta resolução e contraste, possibilitando perfeita diferenciação entre as substâncias cinzenta e branca.

3.2.2 Exame de seguimento (T2)

O exame de RM foi realizado em aparelho da marca e modelo Philips Achieva 1,5T (Philips Medical Systems Nederland B.V., The Netherlands), com bobina de crânio de 8 canais, sem administração do meio de contraste venoso, com o seguinte protocolo:

- T1, 3D, SPGR, isotrópico, plano: sagital, matriz: tamanho do voxel: 1,55 mm³; ângulo de inclinação: 12°; NSA: 2, TE: in fase, FOV: 28, TR: 20.0 ms, TE: 4,8 ms, espessura: 1,3mm, matriz 512 x 512.

3.3 Confiabilidade interscanner

Embora diferentes scanners tenham sido utilizados no T1 e no T2, trabalhos anteriores não demonstraram viés interscanner apreciável (47, 48, 49, 50). Além disso, as imagens realizadas em T1 dos 16 pacientes incluídos neste estudo foram todas reprocessadas sob os mesmos parâmetros das imagens adquiridas em T2.

3.4 Pós-processamento e análise das imagens

Todas as imagens foram transferidas para uma estação de trabalho (MacOS X Yosemite, versão 10.10, com 16 GB de memória RAM e 6 núcleos Intel Xeon E5 de 3,5 GHz) localizados no Setor de Radiologia do Hospital Universitário Cassiano Antônio de Moraes do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo. A segmentação cortical e subcortical e correções foram realizadas usando o software FreeSurfer versão 5.3.0 (disponível em <http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu>) por dois técnicos sob a supervisão de um físico médico no local e suporte on-line de outro físico médico com sete anos de experiência com este software. Os detalhes técnicos destes procedimentos foram anteriormente descritos (51, 52, 53).

Resumidamente, este processamento seguiu o fluxo padrão de acordo com o nosso estudo anterior (46), incluindo:

- a. Correção do movimento;
- b. Remoção de tecido não cerebral usando um procedimento de deformação híbrido divisor de águas / superfície;
- c. Transformação automatizada de Talairach;
- d. Segmentação de substância branca subcortical e estruturas de substância cinzenta profunda, incluindo: tálamo, hipocampo, amígdala, núcleo caudado, putamen e ventrículos;
- e. Normalização de intensidade;
- f. Diferenciação dos limites da substância branca / substância cinzenta;
- g. Correção de topologia automatizada;
- h. Deformação da superfície e insuflação do cérebro.

Os resultados das segmentações automáticas foram revistos e os erros foram corrigidos. Este procedimento de segmentação atribui uma marcação neuroanatômica para cada voxel no volume da RM e o método é baseado na informação probabilística estimada a partir do treinamento de uma série marcada manualmente.

Foi aplicada a teoria do campo aleatório de Markov, em que a probabilidade de marcação de um dado voxel não é calculada apenas em termos de intensidade de escalas de cinza e probabilidades anteriores naquele voxel, mas também como uma

função das marcações numa vizinhança em torno do voxel em questão (52). Isto é importante para a obtenção de uma correta separação das estruturas, as quais têm valores de escalas de cinza semelhantes, por exemplo, no hipocampo e na amígdala. A conclusão de uma etapa de pós-processamento levou cerca de 14 a 16 horas por indivíduo e foram implementados roteiros Unix usados para extrair os valores de volume, área e espessura. Além disso, dentro dos roteiros, foi possível acessar todas as informações sobre as estruturas processadas de forma prática e rápida.

3.4.1 Composição das estruturas analisadas

Foram calculados os volumes de substância cinzenta utilizando o software FreeSurfer e as designações das seguintes regiões de acordo com Desikan (53):

Composição do córtex pré-frontal:

- Córtex pré-frontal lateral constituído pela *pars opercularis*, *pars triangularis*, frontal medial rostral, frontal medial caudal e polo frontal;
- Córtex pré-frontal medial constituído pelo cíngulo anterocaudal, cíngulo anterior rostral e frontal superior;
- Córtex orbitofrontal constituído pela *pars orbitalis*, orbitofrontal lateral e orbitofrontal medial.

Estruturas não-frontais:

- Lobo temporal constituído pelo temporal superior, temporal médio, temporal inferior, margem do sulco temporal superior, fusiforme, temporal transverso, entorrinal, polo temporal e parahipocampal.
- Lobo parietal constituído pelo parietal superior, parietal inferior, supramarginal, pós-central, precuneus, cíngulo posterior e istmo do cíngulo.
- Lobo occipital constituído pelos giros occipital lateral, lingual, cuneus e pericalcarino.

Substância cinzenta subcortical e outros:

- Compostos pelo tálamo, núcleo caudado, putamen, globo pálido, amígdala, hipocampos e cerebelo.

3.5 Análise dos resultados

Os dados sociodemográficos e testes clínicos são apresentados como porcentagem ou média \pm desvio padrão (DP).

O volume de substância cinzenta das regiões segmentadas do córtex pré-frontal (11 segmentos), todas as demais estruturas não-frontais que compõem córtex temporal lateral ou medial, córtex parietal, córtex sensório-motor, córtex occipital, substância branca e córtex cerebelar (total de 26 segmentos), e estruturas subcorticais como a amígdala, o tálamo, núcleo caudado, putamen e globo pálido (no total de cinco segmentos), foram examinadas considerando os lados esquerdo e direito como medidas dependentes nas comparações entre T1 e T2. Estas comparações foram feitas por testes t pareado e os valores de p foram corrigidos para comparações múltiplas pelo método de Bonferroni.

As diferenças (T2 – T1) dos volumes das substâncias cinzentas das estruturas que apresentaram diferenças estatisticamente significantes nas comparações entre T1 e T2 foram introduzidas como variáveis independentes em análises de regressões múltiplas, tendo como variáveis dependentes, as diferenças das pontuações obtidas nos desempenhos dos testes clínicos cognitivos (FAB e MEEM), considerando um subgrupo de pacientes sem mudanças ou com escores menores em T2 (pior desempenho), e outro subgrupo com escores maiores em T2 (melhor desempenho). Os dados obtidos por neuroimagem e por avaliação neuropsicológica foram analisados através do programa estatístico SPSS (“Statistical Package for Social Sciences”) 24.0 para Windows e as confecções gráficas foram feitas empregando o programa GraphPad Prism 7.0. Para análise descritiva foram utilizadas a porcentagem, média, mediana e desvio padrão da média.

Em todas as análises, foi considerado o valor de $p < 0,05$ para se considerar as diferenças observadas como sendo estatisticamente significativas.

4 RESULTADOS

Os dados sociodemográficos, padrões de uso do álcool e performance cognitiva são demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Características sociodemográficas, padrão de consumo de álcool e desempenho cognitivo global e executivo em alcoolistas (n = 16) examinados em 2010 (T1) e 2016 (T2).

	T1	T2	t-pareado	p-valor
Características sociodemográficas				
Idade [média (DP)] (min – max)	49,8 (8,5) (39 – 72)	55,7 (8,4) (45 – 78)	t(15) = -95,0	< ,0001****
Gênero n (%)	Masculino Feminino	14 (87,5%) 2 (12,5%)		
Anos de educação [média (DP)]	Até 5 Entre 6 a 9 Entre 10 a 13 Acima de 13	4 (25,0%) 6 (37,5%) 6 (37,5%) 0 (0,0%)		
Estado civil n (%)	Solteiro Casado ou união estável Divorciado	3 (18,8%) 11 (68,8%) 2 (12,5%)		
Tabagismo n (%)	Sim Não	11 (68,8%) 5 (31,3%)		
Uso do álcool				
Quantidade de álcool ingerida (doses/dia) [média(DP)]	18,4 (19,4)	6,1 (5,8)	t(15) = 2,27	,038*
Anos de uso do álcool [média (DP)]	29,8 (7,9)	34,7 (7,3)	t(15) = -8,11	p < ,0001****
Dias de abstinência antes do estudo [média (DP)] (min - max)	189,6 (462,7) (1 – 1825)	289,9 (573,8) (1 – 2190)	t(15) = -1,32	,21
Performance executiva e cognitiva global				
FAB pontuação total	12,0 (3,1)	12,8 (4,1)	t(15) = -1,03	,32
Diferença do FAB (T2-T1)				
Piora ou sem mudança (50%, n = 8)				
Melhora (50%, n = 8)				
MEEM pontuação total	25,9 (4,5)	26,3 (4,1)	t(15) = - ,63	,54
Diferença do MEEM (T2-T1)				
Piora ou sem mudança (68,75%, n = 11)				
Melhora (31,25%, n = 5)				

FAB: Frontal Assessment Battery; MEEM: Miniexame do estado mental.

*p < 0.05; ****p < 0.0001

4.1 Características sociodemográficas

A maioria dos indivíduos alcoolistas inclusos no estudo foi do sexo masculino (87,5%), com idade média de $49,5 \pm 8,5$ anos em T1 e de $55,7 \pm 8,4$ anos em T2. A maior parte dos pacientes era casado ou mantinha relacionamento estável (68,8%), sendo que percentual semelhante foi encontrado para aqueles que se declararam fumantes (68,8%). A maior parte dos pacientes relatou entre 6 e 9 anos (37,5%) ou entre 10 e 13 anos de educação (37,5%).

4.2 Padrão do uso do álcool

A amostra apresentou uma história de uso prolongado (T1 = $29,8 \pm 7,9$ anos de consumo / T2 = $34,7 \pm 7,3$ anos de consumo) e pesado de álcool, notadamente no T1 em que a média foi de $18,4 \pm 19,4$ doses/dia, havendo uma redução significativa ($p=0,038$) do consumo no T2 ($6,1 \pm 5,8$ doses/dia) (Tab. 1).

Como não foi realizada qualquer exigência ou intervenção, o tempo médio de abstinência prévio à realização dos exames variou bastante em ambas ocasiões (T1 = $189,6 \pm 462,7$ dias / T2 = $289,9 \pm 573,8$ dias).

4.3 Testes cognitivos

Os alcoolistas neste estudo apresentaram um desempenho médio de $25,9 \pm 4,5$ pontos no MEEM no T1, sendo que no T2 foi observada melhora discreta com pontuação média de $26,3 \pm 4,1$. Melhora semelhante foi observado no FAB, no qual verificou-se discreta melhora dos resultados no T2 (T1 = $12,0 \pm 3,1$ / T2 = $12,8 \pm 4,1$) (Tab. 1). Entretanto, 11 (68,75%) dos 16 alcoolistas não apresentaram mudança ou tiveram diminuição das pontuações do MEEM, enquanto cinco (31,25%) foram os que apresentaram aumento das pontuações no desempenho deste teste. Quanto ao FAB, oito (50%) dos 16 alcoolistas não apresentaram mudança ou tiveram diminuição das

pontuações, enquanto os oito restantes (50%) apresentaram melhora, por aumento das pontuações, no desempenho deste teste (Tab. 1).

4.4 Ressonância magnética estrutural e segmentação

4.4.1 Segmentação frontal

A Tabela 2 mostra volumes normalizados dos segmentos frontais, do córtex pré-frontal total e separado por hemisfério (esquerdo ou direito) e subdivisões do córtex pré-frontal.

O volume total da substância cinzenta do córtex pré-frontal reduziu em torno de 6.1% ($p = 0,0003$) no intervalo de seis anos, sendo esta redução expressiva no hemisfério esquerdo (6.0%, $p = 0.0003$), mas não no hemisfério direito (Tab. 2 e Fig. 3).

Tabela 2 - Volumes (mm³) dos segmentos frontais normalizados pelo volume intracraniano total (mm³) em alcoolistas examinados em 2010 (T1) e em 2016 (T2). Divisões do córtex pré-frontal (de acordo com Desikan e colaboradores, 2006).

Volume dos segmentos / volume intracraniano (media ± DP)	Tempo do exame		% dif ^a	Estatísticas		
	T1 (n = 16)	T2 (n = 16)		t- pareado	df	p-valor corrigido
Lobo Frontal						
Esquerdo						
Precentral	,0084 ± ,00096	,0077 ± ,00055	-8,3	4,09	15	,032*
Paracentral	,0021 ± ,00035	,0021 ± ,00024	0,0	1,25	15	7,84
Córtex prefrontal	,0447 ± ,00036	,0420 ± ,00030	-6,0	4,64	15	,0003***
<i>Lateral</i>						
Pars opercularis	,0027 ± ,00046	,0026 ± ,00040	-3,7	3,12	15	,237
Pars triangularis	,0022 ± 0,0042	,0021 ± ,00037	-4,5	3,53	15	,103
Frontal medial rostral	,0098 ± ,00107	,0092 ± ,00088	-6,1	3,85	15	,053
Frontal medial caudal	,0038 ± ,00049	,0037 ± ,00060	-2,6	1,19	15	8,65
Polo frontal	,0005 ± ,00010	,0004 ± ,00008	-20	3,65	15	,081
<i>Medial</i>						
Cingulado antero-caudal	,0011 ± ,00034	,0011 ± ,00032	0,0	-,199	15	28,73
Cingulado anterior rostral	,0015 ± ,00025	,0015 ± ,00021	0,0	-,131	15	30,51
Frontal superior	,0136 ± ,00153	,0128 ± ,00130	-5,9	5,03	15	,005**
<i>Orbitofrontal</i>						
Pars orbitalis	,0013 ± ,00026	,0012 ± ,00022	-7,7	3,99	15	,039*
Orbitofrontal lateral	,0047 ± ,00041	,0043 ± ,00040	-8,5	5,32	15	,003**
Orbitofrontal medial	,0034 ± ,00037	,0031 ± ,00035	-8,8	3,21	15	,196
Direito						
Precentral	,0082 ± ,00099	,0076 ± ,00033	-7,3	3,31	15	,163
Paracentral	,0024 ± ,00033	,0024 ± ,00034	0,0	-,122	15	30,76
Prefrontal cortex	,0449 ± ,00038	,0450 ± ,00035	0,2	,096	15	,924
<i>Lateral</i>						
Pars opercularis	,0023 ± ,00051	,0021 ± ,00035	-8,7	2,48	15	,860
Pars triangularis	,0026 ± ,00042	,0024 ± ,00038	-7,7	3,99	15	,039*
Frontal medial rostral	,0102 ± ,00095	,0097 ± ,00107	-4,9	2,78	15	,477
Frontal medial caudal	,0034 ± ,00058	,0034 ± ,00055	0,0	-,006	15	33,8
Polo frontal	,0008 ± ,00017	,0006 ± ,00011	-25	4,48	15	,015*
<i>Medial</i>						
Cingulado antero-caudal	,0014 ± ,00031	,0014 ± ,00033	0,0	,060	15	32,4
Cingulado anterior rostral	,0014 ± ,00024	,0013 ± ,00020	-7,1	,797	15	14,8
Frontal superior	,0130 ± ,00131	,0124 ± ,00098	-4,6	3,17	15	,213
<i>Orbitofrontal</i>						
Pars orbitalis	,0017 ± ,00031	,0016 ± ,00026	-5,9	1,98	15	2,26
Orbitofrontal lateral	,0047 ± ,00052	,0043 ± ,00047	-8,5	3,88	15	,050*
Orbitofrontal medial	,0035 ± ,00052	,0030 ± ,00035	-14,3	4,05	15	,035*
Córtex Prefrontal total	,0896 ± ,00073	,0841 ± ,00062	-6,1	4,667	15	,0003***

^a % dif = (média T2 – média T1)*100/média T1. * p < 0,05, ** p < 0,01 quando comparado a T1 (teste-t pareado).

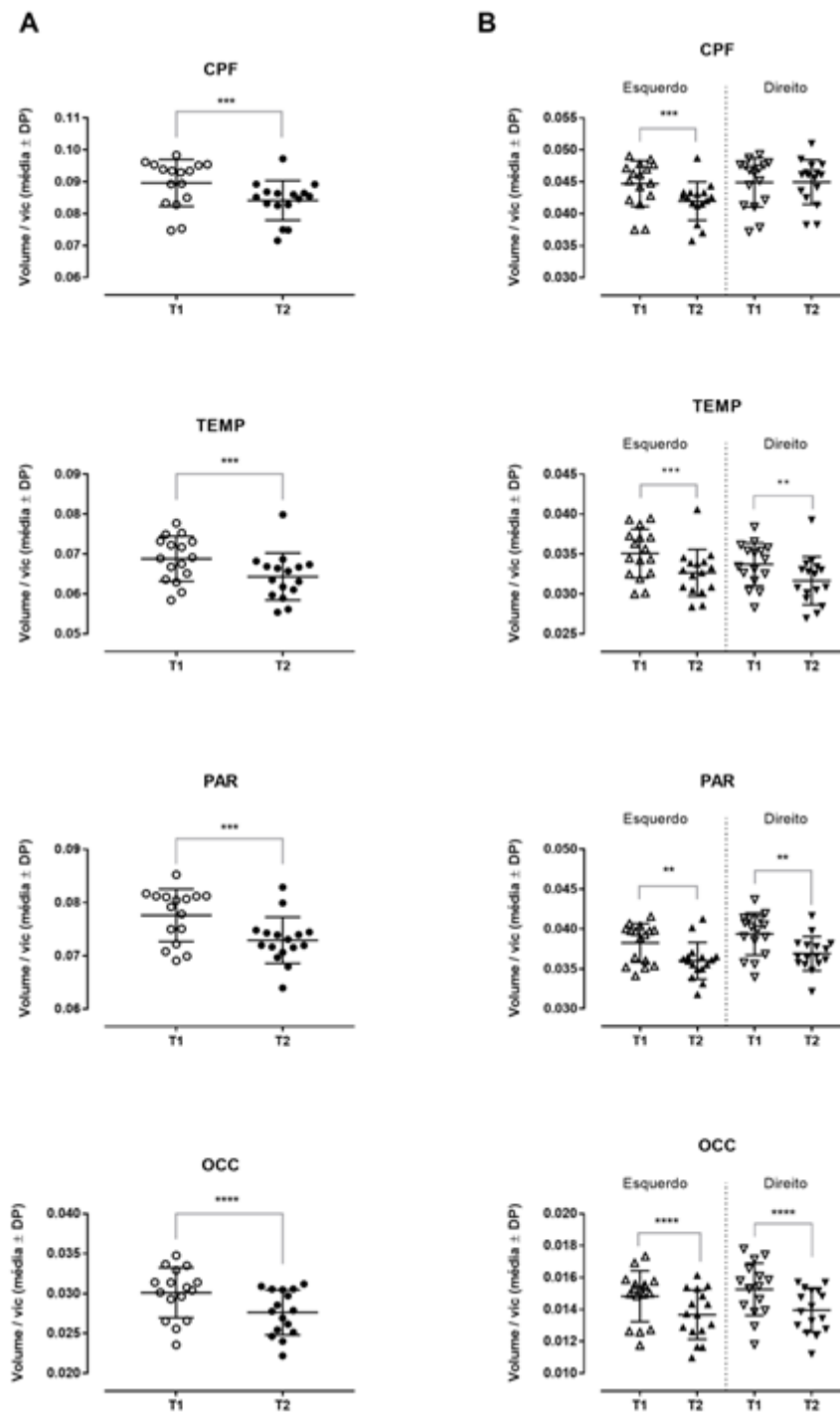


Figura 3 – Volumes da substância cinzenta (mm^3) normalizado para o volume intracraniano (vic em mm^3) do (A) córtex pré-frontal (CPF) e lobos temporal (TEMP), parietal (PAR) e occipital (OCC), e; (B) separados em hemisférios esquerdo e direito, em 16 alcoolistas examinados em 2010 (T1) e seis anos depois, em 2016 (T2), cuja segmentação foi obtida por reconstrução automática do córtex cerebral pelo programa FreeSurfer de dados de imagem de ressonância magnética de alta resolução em T1. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$ (teste t pareado corrigido para comparações múltiplas de Bonferroni).

Entretanto, considerando-se os segmentos individualmente, vários deles apresentaram reduções significantes de volume em ambos os hemisférios (Fig. 4). Volumes específicos do giro frontal superior (5,9%; $p = 0,005$), *pars orbitalis* (7,7%; $p = 0,039$) e orbitofrontal lateral esquerdos (8,5%; $p = 0,003$), bem como da *pars triangularis* (7,7%; $p = 0,039$) e orbitofrontal lateral (8,5%; $p = 0,05$) à direita foram significativamente menores em alcoolistas no T2 quando comparado com T1. Ainda no hemisfério direito, o polo frontal foi a região que apresentou a maior redução após a reavaliação (25%; $p = 0,015$), seguido pelo orbitofrontal medial direito (14,3%; $p = 0,035$).

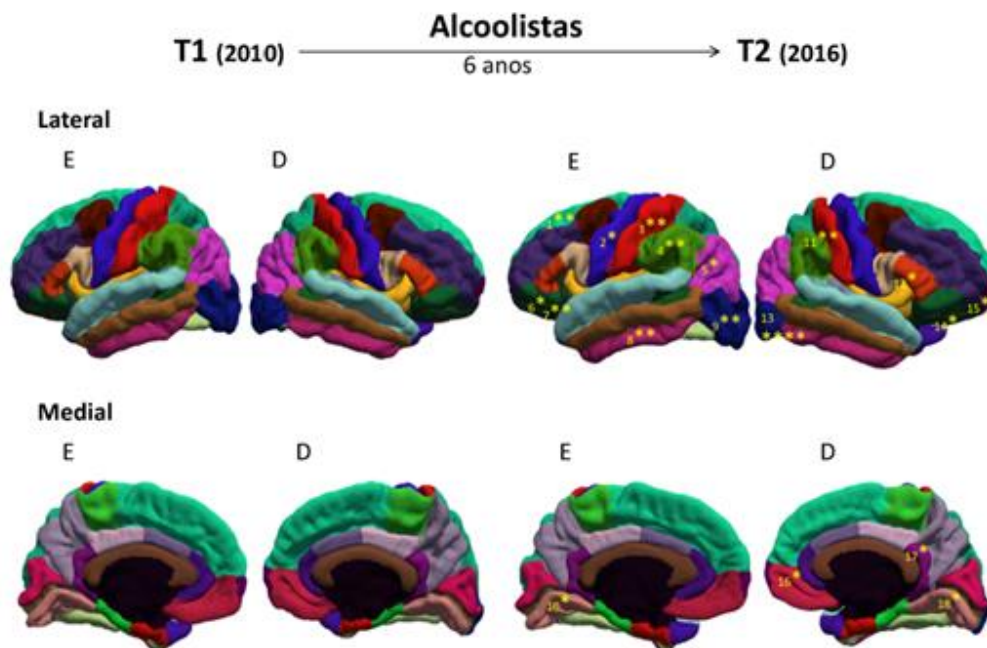


Figura 4 – Imagens das médias dos cérebros dos alcoolistas ($n = 16$) obtidas através da segmentação por reconstrução automática do córtex cerebral pelo programa FreeSurfer de dados de imagem de ressonância magnética de alta resolução realizadas em 2010 (T1) e em 2016 (T2) em suas faces lateral e medial dos hemisférios esquerdo (E) e direito (D). E: 1 = frontal superior, 2 = pré-central, 3 = pós-central, 4 = supramarginal, 5 = parietal inferior, 6 = *pars orbitalis*, 7 = orbital frontal lateral, 8 = temporal inferior, 9 = occipital lateral, 10 = lingual; D: 11 = pós-central, 12 = *pars triangularis*, 13 = occipital lateral, 14 = orbital frontal lateral, 15 = polo frontal, 16 = orbital frontal medial, 17 = istmo do cíngulo, 18 = lingual. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$ (teste t pareado corrigido para comparações múltiplas de Bonferroni).

Com relação ao giro pré-central, apenas do hemisfério esquerdo apresentou redução significativa em T2 (8,3%; $p = 0,032$).

4.4.2 Segmentação temporal, parietal e occipital

A Tabela 3 mostra volumes normalizados dos segmentos temporais, parietais e occipitais, totais e separados por hemisférios (esquerdo ou direito).

O volume total do lobo temporal foi reduzido em 6,5% no intervalo de seis anos ($p = 0,0006$). O volume do lobo temporal esquerdo foi 6,8% ($p=0,0005$) menor no reexame, sendo que os segmentos temporal superior e temporal inferior apresentaram redução estatisticamente significativa, respectivamente de 7,5% ($p = 0,013$) e 9,9% ($p = 0,005$). Enquanto isso, nenhum segmento do lobo temporal direito apresentou diferença significativa isoladamente, mas quando somados houve uma redução de 5,9% ($p = 0,001$) (Tab. 3 e Fig. 3.).

O volume total do lobo parietal foi reduzido em 6,1% em T2 ($p = 0,001$). O lobo parietal direito exibiu redução um pouco maior que o contralateral (6,1%; $p = 0,001$ à direita *versus* 5,7%; $p = 0,002$ à esquerda). Os segmentos pós-central (10,3%; $p = 0,001$) e istmo do cíngulo (6,3%; $p = 0,037$) direitos tiveram redução estatisticamente significativa, e do lado esquerdo o parietal inferior (6,4%; $p = 0,018$), supramarginal (5,9%; $p = 0,008$) e pós-central (9,8%; $p = 0,004$) se apresentaram significativamente menores.

O volume total do lobo occipital foi reduzido em 8,3% ($p < 0,0001$) após seis anos. A redução foi maior à direita (9,2%; $p = 0,0001$) do que à esquerda (7,4%; $p = 0,0001$). Os segmentos occipital lateral (9,2%; $p = 0,002$) e lingual (7,1%; $p = 0,038$) esquerdos tiveram redução estatisticamente significativa, enquanto no hemisfério direito apenas o occipital lateral (10,7; $p = 0,0001$) obteve resultado semelhante.

Salienta-se que o hemisfério esquerdo apresentou maior quantidade de segmentos significativamente reduzidos, sendo sete segmentos (temporal superior, temporal inferior, parietal inferior, supramarginal, póscentral, occipital lateral e lingual) à esquerda *versus* três segmentos (pós-central, istmo do cíngulo e occipital lateral) no hemisfério direito. Estas diferenças estão também ilustradas na Figura 4.

Tabela 3 - Volumes (mm³) dos segmentos temporais, parietais e occipitais normalizados pelo volume intracraniano total em alcoolistas (n = 16) examinados em 2010 (T1) e 2016 (T2).

Segmento/Volume intracraniano (média ± DP)		Grupos			Estatísticas			
		T1	T2	% dif ^a	t- pareado	df	p-valor corrigido	
Esquerdo	<i>Lobo temporal</i>	,0351 ± ,00031	,0327 ± ,00029	-6,8	4,42	15	,0005***	
	Temporal superior	,0080 ± ,00095	,0074 ± ,00085	-7,5	4,52	15	,013*	
	Temporal médio	,0070 ± ,00089	,0064 ± ,00058	-8,6	3,63	15	,008	
	Temporal inferior	,0071 ± ,00074	,0064 ± ,00081	-9,9	5,02	15	,005**	
	Margem do sulco temporal superior	,0017 ± ,00026	,0016 ± ,00023	-5,9	1,81	15	3,05	
	Fusiforme	,0062 ± ,00072	,0060 ± ,00079	-3,2	1,40	15	6,18	
	Temporal transverse	,0007 ± ,00015	,0007 ± ,00013	0,0	2,68	15	,583	
	Entorrinal	,0013 ± ,00029	,0013 ± ,00023	0,0	-5,42	15	20,2	
	Polo temporal	,0015 ± ,00031	,0014 ± ,00018	-6,7	1,64	15	4,16	
	Parahipocampal	,0015 ± ,00022	,0014 ± ,00020	-6,7	3,69	15	,074	
	<i>Lobo parietal</i>	,0382 ± 0,0024	,0360 ± ,00002	-5,7	3,79	15	,002**	
	Parietal superior	,0080 ± ,00064	,0076 ± ,00085	-5,0	2,44	15	,941	
	Parietal inferior	,0078 ± ,00074	,0073 ± ,00072	-6,4	4,39	15	,018*	
	Supramarginal	,0067 ± ,00054	,0063 ± ,00056	-5,9	4,78	15	,008**	
	Pós-central	,0061 ± ,00073	,0055 ± ,00048	-9,8	5,15	15	,004**	
	Precuneus	,0060 ± ,00067	,0057 ± ,00058	-5,0	1,87	15	2,73	
	Cingulado posterior	,0020 ± ,00014	,0020 ± ,00022	0,0	,210	15	28,4	
	Istmo do cíngulo	,0016 ± ,00019	,0016 ± ,00023	0,0	2,09	15	1,85	
	<i>Lobo occipital</i>	,0148 ± ,00016	,0137 ± ,00015	-7,4	5,42	15	<,0001****	
	Occipital lateral	,0076 ± ,00096	,0069 ± ,00082	-9,2	5,54	15	,002**	
	Lingual	,0042 ± ,00078	,0039 ± ,00083	-7,1	4,01	15	,038*	
	Cuneus	,0018 ± ,00018	,0017 ± ,00018	-5,6	2,29	15	1,24	
	Pericalcarino	,0013 ± ,00020	,0012 ± ,00020	-7,7	3,79	15	,061	
	<i>Ínsula</i>	,0043 ± ,00041	,0041 ± ,00031	-4,7	2,92	15	,362	
	Direito	<i>Lobo temporal</i>	,0337 ± ,00027	,0317 ± ,00030	-5,9	3,91	15	,001 **
		Temporal superior	,0072 ± ,00074	,0067 ± ,00061	-6,9	3,81	15	,058
		Temporal médio	,0073 ± ,00084	,0069 ± ,00069	-5,5	2,51	15	,824
Temporal inferior		,0069 ± ,00068	,0064 ± ,00091	-7,2	3,48	15	,114	
Margem do sulco temporal superior		,0016 ± ,00026	,0015 ± ,00026	-6,3	1,43	15	5,84	
Fusiforme		,0062 ± ,00075	,0059 ± ,00087	-4,8	2,24	15	1,37	
Temporal transverse		,0006 ± ,00009	,0006 ± ,00007	0,0	3,04	15	,280	
Entorrinal		,0010 ± ,00026	,0011 ± ,00023	+10	-3,28	15	,171	
Polo temporal		,0015 ± ,00028	,0014 ± ,00018	-6,7	3,02	15	,295	
Parahipocampal		,0013 ± ,00020	,0012 ± ,00022	-7,7	3,53	15	,103	
<i>Lobo parietal</i>		,0393 ± ,00264	,0369 ± ,00214	-6,1	3,96	15	,001**	
Parietal superior		,0082 ± ,00074	,0076 ± ,00095	-3,7	3,59	15	,089	
Parietal inferior		,0090 ± ,00107	,0086 ± ,00111	-4,4	2,33	15	1,16	
Supramarginal		,0066 ± ,00071	,0062 ± ,00059	-6,1	3,03	15	,288	
Pós-central		,0058 ± ,00063	,0052 ± ,00052	-10,3	5,67	15	,001**	
Precuneus		,0062 ± ,00060	,0058 ± ,00063	-6,5	2,95	15	,335	
Cingulado posterior		,0020 ± ,00026	,0020 ± ,00023	0,0	1,14	15	9,19	
Istmo do cíngulo		,0016 ± ,00023	,0015 ± ,00019	-6,3	4,03	15	,037*	
<i>Lobo occipital</i>		,0153 ± ,00016	,0139 ± ,00013	-9,2	7,21	15	<,0001****	
Occipital lateral		,0075 ± ,00087	,0067 ± ,00080	-10,7	8,92	15	<,0001****	
Lingual		,0043 ± ,00069	,0039 ± ,00072	-9,3	4,39	15	,018*	
Cuneus		,0020 ± ,00029	,0019 ± ,00026	-5,0	1,80	15	3,11	
Pericalcarino		,0015 ± ,00025	,0014 ± ,00025	-6,7	1,87	15	2,75	
<i>Ínsula</i>		,0043 ± ,00023	,0041 ± ,00046	-4,7	1,76	15	3,35	
Lobo temporal total		,0688 ± ,00056	,0643 ± ,00059	-6,5	4,30	15	,0006****	
Lobo parietal total		,0776 ± ,00494	,0729 ± ,00436	-6,1	3,95	15	,001**	
Lobo occipital total		,0301 ± ,00315	,0276 ± ,00028	-8,3	6,49	15	<,0001****	

^a % dif = (média T2 – média T1)*100/média T1. * p < 0,05, ** p < 0,01 quando comparado a T1 (teste-t pareado).

4.4.3 Segmentação da substância cinzenta subcortical e outros

A Tabela 4 mostra que houve redução estatisticamente significativa dos volumes normalizados do caudado e córtex cerebelar de ambos os hemisférios. O volume do caudado esquerdo foi em torno de 7,1% menor ($p = 0,0005$) e direito de 7,9% menor ($p = 0,0006$) em T2, e do córtex cerebelar esquerdo por volta de 8,7% menor ($p = 0,01$) e direito 7,9% menor ($p = 0,011$) em T2. Ademais, o accumbens esquerdo foi reduzido 12,5% ($p = 0,001$) e o putamen direito exibiu redução volumétrica em torno de 12,1% ($p = 0,007$) em T2.

Tabela 4 - Volumes (mm³) de substância cinzenta subcortical e outros segmentos corticais normalizados pelo volume intracraniano total (mm³) em alcoolistas ($n = 16$) examinados em 2010 (T1) e 2016 (T2).

Segmento/Volume intracraniano (média \pm DP)	Grupos		% dif ^a	Estatísticas		
	T1	T2		t-pareado	df	p-valor corrigido
Esquerdo						
Tálamo	,00475 \pm ,00045	,00474 \pm ,00047	-0,2	,06	15	15,19
Caudado	,00253 \pm ,00022	,00235 \pm ,00022	-7,1	5,8	15	,0005***
Putamen	,00384 \pm ,00031	,00362 \pm ,00027	-5,7	2,6	15	,295
Pálido	,00106 \pm ,00018	,00097 \pm ,00013	-8,5	3,14	15	,107
Acumbens	,00040 \pm ,00008	,00035 \pm ,00008	-12,5	4,03	15	,001**
Amígdala	,00098 \pm ,00013	,00092 \pm ,00011	-6,1	2,01	15	1,00
Hipocampo	,00260 \pm ,00025	,00247 \pm ,00028	-5,0	2,51	15	,386
Córtex cerebelar	,03256 \pm ,00267	,02974 \pm ,00281	-8,7	4,0	15	,018*
Direito						
Tálamo	,00437 \pm ,00048	,00436 \pm ,00046	-0,2	,286	15	12,4
Caudado	,00264 \pm ,00026	,00243 \pm ,00025	-7,9	5,80	15	,0006***
Putamen	,00387 \pm ,00056	,00340 \pm ,00044	-12,1	4,52	15	,007**
Pálido	,00111 \pm ,00014	,00092 \pm ,00012	-17,1	2,29	15	,080
Acumbens	,00040 \pm ,00009	,00035 \pm ,00006	-12,5	2,82	15	,205
Amígdala	,00110 \pm ,00024	,00101 \pm ,00014	,8,2	1,82	15	1,42
Hipocampo	,00266 \pm ,00022	,00253 \pm ,00031	-4,9	2,29	15	,590
Córtex cerebelar	,03314 \pm ,00284	,03053 \pm ,00268	-7,9	4,24	15	,011*

^a % dif = (média T2 – média T1)*100/média T1, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ quando comparado a T1 (teste-t pareado).

4.4.4 Análises de regressões lineares múltiplas

Nestas análises as diferenças (T2 – T1) dos volumes da substância cinzenta de todas as estruturas corticais e subcorticais dos hemisférios que foram alteradas significativamente nas análises anteriores, do lado esquerdo (frontal superior, *pars orbitalis*, orbital frontal lateral, *pars triangularis*, temporal superior, temporal inferior, parietal inferior, supramarginal, pós-central, occipital lateral, lingual, caudado, *accumbens*, córtex cerebelar) e do lado direito (polo frontal, orbital frontal lateral, orbital frontal medial, pós-central, istmo do cíngulo, occipital lateral, lingual, caudado, putamen, córtex cerebelar) foram consideradas variáveis independentes e as diferenças de desempenho cognitivo (T2 – T1) consideradas como variáveis dependentes. Além disso, observamos que um subgrupo de pacientes apresentou manutenção ou piora do desempenho e outro subgrupo apresentou melhora do desempenho tanto da FAB quanto do MEEM (Tab. 1). Assim, consideramos relevante investigar as estruturas que poderiam ser preditoras da piora e da melhora do desempenho separadamente.

As tabelas 5, 6 e 7 fornecem detalhes dos resultados das análises das regressões múltiplas incluindo as estruturas cujas variações de volume se mostraram preditoras das variações de desempenho da FAB e MEEM nestes subgrupos. A representação gráfica destes resultados está apresentada na figura 5.

4.4.4.1 FAB

4.4.4.1.1 Desempenho em T2 igual ou inferior ao de T1

O modelo de regressão linear das estruturas cujas mudanças de volume se mostraram preditoras do desempenho frontal, considerando a não alteração ou uma piora no intervalo de seis anos, foi representada pelo polo frontal direito e o giro temporal inferior esquerdo, perfazendo 82,7% da variância das diferenças no desempenho da FAB, $F(2,5) = 17,74$; $p < 0,01$; $R^2 = 0,827$; IC 95% [0,199; 3,62]. As variações dos volumes da substância cinzenta de cada uma destas estruturas apresentaram correlações da ordem zero significantes de acordo com a variação do desempenho da FAB (Tab. 5), mas somente o polo frontal apresentou correlação parcial estatisticamente significativa ($p < 0,01$) no modelo completo (Figura 5a).

Tabela 5 – Performance no FAB em T2 igual ou menor que T1 relacionado às diferenças de volumes de estruturas cortical e subcortical em alcoolistas (n=8).

Variável	Zero-Order <i>r</i>			β	sr^2	<i>b</i>
	PF D dif	TI E dif	FAB dif			
TI E dif			,436	,498*	,247	2158,2
PF D dif		-,075	,793**	,831**	,686	9398,3
					Intercept = 1,91	
Média	-,0002	-,0006	-1,5			
<i>DP</i>	,00017	,00046	2,0	$R^2 =$,827**	

* $p < ,05$, ** $p < ,01$
 PF D = Polo frontal direito, TI E= Temporal inferior esquerdo

Tabela 6 - Performance no FAB em T2 maior que T1 relacionado às diferenças de volume de estruturas cortical e subcortical em alcoolistas (n=8).

Variável	Zero-Order <i>r/</i>		β	sr^2	<i>b</i>
	CC E dif	FAB dif			
CC E dif		,789*	,789*	,622	497,8
				Intercept = 4,78	
Média	-,0033	3,1			
<i>DP</i>	,00354	2,2	$R^2 =$,56*	

* $p < ,05$
 CC E = Córtex cerebelar esquerdo

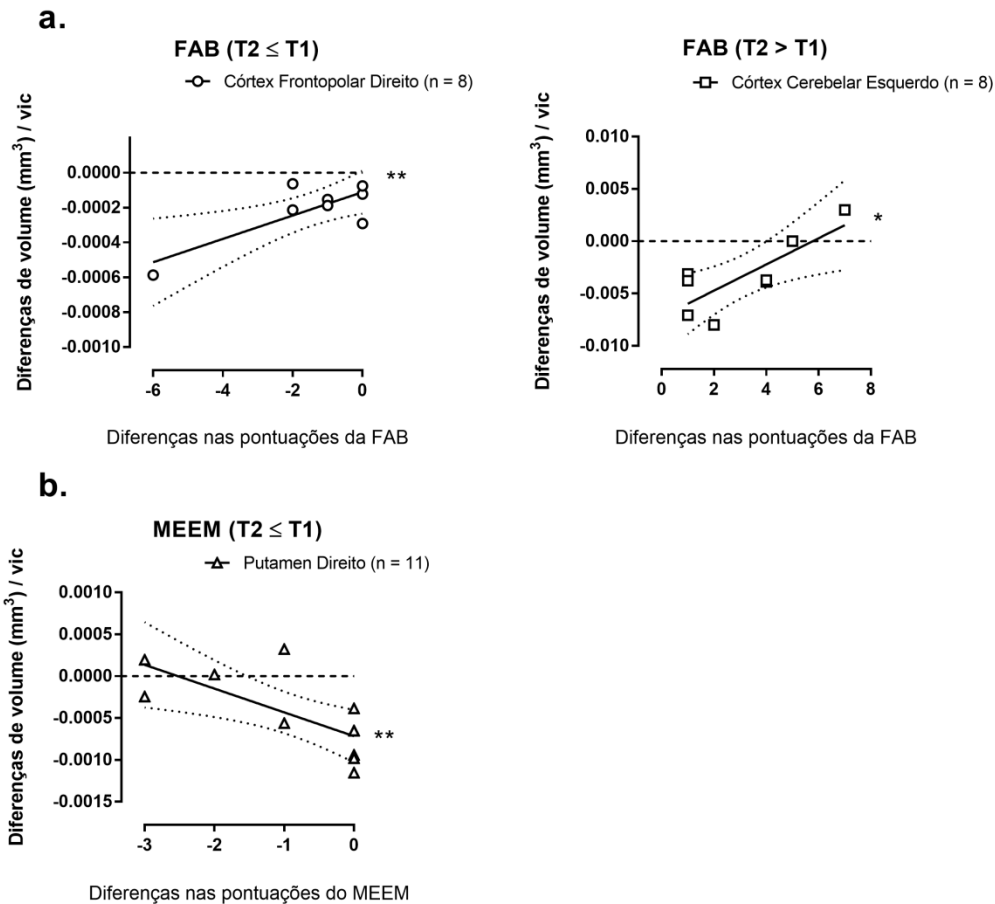


Figura 5 – Análises de Regressão Linear entre as diferenças (T2 – T1, sendo T1 avaliação realizada em 2010 e T2 realizada em 2016) do desempenho da (a.) bateria de avaliação frontal (FAB), em um subgrupo de alcoolistas (n = 8) que apresentaram pontuações igual ou menores em T2 (T2 ≤ T1) e em outro subgrupo (n = 8) cujos alcoolistas apresentaram pontuações maiores em T2 (T2 > T1) e (b.) função cognitiva global (MEEM) em um subgrupo de alcoolistas (n = 11) que apresentaram pontuações igual ou menores em T2, e as diferenças dos volumes (a.) da substância cinzenta do polo frontal direito e do córtex cerebelar esquerdo e (b.) do putamen direito. * p < 0,05; ** p < 0,01.

4.4.4.1.2 Desempenho em T2 superior ao de T1

Das variações dos volumes das substâncias cinzentas das estruturas incluídas na análise, apenas a variação do volume do córtex cerebelar esquerdo se mostrou preditor de uma melhora no desempenho na função executiva frontal (p = 0,02) (Tab. 6, Fig. 5a). Esta estrutura responde por 56% da variância das diferenças no desempenho da FAB, $F(1,6) = 9,9$; p = 0,02; $R^2 = 0,56$; IC 95% [2,96; 6,59].

4.4.4.2 MEEM

4.4.4.2.1 Desempenho em T2 igual ou inferior ao de T1

Das estruturas incluídas na análise, apenas a variação do volume do putamen do hemisfério direito se mostrou preditor de um desempenho em T2 igual ou pior ao de T1 ($p = 0,015$) (Tab. 7, Fig. 5b). Esta estrutura responde por 44,7% da variância das diferenças no desempenho do MEEM, $F(1,9) = 9,1$; $p = 0,015$; $R^2 = 0,447$; IC 95% [-2,59; -0,85].

Tabela 7 – Performance no MEEM em T2 igual ou menor que T1 relacionado às diferenças de volume de estruturas cortical e subcortical em alcoolistas ($n=11$).

Variável	Zero-Order r		β	sr^2	b
	Put D dif	MEEM dif			
Put D dif		-,709*	- ,709*	,503	-1769,9
				Intercept =	-1,72
Média	-,0005	-,91			
DP	,00049	1,2	$R^2 =$,447*	

* $p < ,05$
Put D = Putamen direito

4.4.4.2.2 Desempenho em T2 superior ao de T1

As variações dos volumes da substância cinzenta das estruturas incluídas nesta análise não se mostraram preditoras do melhor desempenho do MEEM.

5 DISCUSSÃO

Enquanto os estudos transversais só podem fazer declarações sobre a variabilidade interindividual, os estudos longitudinais têm a capacidade de avaliar a mudança intraindividual. Para apreciar os efeitos diferenciais das desordens decorrentes do alcoolismo sobre as taxas de atrofia cerebral, é importante documentar alterações nas estruturas cerebrais associadas ao envelhecimento. Com maior sensibilidade e maior poder para detectar mudanças anatômicas do que estudos transversais, os estudos longitudinais do envelhecimento do cérebro são de crescente interesse (42,43,44,45,49).

Foram reavaliados dezesseis pacientes após um período de 6 anos, mais especificamente 5,8 anos (média de 2141 dias), sendo que os mesmos relataram uma carga de consumo de álcool menor do que o apresentado no T1 ($T1 = 18,4 \pm 19,4$ doses/dia; $T2 = 6,1 \pm 5,8$ doses/dia). Este fato já foi verificado anteriormente na literatura, uma vez que existem evidências que demonstram que os alcoolistas pesados tendem a diminuir o grau de consumo com idade (54, 55).

5.1 Taxas de atrofia

Ao longo deste período, investigou-se mudanças estruturais do cérebro e suas associações com idade, sexo e educação em indivíduos alcoolistas que vivem na comunidade. A amostra apresentou atrofia significativa e generalizada das mais diversas regiões corticais e subcorticais, incluindo o hipocampo esquerdo que apresentou uma redução média de -0,8% ao ano (-5,0% entre T1 e T2). Resultados semelhantes foram descritos em estudos longitudinais anteriores que se concentraram em mudanças em estruturas específicas, relatando taxas de atrofia de -0,8% a -1,55% por ano para o hipocampo (56,57).

O putamen apresentou atrofia de -2,0% ao ano à direita (-12,1% entre T1 e T2) e -0,98% à esquerda (-5,7% entre T1 e T2). Tais resultados foram inferiores aos encontrados em estudo longitudinal por 2 anos em indivíduos idosos, no qual o putamen reduziu -4,3% e -3,1% por ano para os hemisférios esquerdo e direito, respectivamente (58). Acreditamos que essa diferença se justifique em função da

avançada média de idade desse estudo (79,8 anos) quando comparado a média de idade da presente amostra (55,7 anos).

A análise de atrofia do córtex occipital lateral foi de -1,8% ao ano à direita (redução de -10,7% entre T1 e T2) e -1,5% ao ano à esquerda (-9,2% entre T1 e T2). Estas taxas de redução são bem maiores que as encontradas em indivíduos idosos não alcoolistas em outro estudo (58), no qual foi relatado uma taxa de atrofia do lobo occipital lateral variando entre -0,014% e -0,026%. A possibilidade de que o álcool seja responsável por tal diferença deve ser levada em consideração.

O córtex pré-frontal total exibiu redução estatisticamente significativa de -1,05% ao ano (-6,1% entre T1 e T2) sendo que, dentre os elementos que o compõem, a maior redução foi do polo frontal, que apresentou atrofia de -4,3% à direita (-25% entre T1 e T2) e -3,4% à esquerda (-20% entre T1 e T2), embora apenas o lado direito tenha sido estatisticamente significativo. Estudo longitudinal com 89 idosos saudáveis acompanhados por um período de dois anos demonstrou que o polo frontal também foi a estrutura cortical analisada que exibiu a maior taxa de atrofia (-0,59% no primeiro ano e -1,3% em 2 anos), enquanto a taxa de atrofia do pré-frontal foi estimada em -0,5% (57).

5.2 Relação volumetria cerebral e performance no FAB

No presente estudo o volume da substância cinzenta do polo frontal direito foi capaz de prever o desempenho da função executiva frontal medida pelo FAB em alcoolistas que apresentaram performance pior ou igual após 6 anos, através de uma ordem direta: quanto maior a diferença do volume (quanto maior a taxa de atrofia) do polo frontal direito, pior foi o desempenho do FAB, sugerindo que o agravamento das funções executivas é dependente desta estrutura.

Nos pacientes que exibiram melhor performance no FAB após 6 anos, o volume do córtex cerebelar esquerdo estava diretamente relacionado com tal efeito, de forma que os pacientes que apresentaram maiores volumes desta estrutura (maior preservação do córtex cerebelar esquerdo), tiveram melhora no desempenho no FAB. Resultado semelhante foi encontrado por Nakamura-Palacios (46), no qual o volume da substância cinzenta de cada um dos lados do córtex cerebelar teve uma correlação

de ordem zero significativa ($p < 0,01$) com relação ao desempenho da FAB, mas apenas o lado esquerdo teve efeito parcial significativo ($p < 0,05$) no modelo completo.

No presente estudo, a função frontal executiva, incluindo a capacidade de conceptualização, flexibilidade mental, programação motora, sensibilidade à interferência, controle inibitório e autonomia ambiental avaliada pela FAB, foi claramente prevista por alterações volumétricas na substância cinzenta no polo frontal direito e córtex cerebelar esquerdo, sendo que esta última estrutura também constitui o circuito frontal-cerebelar necessário para respostas executivas adequadas (59).

O polo frontal, que corresponde a área de Brodmann 10, é a maior área arquitetônica única no lobo frontal humano, auxiliando em diversas funções, como multitarefa, cognição social, atenção e memória episódica (60). Estudo neuroanatômico utilizando tractografia e técnicas de *resting state* demonstrou que o córtex frontopolar pode ser subdividido em duas sub-regiões: a lateral, que estaria funcionalmente conectada com centros de controle executivo, como o córtex pré-frontal dorsolateral e área motor suplementar; enquanto a sub-região medial estaria conectada com o córtex pré-frontal medial, córtex cingulado posterior e o lobo temporal (61).

Além disso, o polo frontal é uma das estruturas constituintes do córtex pré-frontal, que sabidamente subscreve a tomada de decisões e medeia funções de ordem superior (controle executivo). Estudo de 2015 propõe que o córtex pré-frontal compreende dois sistemas de arbitragem: (1) um sistema periférico que compreende regiões córtex pré-frontal premotor / caudal e regiões orbitofrontais envolvidas na seleção de ações baseadas em pistas perceptivas e valores de recompensa, respectivamente, e incorporadas em conjuntos comportamentais associados a contingências externas inferido como sendo estável; (2) um sistema central que compreende regiões córtex pré-frontal ventromedial, dorsomedial, lateral e polar envolvidas no raciocínio probabilístico superordenado para arbitrar em linha, explorando / ajustando conjuntos comportamentais previamente aprendidos e explorando / criando novas vias para um comportamento adaptativo eficiente em ambientes variáveis e abertos (62).

Portanto, a previsibilidade do polo frontal para a função executiva frontal observada neste estudo é coerente com a funcionalidade desta região cerebral. O processamento de alto nível, especialmente no desempenho de tarefas múltiplas, e

também a cognição social e o controle executivo, seriam altamente prejudicados com o comprometimento estrutural do polo frontal, como foi observado em alcoolistas.

Em relação ao cerebelo, além do seu envolvimento na estabilidade postural, há evidências convincentes de que esta estrutura e seu extenso circuito sustentam funções classicamente relacionadas com os lobos frontais, como a aprendizagem verbal associativa, produção de texto, resolução de problemas, planejamento cognitivo, mudança de atenção e da memória de trabalho (63). Há ainda, evidências de que uma redução seletiva do volume de região cerebelar seria melhor preditora que o volume do lobo frontal, para prejuízos executivos, visuoespacial e equilíbrio, que são considerados os três principais sinais neuropsicológicos do alcoolismo (64).

Artigo recente de revisão (65) sugere que os sistemas frontocerebelares medeiam déficits de memória motora e de trabalho, enquanto os sistemas frontolimbicos medeiam deficiências da memória semântica e desregulação emocional, e os sistemas frontoestriatais medeiam a transição de comportamentos direcionados para comportamentos habituais em pacientes alcoolistas.

O álcool afeta regiões seletivas no cerebelo que têm seus terminais de realimentação (feedback) no córtex pré-frontal dorsolateral, que também é afetada seletivamente por esta droga (63). Este circuito frontocerebelar suporta o desempenho de uma tarefa sequencial motora em primatas não-humanos (66) e um circuito semelhante foi também identificado no homem através da conectividade na RM funcional (67). De acordo com Krienen e Buckner (67), a presença de circuitos que envolvem regiões pré-frontais confirma o envolvimento do cerebelo em redes cognitivas de alta ordem.

De acordo com Sullivan e Pfefferbaum (63), os exames de RM estrutural e funcional sustentam a hipótese de que a interrupção do circuito frontocerebelar é o principal mecanismo neural subjacente aos déficits incapacitantes e persistentes do alcoolismo, como ataxia, disfunção executiva e comprometimento visuoespacial. Apesar disso, dados recentes demonstram que as deficiências cognitivas e motoras observadas no alcoolismo são o resultado de distúrbios na atividade coordenada de várias regiões que interagem com estruturas frontais, em vez de uma única área no córtex pré-frontal (67).

5.3 Relação volumetria cerebral e performance no MEEM

No que diz respeito ao estado cognitivo global medido pelo MEEM em alcoolistas que apresentaram desempenho igual ou menor após o intervalo de 6 anos, o volume do putamen direito mostrou-se inversamente relacionado à diferença dos escores MEEM, ou seja, quanto menor a diferença volumétrica pior foi o desempenho no teste, sugerindo que uma maior redução de volume do putamen seria relacionado ao desempenho cognitivo global mais preservado. Curiosamente, o putamen direito foi significativamente reduzido ao longo do período de 6 anos nos alcoolistas inclusos neste presente estudo.

Os núcleos subcorticais (isto é, o tálamo e os gânglios da base – dentre eles o putamen) são conhecidos por serem estruturalmente conectados a praticamente todas as áreas corticais do cérebro (68). Essas regiões também foram recentemente identificadas como sendo uma das regiões globalmente mais funcionantes do cérebro no estado de repouso (69).

Nos últimos anos cada vez mais estudos têm demonstrado o papel dos gânglios da base na cognição, como por exemplo relato de caso no qual uma paciente de 20 anos de idade com lesão putaminal perinatal isolada foi submetida a diversos testes que avaliaram a memória de trabalho, funções executivas, análise de fala espontânea e aprendizado de habilidades implícitas. O resultado de tais avaliações sugere que o circuito frontal/subcortical entre o putamen e áreas frontais motoras desempenha função no processamento cognitivo superior, como funções executivas, memória de trabalho, bem como a aprendizagem de sequências de primeira ordem (70).

Outro estudo sobre envelhecimento com 100 idosos saudáveis combinou técnicas de RM anatômica, tractografia e RM funcional para identificar conjunto de fibras neuronais que conectassem as redes corticais em estado de repouso a núcleos subcorticais, comparando-as com testes que mensurassem a cognição, dentre eles o MEEM. Verificou-se que a integridade (valores de anisotropia fracionada) do conjunto de fibras selecionadas correlacionou-se fortemente com medidas cognitivas na função executiva e velocidade de processamento, sendo que a correlação mais pronunciada

ocorreu entre a função executiva e fibras que conectam o putamen a rede de atenção dorsal (71).

Ao simular em macacos o consumo de álcool semelhante ao padrão de consumo humano, Carlson e colaboradores (72) encontraram maior potencial de ativação sináptica e intrínseca dos neurônios espinhosos de tamanho médio do putamen após consumo prolongado de álcool e abstinência. Segundo os mesmos, o alcoolismo é um exemplo da transição de um comportamento facilmente modulado para um "hábito de embriaguez" e a área caudoventral do putamen e estruturas sensório-motoras associadas parecem mediar a formação desse hábito. De acordo com esses autores, esse aumento na excitação sináptica, combinado com o aumento da excitabilidade intrínseca dos neurônios espinhosos de tamanho médio, sugerem que o aumento da ativação do putamen desenvolvido com ingestão prolongada de álcool pode contribuir para o padrão inflexível de consumo de álcool (72).

De acordo com este ponto de vista, seria plausível sugerir que uma diminuição das mudanças neuronais mal adaptadas (aumento da densidade espinhosa) no putamen ocorreu devido ao consumo de álcool, com subsequente redução do tamanho (volume) dessa estrutura, o que seria relacionado a melhor desempenho cognitivo global. Assim, quanto maior a redução do volume do putamen ao longo dos anos melhor a chance de preservação do estado cognitivo global. Certamente, essa possibilidade precisa ser mais cuidadosamente investigada, pois pode constituir uma evidência biológica para a redução de danos causados pelo álcool.

5.4 Limitações do estudo

Como fatores limitantes do estudo podemos citar que os pacientes não foram submetidos a qualquer intervenção no período, intervalo muito longo para a reavaliação, ausência de grupo controle e a grande variação da idade da amostra.

Ressaltamos ainda que as diferenças entre os sexos não foram possíveis de serem demonstradas pelo número desigual entre os gêneros, com o número de mulheres muito pequeno, impedindo análise estatística, porém esta é uma característica da população alcoolista.

6 CONCLUSÃO

Nós conjecturamos que um conhecimento ainda mais refinado das estruturas e funções que estão comprometidas e que são poupadas no alcoolismo, aliadas aos efeitos do envelhecimento sobre o cérebro humano, podem aprimorar os esforços terapêuticos para redirecionar o recrutamento neural dos caminhos e redes usuais interrompidos, para vias alternativas funcionais, possivelmente através de terapia comportamental. Este conhecimento também pode auxiliar os esforços farmacológicos para iniciar a sobriedade, manter a abstinência e promover a recuperação.

Adicionalmente, também observamos que os alcoolistas apresentaram mudanças estruturais globais no cérebro ao longo do período de 6 anos, e mais refinadamente em segmentos cerebrais mais específicos, que sugerem alterações estruturais além da atrofia cerebral já amplamente descrita na literatura, como as alterações de regiões específicas do córtex pré-frontal envolvidas na dependência química.

Este estudo demonstrou que estruturas cerebrais como o polo frontal direito, que está principalmente relacionado com o córtex pré-frontal, e o córtex cerebelar esquerdo, foram associados com desempenho executivo examinado pela FAB em alcoolistas. Além disso, o putamen direito também se mostrou capaz de prever o estado cognitivo global avaliado pelo MEEM, sugerindo que a função executiva e estado cognitivo global são diferentemente afetadas pelo uso prolongado do álcool.

Estes resultados sugerem que o exame das alterações de volume da substância cinzenta de estruturas específicas do cérebro, juntamente com a FAB e o MEEM, podem ser clinicamente relevantes para determinar de ligeira a moderada disfunção executiva e estado cognitivo em pacientes alcoolistas assintomáticos, para auxiliar no estabelecimento de tratamentos melhores e mais direcionados, e quem sabe reduzir o insucesso terapêutico.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization. Global Strategy to reduce the harmful use of alcohol. 2010: 1-38. Disponível em: http://www.who.int/substance_abuse/msbalcstragegy.pdf.
2. World Health Organization. Global status report on alcohol and health 2014. Glob status Rep alcohol. 2014; 1–392. Disponível em: www.who.int/substanceabuse/publications/global_alcohol_report/msbgsruprofiles.pdf
3. World Health Organization. The global status report on alcohol and health. 2011; 1-85. Disponível em: http://www.who.int/substance_abuse/msbalcstragegy.pdf.
4. Lim SS, Vos T, Flaxman AD, Danaei G, Shibuya K, Adair-Rohani H. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012; 380:2224–60.
5. Organização Mundial da Saúde. CID-10 Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde. Universidade de São Paulo. 1997; 10: 62-64.
6. Shield KD, Parry C, Rehm J. Chronic diseases and conditions related to alcohol use. *Alcohol Research Current Reviews*. 2013; 35:155–171.
7. Lönnroth K, Williams B, Stadlin S, Jaramillo E, Dye C. Alcohol use as a risk factor for tuberculosis – a systematic review. *BMC Public Health*. 2008; 8:289.
8. Rehm J, Samokhvalov AV, Neuman MG, Room R, Parry CD, Lönnroth K et al. The association between alcohol use, alcohol use disorders and tuberculosis (TB). A systematic review. *BMC Public Health*. 2009; 9:450.
9. Baliunas D, Rehm J, Irving H, Shuper P. Alcohol consumption and risk of incident human immunodeficiency virus infection: A meta-analysis. *Int J Public Health*. 2010; 55:159–66.
10. Azar MM, Springer SA, Meyer JP, Altice FL. A systematic review of the impact of alcohol use disorders on HIV treatment outcomes, adherence to antiretroviral therapy and health care utilization. *Drug Alcohol Depend*. 2010; 112:178–93.
11. Brites RMR, Abreu ÂMM, Pinto JE da SS. Prevalence of alcoholism in the profile of disability retirement among employees of a federal university. *Rev Bras Enferm*. 2014; 67(3):373–80.
12. Anderson P, Baumberg B. Alcohol in Europe – A public health perspective. A report for the European Commission. England: Institute of Alcohol Studies. 2006; 1-446.

13. Bagga D, Sharma A, Kumari A, Kaur P, Bhattacharya D, Garg ML, et al. Decreased white matter integrity in fronto-occipital fasciculus bundles: Relation to visual information processing in alcohol-dependent subjects. *Alcohol*. 2014; 48(1):43–53.
14. Trivedi, R., Bagga, D., Bhattacharya, D., Kaur, P., Kumar, P., Khushu, S., et al. White matter damage is associated with memory decline in chronic alcoholics: a quantitative diffusion tensor tractography study. *Behavioural Brain Research*. 2013; 250:192-198
15. Oscar-Berman, M., & Marinkovic, K. Alcohol: effects on neurobehavioral functions and the brain. *Neuropsychology Review*. 2007; 17:239-257.
16. Stavro, K., Pelletier, J., & Potvin, S. Widespread and sustained cognitive deficits in alcoholism: a meta-analysis. *Addiction Biology*. 2013; 18:203-213.
17. Claeson, L.-E. and Carlsson, C. Cerebral Dysfunction in alcoholics; a psychometric investigation. *Quart J Stud Ale*. 1970; 31, 317-323.
18. Crum RM, Anthony JC, Bassett SS, Folstein MF. Population-based norms for the Mini-Mental State Examination by age and educational level. *JAMA*. 1993; 269:2386–2391
19. Almeida OP, Hankey GJ, Yeap BB, Golledge J, Flicker L. Alcohol consumption and cognitive impairment in older men: a mendelian randomization study. *Neurology*. 2014; 82(12):1038–44.
20. Kim S, Kim Y, Park SM. Association between alcohol drinking behaviour and cognitive function: results from a nationwide longitudinal study of South Korea. *BMJ Open*. 2016; 6(4).
21. Dubois B, Slachevsky A, Litvan I, Pillon B. The FAB: a Frontal Assessment Battery at bedside. *Neurology*. 2000; 55:1621–1626.
22. de Souza KZ, Zago-Gomes MP. Frontal assessment battery: A tool for screening minimal hepatic encephalopathy? *World J Hepatol*. 2016;8(30):1262–8.
23. Domingues SCA, Mendonça JB, Laranjeira R, Nakamura-Palacios EM. Drinking and driving: a decrease in executive frontal functions in young drivers with high blood alcohol concentration. *Alcohol*. 2009;43(8):657–64.
24. Noël X, Sferrazza R, Linden MVD, Paternot J, Verhas M, Hanak C, Pelc I, Verbanck P. Contribution of frontal cerebral blood flow measured by 99mTc- Bicisate

SPECT and executive function deficits to predicting treatment outcome in alcohol-dependent patients. *Alcohol*. 2002;37(4):347-54.

25. Cunha PJ, Novaes MA. Avaliações neurocognitivas no abuso e dependência do álcool: Implicações para o tratamento. *Rev Bras Psiquiatr*. 2004; 26:1–22.

26. Warner, FJ. The brain changes in chronic alcoholism and korsakows psychosis. *The Journal of Nervous and Mental Disease*. 1934; 80(6):629-644.

27. Tumarkin, B., Wilson, J., Snyder, G. Cerebral Atrophy Due to Alcoholism in Young Adults. *US. Arm. Force. Med. J.* 1955; 6:67-74.

28. Bergman H, Borg S, Hindmarsh T, Idestrom C-M, Mutzell S. Computed tomography of the brain and neuropsychological assessment of male alcoholic patients. *Addict brain damage*. 1980; (10):201–14.

29. Besson JAO, Glen AIM, Foreman EI, et al. Nuclear magnetic resonance observations in alcoholic cerebral disorder and the role of vasopressin. *Lancet*. 1981; ii: 923-24.

30. Barini O, Silva CP. Atrofias cerebrais em alcoólatras crônicos. Estudo pneumoencefalográfico. *Arq. Neuro-Psiquiatr*. 1959; 17 (4): 427-30.

31. Brewer C, Perrett L. Brain Damage due to Alcohol Consumption: An Air-pneumoencephalographic, Psychometric and Electroencephalographic Study. *Br J Addict to Alcohol Other Drugs*. 1971;66(3):170–82.

32. Chick JD, Smith MA, Engleman HM, Kean DM, Mander AJ, Douglas RH, et al. Magnetic resonance imaging of the brain in alcoholics: cerebral atrophy, lifetime alcohol consumption, and cognitive deficits. *Alcohol Clin Exp Res*. 1989;13(4):512–8.

33. Jernigan TL, Press GA, Hesselink JR. Methods for measuring brain morphologic features on magnetic resonance images. Validation and normal aging. *Arch Neurol*. 1990;47(1):27–32.

34. Fischl B. FreeSurfer. *Neuroimage*. 2012;62(2):774–81.

35. Jernigan TL, Butters N, Ditraglia G, Schafer K, Smith T, Riwin M, et al. Reduced Cerebral Gray-Matter Observed in Alcoholics Using Magnetic-Resonance-Imaging. *Alcohol Clin Exp Res*. 1991;15(3):418–27.

36. Pfefferbaum A, Lim KO, Zipursky RB, Mathalon DH, Rosenbloom MJ, Lane B, et al. Brain gray and white matter volume loss accelerates with aging in chronic alcoholics: a quantitative MRI study. *Alcohol Clin Exp Res*. 1992;16(6):1078–89.

37. Durazzo TC, Mon A, Pennington D, Abe C, Gazdzinski S, Meyerhoff DJ. Interactive effects of chronic cigarette smoking and age on brain volumes in controls and alcohol-dependent individuals in early abstinence. *Addict Biol.* 2014; 19:132–143.
38. Monnig MA, Tonigan JS, Yeo RA, Thoma RJ, McCrady BS. White matter volume in alcohol use disorders: a meta-analysis. *Addict Biol.* 2013; 18:581–592.
39. Jacobson, R. The contributions of sex and drinking history to the CT brain scan changes in alcoholics. *Psychol Med.* 1986; 16: 547-559.
40. Ide JS, Zhornitsky S, Hu S, Zhang S, Krystal JH, Li C shan R. Sex differences in the interacting roles of impulsivity and positive alcohol expectancy in problem drinking: A structural brain imaging study. *NeuroImage Clin.* 2017; 14:750–9.
41. Pfefferbaum a, Sullivan E V, Rosenbloom MJ, Mathalon DH, Lim KO. A controlled study of cortical gray matter and ventricular changes in alcoholic men over a 5-year interval. *Arch Gen Psychiatry.* 1998; 55(10):905–12.
42. Buhler M, Mann K. Alcohol and the human brain: a systematic review of different neuroimaging methods. *Alcohol Clin Exp Res.* 2011; 35:1771–1793.
43. van Eijk J, Demirakca T, Frischknecht U, Hermann D, Mann K, Ende G. Rapid Partial Regeneration of Brain Volume During the First 14 Days of Abstinence from Alcohol. *Alcohol Clin Exp Res.* 2013; 37(1):67-74.
44. Durazzo TC, Mon A, Gazdzinski S, Yeh P, Meyerhoff DJ, Francisco S, et al. Serial longitudinal MRI data indicates non-linear regional gray matter volume recovery in abstinent alcohol dependent individuals. 2016; 20(5):956–67.
45. Durazzo TC, Meyerhoff DJ. Psychiatric, Demographic, and Brain Morphological Predictors of Relapse After Treatment for an Alcohol Use Disorder. *Alcohol Clin Exp Res.* 2017 Jan;41(1):107-116.
46. Nakamura-Palacios EM, Souza RSM, Zago-Gomes MP, de Melo AMF, Braga FS, Kubo TTA, et al. Gray Matter Volume in Left Rostral Middle Frontal and Left Cerebellar Cortices Predicts Frontal Executive Performance in Alcoholic Subjects. *Alcohol Clin Exp Res.* 2014;38(4):1126–33.
47. Han X, Jovicich J, Salat D, van der Kouwe A, Quinn B, Czanner S, et al. Reliability of MRI-derived measurements of human cerebral cortical thickness: The effects of field strength, scanner upgrade and manufacturer. *Neuroimage.* 2006; 32(1):180–94.

48. Lewis GJ, Bates TC. The long reach of the gene. *Psychologist*. 2013; 26(3):194–8.
49. Whittle S, Lichter R, Dennison M, Vijayakumar N, Schwartz O, Byrne ML, et al. Structural brain development and depression onset during adolescence: A prospective longitudinal study. *Am J Psychiatry*. 2014;171(5):564–71.
50. Vijayakumar N, Allen NB, Youssef G, Dennison M, Yücel M, Simmons JG, et al. Brain development during adolescence: A mixed-longitudinal investigation of cortical thickness, surface area, and volume. *Hum Brain Mapp*. 2016;37(6):2027–38.
51. Fischl B, Dale AM. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(20):11050-5.
52. Fischl B, Salat DH, Busa E, et al. Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. *Neuron*. 2002;33(3):341-55.
53. Desikan RS, Segonne F, Fischl B, et al. An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *Neuroimage*. 2006;31(3):968-80.
54. Iparraguirre J. Socioeconomic determinants of risk of harmful alcohol drinking among people aged 50 or over in England. *BMJ Open*. 2015;5(7): 1-15.
55. Adams WL, Garry PJ, Rhyne R, Hunt WC, Goodwin JS. Alcohol intake in the healthy elderly. Changes with age in a cross-sectional and longitudinal study. *J Am Geriatr Soc*. 1990; 38(3): 211-6.
56. Barnes J, Bartlett JW, van de Pol LA, Loy CT, Scahill RI, Frost C, Thompson P, Fox NC. A meta-analysis of hippocampal atrophy rates in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*. 2009;30: 1711–1723.
57. Fjell AM, Walhovd KB, Fennema-Notestine C, McEvoy LK, Hagler DJ, Holland D, et al. One-year brain atrophy evident in healthy aging. *J Neurosci*. 2009;29(48):15223–31.
58. Jiang J, Sachdev P, Lipnicki DM, Zhang H, Liu T, Zhu W, et al. A longitudinal study of brain atrophy over two years in community-dwelling older individuals. *Neuroimage*. 2014;86:203–11.
59. Noroozian M. The Role of the Cerebellum in cognition. *Neurol Clin*. 2014;32:1081–104.

60. Gilbert SJ, Spengler S, Simons JS, Steele JD, Lawrie SM, Frith CD, et al. Functional Specialization within Rostral Prefrontal Cortex (Area 10): A Meta-analysis. *J Cogn Neurosci*. 2006;18(6):932–48.
61. Moayedi M, Salomons T V., Dunlop KAM, Downar J, Davis KD. Connectivity-based parcellation of the human frontal polar cortex. *Brain Struct Funct*. 2015;220(5):2603–16.
62. Domenech P, Koechlin E. Executive control and decision-making in the prefrontal cortex. *Curr Opin Behav Sci*. 2015;1:101–6.
63. Sullivan EV, Pfefferbaum A. Neurocircuitry in alcoholism: a substrate of disruption and repair. *Psychopharmacology*. 2005; 180:583–594.
64. Sullivan EV. Compromised pontocerebellar and cerebellothalamocortical systems: speculations on their contributions to cognitive and motor impairment in nonamnesic alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res*. 2003; 27:1409–1419.
65. Zahr NM, Pfefferbaum A, Sullivan E V. Perspectives on fronto-fugal circuitry from human imaging of alcohol use disorders. *Neuropharmacology*. 2017; 122:189–200.
66. Kelly RM, Strick PL. Cerebellar loops with motor cortex and pre-frontal cortex of a nonhuman primate. *J Neurosci*. 2003; 23:8432–8444.
67. Krienen FM, Buckner RL. Segregated fronto-cerebellar circuits revealed by intrinsic functional connectivity. *Cereb Cortex*. 2009; 19:2485–2497.
68. Postuma, R.B., Dagher, A. Basal ganglia functional connectivity based on a meta-analysis of 126 positron emission tomography and functional magnetic resonance imaging publications. *Cereb. Cortex*. 2006; 16: 1508–1521.
69. Cole, M.W., Pathak, S., Schneider, W. Identifying the brain's most globally connected regions. *Neuroimage*. 2010; 15;49(4):3132-48.
70. Sefcsik T, Nemeth D, Janacsek K, Hoffmann I, Scialabba J, Klivenyi P, et al. The role of the putamen in cognitive functions — A case study. *Learn Percept*. 2009; 1:215–27.
71. Ystad M, Hodneland E, Adolfsdottir S, Haász J, Lundervold AJ, Eichele T, et al. Cortico-striatal connectivity and cognition in normal aging: A combined DTI and resting state fMRI study. *Neuroimage*. 2011; 55:24-31.
72. Cuzon Carlson, V. C., Seabold, G. K., Helms, C. M., Garg, N., Odagiri, M., Rau, A. R., Daunais, J., Alvarez, V. A., Lovinger, D. M. and Grant, K. A. Synaptic and morphological neuroadaptations in the putamen associated with long-term, relapsing alcohol drinking in primates. *Neuropsychopharmacology*. 2011; 36 (12), 2513-28.

ANEXO 1



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Vitória-ES, 30 de novembro de 2009.

Da: Profa. Dr^a. Ethel Leonor Noia Maciel
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde

Para: Prof. Emerson Leandro Gasparetto
Pesquisador Responsável pelo Projeto de Pesquisa intitulado: **“Estudo estrutural e volumétrico por ressonância magnética na avaliação de pacientes alcoolistas classificados de acordo com a tipologia de lesch”**.

Senhor Pesquisador,

Informamos a Vossa Senhoria, que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, após analisar o Projeto de Pesquisa nº. **207/09** intitulado: **“Estudo estrutural e volumétrico por ressonância magnética na avaliação de pacientes alcoolistas classificados de acordo com a tipologia de lesch”** e o **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, cumprindo os procedimentos internos desta Instituição, bem como as exigências das Resoluções 196 de 10.10.96, 251 de 07.08.97 e 292 de 08.07.99, **APROVOU** o referido projeto, em Reunião Ordinária realizada em 25 de novembro de 2009.

Gostaríamos de lembrar que cabe ao pesquisador responsável elaborar e apresentar os relatórios parciais e finais de acordo com a resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196 de 10/10/96, inciso IX.2. letra “c”.

Atenciosamente,

Prof^a Dra Ethel Leonor Noia Maciel
COORDENADORA
Comitê de Ética em Pesquisa
Centro de Ciências da Saúde/UFES

ANEXO 2



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Estas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária no estudo denominado "Técnicas convencionais e avançadas de ressonância magnética na avaliação de pacientes alcoolistas classificados de acordo com a tipologia de Lesch".

Objetivo do estudo

Neste estudo pretende-se verificar os efeitos do uso prolongado do álcool sobre os tratos neurais e sobre o volume de diversas regiões cerebrais específicas observados em pacientes alcoolistas atendidos no Programa de Atendimento ao Alcoolista do Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes, do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (PAA/HUCAM/CCS/UFES) classificados clinicamente em diferentes tipos de alcoolismo de acordo com a Tipologia de Lesch. Espera-se o melhor entendimento dos efeitos do álcool sobre o sistema nervoso central e a análise de lesões não detectáveis pelos métodos diagnósticos tradicionais.

Procedimentos

Na sua consulta com o médico do Programa de Atendimento ao Alcoolista do Hospital das Clínicas da UFES você será avaliado e informado sobre um estudo para investigar alterações no sistema nervoso central não detectáveis pelos métodos diagnósticos tradicionais. Você não é obrigado a participar do estudo e será tratado normalmente no ambulatório. Mas, se você aceitar participar do estudo, além do tratamento normal do ambulatório, você será avaliado quanto a sua inteligência (função mental) e capacidade de realizar tarefas (funções executivas) e memória. A seguir, você será encaminhado ao setor de Radiologia do Hospital Cassiano Antônio Moraes (HUCAM) onde será feito um exame de Tomografia Computadorizada do Crânio para que sejam observadas alterações maiores. Se seu exame não mostrar grandes lesões que interfiram no prosseguimento do estudo como, por exemplo, áreas grandes de derrame (AVC) e caso você não tenha nenhuma contra-indicação, você será encaminhado ao Serviço de Ressonância Magnética do Hospital Evangélico de Cachoeiro de Itapemirim, localizado(a) em Cachoeiro de Itapemirim (ES). O transporte e a alimentação serão custeados pelo presente estudo e partirá um ônibus do HUCAM em horário previamente agendado. Você terá direito a um acompanhante em caso de necessidade. No local, você será submetido a um exame de Ressonância Magnética, que nos permitirá avaliar alterações que não puderam ser observadas no exame anterior, ao término dos exames, você será, então, reencaminhado ao HUCAM.

Os exames realizados são de baixo risco e não será necessário o uso de contraste venoso e nem de nenhum tipo de medicamento. Grávidas ou pacientes com suspeita de gravidez não podem ser submetidas a nenhum dos dois exames e serão excluídas do estudo. Cada exame durará poucos minutos e você não sentirá dor. No caso da Tomografia Computadorizada, você será exposto a baixos níveis de radiação ionizante, que, em doses altas e em excesso, é responsável por aumento no risco de cânceres. A Ressonância Magnética é contra indicada nos pacientes portadores de implantes metálicos (dispositivo intra-uterino - DIU, válvula cardíaca, placa, pino, parafuso, stent, clip de aneurisma cerebral, estilhaço metálico no corpo, piercing, prótese metálica, aparelho ortodôntico), de implante eletrônico (marca-passo cardíaco, neuro-estimulador, implante coclear), claustrofóbicos (medo de lugares fechados) e os com maquiagem definitiva ou tatuagem recente (nos últimos três meses).

Os responsáveis por este estudo são: Dr. Rodrigo Stênio Moll de Souza, CRM 6687/ES, Dr. Emerson L. Gasparetto, CRM 833934/RJ, Dra. Ester Miyuki Nakamura Palacios, CRM 4746/ES, Dra. Maria da Penha Zago Gomes, CRM 2724/ES, Dr. Roney Welinton Dias de Oliveira, CRM 6434/ES, Dra. Flávia Silva Braga, CRM 9391/ES, Dra. Adriana Maria Fonseca de Melo, CRM 9724/ES. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre ética em pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa - situado no Centro de Ciências da Saúde da UFES.

Todas as informações obtidas relativas à sua participação neste estudo serão analisadas em conjunto com aquelas obtidas com outros pacientes, resguardando, desta forma, a confidencialidade da sua participação.

Desta forma, acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo: "Técnicas convencionais e avançadas de ressonância magnética na avaliação de pacientes alcoolistas classificados de acordo com a tipologia de Lesch".

Data: __/__/__ Assinatura do paciente/representante legal

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para participação neste estudo.

Dr. Rodrigo Stenio Moll de Souza CRM 6687/ES

Dra. Maria da Penha Zago Gomes CRM/ES 2724

Dr. Emerson L. Gasparetto CRM 833934/RJ

Dra. Adriana Maria Fonseca de Melo CRM 9724/ES

Dra. Ester Miyuki Nakamura Palacios CRM/ES 4746

Dra. Flávia Silva Braga CRM 9391/ES


Dr. Roney Welinton Dias de Oliveira CRM/ES 6434

Médicos responsáveis pelo estudo

Data: __/__/__

ANEXO3

Quadro 1 – Miniexame do estado mental (MEEM)

Orientação temporal (5 pontos)	Qual a hora aproximada?
	Em que dia da semana estamos?
	Que dia do mês é hoje?
	Em que mês estamos?
	Em que ano estamos?
Orientação espacial (5 pontos)	Em que local estamos?
	Que local é este aqui?
	Em que bairro nós estamos ou qual é o endereço daqui?
	Em que cidade nós estamos?
Registro (3 pontos)	Repetir: CARRO, VASO, TIJOLO
Atenção e cálculo (5 pontos)	Subtrair: $100-7 = 93-7 = 86-7 = 79-7 = 72-7 = 65$
Memória de evocação (3 pontos)	Quais os três objetos perguntados anteriormente?
Nomear 2 objetos (2 pontos)	Relógio e caneta
REPETIR (1 ponto)	“Nem aqui, nem ali, nem lá”
Comando de estágios (3 pontos)	Apanhe esta folha de papel com a mão direita, dobre-a ao meio e coloque-a no chão
Escrever uma frase completa (1 ponto)	Escrever uma frase que tenha sentido
Ler e executar (1 ponto)	Feche seus olhos
Copiar diagrama (1 ponto)	Copiar dois pentágonos com interseção 

Fonte: Brucki SMD, Nitrini R, Caramelli P, Bertolucci PHF, Okamoto JH. Sugestões para o uso do mini-exame do estado mental no Brasil. Arq Neuropsiquiatr. 2003; 61(3B):777-81.

ANEXO 4

BATERIA DE AVALIAÇÃO FRONTAL (FAB)

Nome: _

1. Semelhanças: "De que modo e são semelhantes?" Pontos
(0 ou 1)

banana e laranja*:

mesa e cadeira:

tulipa, rosa e margarida:

Total: p 0 p 1 p 2 p 3

2. Fluência Verbal (flexibilidade mental):.

Total: p 0 (<3 palavras) p 1 (3-5 palavras) p 2 (6-9 palavras)
p 3 (>9 palavras)

3. Séries Motoras (programação)

Total: p 0 (0 acompanhando) p 1 (3 acompanhando) p 2 (3 sozinho)
p 3 (6 sozinho)

4. Instruções conflitantes (susceptibilidade à interferência)

Exemplos: "Bata duas vezes quando eu bater uma" (1-1-1); "Bata uma vez quando eu bater duas" (2-2-2)

Seqüência: 1-1-2-1-2-2-2-1-1-2.

Total: p 0 (faz como o examinador) p 1 (> 2 erros) p 2 (1-2 erros)
p 3 (sem erros)

5. Controle Inibitório (Go-No Go)

Exemplos: "Bata uma vez quando eu bater uma" (1-1-1); "Não bata quando eu bater duas" (2-2-2)

Seqüência: 1-1-2-1-2-2-2-1-1-2.

Total: p 0 (repete 4 vezes seguidas) p 1 (> 2 erros) p 2 (1-2 erros)
p 3 (sem erros)

6. Comportamento de prensão manual (autonomia)

Total: p 0 (pega, mesmo após instrução) p 1 (pega)

Gray matter volumes of the fronto-parietal and fronto-striatal structures predict cognitive performance in alcoholics: a follow-up study.

Journal:	<i>Alcohol and Alcoholism</i>
Manuscript ID	ALC-18-0095.R1
Manuscript Type:	Original Manuscript
Date Submitted by the Author:	19-Jun-2018
Complete List of Authors:	MORGADO, ADRIANO; Universidade Federal do Espirito Santo, Internal Medicine Nakamura-Palacios, Ester ; Universidade Federal do Espirito Santo, Internal Medicine de Oliveira Jr, Ronaldo ; Universidade Federal do Espirito Santo, Internal Medicine de Souza, Rodrigo ; Universidade Federal do Espirito Santo, Internal Medicine
Keywords:	Alcoholism, Gray Matter, Volumetry, Follow-up, Magnetic Resonance Imaging

1
2
3 **Title:** Gray matter volumes of the fronto-parietal and fronto-striatal structures
4 predict cognitive performance in alcoholics: a follow-up study.
5
6

7
8 **Running title:** Gray matter volume in alcoholics
9

10
11 **Key Words:** Alcoholism; Gray Matter; Volumetry; Follow-up; Magnetic
12 Resonance Imaging.
13
14

15
16 **Authors:** Adriano Daniel Peres Morgado, MD^{a,b}; Ronaldo de Oliveira Jr, MD^d;
17 Rodrigo Stênio Moll de Souza, MD, MSc^{d,e}; Ester Miyuki Nakamura-
18 Palacios^{b,c,d,*}, MD, PhD
19
20
21
22

23 ^aDepartment of Internal Medicine, Health Sciences Center, Federal
24 University of Espírito Santo, Vitória-ES, Brazil
25
26

27 ^bGraduate Program in Medicine, Federal University of Espírito Santo,
28 Vitória-ES, Brazil
29
30

31
32 ^cLaboratory of Cognitive Sciences and Neuropsychopharmacology,
33 Graduate Program in Physiological Sciences, Federal University of
34 Espírito Santo, Vitória-ES, Brazil
35
36
37

38 ^dBRAEN – Brazilian Research Group on Brain and Cognitive
39 Engineering, Federal University of Espírito Santo, Vitória-ES, Brazil
40
41

42 ^eUniversity Hospital Cassiano Antônio de Moraes, Health Sciences
43 Center, Federal University of Espírito Santo, Vitória-ES, Brazil
44
45

46
47 ***Corresponding Author:** Dr. Ester M Nakamura-Palacios, Programa de Pós-
48 Graduação em Ciências Fisiológicas, Centro de Ciências da Saúde,
49 Universidade Federal do Espírito Santo, Av. Marechal Campos, 1468, 29.043-
50 900 Vitória, ES, Brasil, Fax: + 55(27) 3335-7330, Tel: + 55(27) 3335-7337, E-
51 mail: emnpalacios@gmail.com
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 Number of words in abstract: 235
4

5 Number of words in article body: 4,000
6

7 Number of figures: 03
8

9
10 Number of tables: 01
11

12 Number of references: 38
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

For Peer Review

Abstract

Aim: Alcohol use has long been associated to brain atrophy and cognitive deficiencies, but how changes in specific brain structures are related to these cognitive changes remains unclear and is the purpose of this study. **Short summary:** This study explored changes in the cortical and subcortical gray matter volume of alcoholics after a six-year interval and the relationship between these volumes and changes in frontal executive and global cognitive mental status. **Methods:** Cortical and subcortical segmentation and corrections of magnetic resonance images (1.5 T) acquired in 2010 (t1) and 2016 (t2) from 16 alcoholics (14 males, mean age 49.8 years \pm 8.5 SD at t1 and 55.7 years \pm 8.4 SD at t2) with long-term use of alcohol (mean of 29.8 years at t1 and 34.7 years at t2) were performed using FreeSurfer. **Results:** Gray matter volumes were decreased from frontal to posterior cortical structures and subcortical areas. Changes of gray matter volumes of the right frontal pole region ($p < .01$) was associated with changes on global cognitive mental status performance, whereas volume changes of right precuneus ($p < .01$), right caudate ($p < .01$) and left accumbens ($p < .05$) were associated with changes in frontal executive performance. **Conclusions:** Fronto-parietal and fronto-striatal networks are importantly involved in high-cognitive functions and rewarding process, thus their structural changes may predict the cognitive decrement in parallel with addictive aggravation over the course of alcohol use disorder.

Short summary

This study explored changes in the cortical and subcortical gray matter volume of alcoholics after a six-year interval and the relationship between these volumes and changes in frontal executive and global cognitive mental status.

For Peer Review

Introduction

Cross-sectional studies have shown that gray matter atrophy in alcoholics occurs mainly in specific regions such as the frontoparietal cortex, mesial temporal lobe and caudate nucleus (Jernigan et al., 1991).

Pfefferbaum et al (Pfefferbaum et al., 1995) conducted one of the first, most relevant longitudinal volumetric studies, in which chronic alcoholic patients were followed for five years. The authors showed that the rate of frontal atrophy was correlated with the amount of alcohol consumed (Pfefferbaum et al., 1995). Subsequent studies showed that alcoholics demonstrate regional volume recovery with maintained sobriety; however, most alcoholics continue to demonstrate significantly smaller volumes in multiple brain regions after 6-12 months of abstinence compared to controls (Buhler and Mann, 2011; Monnig et al., 2013).

Decreases in the macrostructural integrity (as evidenced by volume deficits) of the right rostral and right caudal anterior cingulate cortex and of the total right frontal gray matter, in conjunction with mood disorders and education, have been considered a significant predictor of post-treatment drink status, that is, if an alcoholic would be a relapser or an abstainer over an extended period after outpatient treatment for Alcohol Use Disorder (Durazzo and Meyerhoff, 2017).

Thus, the knowledge of how alcoholism affects brain structures and related cognitive performance is relevant as some issues remain to be answered or reinforced. In our previous study, performed on 60 alcoholics from

1
2
3 a public outpatient service, we observed that the gray matter volume of the left
4 rostral middle and left cerebellar cortices was predictive of frontal executive
5 performance, whereas no structure was predictive of global cognitive
6 performance (Nakamura-Palacios et al., 2014). The present study was a six-
7 year follow-up imaging study including patients from this previous sample that
8 responded to this recall.
9
10
11
12
13
14
15

16 Our main hypothesis was that alcoholic patients would show cognitive
17 performance decrement after six-year interval along with a progressive cerebral
18 volume reduction according to age and alcohol exposure and that distinct brain
19 structures would be related to cognitive performance. Thus, the aim of this
20 study was to examine changes of gray matter volumes of segmented brain
21 regions from alcoholics after six-year interval and their association with
22 cognitive performance.
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Methods

Study Design

This was a single center, longitudinal study comparing the volume of segmented brain structures of alcoholics over an interval of six years (2010 to 2016).

Subjects

Twenty out of sixty alcoholics from a previous study (Nakamura-Palacios et al., 2014) (Fig. 1), assigned from a specialized public outpatient service of the Medical School Hospital of the Federal University of Espírito Santo (Brazil), who responded to the recall were interviewed for this study. From these, four patients refused to participate in this study and sixteen (Fig. 1) agreed to participate and signed a new informed consent.

These patients were those included in our previous study (Nakamura-Palacios et al., 2014) that met the following inclusion criteria: (i) between the age of 18 and 75 years; (ii) consumed at least 30 drinks per week on average over the previous year (considered standard dose of 12 grams of alcohol); (iii) met the criteria for alcohol dependence according to the International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision (ICD-10), as determined by clinic evaluation; (iv) were in stable clinical condition with no need for inpatient care; (v) able to read, write, and speak Portuguese; and (vi) had no severe withdrawal signs or symptoms at baseline. Conversely, exclusion criteria included the following: (i) a condition of

1
2
3 intoxication or withdrawal due to a substance other than alcohol, (ii) unstable
4
5 mental or medical disorder other than alcohol dependence, except nicotine
6
7 and/or caffeine; (iii) a diagnosis of epilepsy, convulsions, or delirium tremens
8
9 during abstinence from alcohol; (iv) a previous history of drug hypersensitivity or
10
11 adverse reactions to diazepam or other benzodiazepines and haloperidol; (v)
12
13 any contraindication for magnetic resonance procedures such as electronic
14
15 implants, metal implants, claustrophobia, or permanent make-up or tattoo
16
17 received within the previous 3 months; (vi) the presence of vascular, traumatic,
18
19 inflammatory, or tumor injuries detectable by FLAIR (fluid attenuation by
20
21 inversion recovery) on Magnetic Resonance Imaging (MRI); or (vii) suspected
22
23 pregnancy for female participants.
24
25

26
27 Ethical approval was provided by the Brazilian Institutional Review Board
28
29 of the Federal University of Espírito Santo (registration 207/09), Brazil. The
30
31 study was conducted in strict adherence to the Declaration of Helsinki and in
32
33 accordance with the ethical standards of the Committee on Human
34
35 Experimentation of the Federal University of Espírito Santo, ES, Brazil, where
36
37 this study was conducted. Subjects were fully informed about the experimental
38
39 protocol and voluntarily signed an informed consent form before the start of the
40
41 study.
42
43
44
45

46 47 *Procedures*

48
49 After having been informed of all procedures and giving written informed
50
51 consent, 16 patients previously diagnosed with alcohol dependence by ICD-10
52
53 were successively assessed.
54
55
56
57
58
59
60

Sociodemographic and Drug Use Characteristics

A structured brief interview was used to obtain information regarding sociodemographic data and drug use characteristics of the study participants.

Cognitive Tests

The same adapted versions of the Mini-Mental State Examination (MMSE) (Crum et al., 1993) and the Frontal Assessment Battery (FAB) (Dubois et al., 2000) in Portuguese described in Nakamura-Palacios et al (Nakamura-Palacios et al., 2014) were used. The maximum score for the MMSE is 30, and a mean score between 23 and 26 would be expected according to the age and educational level of the participants; the maximum total score for FAB is 18 (Dubois et al., 2000).

Magnetic Resonance Imaging (MRI)

Alcoholics underwent MRI in 1.5 T scanners without paramagnetic contrast administration.

MRI acquisition in 2010 (t1)

Enhanced 3D fast gradient-echo (eFGRE3D) sagittal T1-weighted imaging was acquired in a Signa Echospeed scanner (Signa Genesis 1.5 T, GE Medical Systems, Milwaukee, WI, USA) with the following parameters: FOV: 28;

1
2
3 voxel size: 1.55 mm³; flip angle: 12°; TR/TE = 8.9/4.2 ms, acquisition matrix:
4
5 512 x 512, 1.3 mm slice thickness, Number of Signals Average (NSA): 2.
6

7 8 *MRI acquisition in 2016 (t2)* 9

10
11 Sagittal 3D T1-weighted images with specific head coil model SENSE (8
12
13 channels) were acquired in a Philips scanner (Philips Medical Systems
14
15 Nederland B.V., The Netherlands) with the following parameters: FOV: 28;
16
17 voxel size: 1.55 mm³; flip angle: 12°; TR/TE: 8.8/4.8 ms; acquisition matrix: 512
18
19 x 512; 1.3 mm slice thickness, NSA: 2.
20
21

22
23 All MRIs were reviewed by an experienced neuroradiologist and were of
24
25 good quality for to allow for post-processing.
26
27

28 29 30 *FreeSurfer Post-Processing* 31

32
33 All images were transferred to a workstation (MacOS X Yosemite,
34
35 version 10.10) with 16 GB of RAM memory and 6-Core Intel Xeon E5
36
37 processors of 3.5 GHz) located in the Radiology Sector of the Federal
38
39 University of Espírito Santo, Brazil. Cortical segmentation and corrections were
40
41 performed using FreeSurfer version 5.3.0 software
42
43 (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu>) by two technicians under the supervision of
44
45 an onsite medical physicist and online support of another medical physicist with
46
47 seven years of experience with this software. The technical details of these
48
49 procedures have previously been described (Dale et al., 1999; Desikan et al.,
50
51 2006; Fischl and Dale, 2000; Fischl et al., 2002). Briefly, this processing
52
53 included: motion correction; removal of non-brain tissue using a hybrid
54
55
56
57
58
59
60

1
2 watershed/surface deformation procedure; automated Talairach transformation
3 (MNI305); segmentation of subcortical white matter and deep gray matter
4 structures (including the thalamus, hippocampus, amygdala, caudate, putamen,
5 and ventricles); intensity normalization; tessellation of the GM/WM boundary;
6 automated topology correction; and surface deformation and inflation of the
7 cerebrum. The results of the automatic segmentations were reviewed, and any
8 errors were corrected. This segmentation procedure assigns a neuroanatomical
9 label to every voxel in the MR image volume, and the method is based on
10 probabilistic information estimated from a manually labeled training set. The
11 Markov Random Field Theory is applied, where the probability of a label at a
12 given voxel is computed not just in terms of gray-scale intensities and prior
13 probabilities at that voxel but also as a function of the labels in a neighborhood
14 around the voxel in question (Fischl et al., 2002). This is important for obtaining
15 the correct separation of structures, which have similar gray-scale values in the
16 hippocampus and amygdala. Completing an entire post-processing step took
17 approximately 14 to 16 h per subject and implemented Unix scripts were used
18 to extract the volume, area, and thickness values. Furthermore, within the
19 scripts, it was possible to access all information regarding the processed
20 structures in a practical and rapid manner.

21
22 Designation of brain regions followed the automated labeling described
23 by Desikan et al (Desikan et al., 2006).

24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 *Statistical Analysis*

1
2
3 Data are presented as the percentage or mean \pm standard deviation
4 (SD). The gray matter volume of segmented regions of frontal lobe including
5 the superior frontal, paracentral, precentral and of the prefrontal cortex from left
6 and right hemispheres, and all other non-frontal structures, composed of the
7 temporal, parietal and occipital lobes, cerebellum, hippocampus, and
8 subcortical structures (such as the amygdala, thalamus, caudate, putamen,
9 pallidum and accumbens), were compared between t1 and t2 by Student's
10 paired t-tests as the majority of the data were found to be normally distributed
11 through Shapiro-Wilk tests. For analysis of brain segments, the p-value was
12 adjusted by Bonferroni's multiple comparisons method for 84 comparisons
13 including all segments from the left and right hemispheres and subcortical
14 structures. Thus, for these comparisons two-tailed p-values should be less than
15 .0006 to be considered statistically significant.

16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31 Additionally, all cortical and subcortical gray matter volume differences
32 between t1 and t2 were introduced as independent variables in a multiple
33 regression analysis controlled by age and drinks/day differences. FAB and
34 MMSE score differences between t1 and t2 were introduced as dependent
35 variables.

36
37
38
39
40
41
42
43 A two-tailed p-value of .05 was used to determine statistical significance
44 for all other comparisons. SPSS Statistics version 24 (IBM Corporation, USA)
45 and GraphPad Prism version 7 (GraphPad Software Inc, USA) were used for
46 statistical analyses and graphic presentations.
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Results

Sociodemographic data, patterns of alcohol use and cognitive performance are shown in Table 1.

Sociodemographic characteristics

The alcoholic subjects included in this study were mostly males (87.5%). The mean age at t1 was 49.5 ± 8.5 years, while at t2 it was 55.7 ± 8.4 years. Most patients were married or had a stable relationship (68.8%), and a similar percentage was found for those who declared themselves to be smokers (68.8%). Most patients reported between 6 and 9 years (37.5%) or between 10 and 13 years of education (37.5%).

Patterns of alcohol use

This sample of alcoholics showed a history of long-term use [mean of 29.8 years (7.9 SD) of use at t1; mean of 34.7 years (7.3 SD) of use at t2] and of heavy use, notably at t1, where the mean was 18.4 drinks/day (19.4 SD); there was a significant reduction ($p = 0.038$) in alcohol use at t2 [(mean of 6.1 drinks/day (5.8 SD)] (Tab. 1).

FAB and MMSE

Alcoholics in this study had an average score of 25.9 (4.5 SD) on the MMSE at t1, and at t2, there was a slight improvement, with an average score of 26.3 (4.1 SD). Similar results were observed in FAB performance, in which there was a slight improvement at t2 [mean at t1 = 12.0 (3.1 SD); mean at t2 = 12.8 (4.1 SD)] (Tab. 1). However, 11 (68.75%) of the 16 alcoholics showed no change or had a decrease in MMSE scores, and only five (31.25%) had higher scores on this test. Regarding the FAB, eight (50%) of the 16 alcoholics did not show a change or a decrease in scores, while the remaining eight (50%) showed improvements, seen by an increase in scores, in the performance of this test (Tab. 1).

MRI segmentation

Differences of gray matter volumes of segmented brain structures between t1 and t2 are illustrated in the figure 2.

Few frontal segments presented significant volume reductions in both hemispheres. Specifically, in the left hemisphere, volumes of the superior frontal gyrus [t1 = .0136 (.00153 SD), t2 = .0128 (.0013 SD); $t(15) = 5.03$, p-value = .00015] and the lateral orbitofrontal [t1 = .0047 (.00041 SD), t2 = .0043 (.00040 SD); $t(15) = 5.32$, p-value = .00009] were smaller in alcoholics at t2 in average 5.9% and 8.5%, respectively, when compared with t1. In the right hemisphere, the volume of the frontal pole was smaller at t2 in approximately 25% when compared to t1 [t1 = .0008 (.00017 SD), t2 = .0006 (.00011 SD); $t(15) = 4.48$, p-value = .0004].

1
2
3 Regarding temporal segments, the volume of the left superior temporal
4 lobe was smaller at t2 [t1 = .0080 (.00095 SD), t2 = .0074 (.00085 SD); t(15) =
5 4.52, p-value = .0004] as well as the left inferior temporal lobe [t1 = .007
6 (.00074 SD), t2 = .0064 (.00081 SD); t(15) = 5.02, adjusted p-value = .0002] in
7 approximately 7.5% and 9.9%, respectively, when compared to t1 (Fig. 2).
8
9
10
11
12
13 Meanwhile, no segment of the right temporal lobe differed between t1 and t2.
14
15

16 On the left side, the inferior parietal [t1 = .0078 (.00074 SD), t2 = .0073
17 (.00072 SD); t(15) = 4.39, p-value = .0005], supramarginal [t1 = .0067 (.00054
18 SD), t2 = .0063 (.00056 SD); t(15) = 4.78, p-value = .0002] and postcentral [t1 =
19 .0061 (.00073 SD), t2 = .0055 (.00048 SD); t(15) = 5.15, p-value = .0001]
20 segments were smaller (approximately 6.4%, 5.9% and 9.9%, respectively) at t2
21 compared to t1. The right post-central [t1 = .0058 (.00063 SD), t2 = .0052
22 (.00052 SD); t(15) = 5.67, p-value = .00004] was the only parietal segment of
23 the right hemisphere showing smaller volume (approximately 10.3%) at t2 (Fig.
24 3).
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35

36 More posteriorly, the left lateral occipital segment [t1 = .0076 (.00096
37 SD), t2 = .0069 (.00082 SD); t(15) = 5.54, p-value = .00006] was smaller in
38 approximately 9.2% in t2, whereas in the right hemisphere, the lateral occipital
39 (10.7%) [t1 = .0075 (.00087 SD), t2 = .0067 (.00080 SD); t(15) = 8.92, p-value =
40 .0000002] and lingual [t1 = .0043 (.0007 SD), t2 = .0039 (.0007 SD); t(15) =
41 4.39, p-value = .0005] segments were smaller in average 10.7% and 9.3%,
42 respectively, at t2 comparing to t1 (Fig. 2).
43
44
45
46
47
48
49
50
51

52 Regarding subcortical structures, volumes of the left and right caudate
53 [left: t1 = .00253 (.00022 SD), t2 = .00235 (.00022 SD); t(15) = 5.8, p-value =
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 .00003; right: $t_1 = .00264 \pm .00026$, $t_2 = .00243 \pm .00025$; $t(15) = 5.8$, $p\text{-value} =$
4
5 .00004] and of the right putamen [$t_1 = .00387$ (.00056 SD), $t_2 = .00340$ (.00044
6
7 SD); $t(15) = 4.52$, $p\text{-value} = .00004$) were smaller at t_2 (approximately 7.1%,
8
9 7.9% and 12.1%, respectively) when compared to t_1 .
10
11
12
13
14

15 *Multiple regression analysis*

16
17
18 In these analyses, the differences ($t_2 - t_1$) in the gray matter volume of all
19
20 cortical and subcortical structures from both hemispheres were considered
21
22 independent variables and differences in cognitive performance ($t_2 - t_1$) were
23
24 considered dependent variables.
25

26 *FAB*

27
28
29
30 The linear regression model in which structures whose volume changes
31
32 were associated with frontal lobe score differences in six-year interval, was the
33
34 one that included the right precuneus, right caudate and left accumbens,
35
36 accounting for 74% of the variance in the differences of FAB performance,
37
38 $F(3,12) = 15.21$, $p = .000217$, adjusted $R^2 = 0.74$, 95% CI [1.245, 5.534].
39
40 Variations in the gray matter volume of each of these structures showed
41
42 significant zero order correlations with FAB performance variations, and all of
43
44 them showed significance in the complete model: right precuneus (zero-order r
45
46 $= -.628$, $\beta = -.481$, $p = .005$), right caudate (zero-order $r = .576$, $\beta = .537$, $p =$
47
48 0.01) and left accumbens (zero-order $r = .457$, $\beta = .395$, $p = .038$) (Fig. 3a).
49
50
51

52 *MMSE*

1
2
3 From the structures considered in the analysis, a model including volume
4 differences of the right frontal pole, right putamen and left middle temporal
5 cortex accounted for 68.4% of the variance of score differences of MMSE
6
7 performance, $F(3,12) = 11.82$, $p = .001$, adjusted $R^2 = 0.684$, 95% CI [-4.251, -
8
9 .696]. The variation of the gray matter volumes of each of these structures
10
11 presented significant zero order correlations according to the MMSE
12
13 performance variation: right frontal pole (zero-order $r = -.590$, $\beta = -.742$), right
14
15 putamen (zero-order $r = -.307$, $\beta = -.599$) and left middle temporal cortex (zero-
16
17 order $r = .361$, $\beta = .328$) but only the right frontal pole had a statistically
18
19 significance ($p = .008$) in the complete model (Fig. 3b).
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Discussion

In general, socio-demographic characteristics, patterns of alcohol use and clinical and cognitive aspects of alcoholics in this study are consistent with previous studies from our University Hospital (Nakamura-Palacios et al., 2014; Zago-Gomes Mda and Nakamura-Palacios, 2009) and other Brazilian regions (Araujo and Monteiro, 1995; Gallassi et al., 2016; Hochgraf et al., 1995) but also from other countries (Lopez-Goni et al., 2015; Sarkar et al., 2013) and worldwide (WHO, 2014).

In this study, sixteen heavy chronic alcoholics were re-examined regarding segmented brain structure volume after an approximate six-year interval. When looking to specific brain segments, they showed decreasing volume in frontal, temporal, parietal, occipital and subcortical regions.

In the prefrontal cortex gray matter, the volume of the right frontopolar cortical region was significantly reduced over the six-year period. Although at non-statistically extent, the left frontopolar cortex was also reduced in this period. This is the frontal region that has been shown the largest reduction in healthy older subjects (Fjell et al., 2009). From frontal region, the left superior frontal and left lateral orbital frontal were also reduced after six years in alcoholics.

From temporal cortex, the gray matter volumes of the superior and inferior temporal cortex from the left hemisphere were reduced. From parietal lobe, the gray matter volumes of the supramarginal region and inferior parietal cortex were also reduced in the left side only.

1
2
3 In occipital region, the gray matter volume of the lateral occipital
4 cortex was reduced in both hemispheres, but of the lingual gyrus was
5 reduced only at the right side, and from subcortical regions, the volumes
6 of caudate were reduced in left and right side but of putamen only from
7 the right side.
8
9
10
11
12

13
14 Decreasing of brain volumes in varying cortical regions has been
15 related to time to relapse such as frontal and posterior cortical gray
16 matter (Rando et al., 2011), spatial processing deficits such as parietal
17 gray matter (Fein et al., 2009), behavioral impulsivity such as prefrontal
18 gray matter (Groppe et al., 2016), frontal executive performance such as
19 prefrontal and cerebellar cortical gray matter (Nakamura-Palacios et al.,
20 2014), and to the development and maintenance of drug addiction, such
21 as caudate, putamen and accumbens (Sullivan et al., 2005) in alcoholics.
22
23
24
25
26
27
28
29
30

31
32 In the present study, differences of gray matter volume of the right
33 frontal pole over a six-year period were negatively associated with
34 differences of MMSE scores when controlling for difference of pattern of
35 alcohols use (drinks/day) and difference of age in this period.
36
37
38
39

40 Paradoxically, the larger decrease of the frontopolar gray matter volume
41 was related to improved MMSE performance, suggesting that the
42 performance of global mental status inversely depends on the gray
43 matter volume of this frontal region in alcoholics.
44
45
46
47
48

49
50 **The frontal pole has been associated with high-level cognitive**
51 **processing, especially in multitasking performance but also in social**
52 **cognition and executive control (Moayed et al., 2015), thus changes in**
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 **its structure could influence these functions as it may be seen in**
4
5 **alcoholics.**
6

7 The right hemisphere seems to be associated with self-related
8 cognitive functions (self-recognition, self-evaluation, self-knowledge and
9 autobiographical retrieval) and notion of self-relevance during subjective
10 evaluation (see (Yokoyama et al., 2010). Curiously, the right frontopolar
11 cortex has been suggested to be related to directed exploration of known
12 resources for reward instead of random exploration of unknown options
13 (Zajkowski et al., 2017). Direct strategies are related to decision making
14 that ensure the greatest amount of reward in the long run based on
15 known informative options, whereas random strategies reflect simpler
16 heuristics that are not generally optimal, but can be as good as (Wilson
17 et al., 2014).
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29

30
31 The excessive directed exploration may be disruptive as it may
32 induce inflexible behavior, including impairment in task switching as well
33 as behavioral perseveration (Daw et al., 2006) towards, for example, the
34 alcohol use, narrowing the drinking repertoire, which constitutes one of
35 the key feature of alcohol dependence. Considering this possibility, it
36 would make sense to find an inverse association between gray matter
37 volume of the right frontal pole cortex and cognitive performance in
38 alcoholics, suggesting that decreasing volume of this cortical region
39 could be hopefully related to a decrease of directed exploration towards
40 rewarding effects of alcohol.
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51

52 The frontal executive function was inversely associated with
53 volumetric changes in the gray matter of the right precuneus. Precuneus
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 is one of the brain regions persistently reduced in alcoholics even after
4 many years of abstinence (Fein et al., 2009) and it may be associated
5 with the long-term heavy use of alcohol (Gropper et al., 2016). It belongs
6 to a medial prefrontal-mid-parietal network supporting the mental
7 representation of the self (Cavanna and Trimble, 2006). Although this
8 brain region is involved in a variety of processing states, it has been
9 shown a heightened specialization for resting-state cognition and is
10 considered a functional core of the Default Mode Network (Utevsky et al.,
11 2014). Routinely it exhibits decreases in metabolic activity across a
12 variety goal directed behaviors such as executive activity (Cavanna and
13 Trimble, 2006), such as measured in this study. However, the
14 relationship of the structural change of this brain region with frontal
15 performance is an open question to be better investigated in the future.

16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31 The difference of volume of the right caudate and left accumbens
32 was positively related to six-year differences of FAB performance in our
33 alcoholics. The ventral striatum (where the nucleus accumbens is
34 located) is one of the main components of the brain reward
35 system(Tzschentke, 2000), in which dopamine changes are associated
36 with the subjective perception of reward (Koob and Volkow, 2010) and
37 the dorsal striatum (caudate nucleus and putamen) is gradually engaged
38 during the development of compulsive drug-seeking when the drug use
39 becomes automatic or habitual (Koob and Volkow, 2010). Dysfunction of
40 fronto-striatal circuit seems to be involved in the progress from voluntary
41 and controlled drug use to habitual and compulsive drug abuse
42 (Courtney et al., 2013; Virag et al., 2015; Wang et al., 2013; Wilcox et al.,
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 2011). There are evidence that alcohol has a well-defined disruptive
4 effect on frontal/executive functions but leaves implicit learning, which is
5 related to the striatum, intact (Virag et al., 2015). Furthermore, by
6 disrupting specific frontal lobe functions, implicit learning performance
7 may improve (Virag et al., 2015). This may in part explain why changes
8 of caudate nucleus and nucleus accumbens volumes, instead of
9 prefrontal areas, would be the brain structures predicting changes of
10 executive function in our alcoholics.
11
12
13
14
15
16
17
18
19

20 There are limitations to this study that need to be mentioned.
21 Alcoholics from the public outpatient service from our University Hospital
22 that were included in our previous study and re-examined in this study
23 were actively recalled one by one for this study; many of them could not
24 be reached, others had died or moved to another region, or they denied
25 participating in this re-examination. These were the reasons for our small
26 sample of alcoholics. Fortunately, we had sixteen patients who answered
27 our call and were included in this analysis. However, it has also to be
28 pointed that evidences observed in this restricted sample with specific
29 characteristics may not be generalize to all alcoholic patients. It was also
30 not possible to study gender difference because of the few number of
31 women who answered our call. The prevalence of male alcoholics is
32 typically much higher and unfortunately only small number of women
33 seeks treatment for alcoholism in public services. The other limitation is
34 the absence of a matched control group to compare the evolution of gray
35 matter volumes over the 6-year period. Consequently, we could not
36 compare the influence of aging on gray matter volumes with a control
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 group, but we have corrected our analysis by age differences in our
4
5 sample.
6

7
8 In summary, the segmented analysis found reductions in the gray
9
10 matter volume in specific structures from frontal to posterior regions over
11
12 a period of six years in alcoholics even showing reduction in the pattern
13
14 of alcohol drink in this period. It was also showed that volume changes of
15
16 specific brain structures could be related to functional processes in
17
18 alcoholics, notably the right frontal pole, predicting changes of global
19
20 cognitive mental status, and the right precuneus, right caudate and left
21
22 accumbens, predicting changes of executive performance. Brain
23
24 structures from fronto-parietal and fronto-striatal networks are importantly
25
26 involved in high-cognitive functions and rewarding process, thus their
27
28 structural changes may predict the progressive cognitive decrement
29
30 along with addictive aggravation over the course of alcohol use disorder.
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 **Acknowledgments:** We want to thank all patients who attended to this call. We
4 also thank Dayanne Ferreira Ayres, Silvia Guimarães Suzart Silva from
5 Brazilian Research Group on Brain and Cognitive Engineering (BRAEN) and
6
7 Thayssa Escobar for their technical assistance in FreeSurfer post-processing of
8
9 imaging data, Maria da Penha Zago-Gomes MD PhD, the coordinator of the
10
11 Program of Alcoholic Assistance who allowed us the access to the patients and
12
13 their records at the University Hospital, and thanks to Adriana Maria Fonseca
14
15 de Melo MD and Flávia Silva Braga MD, who helped in the data collection in the
16
17 first phase of the study.
18
19
20
21
22
23
24
25

26 **Funding:** This work had no specific funding support. EMNP has grants from
27
28 Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)
29
30 (numbers 475232/2013-5; 443824/2014-2 and 466650/2014-0) and is recipient
31
32 of researcher fellowship from CNPq (proc. 304374/2014-8).
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

39 **Conflict of Interest:** All authors reported no financial interests or potential
40
41 conflicts of interest.
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

References

- Araujo, NP and Monteiro, MG (1995) Family history of alcoholism and psychiatric co-morbidity in Brazilian male alcoholics and controls. *Addiction* **90**: 1205-11.
- Buhler, M and Mann, K (2011) Alcohol and the human brain: a systematic review of different neuroimaging methods. *Alcohol Clin Exp Res* **35**: 1771-93.
- Cavanna, AE and Trimble, MR (2006) The precuneus: a review of its functional anatomy and behavioural correlates. *Brain* **129**: 564-83.
- Courtney, KE, Ghahremani, DG, Ray, LA (2013) Fronto-striatal functional connectivity during response inhibition in alcohol dependence. *Addict Biol* **18**: 593-604.
- Crum, RM, Anthony, JC, Bassett, SS, Folstein, MF (1993) Population-based norms for the Mini-Mental State Examination by age and educational level. *JAMA* **269**: 2386-91.
- Dale, AM, Fischl, B, Sereno, MI (1999) Cortical surface-based analysis. I. Segmentation and surface reconstruction. *Neuroimage* **9**: 179-94.
- Daw, ND, O'Doherty, JP, Dayan, P, Seymour, B, Dolan, RJ (2006) Cortical substrates for exploratory decisions in humans. *Nature* **441**: 876-9.
- Desikan, RS, Segonne, F, Fischl, B *et al.* (2006) An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *Neuroimage* **31**: 968-80.
- Dubois, B, Slachevsky, A, Litvan, I, Pillon, B (2000) The FAB: a Frontal Assessment Battery at bedside. *Neurology* **55**: 1621-6.
- Durazzo, TC and Meyerhoff, DJ (2017) Psychiatric, Demographic, and Brain Morphological Predictors of Relapse After Treatment for an Alcohol Use Disorder. *Alcohol Clin Exp Res* **41**: 107-16.
- Fein, G, Shimotsu, R, Chu, R, Barakos, J (2009) Parietal gray matter volume loss is related to spatial processing deficits in long-term abstinent alcoholic men. *Alcohol Clin Exp Res* **33**: 1806-14.
- Fischl, B and Dale, AM (2000) Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proc Natl Acad Sci U S A* **97**: 11050-5.
- Fischl, B, Salat, DH, Busa, E *et al.* (2002) Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. *Neuron* **33**: 341-55.
- Fjell, AM, Walhovd, KB, Fennema-Notestine, C *et al.* (2009) One-year brain atrophy evident in healthy aging. *J Neurosci* **29**: 15223-31.
- Gallassi, AD, Nakano, EY, Wagner, GA, de Oliveira Silva Mde, N, Fischer, B (2016) Characteristics of clients using a community-based drug treatment service ('CAPS-AD') in Brazil: An exploratory study. *Int J Drug Policy* **31**: 99-103.
- Gropper, S, Spengler, S, Stuke, H *et al.* (2016) Behavioral impulsivity mediates the relationship between decreased frontal gray matter volume and harmful alcohol drinking: A voxel-based morphometry study. *J Psychiatr Res* **83**: 16-23.
- Hochgraf, PB, Zilberman, ML, de Andrade, A (1995) Women alcoholics--social, demographic and clinical characteristics in a Brazilian sample. *Alcohol Alcohol* **30**: 427-32.
- Jernigan, TL, Butters, N, DiTraglia, G *et al.* (1991) Reduced cerebral grey matter observed in alcoholics using magnetic resonance imaging. *Alcohol Clin Exp Res* **15**: 418-27.
- Koob, GF and Volkow, ND (2010) Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology* **35**: 217-38.
- Lopez-Goni, JJ, Fernandez-Montalvo, J, Arteaga, A (2015) Differences between Alcoholics and Cocaine Addicts Seeking Treatment. *Span J Psychol* **18**: E2.
- Moayed, M, Salomons, TV, Dunlop, KA, Downar, J, Davis, KD (2015) Connectivity-based parcellation of the human frontal polar cortex. *Brain Struct Funct* **220**: 2603-16.
- Monnig, MA, Tonigan, JS, Yeo, RA, Thoma, RJ, McCrady, BS (2013) White matter volume in alcohol use disorders: a meta-analysis. *Addict Biol* **18**: 581-92.

- 1
2
3 Nakamura-Palacios, EM, Souza, RS, Zago-Gomes, MP *et al.* (2014) Gray matter volume in left
4 rostral middle frontal and left cerebellar cortices predicts frontal executive
5 performance in alcoholic subjects. *Alcohol Clin Exp Res* **38**: 1126-33.
- 6 Pfefferbaum, A, Sullivan, EV, Mathalon, DH, Shear, PK, Rosenbloom, MJ, Lim, KO (1995)
7 Longitudinal changes in magnetic resonance imaging brain volumes in abstinent and
8 relapsed alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res* **19**: 1177-91.
- 9 Rando, K, Hong, KI, Bhagwagar, Z *et al.* (2011) Association of frontal and posterior cortical gray
10 matter volume with time to alcohol relapse: a prospective study. *Am J Psychiatry* **168**:
11 183-92.
- 12 Sarkar, AP, Sen, S, Mondal, S, Singh, OP, Chakraborty, A, Swaika, B (2013) A study on socio-
13 demographic characteristics of alcoholics attending the de-addiction center at
14 Burdwan medical college and hospital in West Bengal. *Indian J Public Health* **57**: 33-5.
- 15 Sullivan, EV, Deshmukh, A, De Rosa, E, Rosenbloom, MJ, Pfefferbaum, A (2005) Striatal and
16 forebrain nuclei volumes: contribution to motor function and working memory deficits
17 in alcoholism. *Biol Psychiatry* **57**: 768-76.
- 18 Tzschentke, TM (2000) The medial prefrontal cortex as a part of the brain reward system.
19 *Amino Acids* **19**: 211-9.
- 20 Utevsky, AV, Smith, DV, Huettel, SA (2014) Precuneus is a functional core of the default-mode
21 network. *J Neurosci* **34**: 932-40.
- 22 Virag, M, Janacsek, K, Horvath, A, Bujdosó, Z, Fabo, D, Nemeth, D (2015) Competition between
23 frontal lobe functions and implicit sequence learning: evidence from the long-term
24 effects of alcohol. *Exp Brain Res* **233**: 2081-9.
- 25 Wang, Y, Zhu, J, Li, Q *et al.* (2013) Altered fronto-striatal and fronto-cerebellar circuits in
26 heroin-dependent individuals: a resting-state FMRI study. *PLoS One* **8**: e58098.
- 27 WHO (2014) *Global status report on alcohol and health* Luxembourg: World Health
28 Organization.
- 29
30
31 Wilcox, CE, Teshiba, TM, Merideth, F, Ling, J, Mayer, AR (2011) Enhanced cue reactivity and
32 fronto-striatal functional connectivity in cocaine use disorders. *Drug Alcohol Depend*
33 **115**: 137-44.
- 34 Wilson, RC, Geana, A, White, JM, Ludvig, EA, Cohen, JD (2014) Humans use directed and
35 random exploration to solve the explore-exploit dilemma. *Journal of experimental*
36 *psychology General* **143**: 2074-81.
- 37 Yokoyama, O, Miura, N, Watanabe, J *et al.* (2010) Right frontopolar cortex activity correlates
38 with reliability of retrospective rating of confidence in short-term recognition memory
39 performance. *Neuroscience research* **68**: 199-206.
- 40 Zago-Gomes Mda, P and Nakamura-Palacios, EM (2009) Cognitive components of frontal lobe
41 function in alcoholics classified according to Lesch's typology. *Alcohol Alcohol* **44**: 449-
42 57.
- 43 Zajkowski, WK, Kossut, M, Wilson, RC (2017) A causal role for right frontopolar cortex in
44 directed, but not random, exploration. *Elife* **6**.
- 45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Figure headings and legends

Figure 1 – STUDY PROTOCOL

Fluxogram of the study protocol. M: male, F: female, MMSE: Mini-Mental State Examination, FAB: Frontal Assessment Battery, MR: Magnetic Resonance.

Figure 2 – AVERAGE BRAIN OF ALCOHOLICS

Segmented images of the averaged alcoholic brains (n = 16) obtained through the automatic reconstruction of high-resolution T1-weighted magnetic resonance imaging data of the cerebral cortex by FreeSurfer. Data of the lateral and medial faces of the left (L) and right (R) hemispheres were acquired in 2010 (t1) and in 2016 (t2). 1 = superior frontal, 2 = lateral orbital frontal, 3 = frontal pole, 4 = superior temporal, 5 = inferior temporal, 6 = postcentral, 7 = supramarginal, 8 = inferior parietal, 9 = lateral occipital, 10 = lingual, 11 = caudate, 12 = putamen. $p < .0006$ (paired t-test corrected by Bonferroni's multiple comparisons).

Figure 3 – MULTIPLE REGRESSION ANALYSIS

Linear regression analysis of the differences (t2 minus t1, with t1 being acquired in 2010 and t2 in 2016) performance of (a.) frontal executive function measured by a brief Frontal Assessment Battery (FAB) and (b.) global cognitive mental state measured by a Mini-Mental State Examination (MMSE) and differences of the volume of gray matter of (a.) the right precuneus, right caudate nucleus and

1
2 left nucleus accumbens, and (b.) of the right frontal pole, in alcoholics (n = 16). *

3
4
5 $p < .05$, ** $p \leq .01$.
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

For Peer Review

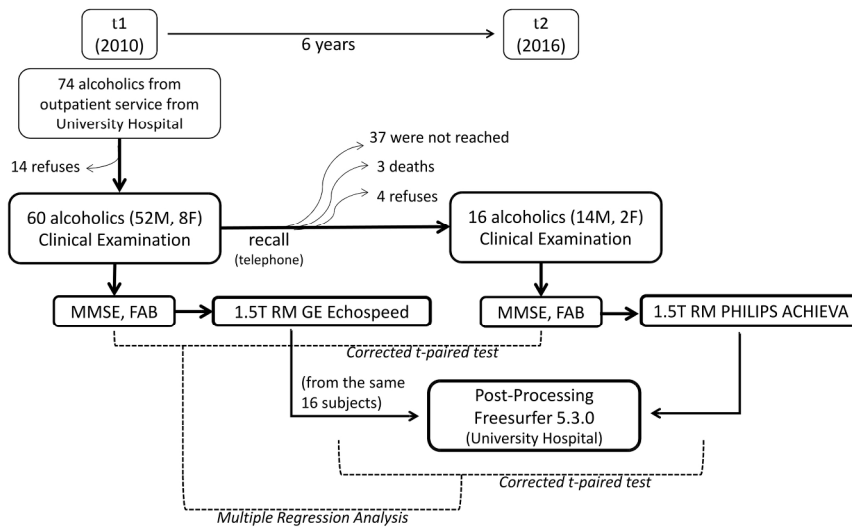


Figure 1 – STUDY PROTOCOL

Fluxogram of the study protocol. M: male, F: female, MMSE: Mini-Mental State Examination, FAB: Frontal Assessment Battery, MR: Magnetic Resonance.

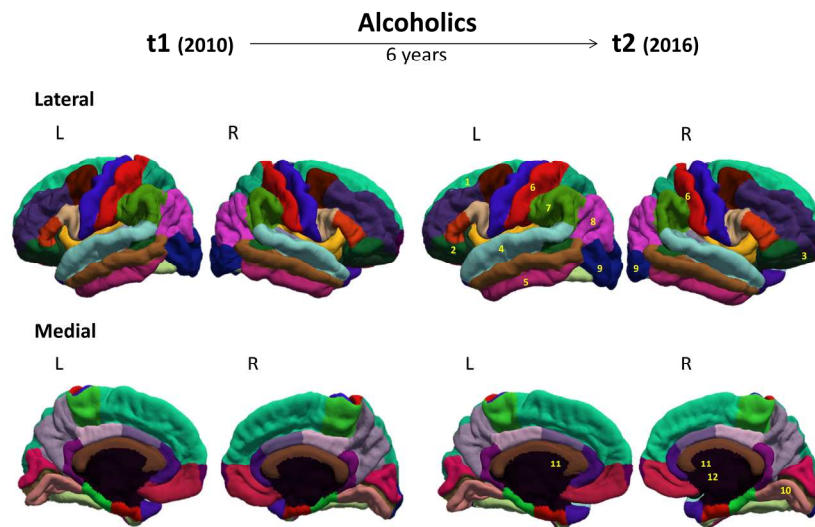
209x148mm (300 x 300 DPI)

Sociodemographic characteristics, pattern of alcohol use and cognitive performance.

	t1	t2		
Socio-demographic characteristics				
Age [mean (SD)] (min – max)	49.8 (8.5) (39 – 72)	55.7 (8.4) (45 – 78)		
Gender n (%)	Male	14 (87.5%)		
	Female	2 (12.5%)		
Years of education [mean (SD)]	Up to 5	4 (25.0%)		
	Between 6 to 9	6 (37.5%)		
	Between 10 to 13	6 (37.5%)		
	Above 13	0 (0.0%)		
Marital state n (%)	Single	3 (18.8%)		
	Married or common-law marriage	11 (68.8%)		
	Divorced	2 (12.5%)		
Tobacco use n (%)	Yes	11 (68.8%)		
	No	5 (31.3%)		
Alcohol use			t-paired	p-value
Amount of alcohol used (drinks/day) [mean (SD)]	18.4 (19.4)	6.1 (5.8)	t(15) = 2.27	.038*
Years of alcohol use [mean (SD)]	29.8 (7.9)	34.7 (7.3)		
Days of abstinence before study [mean (SD)] (min - max)	189.6 (462.7) (1 – 1825)	289.9 (573.8) (1 – 2190)		
Executive and global cognitive performance				
FAB total score	12.0 (3.1)	12.8 (4.1)	t(15) = -1.03	.32
FAB differences (T2-T1)				
No change or worsening (50%, n = 8)				
Improvement (50%, n = 8)				
MMSE total score	25.9 (4.5)	26.3 (4.1)	t(15) = -.63	.54
MMSE differences (T2-T1)				
No change or worsening (68.75%, n = 11)				
Improvement (31.25%, n = 5)				

FAB: Frontal Assessment Battery; MMSE: Mini-Mental State Examination. *p < 0.05

Table 1 – Socio-demographic characteristics, pattern of alcohol use and executive and global cognitive performance in alcoholics (n = 16) examined in 2010 (t1) and 2016 (t2).



31
32
33
34
35
36
37

Figure 2 – AVERAGE BRAIN OF ALCOHOLICS

Segmented images of the averaged alcoholic brains ($n = 16$) obtained through the automatic reconstruction of high-resolution T1-weighted magnetic resonance imaging data of the cerebral cortex by FreeSurfer. Data of the lateral and medial faces of the left (L) and right (R) hemispheres were acquired in 2010 (t1) and in 2016 (t2). 1 = superior frontal, 2 = lateral orbital frontal, 3 = frontal pole, 4 = superior temporal, 5 = inferior temporal, 6 = postcentral, 7 = supramarginal, 8 = inferior parietal, 9 = lateral occipital, 10 = lingual, 11 = caudate, 12 = putamen. $p < .0006$ (paired t-test corrected by Bonferroni's multiple comparisons).

209x148mm (300 x 300 DPI)

38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

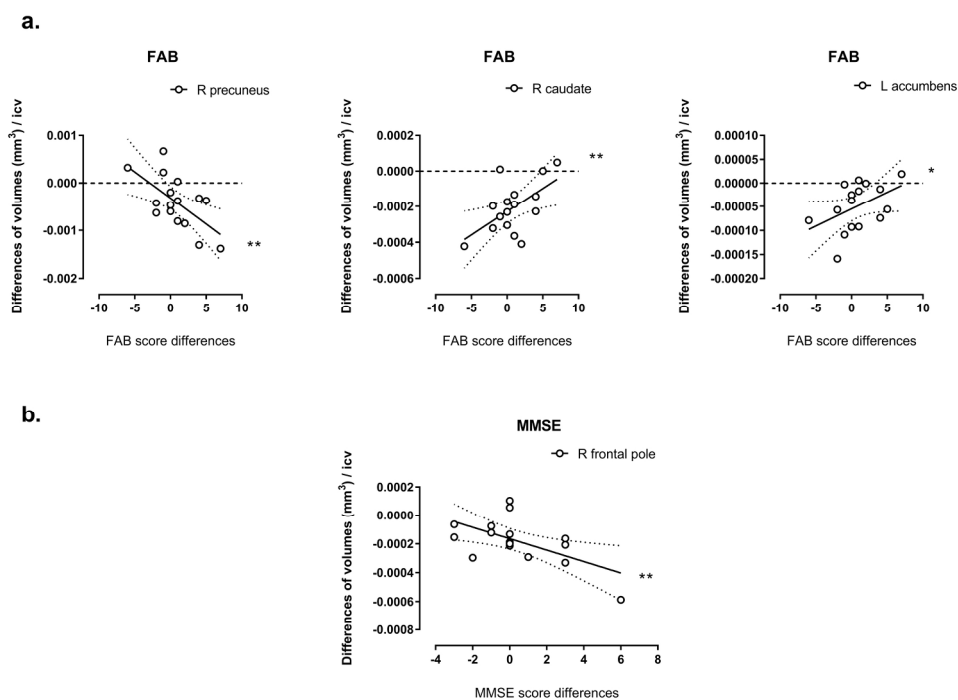


Figure 3 – MULTIPLE REGRESSION ANALYSIS

Linear regression analysis of the differences (t2 minus t1, with t1 being acquired in 2010 and t2 in 2016) performance of (a.) frontal executive function measured by a brief Frontal Assessment Battery (FAB) and (b.) global cognitive mental state measured by a Mini-Mental State Examination (MMSE) and differences of the volume of gray matter of (a.) the right precuneus, right caudate nucleus and left nucleus accumbens, and (b.) of the right frontal pole, in alcoholics (n = 16). * p < .05, ** p ≤ .01.

198x144mm (300 x 300 DPI)