

## INTRODUÇÃO

O alcoolismo é considerado uma doença complexa com componentes biológicos, sociais e psicopatológicos.

A deficiência do lobo frontal, caracterizada pela disfunção executiva com déficits de atenção e memória de trabalho, tem sido associada a uma incapacidade de se abster ao álcool e às implicações clínicas negativas (Goldstein e Volkow, 2002). Assim, a disfunção executiva pode prever resultados pobres após o tratamento da dependência de drogas (Moselhy et al., 2001). No entanto, os alcoolistas com importantes déficits nas funções executivas podem ter a função cognitiva global preservada. Como exemplo, verificou-se que alcoolistas possuem diferentes graus de disfunção frontal, especialmente de acordo com diferentes tipos de alcoolismo, avaliada por meio da tipologia de Lesch (Zago-Gomes e Nakamura-Palacios, 2009), sendo que o tipo IV tem sido associado com o pior desempenho no Miniexame do estado mental (MEEM) e na bateria de avaliação frontal (FAB), em particular, em comparação com não-alcoolistas e aos outros tipos de alcoolistas. Além disso, a função frontal executiva de alcoolistas do tipo IV foi significativamente prejudicada, mesmo naqueles com função mental preservada (Zago-Gomes e Nakamura-Palacios, 2009). Em conjunto, estes resultados sugerem que as funções cognitivas e executivas podem ser diferentemente afetadas pelo uso crônico do álcool.

A atrofia cerebral tem sido comumente observada em alcoolistas (Thomas, 1986; Di Sclafani et al, 1995; Brooks, 2000; Fein et al, 2006; Garcia-Valdecasas-Campelo et al, 2007). Além disso, tem-se mostrado que o consumo crônico de álcool reduz os níveis de fatores neurotróficos, com o potencial de interferir na função normal do cérebro e desregular a conectividade sináptica neuronal e promover a apoptose (Geibprasert et al., 2010). De fato, Kril e Harper (1989) mostraram, por análise histológica, que alcoolistas apresentam uma perda de neurônios no córtex frontal superior, e também exibem uma redução no grau de arborização dendrítica da terceira camada de neurônios piramidais no córtex frontal e motor superior em comparação com os controles pareados por idade.

O estudo por volumetria das estruturas cerebrais demonstra-se útil na avaliação de atrofia cortical, conforme pode ser observado em situações como uso crônico do álcool ou no envelhecimento cerebral, nas quais se observa redução da espessura cortical. Estudos de neuroimagem com TC e RM detectaram uma característica diferencial de perda de volume (Geibprasert et al., 2010), com aumento dos ventrículos laterais e perda de volume tanto da substância cinzenta quanto da branca (Gurling et al. , 1984; Pfefferbaum et al, 2001; Wobrock et al, 2009), em indivíduos dependentes de álcool.

Em um estudo recente, Durazzo e colaboradores (2011) compararam a espessura, área de superfície e volume dos componentes do sistema neocortical de recompensa cerebral constituídas

pelo córtex cingulado anterior rostral e caudal, ínsula, córtex orbitofrontal medial e lateral, e córtex pré-frontal dorsolateral, entre controles, usuários ocasionais de álcool e não-fumantes, e os alcoolistas, usando a segmentação volumétrica e a reconstrução da superfície cortical (*FreeSurfer*).

Eles demonstraram que indivíduos alcoolistas apresentaram espessura neocortical significativamente menor em 12 de 16 regiões individuais do sistema de recompensa cerebral em relação aos controles e menor espessura total do sistema de recompensa cerebral e da espessura cerebral global. Foi sugerido que tanto a análise da superfície neocortical quanto a análise das regiões de interesse do sistema de recompensa cerebral, investigadas em seu estudo, poderiam servir como marcadores para o risco de recaída e preditores do nível de gravidade de um episódio de recidiva.

As mudanças na substância cinzenta do córtex pré-frontal em dependentes em drogas também podem estar relacionadas com alterações comportamentais e cognitivas. A redução da substância cinzenta cortical orbitofrontal medial foi observada em indivíduos com diagnóstico de dependência de uma ou mais substâncias ilícitas, que foi correlacionada com uma persistência em um padrão de alto risco em uma tarefa de jogo modificado (Tanabe et al., 2009).

Além disso, a redução no volume de substância cinzenta e branca frontal dorsolateral, regiões do cerebelo e do tronco cerebral foram encontradas sendo associadas com comprometimento da função executiva em dependentes do álcool clínica e socialmente preservada, o que, de acordo com Chanraud e colaboradores (2007), sugere uma modelo de função executiva cerebelo-tálamo-cortical prejudicada nesta dependência de drogas. No entanto, não existem estudos sobre a relação entre a segmentação do volume cerebral e instrumentos cognitivos breves que demonstrem as condições de execução e de estado mental, como a FAB e o MEEM, respectivamente.

## **OBJETIVOS GERAIS**

O objetivo deste estudo foi o de analisar medidas volumétricas da segmentação das estruturas cerebrais obtidas a partir de imagens de RM de alta resolução que poderiam ser preditivas das funções executivas e do estado mental cognitivo em alcoolistas.

### **Objetivo primário**

Investigar quais estruturas cerebrais, obtidas a partir de imagens de RM seriam preditivas das funções executivas e do estado cognitivo global em alcoolistas por meio de análises de regressão linear múltipla.

### **Objetivo secundário**

Comparar os volumes de diversas estruturas cerebrais desta amostra de 60 alcoolistas com os valores obtidos em uma amostra de sujeitos não-alcoolistas oriundos de um banco de dados da UFRJ.

## **HIPÓTESE**

Considerando que alcoolistas podem manifestar déficits importantes na função executiva frontal, mantendo o estado cognitivo global dentro de uma faixa normalidade de acordo com a faixa etária e a escolaridade, supomos que estruturas distintas do cérebro estariam relacionadas com estas funções cognitivas.

## MATERIAL E MÉTODO

Foram recrutados 74 pacientes no Programa de Atendimento ao Alcoolista do Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes, do Centro de Ciências da Saúde da UFES (PAA/HUCAM/CCS/UFES), entre 2006 e 2008, sendo que 60 pacientes aceitaram participar do estudo (fig. 1).

Foram inicialmente avaliados clinicamente e informados sobre o estudo. Após aceitarem participar deste estudo, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (anexo 1) e foram avaliados quanto aos critérios de inclusão e exclusão:

### Critérios de inclusão

- a) Pacientes com idade entre 18 e 75 anos;
- b) Consumo de pelo menos 30 doses por semana, em média, em relação ao ano anterior;
- c) Preencher os critérios para dependência de álcool de acordo com a classificação estatística internacional de doenças e problemas relacionados à saúde 10 (CID-10), conforme determinado pela avaliação clínica;
- d) Condição clínica estável, sem necessidade de internação hospitalar;
- e) Capacidade de ler, escrever e falar português;
- f) Não apresentar sinais ou sintomas de abstinência grave no início do estudo.

### Critérios de exclusão

- a) Condição de intoxicação ou abstinência devido a substância que não seja o álcool;
- b) Desordem instável mental ou médica que não seja a dependência ao álcool, com exceção da nicotina e cafeína;
- c) Diagnóstico de epilepsia, convulsões ou “*delirium tremens*” durante a abstinência ao álcool;
- d) História prévia de hipersensibilidade a drogas ou reações adversas ao diazepam ou outros benzodiazepínicos e haloperidol;
- e) Qualquer contraindicação para procedimentos de RM, tais como: implantes eletrônicos (marca-passo cardíaco, neuroestimulador e implante coclear), maquiagem permanente ou tatuagem realizada nos 3 meses anteriores, implantes metálicos (dispositivo intrauterino, válvula cardíaca, placa, pino, parafuso, *stent*, clipe de aneurisma cerebral, estilhaço metálico, *piercing*, prótese metálica e aparelho ortodôntico) e claustrofobia;
- f) Portadores de lesões passíveis de criar viés de confusão, como lesões vasculares, traumáticas, inflamatórias ou tumorais detectáveis ao exame de TC;

- g) Suspeita de gravidez para as participantes do sexo feminino;
- h) Recusar a participação no estudo (anexo 1).

Posteriormente, os alcoolistas foram encaminhados à Unidade de Diagnóstico por Imagem do HUCAM onde realizaram exame de TC do crânio sem contraste venoso, pois caso fossem observadas lesões que pudessem produzir algum viés de confusão seriam excluídos do estudo.

Os alcoolistas foram encaminhados para o Serviço de Ressonância Magnética do HECI, localizado no município de Cachoeiro de Itapemirim (ES), e conduzidos por ônibus fornecido gratuitamente pelo presente estudo aos pacientes, que saiu do HUCAM e retornou ao mesmo local após o término dos exames.

As imagens obtidas foram encaminhadas à Unidade de Diagnóstico por Imagem do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho da UFRJ aos cuidados do Prof. Dr. Emerson L. Gasparetto para pós-processamento, e finalmente, retornarem ao Hospital Universitário Cassiano Antonio de Moraes para serem analisadas e comparadas, buscando-se identificar nesse grupo de pacientes, alterações não-detectáveis nos exames convencionais.

Dados de 27 controles não-alcoolistas saudáveis pareados por idade oriundos de um banco de dados da Unidade de Diagnóstico por Imagem do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho da UFRJ foram empregados para uma análise de volumetria entre sujeitos alcoolistas e não-alcoolistas.



Figura 1 – Fluxograma do protocolo experimental

Quando fornecido o termo de consentimento livre e esclarecido, quatorze indivíduos não tiveram interesse e se recusaram a participar do estudo.

Este estudo foi realizado em estrita observância com a Declaração de Helsinque e está em conformidade com os padrões éticos da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Clínica do CCS/UFES (registro 207/09), Brasil, onde este estudo foi realizado.

## **Procedimentos**

Depois de terem sido informados sobre todos os procedimentos e assinado o termo de consentimento informado, 60 pacientes ambulatoriais com diagnóstico de dependência de álcool pelo CID-10 foram incluídos neste estudo (Fig. 1).

Os pacientes foram posteriormente avaliados utilizando as seguintes ferramentas:

**Características comportamentais sócio-demográficas e consumo de bebida.** A entrevista estruturada foi conduzida para obter informações a respeito de dados de uso de álcool e características sócio-demográficas dos participantes do estudo. A entrevista foi seguida por um exame físico global.

**Miniexame do estado mental.** Foi utilizada uma versão adaptada do MEEM (anexo 2) em português, que inclui um exame de 11 itens que analisou cinco áreas de função cognitiva: orientação, registro, atenção e cálculo, memória e linguagem. O desempenho máximo que pode ser atingido é de 30 pontos, enquanto um desempenho médio entre 23 e 26 pontos seria o esperado, de acordo com a idade e o grau de escolaridade da amostra total dos alcoolistas (Crum et al., 1993).

**Bateria de avaliação frontal.** O instrumento FAB (anexo 3) elaborado por Dubois e colaboradores (2000) consiste em seis subgrupos que exploram os seguintes itens: conceituação, flexibilidade mental, programação motora, sensibilidade à interferência, controle inibitório e autonomia ambiental. Cada um desses subconjuntos é pontuado de 0 a 3 pontos e o escore máximo que pode ser alcançado é 18 pontos (Dubois et al., 2000).

**Ressonância magnética.** Todos os indivíduos foram submetidos ao exame de RM em um equipamento com potência de campo de 1,5T (Signa Genesis, GE Medical Systems, Milwaukee, WI), sem a administração de contraste paramagnético (Fig. 2). Todos os exames foram avaliados por neurorradiologistas experientes e apresentaram boa qualidade para o pós-processamento. O seguinte protocolo foi utilizado:

- a) Sequência gradiente eco, rápida, ponderada em T1, 3D, sagital, otimizada para pós-processamento do volume e espessura cortical, tamanho do voxel:  $1,55 \text{ mm}^3$ , ângulo de inclinação:  $12^\circ$ , TR= 9300, TE= 4,19, TI= 400 ms, 81,3 Hz, matriz 512 x 512 e espessura de 1,3 mm, FOV 216mm;
- b) Sequência FLAIR, convencional, 2D, axial, ponderada em T2, TR= 11002, TE= 105, TI= 2400 ms, matriz 512 x 512 e resolução de pixel de 1,5 x 1,5 mm, FOV 216mm.

**Pós-processamento (*FreeSurfer*).** Todas as imagens foram transferidas para uma estação de trabalho Linux (Distribuição: v.4.9 CentOS, GNU General Public License, origem: EUA), com 8 GB de memória RAM e dois processadores Intel Xeon Quad-Core (3,2 GHz), localizado no Setor de Radiologia da UFRJ, Brasil. A segmentação cortical e as correções foram realizadas usando o software *FreeSurfer* versão 5.0.0 (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu>) por um físico médico (TTAK, com 5 anos de experiência) (Figs. 3 e 4). Os detalhes técnicos desses procedimentos foram previamente descritos (Dale et al, 1999; Desikan et al, 2006; Fischl e Dale, 2000; Fischl et al, 2002). O pós-processamento das imagens incluiu:

- 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 (Lancaster JL et al, 2000.);
- d) Segmentação de substância branca subcortical e estruturas de substância cinzenta profunda, incluindo: tálamo, hipocampo, amígdala, núcleo caudado, putame 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 inflação do cérebro.

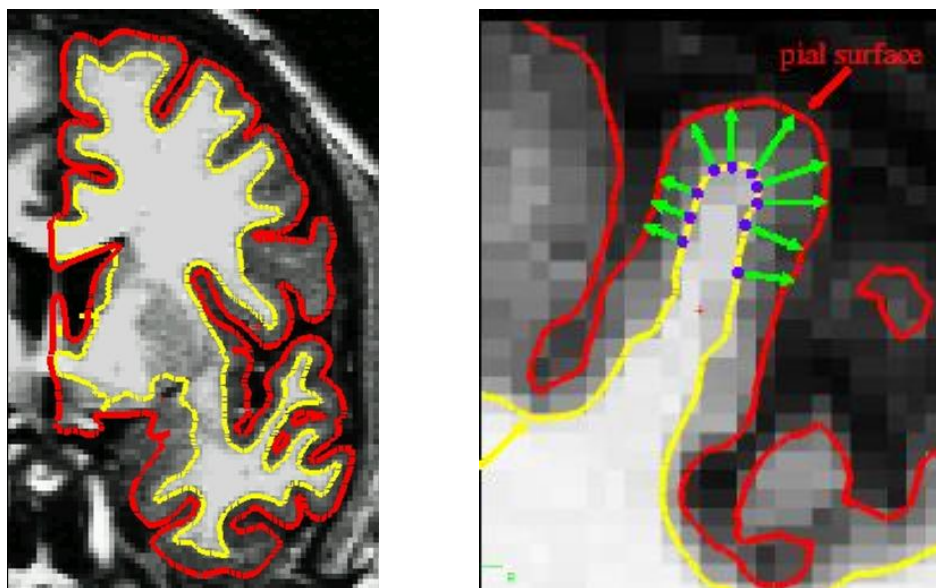


Figura 3 - Marcação automatizada córtico-subcortical pelo *FreeSurfer*.

#### Área superficial, Volume e Espessura Cortical

Área superfície	Volume substancia	Espessura cinza cortical	Nome
6985	12331	1.653	unknown
960	2102	2.336	bankssts
804	2191	2.378	caudalanteriorcingulate
2883	7149	2.252	caudalmiddlefrontal
1117	538	0.548	corpuscallosum
1185	2367	1.685	cuneus
401	1695	3.157	entorhinal
3254	10143	2.651	fusiform
4992	12578	2.227	inferiorparietal
2936	8976	2.640	inferiortemporal
790	1973	2.277	isthmuscingulate
5610	11526	1.899	lateraloccipital
2786	7253	2.313	lateralorbitofrontal
2742	5481	1.803	lingual
1727	4398	2.153	medialorbitofrontal
3479	11419	2.758	middletemporal
631	1939	2.642	parahippocampal
...			

#### VOLUMETRIA SUBCORTICAL (Desikan - Atlas)

Nome Estrutura	Volume
Left-Cerebral-White-Matter	244237
Left-Cerebral-Cortex	235389
Left-Lateral-Ventricle	7113
Left-Inf-Lat-Vent	276
Left-Cerebellum-White-Matter	17770
Left-Cerebellum-Cortex	58745
Left-Thalamus-Proper	7735
Left-Caudate	4188
Left-Putamen	5894
Left-Pallidum	1953
3rd-Ventricle	892
4th-Ventricle	2521
Brain-Stem	23873
Left-Hippocampus	4236
Left-Amygdala	2067
CSF	1082
Left-Accumbens-area	479
Left-VentralDC	5110
Left-vessel	248
Left-choroid-plexus	1480
Right-Cerebral-White-Matter	240255
Right-Cerebral-Cortex	227817
...	

Figura 4 - Modelo ilustrativo dos relatórios emitidos pelo *FreeSurfer*.



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 (Fischl et al., 2002). 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. Uma etapa completa de pós-processamento durou cerca de 20 horas (em média) por indivíduo, e foram utilizados os roteiros Unix 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.

**Composição do córtex pré-frontal.** Foram calculados os volumes de substância cinzenta das regiões do córtex pré-frontal usando o software *FreeSurfer* e as designações das seguintes regiões (Desikan et al., 2006):

- a) Córtex pré-frontal lateral, constituídos pela *pars opercularis*, *pars triangularis*, frontal medial rostral, frontal medial caudal e polo frontal;
- b) Córtex pré-frontal medial constituído pelo cíngulado anterocaudal, cíngulado anterorostral e frontal superior;
- c) Córtex orbitofrontal constituído pela *pars orbitalis*, orbitofrontal lateral e orbitofrontal medial.

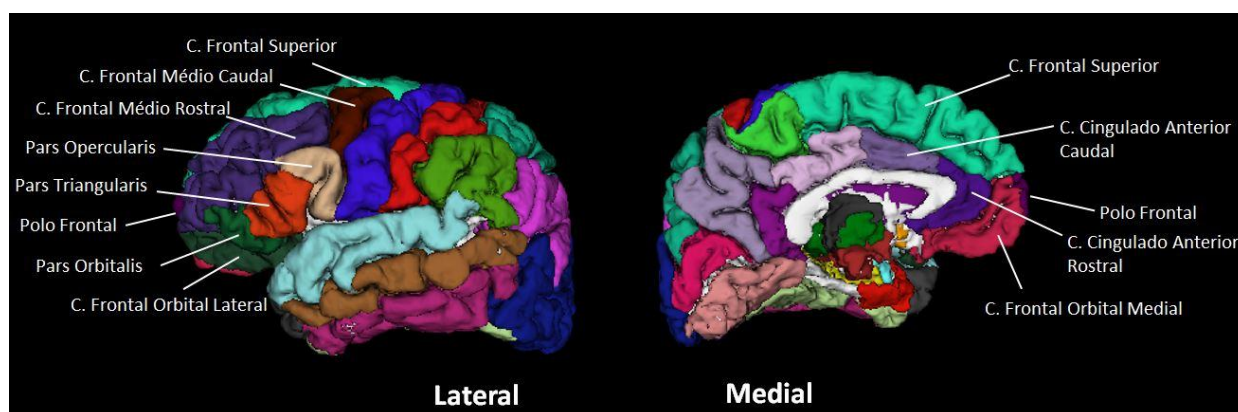


Figura 5 – Imagem gerada pelo *FreeSurfer* como somatório dos dados obtidos dos pacientes deste estudo, demonstrando os componentes do córtex pré-frontal: polo frontal, *pars opercularis*, *pars triangularis*, frontal mediorostral, frontal

mediocaudal constituindo o córtex pré-frontal lateral; cíngulo anterorostral, cíngulo anterocaudal, frontal superior constituindo o córtex pré-frontal medial; *pars orbitalis*, orbitofrontal lateral, orbitofrontal medial constituindo o córtex orbitofrontal, obtidos automaticamente através de reconstrução do córtex cerebral (software automatizado *FreeSurfer*), a partir de um conjunto de dados de RM com sequência T1 de alta resolução.

### **Análise estatística.**

Os dados são apresentados como a percentagem ou média  $\pm$  desvio padrão (DP). A falta de dados (1 para variável de anos de uso de álcool e 2 para a variável de MEEM) foram imputados por meio de regressão linear. A análise de regressão múltipla foi realizada para examinar a influência da idade, anos de uso de álcool e dias de abstinência até o momento deste estudo como variáveis independentes tendo o desempenho total da FAB ou MEEM como variáveis dependentes.

O volume de substância cinzenta das regiões do cérebro segmentadas do córtex pré-frontal (11 segmentos), todas as demais estruturas não-frontais que compõem córtex temporal lateral ou medial, córtex parietal, córtex sensorio-motor, córtex occipital, substância branca e córtex cerebelar (total de 26 segmentos), e estruturas subcorticais como a amígdala, o tálamo, núcleo caudado, putame e globo pálido (no total de cinco segmentos), foram examinadas considerando os lados esquerdo e direito como medidas independentes, tendo o desempenho total da FAB ou do MEEM como variáveis dependentes.

As estruturas cerebrais que se mostraram significativamente correlacionadas com o desempenho da FAB ou do MEEM, foram ainda consideradas como variáveis independentes em uma análise de regressão múltipla com desempenho da FAB ou do MEEM como variáveis dependentes. Nenhum ajuste para comparações múltiplas foi considerado devido ao caráter exploratório dessas análises (Bender e Lange, 2001). Eles precisam ser especificamente ampliados, a fim de ser considerada confirmatória em investigações futuras.

Na comparação de gênero entre o grupo de alcoolistas e o grupo de controles não-alcoolistas foi empregado teste de Qui-quadrado, para as demais comparações, idade e volumes de estruturas cerebrais, foi empregado o teste *t* de Student para amostras independentes.

Um valor de *p* bicaudal de 0,05 foi utilizado para determinar a significância estatística. Os programas SPSS Statistics versão 17 (SPSS Inc., Chicago, IL) e Graph Pad Prism versão 5 (GraphPad Pad Software, Inc., La Jolla, CA) foram utilizados para análises estatísticas e apresentações gráficas.

## RESULTADOS

### Características sociodemográficas e de uso de álcool

Os indivíduos alcoolistas eram na maioria do sexo masculino (86,7%), a idade média de 47,2  $\pm$  10,4 anos (de 24 a 72 anos), com uma história de uso prolongado (13 a 63 anos) e pesado de álcool (6 a 1.600 g/dia, com média de 284,4 g/dia  $\pm$  275,9) (Tab. 1).

O grupo controle também foi em sua maioria do sexo masculino (66,7%), com idade média de 46,3  $\pm$  10,6 (de 24 a 67 anos) (Tab. 2). Observe-se que este grupo controle foi satisfatoriamente pareado para idade, mas não para gênero, com relação aos alcoolistas do estudo.

Tabela 1.

*Características demográficas e padrão de uso de álcool dos alcoolistas do estudo*

Sexo masculino (indivíduos)	52	86,70%
Sexo feminino (indivíduos)	8	13,3
Idade (média em anos)	47,2 $\pm$ 10,4	de 24 a 72
Maiores de 31 anos (indivíduos)	58	96,70%
$\leq$ 8 anos de escolaridade (indivíduos)	50	83,30%
Nível médio (indivíduos)	7	11,70%
Diploma universitário (indivíduos)	1	1,70%
Uso pesado de álcool (média de anos)	32,4 $\pm$ 11,1	de 13 a 63
Consumo diário de álcool (média em g / d)	284,4 $\pm$ 275,9	6 a 1.600
Abstinência antes do estudo (média de dias)	84,4 $\pm$ 251,7	de 0 a 1.825

Tabela 2.

*Pareamento de idade e gênero entre grupos alcoolistas e controle não-alcoolistas.*

	Grupos		<i>t</i> ou <i>X</i> <sup>2</sup> valores	p valores
	Controles (n = 27)	Alcoolistas (n = 60)		
<b>Idade</b> (média $\pm$ DP)	46,3 $\pm$ 10,6	47,2 $\pm$ 10,4	- 0,38	ns
<b>Gênero</b> n (%)	Masc	18 (66,7%)	4,74	0,03
	Fem	9 (33,3%)		

### Miniexame do estado mental

Os alcoolistas neste estudo apresentaram um desempenho médio de  $25,2 \pm 4,2$ , sendo que 74,6% dos indivíduos deste estudo tinham escores normais de acordo com a idade e os anos de educação, estabelecida por Crum e colaboradores (1993). A análise de regressão linear múltipla, considerando a idade, anos de uso de álcool e dias de abstinência do uso de álcool demonstrou que essas variáveis não foram preditores de desempenho do MEEM nestes indivíduos alcoolistas.

### Bateria de avaliação frontal (FAB)

O grupo de alcoolistas neste estudo mostrou uma média de desempenho total de  $11,1 \pm 3,2$  (variando de 3 a 17), que é congruente com grau de escolaridade de 1 a 3 anos de estudo observado por Beato e colaboradores (2012), em um estudo normativo recente da FAB em uma amostra brasileira de controles saudáveis. A análise de regressão múltipla da idade, considerando os anos de uso de álcool e os dias de abstinência ao álcool mostrou que essas variáveis não foram preditores do desempenho da FAB nestes indivíduos alcoolistas,  $F(3,56) = 0,816$ ,  $p = 0,49$ ,  $R^2 = 0,042$ , IC 95% [8,635; 18,647] (Tab. 3).

Tabela 3.

*Bateria de Avaliação Frontal (FAB) relacionado à idade, dias de abstinência e anos de uso de álcool em alcoolistas (N = 60).*

Variável	<i>r</i> Ordem Zero			FAB	$\beta$	$sr^2$	<i>b</i>
	Idade	Anos de uso	Dias de abstinência				
Dias de abstinência				0,002	0,006	0,00004	0,00008
Anos de uso			0,36	-0,200	-0,086	0,0009	-0,024
Idade		0,937	0,014	-0,202	-0,122	0,002	-0,037
Média	47,23	32,40	84,43	11,1	Intercept = 13,641		
DP	10,40	11,09	251,74	3,16	$R^2 =$	0,042	

### Ressonância magnética estrutural, desempenho da FAB e do MEEM

A análise de regressão linear múltipla foi utilizada para desenvolver um modelo de previsão de desempenho da FAB ou do MEEM considerando o volume de substância cinzenta do lado esquerdo e direito de cada estrutura cerebral. Poucas estruturas cerebrais mostraram prever o desempenho total da FAB e nenhuma das estruturas cerebrais foi preditora do desempenho do MEEM. As descrições básicas e coeficientes de regressão das análises que mostraram resultados significativos estão apresentados nas tabelas 4, 5 e 6.

O volume da substância cinzenta de cada um dos lados do córtex frontal médio rostral teve uma correlação de ordem zero estatisticamente significativa ( $p < 0,01$ ) com relação ao desempenho da FAB, mas apenas o lado esquerdo apresentou efeito parcial estatisticamente significativo ( $p < 0,01$ ) no modelo completo (Tab. 4).

O modelo com os dois preditores foi capaz de explicar 24,4% da variância no desempenho da FAB,  $F(2,57) = 9,22$ ,  $p < 0,001$ ,  $R^2 = 0,244$ , IC 95% [3,45, 7,07].

Tabela 4.

*Bateria de Avaliação Frontal (FAB) relacionado ao córtex frontal médio rostral (CFMR) esquerdo (esq) e direito (dir) em alcoolistas (N = 60).*

Variável	<i>r</i> Ordem-Zero			$\beta$	$sr^2$	<i>b</i>
	CFMR dir	CFMR esq	FAB			
CFMR esq			0,488***	0,63**	0,103	0,001
CFMR dir		0,858***	0,376**	-0,16	0,007	-0,0003
					Intercept =	1,807
Média	14092,58	13474,82	11,1			
DP	1984,98	2065,81	3,16	$R^2 =$	0,244***	

\*\* $p < 0,01$ ;\*\*\* $p < 0,001$

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 (Tab. 5). O modelo com os dois preditores foi capaz de explicar 29,2% da variância no desempenho da FAB,  $F(2,57) = 11,75$ ,  $p < 0,001$ ,  $R^2 = 0,292$ , IC 95% [2,71, 6,28].

Tabela 5.

Bateria de Avaliação Frontal (FAB) relacionado ao córtex cerebellar (CC) esquerdo (esq) e direito (dir) em alcoolistas (N = 60).

Variável	r Ordem-Zero			$\beta$	$sr^2$	b
	CC dir	CC esq	FAB			
CC esq			0,532***	0,76*	0,085	0,0003
CC dir		0,923***	0,455***	-0,24	0,009	-0,0001
Média	43683,85	43400,13	11,1		Intercept = 1,784	
DP	6952,88	7338,38	3,16	$R^2 = 0,292***$		

\* $p < 0,05$ ; \*\*\* $p < 0,001$

Quando uma análise de regressão linear múltipla foi utilizada para desenvolver um modelo de previsibilidade de desempenho da FAB tendo o volume da substância cinzenta do córtex frontal médio rostral esquerdo e do córtex cerebellar esquerdo, cada estrutura apresentou uma correlação de ordem zero significativa ( $p < 0,01$ ) com relação ao desempenho da FAB e ambas as estruturas tiveram efeito parcial significativo ( $p < 0,05$ ) no modelo completo (Tab. 6). O modelo com os dois preditores foi capaz de explicar 35,9% da variância no desempenho da FAB,  $F(2,57) = 15,97$ ,  $p < 0,001$ ,  $R^2 = 0,359$ , IC 95% [7,54, 2,36].

Tabela 6.

Bateria de Avaliação Frontal (FAB) relacionado ao córtex frontal médio rostral esquerdo (CFMR esq) e o córtex cerebellar esquerdo (CC esq) em alcoolistas (N = 60).

Variável	r Ordem-Zero			$\beta$	$sr^2$	b
	CC esq	CFMR esq	FAB			
CFMR esq			0,488***	0,31*	0,075	0,0005
CC esq		0,456***	0,532***	0,39**	0,121	0,0002
Média	43400,13	13474,82	11,1		Intercept = -2,591	
DP	7338,38	2065,81	3,16	$R^2 = 0,359***$		

\*  $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$

A figura 6 ilustra as regiões cerebrais consideradas córtex frontal médio rostral e cerebelo de acordo com a segmentação do *FreeSurfer* e as curvas de regressão linear, representando o relacionamento entre o desempenho da FAB e o volume da substância cinzenta de ambos os lados destas regiões observados em alcoolistas.

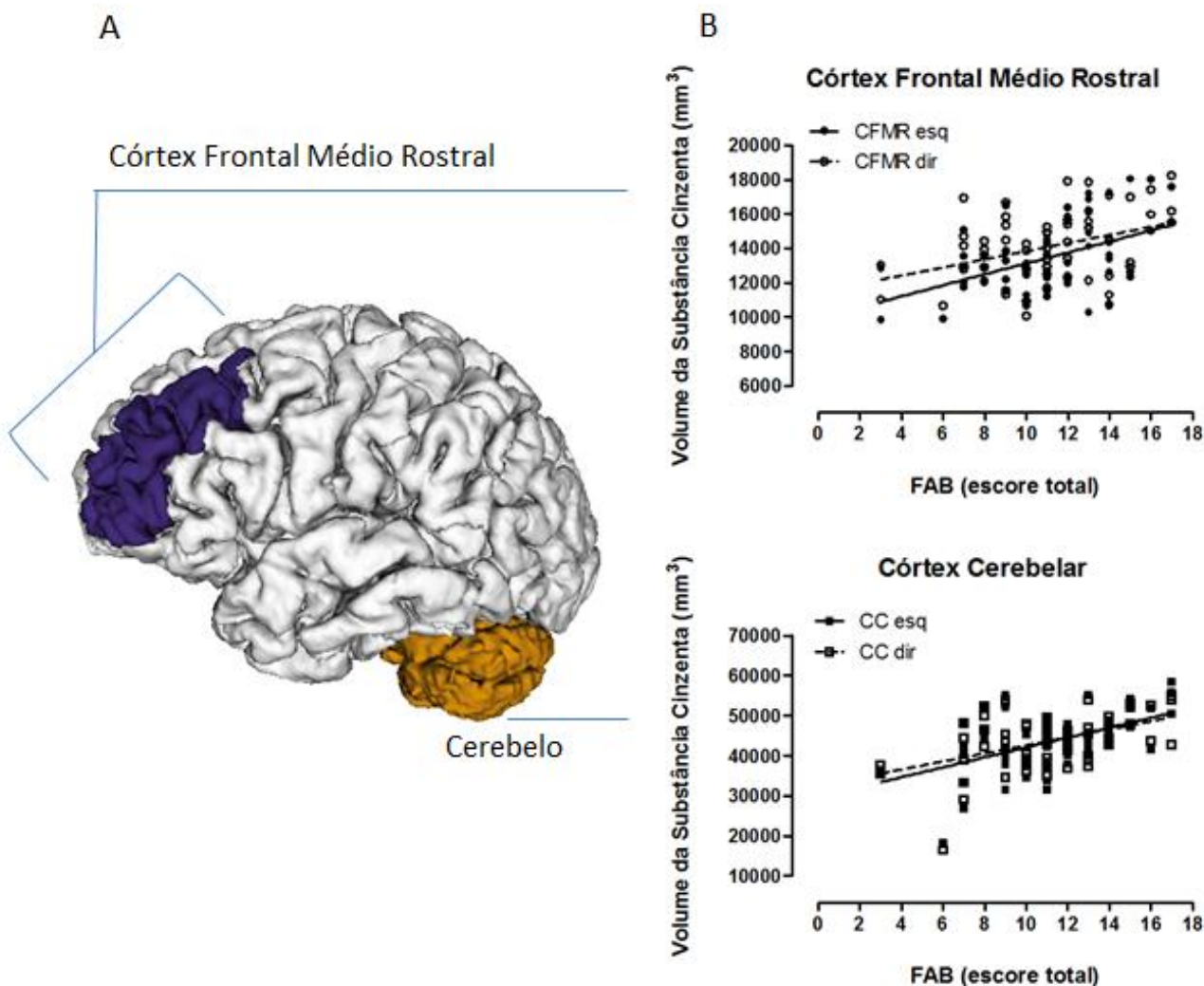


Figura 6 – (A) Córtex Frontal Médio Rostral (CFMR) e córtex cerebelar (CC) obtidos através da reconstrução do córtex cerebral (*FreeSurfer*) de dados de imagem de alta resolução ponderada em T1. (B) Análise de regressão linear entre a bateria de avaliação frontal (FAB) e os volumes das substâncias cinzentas do CFMR e CC direito (dir) e esquerdo (esq) de alcoolistas (N = 60).

### Ressonância magnética estrutural em alcoolistas e grupo controle pareados pela idade

O volume intracraniano total e os volumes específicos do hipocampo direito, córtex entorrinal direito, córtex temporomedial direito, insula direita e córtex cingulado posterior direito foram significativamente menores em alcoolistas quando comparado com controle não-alcoolistas. O volume da substância branca do cerebelo, o tálamo, o putame e o globo pálido apresentaram-se bilateralmente reduzidos em alcoolistas. Curiosamente, o córtex pós-central, como componente do córtex somatossensorial, foi maior em alcoolistas (Tab. 7).

Tabela 7.

Dimensões das regiões cerebrais em grupos alcoolistas e controle não alcoolistas.

<i>Medidas do FreeSurfer (média ± DP)</i>					
<b>Intracraniano</b>					
vol (x 10 <sup>5</sup> mm <sup>3</sup> )		14,4 ± 1,8	13,5 ± 1,4	2,54	0,01
<b>Hippocampus</b>					
vol (x 10 <sup>3</sup> mm <sup>3</sup> )	<i>Esq</i>	3,5 ± 0,4	3,4 ± 0,4	1,26	ns
	<i>Dir</i>	3,5 ± 0,4	3,3 ± 0,4	1,97	0,05
<b>Córtex Entorrinal</b>	<i>Esq</i>	2,0 ± 0,4	1,9 ± 0,4	-0,25	ns
vol (x 10 <sup>3</sup> mm <sup>3</sup> )	<i>Dir</i>	1,8 ± 0,4	1,6 ± 0,4	2,01	0,047
<b>Córtex Médio</b>	<i>Esq</i>	9,6 ± 1,6	9,5 ± 1,4	0,20	ns
<b>Temporal</b>	<i>Dir</i>	11,0 ± 1,8	10,2 ± 1,7	2,11	0,038
vol (x 10 <sup>3</sup> mm <sup>3</sup> )					
<b>Insula</b>	<i>Esq</i>	6,3 ± 0,7	6,3 ± 0,7	0,18	ns
vol (x 10 <sup>3</sup> mm <sup>3</sup> )	<i>Dir</i>	6,8 ± 1,1	6,3 ± 0,7	2,72	0,008
<b>Cerebelo</b>					
- Subst. branca	<i>Esq</i>	12,9 ± 0,3	12,0 ± 0,2	2,11	0,038
vol (x 10 <sup>3</sup> mm <sup>3</sup> )	<i>Dir</i>	13,2 ± 0,4	12,1 ± 0,2	2,55	0,013
<b>Thalamus</b>					
vol (x 10 <sup>3</sup> mm <sup>3</sup> )	<i>Esq</i>	6,3 ± 0,1	5,6 ± 0,09	4,12	<0,0001
	<i>Dir</i>	6,3 ± 0,1	5,5 ± 0,09	4,64	<0,0001
<b>Putamen</b>	<i>Esq</i>	5,5 ± 0,1	5,1 ± 0,09	2,81	0,006
vol (x 10 <sup>3</sup> mm <sup>3</sup> )	<i>Dir</i>	5,3 ± 0,1	4,9 ± 0,1	2,14	0,035
<b>Pallidum</b>	<i>Esq</i>	1,7 ± 0,04	1,6 ± 0,03	3,43	0,0009
vol (x 10 <sup>3</sup> mm <sup>3</sup> )	<i>Dir</i>	1,6 ± 0,04	1,4 ± 0,03	2,59	0,01
<b>Córtex Pós-central</b>	<i>Esq</i>	7,9 ± 0,7	8,8 ± 1,1	-3,85	<0,001
(somatossensorial)	<i>Dir</i>	8,0 ± 1,2	8,3 ± 1,0	-1,17	ns
vol (x 10 <sup>3</sup> mm <sup>3</sup> )					
<b>Córtex Cingulado</b>	<i>Esq</i>	3,0 ± 0,5	2,8 ± 0,4	1,41	ns
<b>Posterior</b>	<i>Dir</i>	3,1 ± 0,5	2,8 ± 0,4	2,78	0,007
vol (x 10 <sup>3</sup> mm <sup>3</sup> )					



A superfície frontal bilateral foi significativamente menor ao passo que a espessura frontal bilateral mostrou-se maior em alcoolistas, quando comparado ao grupo controle (Tab. 8), que é objeto de outro estudo ainda em desenvolvimento.

Tabela 8.

Medidas do córtex pré-frontal e subdivisões em grupos de alcoolistas e de controles do *FreeSurfer*.

		Grupos		t valor	p valor
		Controles (n = 27)	Alcoolistas (n = 60)		
<b>Córtex Frontal</b>					
- superfície (x 10 <sup>3</sup> mm <sup>2</sup> )	<i>Esq</i>	22,2 ± 2,6	20,9 ± 2,2	2,30	0,024
	<i>Dir</i>	22,1 ± 2,6	20,8 ± 2,4	2,21	0,030
- espessura (mm)	<i>Esq</i>	2,35 ± 0,11	2,41 ± 0,13	- 2,29	0,025
	<i>Dir</i>	2,33 ± 0,11	2,41 ± 0,13	- 2,56	0,010
<b>Córtex Pre-Frontal (CPF)</b>					
vol (x 10 <sup>3</sup> mm <sup>3</sup> )	<i>Esq</i>	63,1 ± 8,3	63,4 ± 6,9	0,21	ns
	<i>Dir</i>	62,4 ± 8,2	63,0 ± 7,4	0,37	ns
<b>- CPF Lateral</b> vol (x 10 <sup>3</sup> mm <sup>3</sup> )	<i>Esq</i>	26,3 ± 3,6	26,6 ± 3,6	0,40	ns
	<i>Dir</i>	26,6 ± 4,1	27,1 ± 3,5	0,50	ns
<i>Polo Frontal</i> vol (x 10 <sup>3</sup> mm <sup>3</sup> )	<i>Esq</i>	0,6 ± 0,09	0,8 ± 0,2	-3,67	<0,001
	<i>Dir</i>	0,8 ± 0,1	1,1 ± 0,2	-5,36	<0,001
<b>- CPF Medial</b> vol (x 10 <sup>3</sup> mm <sup>3</sup> )	<i>Esq</i>	23,5 ± 3,3	23,3 ± 2,5	0,38	ns
	<i>Dir</i>	22,5 ± 3,0	22,1 ± 2,6	0,70	ns
<b>- Orbital Frontal</b> vol (x 10 <sup>3</sup> mm <sup>3</sup> )	<i>Esq</i>	13,2 ± 1,9	13,5 ± 1,4	0,72	ns
	<i>Dir</i>	13,2 ± 1,5	13,9 ± 1,8	1,67	ns
<i>Orbital Frontal Medial</i> vol (x 10 <sup>3</sup> mm <sup>3</sup> )	<i>Esq</i>	4,8 ± 0,9	5,1 ± 0,7	-0,24	ns
	<i>Dir</i>	4,5 ± 0,6	4,8 ± 0,6	-2,07	0,042

Córtex pré-frontal: córtex pré-frontal lateral, córtex pré-frontal medial e córtex orbitofrontal; córtex pré-frontal lateral: *pars opercularis*, *pars triangularis*, frontal mediorostral, frontal mediocaudal, polo frontal; córtex pré-frontal medial: cíngulo anterocaudal, cíngulo anterorostral, frontal superior; córtex orbitofrontal: *pars orbitalis*, orbitofrontal lateral e orbitofrontal medial.

No entanto, o volume total do córtex pré-frontal e de suas subdivisões medial, lateral e orbitofrontal (Fig. 6) não foi diferente dos indivíduos não-alcoolistas (Tab. 8).

Surpreendentemente, algumas áreas específicas do córtex pré-frontal, como o córtex orbitofrontal medial direito, um componente do córtex orbitofrontal, e o córtex frontopolar bilateral, a porção mais rostral do córtex pré-frontal lateral, apresentaram volumes maiores em alcoolistas quando comparado com os controles não-alcoolistas (Tab. 8) que são objeto de outro estudo em desenvolvimento pelo autor.

## DISCUSSÃO

Neste estudo, o volume da substância cinzenta de uma região específica do córtex pré-frontal, o giro frontal médio rostral e o córtex cerebelar, especialmente do hemisfério esquerdo, foram capazes de prever a função executiva frontal medida por um instrumento simplificado como a FAB em alcoolistas. Inesperadamente, nenhuma das estruturas cerebrais mostrou prever o estado mental cognitivo avaliado pelo MEEM.

O uso da RM estrutural para detectar mudanças estruturais grosseiras e também para identificar regiões do cérebro particularmente vulneráveis aos efeitos da exposição crônica ao álcool, tem sido utilizado por um longo tempo (Rosenbloom et al., 2003).

Nestes estudos a RM frequentemente mostra uma grande perda estrutural nos lobos frontais relacionados com disfunções executivas, mas também em outras estruturas envolvidas na memória, como hipocampo, corpos mamilares, tálamo e córtex cerebelar, este último geralmente relacionado com déficit na estabilidade postural (Sullivan et al., 2000).

De acordo com Sullivan e Pfefferbaum (2005), tem sido difícil correlacionar as estruturas do cérebro utilizando medidas volumétricas por RM com as funções cerebrais e as tentativas de correlacionar às funções executivas com volume pré-frontal em alcoolistas têm falhado.

No entanto, Chanraud e colaboradores (2010) observaram que os alcoolistas, que foram desproporcionalmente mais afetados que os indivíduos não alcoolistas por um distrator aritmético em uma tarefa de memória de trabalho espacial de alta complexidade, tiveram o seu desempenho nesta tarefa previsto pelo volume do tálamo esquerdo e do hemisfério cerebelar esquerdo.

Por outro lado, em indivíduos não-alcoolistas o desempenho desta tarefa foi melhor previsto pelo giro frontal medial direito e hemisfério cerebelar direito, sugerindo que o desempenho desta tarefa, altamente exigente de memória de trabalho, contou com a integridade de diferentes núcleos do sistema córtico-cerebelar em indivíduos alcoolistas e não-alcoolistas.

Neste 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 (Dubois et al., 2000), foi claramente prevista por alterações volumétricas na substância cinzenta no córtex pré-frontal nos alcoolistas, especialmente a partir do giro frontal médio rostral e o cerebelo, uma estrutura que também constitui o circuito frontal-subcortical necessário para respostas executivas adequadas (Constantino e Todd, 2003).

O programa *FreeSurfer* segmenta automaticamente o cérebro em sub-regiões, e parece delinear com precisão as partes rostral e caudal do giro frontal medial (Desikan et al., 2006).

A divisão rostral do giro frontal medial é delimitada anteriormente pela extensão rostral do sulco frontal superior, posteriormente pela extensão caudal do giro frontal médio, medialmente pelo

sulco frontal superior e lateralmente pelo sulco frontal inferior (Desikan et al. de 2006) (fig. 5 e 6). Esta divisão do cérebro é igual, ou inclui a córtex pré-frontal dorsolateral (Kikinis et al., 2010).

Embora a compreensão das funções relacionadas com o córtex pré-frontal tenham evoluído bastante, a competência mais específica do córtex pré-frontal dorsolateral ainda precisa ser melhor explorada (Barbey et al., 2013). No entanto, existem muitas evidências mostrando que essa área frontal está altamente relacionada com o processamento da memória de trabalho em primatas não-humanos (Funahashi, 2006) e também em humanos (Barbey et al., 2013), que é um sistema de manutenção, monitoramento e manipulação de informações na memória de curto prazo, fornecendo uma interface entre entradas sensoriais, memória de longo prazo, memória aversiva e saídas motoras, permitindo um comportamento dirigido a um objetivo (Barbey et al., 2013) e, finalmente, as funções executivas (Smith e Jonides, 1999).

Segundo Fuster (2000), o córtex pré-frontal dorsolateral é criticamente envolvido em todas as formas de memória de trabalho em direção a um objetivo, seja no comportamento, raciocínio, ou na fala. Ele tem um papel central no controle, monitoramento e integração das atividades cognitivas (Powell e Voeller, 2004). Ele medeia a atenção e controla a distração, mantém o foco, mas também fornece flexibilidade para mudanças de contexto, e está envolvido na geração de atividade verbal fluente e não-verbal (Powell e Voeller, 2004).

Na verdade, estudando indivíduos com lesão restrita no córtex pré-frontal dorsolateral, Barbey e colaboradores (2013) concluíram que esta região é um componente central dos sistemas neurais subjacentes à manipulação de conhecimento verbal e espacial. A síndrome pré-frontal dorsolateral tem sido caracterizada, principalmente, pela disfunção executiva, tais como a incapacidade de manter a flexibilidade ou de mudar o contexto, mostrando um comportamento rígido e perseverante, as estratégias organizacionais são pobres para tarefas de aprendizagem, bem como para copiar desenhos complexos e anormalidades de programação motora, mostrando deficiência em alternância de tarefas motoras recíprocas e dos testes motores sequenciais (Cummings, 1993).

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 (Sullivan e Pfefferbaum, 2005). Há ainda evidências de que uma redução seletiva do volume de região cerebelar seria melhor preditor que o volume do lobo frontal, para prejuízos executivos, visuoespacial e equilíbrio, que são considerados os três principais sinais neuropsicológicos do alcoolismo (Sullivan, 2003). Na verdade, a principal descoberta do estudo de Fein e colaboradores (2010) foi a maior redução do volume cortical de substância cinzenta comparada a perda normal

relacionada à idade em dependentes de álcool nunca tratados e que foi independente da quantidade de consumo de álcool na vida.

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 (Sullivan e Pfefferbaum, 2005). Este circuito frontocerebelar suporta o desempenho de uma tarefa sequencial motora em primatas não-humanos (Kelly e Strick, 2003) e um circuito semelhante foi também identificado no homem através da conectividade na RM funcional (Krienen e Buckner, 2009). De acordo com Krienen e Buckner (2009), 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 (2005), os exames de RM estrutural e funcional sustentam a hipótese de que a interrupção do circuito fronto-cerebelar é o principal mecanismo neural subjacente aos déficits incapacitantes e persistentes do alcoolismo, como ataxia, disfunção executiva e comprometimento viso-espacial.

Além disso, as modificações estruturais específicas do córtex pré-frontal em alcoolistas podem estar associadas com a manutenção dos resultados mais negativos, como foi previamente sugerido por Goldstein e Volkow (2011).

Por exemplo, se uma atribuição relevante a uma substância e/ou suas pistas estão acopladas a um controle inibitório deficiente, resulta que alcoolistas seriam incapazes ou teriam maior dificuldade em controlar o uso de álcool, assim, tornando-os mais propensos a uma recaída no seu consumo.

Em um estudo recente, Beck e colaboradores (2012) sugeriram que a abstinência em pacientes dependentes de álcool desintoxicados depende de um volume de substância cinzenta no córtex orbitofrontal, córtex pré-frontal medial, córtex pré-frontal e córtex cingulado anterior preservados. Sugeriram ainda, que a sinalização de aversão ao álcool pode depender da conectividade funcional entre a área tegmentar ventral e a amígdala, e também entre a área tegmentar ventral e o córtex orbitofrontal.

Tem que ser destacado no presente estudo, que somente a substância cinzenta do giro frontal médio rostral esquerdo e o córtex cerebelar esquerdo puderam prever o desempenho da FAB em alcoolistas. Curiosamente, Tamga e colaboradores (1995) compararam a perfusão cerebral entre as regiões cerebrais direita e esquerda em 15 pacientes alcoolistas assintomáticos, ou seja, sem sintomas neurológicos e/ou mentais, marcados com a  $^{99m}\text{Tc}$ -hexametilpropileno-amina-oxima, e descobriram uma importante hipoperfusão frontal, temporal, occipital e parietal, que foram mais pronunciadas no hemisfério esquerdo. Considerando a lateralização, há uma especialização funcional entre córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo e direito (Kaller et al., 2011).

Barbey e colaboradores (2013) realizaram um amplo estudo em indivíduos com lesões cerebrais, incluindo aqueles com lesões mais específicas do córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo ou direito e observaram que o córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo parece ser necessário para a manipulação de informação verbal/auditiva e não-verbal / espacial na memória de trabalho, enquanto o córtex pré-frontal dorsolateral direito parece ser crítico para manipular informações em um intervalo ou raciocínio em contextos mais amplos, tais como raciocínio aritmético e espacial.

Em um elegante estudo utilizando um procedimento de RM funcional relacionado a evento empregando a Torre de Londres como tarefa em indivíduos saudáveis, Kaller e colaboradores (2011) mostraram que o córtex pré-frontal dorsolateral tem um papel fundamental para o planejamento e observaram especialização funcional esquerda e direita neste processo.

Curiosamente, Chanraud e colaboradores (2010) observaram em seu estudo que os alcoolistas mostraram déficits mais seletivos na memória de trabalho espacial ao invés de um comprometimento global cognitivo, sugerindo que os déficits no desempenho cognitivo em alcoolistas não apenas podem ser explicados pelo impacto da droga sobre uma demanda geral cognitiva ou na capacidade cognitiva geral, mas, possivelmente, em alterar o sistema executivo central mais especificamente.

O córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo pode refletir uma maior exigência na análise estrutural das informações externas durante o planejamento, provavelmente associada com a geração de um conjunto de trabalho de alto nível incorporando as metas e as regras da tarefa, enquanto o córtex pré-frontal dorsolateral direito parece estar associado com a crescente demanda para integração de informações interdependentes em uma sequência coerente. Portanto, o córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo iria analisar estruturalmente e selecionar todas as informações necessárias para compor um plano de acordo com as metas específicas, enquanto o córtex pré-frontal dorsolateral direito iria integrá-los em uma sequência lógica temporal.

Estas alterações estruturais em áreas pré-frontais específicas e também no cerebelo e suas conexões precisam ser mais cuidadosamente investigadas com relação às características funcionais e microestruturais que podem estar relacionados ao consumo de drogas.

Neste sentido, mas ainda considerando aspectos estruturais, os alcoolistas deste estudo apresentaram um volume intracraniano reduzido quando comparado a controles não-alcoolistas pareados por idade. Com base em resultados de estudos na literatura, esta redução sugere a ocorrência de uma atrofia cerebral global em alcoolistas (Thomas, 1986; Di Sclafani et al, 1995; Garcia-Valdecasas-Campelo et al, 2007). Quando as estruturas individuais no cérebro foram examinadas com mais detalhes, foram observados volumes significativamente menores para o hipocampo, córtex entorrinal, córtex temporal médio, ínsula e córtex cingulado posterior apenas no hemisfério direito nesta amostra de alcoolistas comparados aos controles. Além disso, a substância

branca do cerebelo, tálamo, putame e pálido, foram todos menores bilateralmente nos alcoolistas. Em contraste, o córtex pós-central do córtex somatossensorial foi maior no lado esquerdo nestes alcoolistas comparado aos controles.

Em relação ao CPF, uma menor superfície cortical foi acompanhada de uma maior espessura, bilateralmente nos alcoolistas, sugerindo que algum tipo de retração possa ter ocorrido nesta região do cérebro. Esta hipótese é sustentada pela ausência de alterações no volume de matéria cinzenta desta região cerebral. Em contraste, os volumes das áreas mais segmentadas desta região, como as regiões bilaterais do córtex frontopolar e o córtex orbitofrontal medial direito, foram maiores nos indivíduos alcoolistas em comparação aos controles.

Estes resultados sugerem que alcoolistas graves apresentam uma atrofia cerebral global e uma perda de volume para muitas estruturas, especialmente no lado direito do cérebro, e sem qualquer alteração aparente no volume total do CPF. No entanto, alguns alcoolistas apresentam um alargamento em áreas isoladas do CPF, especificamente o córtex orbitofrontal medial direito e o córtex frontopolar bilateral.

Tem se demonstrado que o córtex orbitofrontal medial pertence ao circuito de recompensa cerebral, cuja disfunção compromete muitas respostas comportamentais. Por exemplo, a disfunção desta estrutura pode estar na base do prejuízo do comportamento de inibição da resposta e da atribuição inadequada de saliência a uma droga ou às suas pistas (Goldstein e Volkow, 2002, 2011). O córtex frontopolar, por sua vez, tem sido associado à capacidade de monitorar ou avaliar decisões tomadas como descrito em macacos (Tsujimoto et al, 2010), e ao julgamento ou sentimentos morais descritos no homem (Moll et al, 2011). Portanto, estas funções frontopolares podem estar comprometidas nos alcoolistas, visto a mudança estrutural observada neste grupo.

Existem limitações potenciais associadas a este estudo, que necessitam ser consideradas. As grandes discrepâncias na idade, tempo de uso do álcool e dias de abstinência podem impor diferenças que não foram controladas nas análises de regressão consideradas neste estudo, mesmo considerando que essas variáveis não são indicadores de desempenho da FAB ou do MEEM e também para volumes das estruturas cerebrais principais incluídas nos modelos de regressão múltipla.

## CONCLUSÕES

Este estudo mostrou que estruturas específicas do cérebro, como o córtex frontal médio rostral, que está principalmente relacionado com o córtex pré-frontal dorsolateral, e o córtex cerebelar, somente do lado esquerdo do cérebro, foram associados com desempenho executivo examinado pela FAB em alcoolistas. Estas estruturas não parecem ser primariamente envolvidas no estado mental cognitivo mais global avaliada pelo MEEM, sugerindo que a função executiva e estado mental geral 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, mais especificamente a córtex pré-frontal dorsolateral e córtex cerebelar esquerdo, juntamente com a FAB podem ser clinicamente relevantes para determinar de ligeira a moderada disfunção executiva em pacientes alcoolistas assintomáticos, para auxiliar no estabelecimento de tratamentos melhores e mais direcionados, e quem sabe reduzir o insucesso terapêutico.

Concluimos que as medições volumétricas do córtex frontal médio rostral esquerdo e do córtex cerebelar parecem ser capazes de prever o desempenho executivo frontal, mas não o estado mental cognitivo em indivíduos alcoolistas.

Adicionalmente, também observamos que os alcoolistas apresentaram mudanças estruturais globais no cérebro, 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.

## REFERÊNCIAS

1. Barbey AK, Koenigs M, Grafman J (2013) Dorsolateral prefrontal contributions to human working memory. *Cortex* 49:1195–1205.
2. Beato R, Amaral-Carvalho V, Guimaraes HC, Tumas V, Souza CP, Oliveira GN, Caramelli P (2012) Frontal assessment battery in a Brazilian sample of healthy controls: normative data. *Arq Neuropsiquiatr* 70:278–280.
3. Beck A, Wustenberg T, Genauck A, Wrase J, Schlagenhauf F, Smolka MN, Mann K, Heinz A (2012) Effect of brain structure, brain function, and brain connectivity on relapse in alcohol-dependent patients. *Arch Gen Psychiatry* 69:842–852.
4. Bender R, Lange S (2001) Adjusting for multiple testing—when and how? *J Clin Epidemiol* 54:343–349.
5. Brooks PJ (2000) Brain atrophy and neuronal loss in alcoholism: a role for DNA damage? *Neurochem Int* 37:403–412.
6. Chanraud S, Martelli C, Delain F, Kostogianni N, Douaud G, Aubin HJ, Reynaud M, Martinot JL (2007) Brain morphometry and cognitive performance in detoxified alcohol-dependents with preserved psychosocial functioning. *Neuropsychopharmacology* 32:429–438.
7. Chanraud S, Pitel AL, Rohlfing T, Pfefferbaum A, Sullivan EV (2010) Dual tasking and working memory in alcoholism: relation to frontocerebellar circuitry. *Neuropsychopharmacology* 35:1868–1878.
8. Constantino JN, Todd RD (2003) Autistic traits in the general population: a twin study. *Arch Gen Psychiatry* 60:524–530.
9. Crum RM, Anthony JC, Bassett SS, Folstein MF (1993) Population-based norms for the Mini-Mental State Examination by age and educational level. *JAMA* 269:2386–2391.
10. Cummings JL (1993) Frontal-subcortical circuits and human behavior. *Arch Neurol* 50:873–880.
11. Dale AM, Fischl B, Sereno MI (1999) Cortical surface-based analysis. I. Segmentation and surface reconstruction. *Neuroimage* 9:179–194.
12. Desikan RS, Segonne F, Fischl B, Quinn BT, Dickerson BC, Blacker D, Buckner RL, Dale AM, Maguire RP, Hyman BT, Albert MS, Killiany RJ (2006) An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *Neuroimage* 31:968–980.
13. Di Sclafani V, Ezekiel F, Meyerhoff DJ, et al. (1995) Brain atrophy and cognitive function in older abstinent alcoholic men. *Alcohol Clin Exp Res* 19:1121–1126.
14. Di Sclafani V, Ezekiel F, Meyerhoff DJ, MacKay S, Dillon WP, Weiner MW, Fein G (1995) Brain atrophy and cognitive function in older abstinent alcoholic men. *Alcohol Clin Exp Res* 19:1121–1126.
15. Dubois B, Slachevsky A, Litvan I, Pillon B (2000) The FAB: a Frontal Assessment Battery at bedside. *Neurology* 55:1621–1626.
16. Durazzo TC, Tosun D, Buckley S, Gazdzinski S, Mon A, Fryer SL, Meyerhoff DJ (2011) Cortical thickness, surface area, and volume of the brain reward system in alcohol dependence: relationships to relapse and extended abstinence. *Alcohol Clin Exp Res* 35:1187–1200.
17. Fein G, Landman B, Tran H, McGillivray S, Finn P, Barakos J, Moon K (2006) Brain atrophy in long-term abstinent alcoholics who demonstrate impairment on a simulated gambling task. *Neuroimage* 32:1465–1471.
18. Fein G, Shimotsu R, Barakos J (2010) Age-related gray matter shrinkage in a treatment naive actively drinking alcohol-dependent sample. *Alcohol Clin Exp Res* 34:175–182.
19. Fischl B, Dale AM (2000) Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:11050–11055.



20. Fischl B, Salat DH, Busa E, Albert M, Dieterich M, Haselgrove C, van der Kouwe A, Killiany R, Kennedy D, Klaveness S, Montillo A, Makris N, Rosen B, Dale AM(2002) Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. *Neuron* 33:341–355.
21. Funahashi S (2006) Prefrontal cortex and working memory processes. *Neuroscience* 139:251–261.
22. Fuster JM(2000) Executive frontal functions. *Exp Brain Res* 133:66–70.
23. Garcia-Valdecasas-Campelo E, Gonzalez-Reimers E, Santolaria-Fernandez F, De La Vega-Prieto MJ, Milena-Abril A, Sanchez-Perez MJ, Martinez-Riera A, Rodriguez-Rodriguez E (2007) Brain atrophy in alcoholics: relationship with alcohol intake; liver disease; nutritional status, and inflammation. *Alcohol Alcohol* 42:533–538.
24. Garcia-Valdecasas-Campelo E, Gonzalez-Reimers E, Santolaria-Fernandez F, et al. (2007) Brain atrophy in alcoholics: relationship with alcohol intake; liver disease; nutritional status, and inflammation. *Alcohol Alcohol* 42:533-538.
25. Geibprasert S, Gallucci M, Krings T (2010) Alcohol-induced changes in the brain as assessed byMRI and CT. *Eur Radiol* 20:1492–1501.
26. Goldstein RZ, Volkow ND (2002) Drug addiction and its underlying neurobiological basis: neuroimaging evidence for the involvement of the frontal cortex. *Am J Psychiatry* 159:1642–1652.
27. Goldstein RZ, Volkow ND (2002) Drug addiction and its underlying neurobiological basis: neuroimaging evidence for the involvement of the frontal cortex. *Am J Psychiatry* 159:1642-1652.
28. Goldstein RZ, Volkow ND (2011) Dysfunction of the prefrontal cortex in addiction: neuroimaging findings and clinical implications. *Nat Ver Neurosci* 12:652–669.
29. Goldstein RZ, Volkow ND (2011) Dysfunction of the prefrontal cortex in addiction: neuroimaging findings and clinical implications. *Nat Rev Neurosci* 12:652-669.
30. Gurling HM, Reveley MA, Murray RM (1984) Increased cerebral ventricular volume in monozygotic twins discordant for alcoholism. *Lancet* 1:986–988.
31. Kaller CP, Rahm B, Spreer J, Weiller C, Unterrainer JM (2011) Dissociable contributions of left and right dorsolateral prefrontal cortex in planning. *Cereb Cortex* 21:307–317.
32. Kelly RM, Strick PL (2003) Cerebellar loops with motor cortex and pré-frontal cortex of a nonhuman primate. *J Neurosci* 23:8432–8444.
33. Kikinis Z, Fallon JH, Niznikiewicz M, Nestor P, Davidson C, Bobrow L, Pelavin PE, Fischl B, Yendiki A, McCarley RW, Kikinis R, Kubicki M, Shenton ME (2010) Gray matter volume reduction in rostral middle frontal gyrus in patients with chronic schizophrenia. *Schizophr Res* 123:153–159.
34. Krienen FM, Buckner RL (2009) Segregated fronto-cerebellar circuits revealed by intrinsic functional connectivity. *Cereb Cortex* 19:2485–2497.
35. Kril JJ, Harper CG (1989) Neuronal counts from four cortical regions of alcoholic brains. *ActaNeuropathol* 79:200–204.
36. Lancaster JL, Woldorff MG, Parsons LM, Liotti M, Freitas CS, Rainey L, Kochunov PV, Nickerson D, Mikiten SA, Fox PT, "Automated Talairach Atlas labels for functional brain mapping". *Human Brain Mapping* 10:120-131, 2000.
37. Moll J, Zahn R, de Oliveira-Souza R, et al. (2011) Impairment of prosocial sentiments is associated with frontopolar and septal damage in frontotemporal dementia. *Neuroimage* 54:1735-1742.
38. Moselhy HF, Georgiou G, Kahn A (2001) Frontal lobe changes in alcoholism: a review of the literature. *Alcohol Alcohol* 36:357–368.
39. Pfefferbaum A, Rosenbloom M, Deshmukh A, Sullivan E (2001) Sex differences in the effects of alcohol on brain structure. *Am J Psychiatry* 158:188–197.

40. Powell KB, Voeller KK (2004) Prefrontal executive function syndromes in children. *J Child Neurol* 19:785–797.
41. Rosenbloom M, Sullivan EV, Pfefferbaum A (2003) Using magnetic resonance imaging and diffusion tensor imaging to assess brain damage in alcoholics. *Alcohol Res Health* 27:146–152.
42. Smith EE, Jonides J (1999) Storage and executive processes in the frontal lobes. *Science* 283:1657–1661.
43. Sullivan EV (2003) Compromised pontocerebellar and cerebellothalamocortical systems: speculations on their contributions to cognitive and motor impairment in nonamnestic alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 27:1409–1419.
44. Sullivan EV, Deshmukh A, Desmond JE, Lim KO, Pfefferbaum A (2000) Cerebellar volume decline in normal aging, alcoholism, and Korsakoff's syndrome: relation to ataxia. *Neuropsychology* 14:341–352.
45. Sullivan EV, Pfefferbaum A (2005) Neurocircuitry in alcoholism: a substrate of disruption and repair. *Psychopharmacology* 180:583–594.
46. Tamgac F, Selcoki E, Alper E, Akbunar T, Konuk N (1995) Effect of chronic alcohol utilisation on regional cerebral blood flow: difference between right and left cerebral regions. *Turk J NuclMed* 4:5.
47. Tanabe J, Tregellas JR, Dalwani M, Thompson L, Owens E, Crowley T, Banich M (2009) Medial orbitofrontal cortex gray matter is reduced in abstinent substance-dependent individuals. *Biol Psychiatry* 65:160–164.
48. Thomas PK (1986) Brain atrophy and alcoholism. *Br Med J (Clin Res Ed)* 292:787.
49. Tsujimoto S, Genovesio A, Wise SP (2010) Evaluating self-generated decisions in frontal pole cortex of monkeys. *Nat Neurosci* 13:120–126.
50. Wobrock T, Falkai P, Schneider-Axmann T, Frommann N, Wolwer W, Gaebel W (2009) Effects of abstinence on brain morphology in alcoholism: a MRI study. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 259:143–150.
51. Zago-Gomes Mda P, Nakamura-Palacios EM (2009) Cognitive components of frontal lobe function in alcoholics classified according to Lesch's typology. *Alcohol* 44:449–457.

## ANEXO 1



## 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

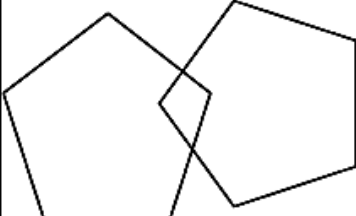
Dr. Roney Welinton Dias de Oliveira CRM/ES 6434

Médicos responsáveis pelo estudo

Data: \_\_/\_\_/\_\_

## ANEXO 2

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 IH. Sugestões para o uso do mini-exame do estado mental no Brasil. Arq Neuropsiquiatr. 2003; 61(3B):777-81.

## ANEXO 3

**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 Volume in Left Rostral Middle Frontal and Left Cerebellar Cortices Predicts Frontal Executive Performance in Alcoholic Subjects

Ester M. Nakamura-Palacios, Rodrigo S. M. Souza, Maria P. Zago-Gomes, Adriana M. F. de Melo, Flávia S. Braga, Tadeu T. A. Kubo, and Emerson L. Gasparetto

**Background:** Alcoholic subjects manifest important deficits in frontal executive function, yet maintain cognitive mental status within normal range.

**Methods:** This study searched for volumetric measurements of segmented brain structures obtained from magnetic resonance imaging (MRI) that would predict executive functions and cognitive mental status in alcoholic subjects. The frontal assessment battery (FAB) and the Mini-Mental State Examination (MMSE) were applied to alcoholic subjects who underwent MRI. Cortical and subcortical segmentation and corrections were performed using FreeSurfer. Multiple linear regressions analyses having volumetric measures of segmented brain structures as predictors for FAB or MMSE scores as dependent measures were conducted. Sixty alcoholic subjects, 52 males, mean age of  $47.2 \pm SD 10.4$  years, with heavy use of alcohol (mean  $284.4 \pm SD 275.9$  g of alcohol/d) over a long time (mean  $32.4 \pm SD 11.1$  years), showed FAB  $11.1 \pm SD 3.2$  and MMSE of  $25.2 \pm SD 4.1$ .

**Results:** Multiple regression analyses having left and right side of each segment as predictors showed that gray matter volumes of rostral middle frontal cortex and cerebellar cortex ( $p < 0.001$ ), in which only the left side of these structures showed significant partial effects in the full model ( $p < 0.05$ ), showed to predict FAB performance. They were even more predictive when considered together ( $p < 0.001$ ), in which both left rostral middle frontal cortex ( $p < 0.05$ ) and left cerebellar cortex ( $p < 0.01$ ) predictors had significant partial effects in the full model. None of brain structures was predictive of MMSE performance.

**Conclusions:** We have concluded that volumetric measurements of left rostral middle frontal and cerebellar cortices seem to be able to predict the frontal executive performance but not the cognitive mental status in alcoholic subjects.

**Key Words:** Alcoholism, Prefrontal Cortex, Executive Function, Cognition, Magnetic Resonance Imaging.

**F**RONTAL LOBE DEFICIENCY, characterized by executive dysfunction with deficits in attention and working memory, has been associated with an inability to abstain from alcohol and negative clinical implications (Goldstein and Volkow, 2002). Accordingly, executive

dysfunction may predict poor outcomes following treatment of drug addiction (Moselhy et al., 2001). However, alcoholics with important deficits in executive functions may have global cognitive function preserved. For example, alcoholics have been found to present different degrees of frontal dysfunction, notably according to different types of alcoholism as evaluated using Lesch's Typology (Zago-Gomes Mda and Nakamura-Palacios, 2009). One of these types, type IV, has been associated with the lowest scores on the Mini-Mental State Examination (MMSE), and on the frontal assessment battery (FAB) in particular, compared to nonalcoholics and other types of alcoholics. Furthermore, executive frontal function of type IV alcoholics was significantly impaired even in those with preserved mental function (Zago-Gomes Mda and Nakamura-Palacios, 2009). Taken together, these results suggest that cognitive and executive functions may be differently affected by chronic use of alcohol.

Brain atrophy has commonly been observed in alcoholics (Brooks, 2000; Di Sclafani et al., 1995; Fein et al., 2006; Garcia-Valdecasas-Campelo et al., 2007; Thomas, 1986).

From the Laboratory of Cognitive Sciences and Neuropsychopharmacology (EMN-P), Department of Physiological Sciences, Health Science Center, Federal University of Espírito Santo, Vitória, Brazil; Department of Internal Medicine (RSMS, MPZ-G, AMFM, FSB), Health Science Center, Federal University of Espírito Santo, Vitória, Brazil; and Department of Radiology (TTAK, ELG), Federal University of Rio de Janeiro, Vitória, Brazil.

Received for publication July 17, 2013; accepted September 28, 2013.

Reprint requests: Ester M. Nakamura-Palacios, Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Espírito Santo, Av. Marechal Campos, 1468, 29.047-105 Vitória, ES, Brasil; Tel.: +55(27) 3335-7337; Fax: + 55(27) 3335-7330; E-mail: emnpalacios@gmail.com

Copyright © 2013 by the Research Society on Alcoholism.

DOI: 10.1111/acer.12308

Alcohol Clin Exp Res, Vol \*\*, No \*, 2013; pp 1-8

1

Moreover, chronic consumption of alcohol has been shown to reduce levels of neurotrophic factors, and this has the potential to interfere with normal brain function and to cause deregulation of neuronal synaptic connectivity and apoptosis (Geibprasert et al., 2010). Indeed, Kril and Harper (1989) have shown by histological analysis that alcoholics present with a loss of neurons in the superior frontal cortex, and also exhibit a reduction in the degree of dendritic arborization of layer III pyramidal neurons in the superior frontal and motor cortices compared to age-matched controls.

Neuroimaging studies using computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI) have detected a characteristic spread of volume loss (Geibprasert et al., 2010), enlarged lateral ventricles, and loss of both gray and white matter volume (Gurling et al., 1984; Pfefferbaum et al., 2001; Wobrock et al., 2009) in subjects addicted to alcohol.

In a recent study, Durazzo and colleagues (2011) compared thickness, surface area, and volume in neocortical components of brain reward system constituted by rostral and caudal anterior cingulate cortex (ACC), insula, medial, and lateral orbitofrontal cortex (OFC), and dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC) between nonsmoking light drinking controls and alcoholics by using FreeSurfer volumetric segmentation and cortical surface reconstruction. They demonstrated that alcoholic subjects showed significantly lower neocortical thickness in 12 of 16 individual brain reward system regions when compared to control and lower total brain reward system and global thickness as well. They suggested that both neocortical surface and brain reward system regions of interest investigated in their study would serve as proxy markers for risk of relapse and/or predict the level of severity of an episode of relapse, at least in their cohort.

Changes on prefrontal cortical (PFC) gray matter in drug addicts may also be related to behavioral and cognitive dysfunction. A reduced medial OFC gray matter was observed in subjects diagnosed with dependence of one or more illicit substances, which was correlated with a persistence of playing high-risk decks on a modified gambling task (Tanabe et al., 2009). Also, decreases in gray and white matter volumes in dorsolateral frontal, cerebellum and brainstem regions were found to be associated with impairment of executive function in clinically and socially preserved alcohol-dependent subjects, which, according to Chanraud and colleagues (2007), suggests a cerebello-thalamo-cortical model of impaired executive function in this drug dependence.

However, there are no studies addressing the relationship between segmented brain volumes and brief cognitive instruments that screen for executive and mental status conditions, such as the FAB and MMSE, respectively.

Moreover, if alcoholic subjects manifest important deficits in frontal executive function, yet maintain cognitive mental status within a normal range, we hypothesized that distinct brain structures are related to these cognitive functions.

Thus, the aim of this study was to search for volumetric measurements of segmented brain structures obtained from high-resolution MRI that could be predictive of executive functions and cognitive mental status in alcoholic subjects.

## MATERIALS AND METHODS

### *Subjects*

In 2010, between January and October, 74 alcohol-dependent outpatients were referred to a specialized public service department of the Medical School Hospital of the Federal University of Espírito Santo (Brazil) for alcohol dependence treatment. Of these patients, 60 met our inclusion criteria, agreed to participate in this study, and successfully completed it.

The inclusion criteria for this study included the following: (i) patients between the age of 18 and 75 years; (ii) consumption of at least 30 drinks per week on average over the previous year; (iii) met 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) in stable clinical condition with no need for inpatient care; (v) able to read, write, and speak Portuguese; and (vi) have no severe withdrawal signs or symptoms at baseline. Conversely, exclusion criteria included the following: (i) a condition of intoxication or withdrawal due to a substance other than alcohol, (ii) unstable mental or medical disorder other than alcohol dependence, except nicotine and/or caffeine; (iii) a diagnosis of epilepsy, convulsions, or delirium tremens during abstinence from alcohol; (iv) a previous history of drug hypersensitivity or adverse reactions to diazepam or other benzodiazepines and haloperidol; (v) any contraindication for magnetic resonance procedures such as electronic implants, metal implants, claustrophobia, or permanent make-up or tattoo received within the previous 3 months; (vi) the presence of vascular, traumatic, inflammatory, or tumor injuries detectable by CT examination; or (vii) suspected pregnancy for female participants.

Ethical approval for this study was provided by the Brazilian Institutional Review Board of the Federal University of Espírito Santo (registration 207/09), Brazil. In addition, this study was conducted in strict adherence with the Declaration of Helsinki and is in accord with ethical standards of the Committee on Human Experimentation of the Federal University of Espírito Santo, ES, Brazil, where this study was conducted.

### *Procedures*

After having been informed of all procedures and given written informed consent, 60 outpatients diagnosed with alcohol dependence by ICD-10 were included in this study. Patients were subsequently assessed using the following tools.

*Sociodemographic and Drinking Behavior Characteristics.* A structured interview was conducted to obtain information regarding sociodemographic data and alcohol drinking characteristics of the study participants. This interview was followed by a global physical examination.

*Mini-Mental State Examination.* An adapted version of the MMSE in Portuguese was used. This version included an 11-item examination that examined 5 areas of cognitive function: orientation, registration, attention and calculation, recall, and language. The maximum score that could be achieved was 30, while a mean score between 23 and 26 would be expected according to the age and educational level of the total sample of alcoholics (Crum et al., 1993).

**Frontal Assessment Battery.** The FAB instrument elaborated by Dubois and colleagues (2000) consists of 6 subsets that explore the following: conceptualization, mental flexibility, motor programming, sensitivity to interference, inhibitory control, and environmental autonomy. Each of these subsets is scored from 0 to 3 points, and the maximum total score that can be achieved is 18 (Dubois et al., 2000).

**Magnetic Resonance Imaging. MRI Acquisition:** All subjects underwent MRI in a 1.5T scanner (Signa Genesis 1.5T; GE Medical Systems, Milwaukee, WI) without paramagnetic contrast administration. Briefly, the MRI protocol included an enhanced 3D Fast Gradient Echo sagittal T1-weighted imaging with an optimized protocol for postprocessing of obtained images to evaluate volume and cortical thickness (voxel size: 1.55 mm<sup>3</sup>; flip angle: 12°; TR/TE/TI = 9,300/4.19/400 ms, 81.3 Hz/pixel bandwidth, 512 × 512 matrix, 1.3 mm slice thickness, one average). Conventional sequence 2D axial T2-weighted FLAIR (TR/TE/TI 11,002/105/2,400 ms, 512 × 512 matrix, pixel resolution 1.5 × 1.5 mm) was also performed. All MRIs were reviewed by an experienced neuroradiologist and were of good quality for postprocessing.

**FreeSurfer Postprocessing.** All images were transferred to a workstation (Linux Distribution: CENTOS v.4.9, GNU General Public License, origin:USA) with 8 GB of RAM memory and 2 Quad-Core Intel Xeon processors (2 × 3.2 GHz) located in the Radiology Sector of the Federal University of Rio de Janeiro, Brazil. Cortical segmentation and corrections were performed using FreeSurfer version 5.0.0 software (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu>) by a medical physicist (TTAK, 5 years of experience). The technical details of these procedures have previously been described (Dale et al., 1999; Desikan et al., 2006; Fischl and Dale, 2000; Fischl et al., 2002). Briefly, this processing included: motion correction; removal of nonbrain tissue using a hybrid watershed/surface deformation procedure; automated Talairach transformation; segmentation of subcortical white matter and deep gray matter structures (including the thalamus, hippocampus, amygdala, caudate, putamen, and ventricles); intensity normalization; tessellation of the gray matter/white matter boundary; automated topology correction; and surface deformation and inflation of the cerebrum. The results of the automatic segmentations were reviewed and any errors were corrected. This segmentation procedure assigns a neuroanatomical label to every voxel in the MRI volume, and the method is based on probabilistic information estimated from a manually labeled training set. The Markov Random Field Theory is applied, where the probability of a label at a given voxel is computed not just in terms of gray-scale intensities and prior probabilities at that voxel, but also as a function of the labels in a neighborhood around the voxel in question (Fischl et al., 2002). This is important for obtaining the correct separation of structures, which have similar gray-scale values in the hippocampus and amygdala. Completing an entire postprocessing step took approximately 20 hours per subject, and implemented Unix scripts were used to extract the volume, area, and thickness values. Furthermore, within the scripts, it was possible to access all information regarding the processed structures in a practical and rapid manner.

**PFC Composition.** Gray matter volumes of the PFC regions was calculated using FreeSurfer software and its designations of the following regions: (i) the lateral PFC constituted by pars opercularis, pars triangularis, rostral middle frontal, caudal middle frontal, and frontal pole; (ii) the medial PFC constituted by the caudal anterior cingulate, rostral anterior cingulate, and superior frontal; and (iii) the OFC constituted by the pars orbitalis, lateral orbital frontal, and medial orbital frontal (Desikan et al., 2006).

#### Statistical Analysis

Data are presented as the percentage or mean ± standard deviation (SD). Missing data (1 for years of alcohol use variable and 2 for MMSE variable) were imputed by linear regression. Multiple regression analysis was conducted to examine the influence of age, years of alcohol use, and days of abstinence up to the time of this study as independent variables having the total scores of FAB or MMSE as dependent variables. Gray matter volumes of segmented brain regions of the PFC (11 segments as described above), and all other nonfrontal structures composing lateral or medial temporal cortex, parietal cortex, sensorimotor cortex, occipital cortex, cerebellum (white matter and cortex) in the total of 26 segments, and subcortical structures (such as amygdala, thalamus, caudate, putamen, and pallidum) in the total of 5 segments, were examined considering their left and right side as independent measures having the total scores of FAB or MMSE as dependent variables. Brain structures that showed to be significantly correlated to FAB or MMSE performance were further considered as independent variables in a multiple regression analysis with FAB or MMSE performance as dependent variables. No adjustment for multiple comparisons was considered because of the exploratory character of these analyses (Bender and Lange, 2001). They need to be specifically expanded in order to be considered confirmatory in future investigations. Besides, as age, years of alcohol use, and days of alcohol abstinence were not significantly related to FAB or MMSE scores in this sample of alcoholics, analyses were not adjusted for these variables effects. A 2-tailed *p*-value of 0.05 was used to determine statistical significance. SPSS Statistics version 17 (SPSS Inc., Chicago, IL) and Graph Pad Prism version 5 (Graph-Pad Software, Inc., La Jolla, CA) were used for statistical analyses and graphic presentations.

## RESULTS

### Sociodemographic Characteristics and Pattern of Alcohol Use

Alcoholic subjects included 52 (86.7%) males and 8 (13.3%) females, with a mean age of 47.2 ± 10.4 years (ranging from 24 to 72 years, one subject aged 24 years and another 29 years, and the majority, 58 subjects [96.7%] aged ≥31 years). The majority, 50 (83.3%) presented 8 or less years of schooling, 7 (11.7%) achieved high school level, and only 1 (1.7%) had a college degree. Schooling information was missing for 2 subjects. They showed a history of heavy use of alcohol over the past 13 to 63 years (mean, 32.4 ± 11.1 years), with 6–1,600 g of alcohol consumed per day (mean, 284.4 ± 275.9 g/d). The mean of days in abstinence before the study was 84.4 ± 251.7 (range, 0–1,825 days). These demographic characteristics are typical of alcoholics in this region.

### Mini-Mental State Examination

The alcoholics in this study had a mean score of 25.2 ± 4.1 and 74.6% of the subjects of this study were into normal scores according to the age and years of education established by Crum and colleagues (1993). Multiple regression analysis considering age, years of alcohol use, and days of abstinence of a alcohol use showed that these variables were not predictive of MMSE performance in these alcoholic subjects.



### Frontal Assessment Battery

The alcoholic group in this study showed a mean of total FAB score of  $11.1 \pm 3.2$  (ranging from 3 to 17), which is congruent with 1 to 3 years of schooling observed by Beato and colleagues (2012) in a recent normative study of FAB on a Brazilian sample of healthy controls. Multiple regression analysis considering age, years of alcohol use, and days of abstinence of alcohol use showed that these variables were not predictive of FAB performance in these alcoholic subjects,  $F(3, 56) = 0.816, p = 0.49, R^2 = 0.042, 95\% \text{ CI} [8.635, 18.647]$  (Table 1).

### Structural MRI and FAB and MMSE Performances

Multiple linear regression analysis was used to develop a model for predicting FAB or MMSE performances considering gray matter volumes of left and right side of each brain structure. Few brain structures showed to predict FAB total score and none of brain structures were predictive of MMSE performance. Basic descriptive and regression coefficients from those analyzes showing significant results are presented in Tables 2, 3, and 4.

Gray matter volumes of each of the sides of rostral middle frontal cortex had a significant ( $p < 0.01$ ) zero-order correlation with FAB performance, but only the left side had significant ( $p < 0.01$ ) partial effects in the full model (Table 2). The two-predictor model was able to account for 24.4% of the variance in FAB performance,  $F(2, 57) = 9.22, p < 0.001, R^2 = 0.244, 95\% \text{ CI} [-3.45, 7.07]$ .

Gray matter volumes of each of the sides of cerebellar cortex had a significant ( $p < 0.01$ ) zero-order correlation with FAB performance, but only the left side had significant ( $p < 0.05$ ) partial effects in the full model (Table 3). The two-predictor model was able to account for 29.2% of the variance in FAB performance,  $F(2, 57) = 11.75, p < 0.001, R^2 = 0.292, 95\% \text{ CI} [-2.71, 6.28]$ .

When a multiple linear regression analysis was used to develop a model for predicting FAB performance having gray matter volumes of left rostral middle frontal cortex and left cerebellar cortex, each structure had a significant ( $p < 0.01$ ) zero-order correlation with FAB performance, and both structures had significant ( $p < 0.05$ ) partial effects in the full model (Table 4). The two-predictor model was

**Table 2.** Frontal Assessment Battery (FAB) Total Score Related to Left and Right Side of Rostral Middle Frontal Cortex in Alcoholic Subjects ( $N = 60$ )

Variable	Zero-Order $r$			$\beta$	$sr^2$	$b$
	R RMF	L RMF	FAB			
L RMF			0.488***	0.63**	0.103	0.001
R RMF		0.858***	0.376**	-0.16	0.007	-0.0003
					Intercept = 1.807	
Mean	14092.58	13474.82	11.1			
SD	1984.98	2065.81	3.16	$F^2 = 0.244***$		

\*\* $p < 0.01, ***p < 0.001$ .

L RMF, left rostral middle frontal cortex; R RMF, right rostral middle frontal cortex.

**Table 3.** Frontal Assessment Battery (FAB) Total Score Related to Left and Right Side of Cerebellar Cortex in Alcoholic Subjects ( $N = 60$ )

Variable	Zero-Order $r$			$\beta$	$sr^2$	$b$
	R CC	L CC	FAB			
L CC			0.532***	0.76*	0.085	0.0003
R CC		0.923***	0.455***	-0.24	0.009	-0.0001
					Intercept = 1.784	
Mean	43683.85	43400.13	11.1			
SD	6952.88	7338.38	3.16	$F^2 = 0.292***$		

\* $p < 0.05, **p < 0.001$ .

L CC, left cerebellar cortex; R CC, right cerebellar cortex.

**Table 4.** Frontal Assessment Battery (FAB) Total Score Related to Left Rostral Middle Frontal Cortex and Left Cerebellar Cortex in Alcoholic Subjects ( $N = 60$ )

Variable	Zero-Order $r$			$\beta$	$sr^2$	$b$
	L CC	L RMF	FAB			
L RMF			0.488***	0.31*	0.075	0.0005
L CC		0.456***	0.532***	0.39**	0.121	0.0002
					Intercept = -2.591	
Mean	43400.13	13474.82	11.1			
SD	7338.38	2065.81	3.16	$F^2 = 0.359***$		

\* $p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001$ .

L RMF, left rostral middle frontal cortex; L CC, left cerebellar cortex.

able to account for 35.9% of the variance in FAB performance,  $F(2, 57) = 15.97, p < 0.001, R^2 = 0.359, 95\% \text{ CI} [-7.54, 2.36]$ .

**Table 1.** Frontal Assessment Battery (FAB) Total Score Related to Age, Days of Abstinence, and Years of Alcohol Use in Alcoholic Subjects ( $N = 60$ )

Variable	Zero-Order $r$			FAB	$\beta$	$sr^2$	$b$
	Age	Years of use	Days of abstinence				
Days of abstinence				0.002	0.006	0.00004	0.00008
Years of use			0.36	-0.200	-0.086	0.0009	-0.024
Age		0.937	0.014	-0.202	-0.122	0.002	-0.037
						Intercept = 13.641	
Mean	47.23	32.40	84.43	11.1			
SD	10.40	11.09	251.74	3.16	$F^2 = 0.042$		

The Fig. 1 illustrates regions that were considered rostral middle frontal cortex and cerebellum according to FreeSurfer segmentation and linear regression curves representing the relationship between FAB performance and gray matter volumes from both sides of these regions observed in alcoholic subjects.

### DISCUSSION

In this study, gray matter volumes of a specific region from PFC, the rostral middle frontal gyrus, and of the cerebellar cortex, especially from the left hemisphere, were able to predict the frontal executive function measured by a brief instrument such as the FAB in alcoholic subjects. Unexpectedly, none of brain structures was shown to predict global cognitive mental status measured by the MMSE.

The use of structural MRI to detect gross structural changes and also to identify brain regions particularly vulnerable to the effects of chronic alcohol exposure has been used for a long time (Rosenbloom et al., 2003). In these studies MRI frequently shows a great structural loss in the frontal lobes related to executive dysfunctions, but also in other structures involved in memory, such as the hippocampus, mammillary bodies, thalamus, and cerebellar cortex usually related with deficits in postural stability (Sullivan et al., 2000).

According to Sullivan and Pfefferbaum (2005), it has been difficult to correlate brain structure using volumetric MRI measures with brain functions, and the attempts to correlate executive functions with prefrontal volumes in alcoholics have been largely unsuccessful.

However, Chanraud and colleagues (2010) observed that alcoholic subjects, which were disproportionately more affected than nonalcoholic subjects by arithmetic distractor on the high-load spatial working memory task, had their performance on this task predicted by volumes of the left thalamus and left cerebellar Crus I. By contrast, in nonalcoholic subjects the performance of this task was better predicted by right middle frontal gyrus and right cerebellar Crus I, suggesting that the performance of this highly demanding working memory task relied on the integrity of different nodes of corticocerebellar systems in alcoholic and nonalcoholic subjects.

In this study, the frontal executive function, including the ability of conceptualization, mental flexibility, motor programming, sensitivity to interference, inhibitory control, and environmental autonomy assessed by FAB (Dubois et al., 2000), was clearly predicted by volumetric changes of gray matter in the PFC in alcoholics, especially from the rostral middle frontal gyrus, and with a structure constituting frontal-subcortical circuits required for adequate executive responses, the cerebellum (Constantino and Todd, 2003).

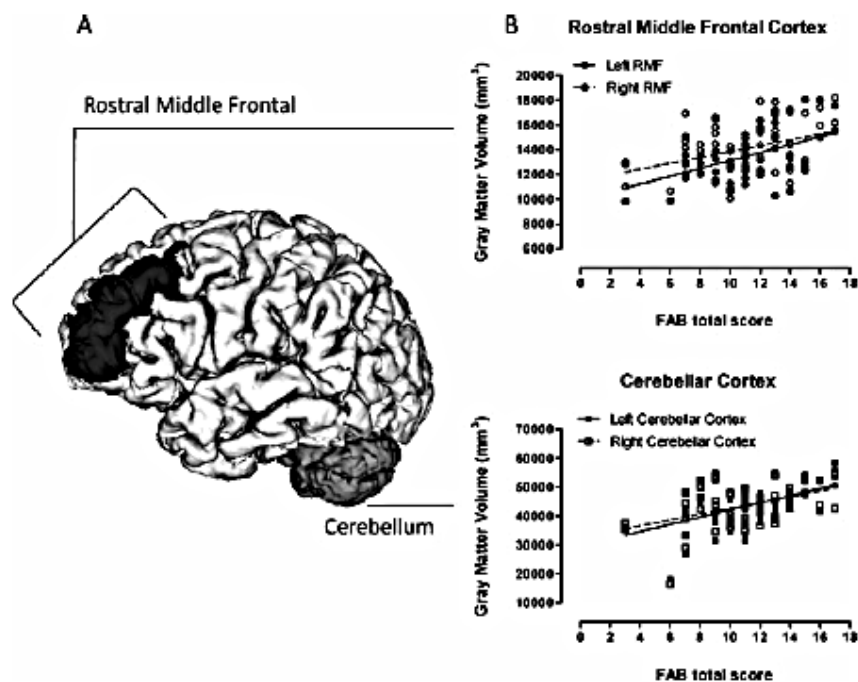


Fig. 1. (A) Rostral middle frontal (RMF) cortex and cerebellum obtained through automatic reconstruction of the cerebral cortex (automated FreeSurfer software) from a high resolution T1-weighted magnetic resonance imaging data set. (B) Linear regression analysis between frontal assessment battery (FAB) (total score) and gray matter volumes from left and right RMF and cerebellar cortices of alcoholic subjects ( $n = 60$ ).

FreeSurfer software automatically segments the brain into subregions, and it seems to delineate the rostral and caudal parts of the middle frontal gyrus accurately (Desikan et al., 2006). The rostral division of the middle frontal gyrus is delimited anteriorly by the rostral extent of the superior frontal sulcus, posteriorly by the caudal extent of the middle frontal gyrus, medially by the superior frontal sulcus, and laterally by the inferior frontal sulcus (Desikan et al., 2006) (Fig. 1). This division of the brain is equal to or includes the DLPFC (Kikinis et al., 2010).

Although the understanding of functions related to the PFC has evolved extensively, the more specific competence of DLPFC still remains to be better explored (Barbey et al., 2013). However, there are many evidence showing that this frontal area is highly related with the processing of working memory in nonhuman primates (Funahashi, 2006) and also in human (Barbey et al., 2013), which is a system for maintaining, monitoring, and manipulating information in short-term memory, providing an interface between sensorial inputs, long-term memory, aversive memory, and motor outputs that enables goal-directed behavior (Barbey et al., 2013) and ultimately the executive functions (Smith and Jonides, 1999).

According to Fuster (2000), the DLPFC is critically involved in all forms of working memory toward a goal, whether in behavior, reasoning, or speech. It has a central role in the control, monitoring, and integration of cognitive activities (Powell and Voeller, 2004). It mediates attention and controls distractibility, maintains focus but also provides flexible shifts of cognitive set, and is also involved in generating fluent verbal and nonverbal activity (Powell and Voeller, 2004). In fact, studying individuals with restricted lesion in the DLPFC, Barbey and colleagues (2013) concluded that this region is a central component of the neural systems underlying the manipulation of verbal and spatial knowledge. The dorsolateral prefrontal syndrome has been characterized primarily by executive dysfunction, such as inability to flexibly maintain or shift sets, showing rigid and perseverative behavior, poor organizational strategies for learning tasks, poor strategies for copying complex designs, and motor programming abnormalities, showing deficiencies in alternating reciprocal motor tasks and sequential motor tests (Cummings, 1993).

Regarding the cerebellum, besides its involvement in postural stability, there are convincing evidence that this structure and its extensive circuitry would support functions classically associated with the frontal lobes, such as verbal associative learning, word production, problem solving, cognitive planning, attentional set shifting, and working memory (Sullivan and Pfefferbaum, 2005). There is even evidence that a selective region of cerebellar volume shrinkage would be better than frontal lobe volumes as predictor of executive, visuospatial, and balance impairment, which are considered the 3 main neuropsychological signs of alcoholism (Sullivan, 2003). In fact, the major finding from Fein and colleagues' (2010) study was the presence of greater

than normal age-related cortical gray matter volume reduction in treatment naïve alcohol dependent that was independent of lifetime alcohol consumption.

Alcohol affects selective regions on cerebellum that have their feedback endpoints in the DLPFC, which is also selectively affected by this drug (Sullivan and Pfefferbaum, 2005). This fronto-cerebellar loop supports performance on a motor sequence task in nonhuman primates (Kelly and Strick, 2003) and a similar circuit has been also identified in human through the functional connectivity MRI (Krienen and Buckner, 2009). According to Krienen and Buckner (2009), the presence of circuits that involve prefrontal regions confirms the involvement of cerebellum in high-order cognitive networks.

According to Sullivan and Pfefferbaum (2005), MRI structural-neuropsychological and functional MRI studies support the hypothesis that disruption of fronto-cerebellar circuitry is the principal neural mechanism underlying alcoholism's salient, enduring, and debilitating deficits such as ataxia, executive dysfunction, and visuospatial impairment.

Furthermore, specific structural changes in the PFC in alcoholics may be associated with the maintenance of more negative outcomes as was previously suggested by Goldstein and Volkow (2011). For example, if salience attribution to a drug and/or its cues is coupled with impaired inhibitory control, it follows that alcoholics would be unable, or would have greater difficulty, controlling the use of alcohol, thereby making them more prone to a relapse to its consumption.

In a recent study, Beck and colleagues (2012) suggested that abstinence in detoxified alcohol-dependent patients would require preserved gray matter volume in the OFC, medial PFC, and ACC. They further suggested that the signalization of alcohol-related averseness may depend on the functional connectivity between ventral tegmental area and the amygdala and also between ventral tegmental area and OFC.

Therefore, structural changes in specific prefrontal areas and also in cerebellum and their connections need to be more carefully investigated with regard to functional and microstructural characteristics that may be related to drug addiction.

It has to be pointed out that in the present study only the gray matter from left rostral middle frontal gyrus and left cerebellar cortex showed to predict FAB performance in alcoholics. Interestingly, Tamgaç and colleagues (1995) have compared the regional cerebral perfusion between right and left cerebral regions in 15 asymptomatic alcoholic patients, that is, with no neurological and/or mental symptoms, studied with  $^{99m}\text{Tc}$  hexamethylpropylene amine oxime, and have found important hypoperfusions in frontal, temporal, occipital, and parietal, which were more pronounced in the left hemisphere.

Considering the lateralization, there is a functional specialization between left and right DLPFC (Kaller et al., 2011). Barbey and colleagues (2013) conducted a large study with subjects with brain lesions including those with more specific

lesions of left or right DLPFC and observed that the left DLPFC seems to be necessary for manipulating verbal/auditory and nonverbal/spatial information in working memory, whereas the right DLPFC seems to be critical for manipulating information in a broader range or reasoning contexts such as arithmetic and spatial reasoning.

In an elegant study using an event-related functional MRI procedure employing the Tower of London task in healthy subjects, Kaller and colleagues (2011) showed that DLPFC has a pivotal role for planning and observed left and right functional specialization in this process. The left DLPFC may reflect higher demands on structural analysis of external information during planning, probably associated with the generation of a high-level task set incorporating the goals and rules of the task, whereas the right DLPFC seems to be associated with increased demands for integrating interdependent information into a coherent sequence. Therefore, the left DLPFC would structurally analyze and select all information needed to compose a plan according to specific goals, whereas the right DLPFC would integrate them into a logical temporal sequence.

There are potential limitations associated with this study that need to be considered. The large discrepancies on age, duration of alcohol use, and days of abstinence may impose differences that were not controlled in the regression analyses considered in this study, even considering that these variables were not predictive for FAB or MMSE performance and also for volumes of the main brain structures included in the multiple regression models. However, when controlling for these variables, statistical analyses were not substantially changed and they remained significant.

In summary, this study showed that specific brain structures such as rostral middle frontal cortex, which is mostly related to the DLPFC, and the cerebellar cortex, only from the left side of the brain, were associated with executive performance examined by FAB in alcoholic subjects. These structures seemed not to be primarily involved in more global cognitive mental status as evaluated by MMSE, suggesting that executive function and general mental status are differently affected by long-term use of alcohol. Interestingly, Chanraud and colleagues (2010) observed in their study that alcoholics showed more selective deficits on spatial working memory instead of global cognitive impairment, suggesting that deficits on cognitive performance in alcoholics would not be explained only by the impact of the drug on a general cognitive demand or in the general cognitive capacity, but possibly by impairing the central executive system more specifically.

These results suggest that the examination of changes in volume of gray matter of specific brain structures, more specifically the DLPFC and cerebellar cortex from the left hemisphere, along with a brief frontal assessment may be clinically relevant to determine mild to moderate executive dysfunction in asymptomatic alcoholic patients and to help to establish better and more directed treatments and to prevent worse outcomes.

## ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to all of the patients and their relatives who agreed to participate in this study. We thank the graduate students of the Medical School of the Federal University of Espírito Santo for their help in collecting data. This study was not funded by any funding agency.

## REFERENCES

- Barbey AK, Koenigs M, Grafman J (2013) Dorsolateral prefrontal contributions to human working memory. *Cortex* 49:1195–1205.
- Beato R, Amaral-Carvalho V, Guimaraes HC, Tumas V, Souza CP, Oliveira GN, Caramelli P (2012) Frontal assessment battery in a Brazilian sample of healthy controls: normative data. *Arq Neuropsiquiatr* 70:278–280.
- Beck A, Wustenberg T, Genuack A, Wrase J, Schlagenhauf F, Smolka MN, Mann K, Heinz A (2012) Effect of brain structure, brain function, and brain connectivity on relapse in alcohol-dependent patients. *Arch Gen Psychiatry* 69:842–852.
- Bender R, Lange S (2001) Adjusting for multiple testing—when and how? *J Clin Epidemiol* 54:343–349.
- Brooks PJ (2000) Brain atrophy and neuronal loss in alcoholism: a role for DNA damage? *Neurochem Int* 37:403–412.
- Chanraud S, Martelli C, Delain F, Kostogianni N, Douaud G, Aubin HJ, Reynaud M, Martinot JL (2007) Brain morphometry and cognitive performance in detoxified alcohol-dependents with preserved psychosocial functioning. *Neuropsychopharmacology* 32:429–438.
- Chanraud S, Htel AL, Rohlfing T, Pfefferbaum A, Sullivan EV (2010) Dual tasking and working memory in alcoholism: relation to frontocerebellar circuitry. *Neuropsychopharmacology* 35:1868–1878.
- Constantino JN, Todd RD (2003) Autistic traits in the general population: a twin study. *Arch Gen Psychiatry* 60:524–530.
- Crum RM, Anthony JC, Bassett SS, Folstein MF (1993) Population-based norms for the Mini-Mental State Examination by age and educational level. *JAMA* 269:2386–2391.
- Cummings JL (1993) Frontal-subcortical circuits and human behavior. *Arch Neurol* 50:873–880.
- Dale AM, Fischl B, Sereno MI (1999) Cortical surface-based analysis. I. Segmentation and surface reconstruction. *Neuroimage* 9:179–194.
- Desikan RS, Segonne F, Fischl B, Quinn BT, Dickerson BC, Blacker D, Buckner RL, Dale AM, Maguire RP, Hyman BT, Albert MS, Killion RJ (2006) An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *Neuroimage* 31:968–980.
- Di Sclafani V, Ezekiel F, Meyerhoff DJ, MacKay S, Dillon WP, Weiner MW, Fein G (1995) Brain atrophy and cognitive function in older abstinent alcoholic men. *Alcohol Clin Exp Res* 19:1121–1126.
- Dubois B, Slachevsky A, Litvan I, Pillon B (2000) The FAB: a Frontal Assessment Battery at bedside. *Neurology* 55:1621–1626.
- Durazzo TC, Tosun D, Buckley S, Gazdzinski S, Mon A, Fryer SL, Meyerhoff DJ (2011) Cortical thickness, surface area, and volume of the brain reward system in alcohol dependence: relationships to relapse and extended abstinence. *Alcohol Clin Exp Res* 35:1187–1200.
- Fein G, Landman B, Tran H, McGillivray S, Finn P, Barakos J, Moon K (2006) Brain atrophy in long-term abstinent alcoholics who demonstrate impairment on a simulated gambling task. *Neuroimage* 32:1465–1471.
- Fein G, Shimotsu R, Barakos J (2010) Age-related gray matter shrinkage in a treatment naive actively drinking alcohol-dependent sample. *Alcohol Clin Exp Res* 34:175–182.
- Fischl B, Dale AM (2000) Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:11050–11055.
- Fischl B, Salat DH, Busa E, Albert M, Dieterich M, Haselgrove C, van der Kouwe A, Killiany R, Kennedy D, Klaveness S, Montillo A, Makris N,

- Rosen B, Dale AM (2002) Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. *Neuron* 33:341–355.
- Funahashi S (2006) Prefrontal cortex and working memory processes. *Neuroscience* 139:251–261.
- Fuster JM (2000) Executive frontal functions. *Exp Brain Res* 133:66–70.
- Garcia-Valdecasas-Campelo E, Gonzalez-Reimers E, Santolaria-Fernandez F, De La Vega-Prieto MJ, Milena-Abril A, Sanchez-Perez MJ, Martinez-Riera A, Rodriguez-Rodriguez E (2007) Brain atrophy in alcoholics: relationship with alcohol intake; liver disease; nutritional status, and inflammation. *Alcohol Alcohol* 42:533–538.
- Geibprasert S, Gallucci M, Krings T (2010) Alcohol-induced changes in the brain as assessed by MRI and CT. *Eur Radiol* 20:1492–1501.
- Goldstein RZ, Volkow ND (2002) Drug addiction and its underlying neurobiological basis: neuroimaging evidence for the involvement of the frontal cortex. *Am J Psychiatry* 159:1642–1652.
- Goldstein RZ, Volkow ND (2011) Dysfunction of the prefrontal cortex in addiction: neuroimaging findings and clinical implications. *Nat Rev Neurosci* 12:652–669.
- Gurling HM, Reveley MA, Murray RM (1984) Increased cerebral ventricular volume in monozygotic twins discordant for alcoholism. *Lancet* 1:986–988.
- Kaller CP, Rahm B, Spreer J, Weiler C, Unterrainer JM (2011) Dissociable contributions of left and right dorsolateral prefrontal cortex in planning. *Cereb Cortex* 21:307–317.
- Kelly RM, Strick PL (2003) Cerebellar loops with motor cortex and prefrontal cortex of a nonhuman primate. *J Neurosci* 23:8432–8444.
- Kikinis Z, Fallon JH, Niznikiewicz M, Nestor P, Davidson C, Bobrow L, Pelavin PE, Fischl B, Yendiki A, McCarley RW, Kikinis R, Kubicki M, Shenton ME (2010) Gray matter volume reduction in rostral middle frontal gyrus in patients with chronic schizophrenia. *Schizophr Res* 123:153–159.
- Krienen FM, Buckner RL (2009) Segregated fronto-cerebellar circuits revealed by intrinsic functional connectivity. *Cereb Cortex* 19:2485–2497.
- Krill JJ, Harper CG (1989) Neuronal counts from four cortical regions of alcoholic brains. *Acta Neuropathol* 79:200–204.
- Moselhy HF, Georgiou G, Kahn A (2001) Frontal lobe changes in alcoholism: a review of the literature. *Alcohol Alcohol* 36:357–368.
- Pfefferbaum A, Rosenbloom M, Deshmukh A, Sullivan E (2001) Sex differences in the effects of alcohol on brain structure. *Am J Psychiatry* 158:188–197.
- Powell KB, Voeller KK (2004) Prefrontal executive function syndromes in children. *J Child Neurol* 19:785–797.
- Rosenbloom M, Sullivan EV, Pfefferbaum A (2003) Using magnetic resonance imaging and diffusion tensor imaging to assess brain damage in alcoholics. *Alcohol Res Health* 27:146–152.
- Smith EE, Jonides J (1999) Storage and executive processes in the frontal lobes. *Science* 283:1657–1661.
- Sullivan EV (2003) Compromised pontocerebellar and cerebellothalamicocortical systems: speculations on their contributions to cognitive and motor impairment in nonamnestic alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 27:1409–1419.
- Sullivan EV, Deshmukh A, Desmond JE, Lim KO, Pfefferbaum A (2000) Cerebellar volume decline in normal aging, alcoholism, and Korsakoff's syndrome: relation to ataxia. *Neuropsychology* 14:341–352.
- Sullivan EV, Pfefferbaum A (2005) Neurocircuitry in alcoholism: a substrate of disruption and repair. *Psychopharmacology* 180:583–594.
- Tamgaç F, Selçoki E, Alper E, Akbunar T, Konuk N (1995) Effect of chronic alcohol utilisation on regional cerebral blood flow: difference between right and left cerebral regions. *Turk J Nucl Med* 4:5.
- Tanabe J, Tregellas JR, Dalwani M, Thompson L, Owens E, Crowley T, Banich M (2009) Medial orbitofrontal cortex gray matter is reduced in abstinent substance-dependent individuals. *Biol Psychiatry* 65:160–164.
- Thomas PK (1986) Brain atrophy and alcoholism. *Br Med J (Clin Res Ed)* 292:787.
- Wobrock T, Falkai P, Schneider-Axmann T, Frommann N, Wolwer W, Gabel W (2009) Effects of abstinence on brain morphology in alcoholism: a MRI study. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 259:143–150.
- Zago-Gomes Mda P, Nakamura-Palacios EM (2009) Cognitive components of frontal lobe function in alcoholics classified according to Lesch's typology. *Alcohol Alcohol* 44:449–457.