

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria

Juliana Avila Duarte

**Mecanismos fisiopatológicos do transtorno do humor bipolar: Enfoque na
substância branca cerebral**

Porto Alegre, 2015

Juliana Avila Duarte

Mecanismos fisiopatológicos do transtorno do humor bipolar: Enfoque na substância branca cerebral

Tese que foi apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para obtenção do título de doutor em Psiquiatria em 02 de outubro de 2015.

Orientadora: Clarissa Severino Gama

Porto Alegre, 2015

CIP - Catalogação na Publicação

Avila Duarte, Juliana

Mecanismos fisiopatológicos do transtorno do humor bipolar: Enfoque na substância branca cerebral / Juliana Avila Duarte. -- 2015.

102 f.

Orientadora: Clarissa Severino Gama.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria, Porto Alegre, BR-RS, 2015.

1. Transtorno Bipolar. 2. Neuroimagem. 3. Tensor de difusão. 4. Anisotropia fracionada. 5. Biomarcadores. I. Severino Gama, Clarissa, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Clarissa Severino Gama, pelo aprendizado constante, estímulo, inspiração, exemplo, cuidado, carinho, confiança, e, acima de tudo, pela paciência e por ter sido uma pessoa tão acessível e ter me ajudado em todos os momentos desde o início desta longa caminhada do doutorado.

Obrigada pela atenção e dedicação!

A querida Silvia Bona que além de ter me dado todo apoio técnico na elaboração dos artigos e da tese, sempre foi uma amiga incansável e dedicada.

Ao Professor Álvaro Porto Alegre Furtado, pelos ensinamentos, pela confiança, e pelo exemplo de amor e de amizade que sempre me apoiou e me possibilitou realizar esta pesquisa.

Ao Professor Leonardo Vedolin pelo apoio constante, compreensão e amizade, e pelo exemplo como pessoa;

Aos Professores Flávio Kapczinski, Maurício Kunz e Márcia Kauer Santana pelos ensinamentos e exemplo à pesquisa!

Aos queridos Raffael Massuda, Pedro Goi e André Goldani pelo auxílio na elaboração da Tese;

Aos meus queridos colegas Washington Cunha, Ildo Betinelli e Carol Cunha que sempre compreenderam as minhas inúmeras ausências e sempre me estimularam a realização deste trabalho;

Aos queridos colegas do SENDS pela presença em momentos fundamentais, pela atenção e dedicação inigualável a este trabalho!

Aos residentes do HCPA e da Tomoclínica, em especial a Jaisa e Amália que me auxiliaram muito na realização da revisão sistemática.

A querida Sandra Polita que sem o seu trabalho e dedicação não seria possível a realização desta pesquisa.

Ao físico Maurício Anes pelo auxílio em diversos momentos deste trabalho.

Aos demais colegas do Laboratório de Psiquiatria Molecular do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pela amizade e trabalho em equipe!

Às instituições que possibilitaram este trabalho: UFRGS e HCPA

Aos meus pais, Wolmir e Moema, pelo amor, carinho, cuidado e por sempre terem me ensinado a valorizar e buscar o conhecimento!

Ao meu marido João Paulo Stein Ferreira e à minha filha Anita pela paciência e pelo amor, por terem “feito” o doutorado junto comigo.

A minha família e amigos que sempre acreditaram em minha capacidade, apoiaram minhas iniciativas e estimularam-me a progredir!

RESUMO

O transtorno bipolar (TB) é uma das doenças psiquiátricas mais comuns e com altas taxas de morbimortalidade. Existe uma busca de um modelo neurofisiológico que poderia fornecer medidas objetivas para o diagnóstico desta doença, bem como fornecer parâmetros fisiológicos para monitorar a progressão, quantificar o dano causado pela mesma e prever a resposta ao tratamento na tentativa de direcionar a terapêutica adequada a cada estágio e evitar sua progressão. Kapczinski et al (2014) propôs um modelo de estadiamento do TB baseado em sintomas interepisódio, biomarcadores (inflamatórios e neuroplásticos) e dano cognitivo. Na última década, técnicas de neuroimagem e de genética proliferaram e vem se tornando promissoras ferramentas para se estabelecer a base de modelos neurofisiológicos do TB. Embora o prejuízo cognitivo já esteja bem descrito na literatura, o conhecimento sobre as alterações de conectividade em estudos de neuroimagem associadas a esta condição ainda é escasso. A atual pesquisa se propôs a investigar os mecanismos fisiopatológicos do transtorno do humor bipolar com enfoque na substância branca (SB) cerebral. Primeiramente foi feita uma revisão sistemática da literatura internacional de estudos que correlacionaram o TB e estudo de tensor de difusão (DTI) por ressonância magnética (RM). Foram incluídos 18 trabalhos que fechavam com os critérios da pesquisa. Os trabalhos mostraram nas análises de DTI alterações na integridade da SB entre os pacientes com TB em comparação com os controles normais. Essas alterações foram encontradas especialmente nos tratos de SB implicados em conectar uma ampla gama de redes neurais, incluindo as regiões estriatais ventrais e fronto-temporais. A maioria dos estudos mostrou valores de anisotropia fracionada (FA) reduzidos em tratos comissurais inter-hemisféricos e de associação fronto-límbicos, com destaque para o corpo caloso que foi a estrutura mais acometida nos diferentes estudos. Estes achados são concordantes com a "síndrome de desconexão" que é encontrada em pacientes com TB. O segundo propósito desta tese foi fazer uma comparação dos volumes de substância branca total, do volume do corpo caloso e do volume total de substância cinzenta entre pacientes com TB em estágio inicial e avançado em relação aos seus respectivos controles normais pareados para sexo, idade, hemisfério dominante e nível de escolaridade. A análise

de volumetria das estruturas corticais e subcorticais foi feita por meio de método de segmentação automatizada pelo *software* Freesurfer. Foram avaliados 55 sujeitos, sendo 29 pacientes com TB e 26 controles normais. A análise volumétrica encontrou redução da SB total e do volume do corpo caloso tanto em pacientes com TB no estágio inicial quanto tardio da doença. O volume de substância cinzenta (SC) total estava reduzido somente nos pacientes com TB em estágio tardio. Estes achados são inéditos na literatura e podem explicar a síndrome desconectiva dos pacientes com TB desde os estágios iniciais e o declínio cognitivo acentuado dos pacientes em estágios mais avançados da doença. Podem propor uma pista para achados de biomarcadores em populações em risco para desenvolver TB.

Palavras chave: Transtorno bipolar; DTI; Volumetria; Substância branca; neuroprogressão

ABSTRACT

Bipolar disorder (BD) is one of the most common psychiatric disorders and with high morbidity and mortality rates. There is a search for a neurophysiological model that could provide objective measurements for diagnosis of this disease, as well as providing physiological parameters to monitor the progression, quantify the damage caused by it and predict response to treatment in an attempt to direct the appropriate therapy for each stage and prevent its progression. Kapczinski et al. (2014) proposed a staging BD model based on interepisode symptoms, biomarkers (inflammatory and neuroplastic) and cognitive impairment. In the last decade, techniques of neuroimaging and genetic proliferated and are becoming promising tools to settle the basis of neurophysiological models of BD. Although cognitive impairment is already well described in the literature, knowledge of the connectivity changes in neuroimaging studies associated with this condition is still scarce. Current research is proposed to investigate the pathophysiological mechanisms of bipolar disorder focusing on white matter (WM) brain. It was first made a systematic review of the literature studies that correlated the BD and diffusion tensor imaging (DTI). We found 18 published DTI studies that identified WM changes in subjects with bipolar disorder. The studies showed changes in the integrity of DTI WM between BD patients compared with normal controls. These changes were found especially in the treatment of WM connecting implicated in a wide range of neural networks, including ventral striatal regions and frontotemporal. Most studies showed reduced FA values in commissural inter-hemispheric and fronto-limbic association tracts, especially the corpus callosum which was the most affected structure in different studies. These findings are consistent with the "disconnection syndrome" which is found in patients with TB. The second purpose of this thesis was to compare the total white matter volume, the corpus callosum volume and total volume of gray matter in patients with BD in early and advanced stage in relation to their normal controls matched for sex, age, dominant hemisphere and education level. The volumetric analysis of cortical and subcortical structures was performed by automated segmentation method by FreeSurfer software. We evaluated 55 subjects, 29 BD patients and 26 normal controls. Volumetric analysis found reduced total WM and the corpus callosum volume both in BD patients at the early stage and late disease. The volume of total

gray matter (GM) was reduced only in patients with late-stage BD. These findings are unprecedented in the literature and may explain the disconnection syndrome that is present in patients from the early stages and the marked cognitive decline of patients in more advanced stages of the disease. These findings may offer a clue to biomarker findings in populations at risk to develop BD.

Key words: Bipolar disorder; DTI; Volumetry; White matter; neuroprogression

LISTA DE FIGURAS

Lista de Figuras da Tese

Figura 1 - Linha do tempo da evolução dos métodos de neuroimagem e os achados em pacientes com transtorno do humor bipolar (TB)	15
Figura 2 - Circuito de recompensa (“Reward System”).....	16
Figura 3 – Sistema Límbico e Circuito de Papez.....	22
Figura 4 - Anatomia do hipocampo.	24
Figura 5 - Corte frontal do cérebro.	26
Figura 6 - Esquema das conexões eferentes do sistema límbico com a formação reticular do mesencéfalo.	29
Figura 7 – Reconstrução gráfica tridimensional dos principais tratos de substância branca por técnica de DTI	35
Figura 8 – Próton de hidrogênio.....	37
Figura 9 - Técnica de transferência de magnetização.....	39
Figura 10 – Esfera da difusão isotrópica e da elipse da difusão anisotrópica.	40
Figura 11 - Mapa de Tensores.	40
Figura 12 - Representação do elipsóide, visualização dos dados e mapa de cores de DTI.	41
Figura 13 - Representação em 3 D dos tratos de substância branca usando a técnica DTI.	42
Figura 14 - Resumo dos processos de morfometria voxel-a-voxel.....	44
Figura 15 - Sistema de coordenadas de Talairach.....	45

Lista de Figuras do Artigo 1

Figure (artigo I) 1. Diffusion measurements along multiple axes; the shape and the orientation of a diffusion ellipsoid is estimated.76

Figure (artigo I) 2. Flowchart of identification and selection of studies for systematic review of DTI and BD.77

Figure (artigo I) 3. White matter tract reconstruction based on diffusion tensor imaging and the respective authors regarding decreased FA results.78

Lista de Figuras do Artigo 2

Figure (artigo II) 1. Total corpus callosum, white matter volume and gray matter volume.94

LISTA DE TABELAS

Lista de Tabelas da Tese

Tabela 1 - “Estadiamento clínico no Transtorno Bipolar”	19
---	----

Lista de Tabelas do artigo 1

Table (artigo I) 1 - Diffusion Tensor Imaging Studies in Bipolar Disorder	70
Table (artigo I) 2 - White matter tracts with decreased FA values from DTI studies..	75

Lista de Tabelas do Artigo 2

Table (artigo II) 1. Characteristics of healthy controls and patients with bipolar disorder (BD)	92
Table (artigo II) 2. Characteristics of patients with bipolar disorder (BD)	93

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Lista de abreviaturas da tese em português

AD: difusividade axial
CC: corpo caloso
CS: controles saudáveis
DTI: técnica de tensor de difusão
FA: anisotropia fracionada
FOFs: fascículo fronto-occipital
FRM: ressonância magnética funcional
GFA: anisotropia fracionada generalizada
ILF: fascículo longitudinal inferior
MD: difusividade média
mPFC: córtex pré-frontal medial
OFC: córtex orbito-frontal
PTO: probabilidade de retorno à origem
RD: difusividade radial
RM: ressonância magnética
ROI: região de interesse
SB: substância branca
SC: substância cinzenta
SL: sistema límbico
SLF: fascículo longitudinal superiores
SPM: mapeamento estatístico paramétrico
SSRI: inibidores seletivos de recaptção da serotonina
TB: transtorno bipolar
TBI: transtorno bipolar I
TBII: transtorno bipolar II
TBSS: estatística espacial baseada nos tratos
TC: tomografia computadorizada
VBM : volumetria voxel-a-voxel

vIPFC: córtex pré-frontal ventrolateral
WFU: School Wake Forest University of Medicine PickAtlas

Lista de abreviaturas da tese em inglês

AD: axial diffusivity
BD: bipolar disorder
BPI: bipolar I disorder
BPII: bipolar II disorder
CC: corpus callosum
CT: computed tomography
DTI: diffusion tensor imaging technique
FA: fractional anisotropy
FMRI: functional magnetic resonance imaging
FOFs: fronto-occipital fasciculi
GFA: generalized fractional anisotropy
HC: healthy comparison participants
ILF: inferior longitudinal fasciculi
MD: mean diffusivity
mPFC: medial prefrontal cortex
MRI: magnetic resonance imaging
OFC: orbito-frontal cortex
PTO: probability of return to the origin
RD: radial diffusivity
ROI: region of interest
SL: limbic system
SLF: superior longitudinal fasciculi

SPM: Statistical Parametric Mapping
SSRI: Selective serotonin re-uptake inhibitors
TBSS: tract-based spatial statistics
VBM: voxel-based morphometry
vIPFC: ventrolateral prefrontal cortex
WFU: Wake Forest University School of Medicine PickAtlas
WM: White matter

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 CONCEITOS DE ESTADIAMENTO NO TRANSTORNO BIPOLAR E NEUROIMAGEM.....	18
2.2 ANATOMIA DO SISTEMA LÍMBICO E DOS TRATOS DE SUBSTÂNCIA BRANCA	20
2.2.1 Sistema Límbico	20
2.2.1.1 Componentes do sistema límbico.....	23
2.2.1.2 Conexões do sistema límbico.....	26
2.2.1.3 Funções do sistema límbico	29
2.2.1.4 Participação dos Mecanismos da Memória	32
2.3 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA ESTRUTURAL PRINCÍPIOS BÁSICOS	35
2.3.1 Análise morfométrica voxel-a-voxel de estudos de ressonância	42
2.3.2 Imagem por tensor de difusão	45
3 JUSTIFICATIVA	47
4 OBJETIVOS	49
4.1 OBJETIVO PRINCIPAL	49
4.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS.....	49
5 METODOLOGIA.....	50
5.1 ASPECTOS ÉTICOS.....	52
6 ARTIGOS	53
6.1 ARTIGO 1	53
Neurobiological underpinnings of bipolar disorder focusing on findings of diffusion tensor imaging, a systematic review.....	53
6.2 ARTIGO 2	79
White matter and corpus callosum volumes are decreased in patients with bipolar disorder at early and late stages.....	79
CONSIDERAÇÕES FINAIS	95
REFERÊNCIAS.....	97

1 INTRODUÇÃO

O transtorno Bipolar (TB) é uma condição associada à cronicidade e à recorrência, podendo evoluir com prejuízo cognitivo e desfechos piores do que se acreditava anteriormente. A Organização Mundial de Saúde afirma que essa doença está entre as 6 maiores causas de “Anos de Vida Saudáveis Perdidos”. Entretanto, a alta morbi-mortalidade do TB pode ser modulada de acordo com a instituição de tratamento precoce e regular (1). Modelos de estadiamento em medicina tem sido úteis nesse sentido na medida em que são propostos na tentativa de classificar e quantificar a extensão e dano causados pelas doenças, bem como direcionar a terapêutica adequada a cada estágio e evitar sua progressão.

Apesar dos esforços para pesquisar a etiologia e a fisiopatologia dos transtornos psiquiátricos e neurológicos já existirem há muitos séculos, isso só foi possível recentemente com o surgimento de técnicas de imagem seguras (Figura 1). Foi na década de 80 por meio da tomografia computadorizada (TC) que surgiram os estudos de neuroimagem em pacientes com TB (2). Estes estudos focaram-se nos volumes ventriculares e no volume cerebral total (3-5).

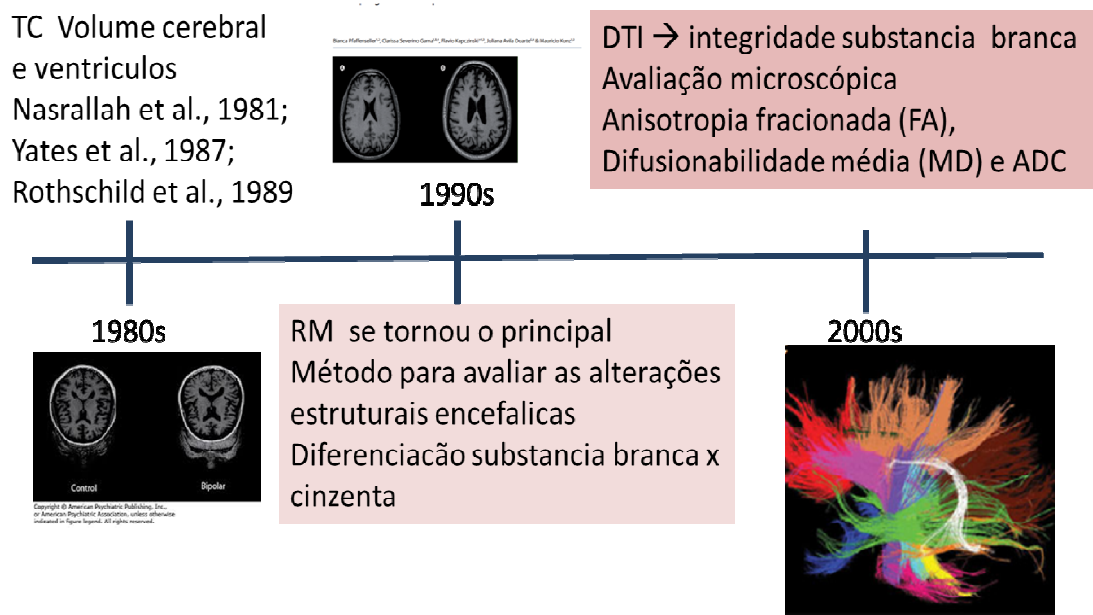


Figura 1 - Linha do tempo da evolução dos métodos de neuroimagem e os achados em pacientes com transtorno do humor bipolar (TB)

Fonte: “*Timeline*” apresentada na apresentação do EGQ para o doutorado de Juliana Avila Duarte.

A ressonância magnética (RM) a partir da década de 90 se tornou a principal ferramenta para avaliação do encéfalo devido a sua excelente resolução de contraste e acurácia, principalmente por sua capacidade em distinguir a substância branca da cinzenta bem como a avaliação das estruturas da fossa posterior (2).

O uso de técnicas de neuroimagem cada vez mais sofisticadas permite a investigação de anormalidades neuroanatômicas estruturais e funcionais em associação com estes transtornos, especialmente utilizando-se estudos de volumetria (6). Recentemente, muitos estudos estruturais em pacientes com BD tem utilizado técnicas de análise volumétricas voxel-a-voxel (voxel-based morphometry – VBM - (7).

Todavia, embora o prejuízo cognitivo já esteja bem descrito na literatura, o conhecimento sobre as alterações de conexão em estudos de neuroimagem associadas a esta condição ainda é incipiente.

Modelos neurais recentes de TB supõem que esta doença afeta as vias de processamento / regulação da emoção, bem como o circuito de recompensa (2, 8) (Figura 2A e B). Regiões consistentemente afectadas pela doença são o córtex pré-frontal ventrolateral (vlPFC), o sistema límbico (SL), particularmente a amígdala, o córtex orbito-frontal (OFC), e o córtex pré-frontal medial (mPFC), mostrando um desequilíbrio na conectividade entre as áreas de controle cognitivo no córtex pré-frontal e emocional ou áreas de processamento do circuito de recompensa (9).

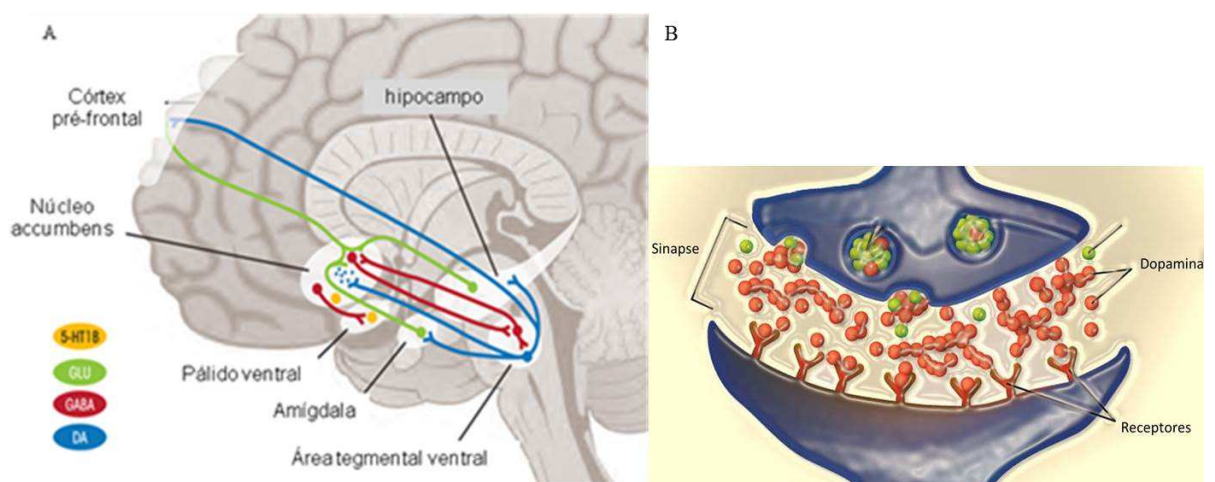


Figura 2 - Circuito de recompensa (“Reward System”).

Fonte: Modificada do site (10).

As alterações da substância branca podem ser detectadas pela técnica de tensor de difusão (DTI), que é uma técnica de ressonância magnética não invasiva que permite medir o movimento randômico das moléculas da água numa escala microscópica. A informação da difusão da substância branca pode ser avaliada por medidas derivadas da DTI, como anisotropia fracionada (FA) e o coeficiente de difusão aparente (ADC). Na atualidade, existem vários trabalhos que utilizaram o DTI para investigar a microestrutura da substância branca no transtorno bipolar (11-23).

Alterações nas estruturas cerebrais têm sido amplamente relatados no TB; incluindo o alargamento do terceiro e ventrículos laterais, redução dos volumes de substância cinzenta do córtex pré-frontal medial e orbital, estriado ventral e córtex mesotemporal (24-26). Anormalidades na substância branca (SB) por imagem volumétrica estrutural forneceu evidência de anomalias sutis em pacientes com BD em comparação com voluntários saudáveis (27).

O TB apresenta uma evolução clínica e um deterioro cognitivo progressivos de acordo com número de crises e duração da doença. Apesar de haver muitos estudos genéticos e de neuroimagem que demonstraram alterações genéticas e neuroanatômicas, a exata fisiopatologia deste processo ainda necessita de investigação. O presente estudo tem enfoque na avaliação das alterações encefálicas, especialmente da microestrutura da substância branca, em especial a técnica DTI, que tem se mostrado ser uma poderosa ferramenta na avaliação destes pacientes.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CONCEITOS DE ESTADIAMENTO NO TRANSTORNO BIPOLAR E NEUROIMAGEM

Atualmente sabe-se que a evolução do TB não é tão simples e indolente quanto parece, com melhora sintomática muitas vezes apenas parcial e prejuízo cognitivo persistente (28, 29). Diversos estudos tem demonstrado que o tempo de eutímia diminui ao longo do tempo enquanto o risco de recorrência de sintomas aumenta a cada novo episódio (30).

O TB é uma das doenças psiquiátricas mais comuns e afeta cerca de 3% da população mundial, sendo a 6ª causa de incapacidade e é responsável por uma alta taxa de morbimortalidade, sendo o custo estimado é em torno de 50 bilhões de dólares por ano nos EUA (2). O sofrimento social e pessoal das pessoas que apresentam esta doença é imensurável e apesar da significância desta doença em termos de saúde pública, o TB ainda apresenta muitas dificuldades em se estabelecer o diagnóstico e manejo.

Um dos grandes fatores que contribui para essas dificuldades é a falta de um modelo neurofisiológico. Esse modelo poderia fornecer medidas objetivas para o diagnóstico desta doença, bem como fornecer parâmetros fisiológicos para monitorar e prever a resposta ao tratamento.

Modelos de estadiamento em medicina tem sido úteis nesse sentido na medida em que são propostos na tentativa de classificar e quantificar a extensão e dano causados pelas doenças, bem como direcionar a terapêutica adequada a cada estágio e evitar sua progressão (31), propôs um modelo de estadiamento da Doença Bipolar baseado em sintomas interepisdio, biomarcadores (inflamatórios e neuroplásticos) e dano cognitivo.

Esse modelo tem sido amplamente estudado e utilizado devido à grande aplicabilidade clínica e potencial predição de tratamento (32). Tal modelo divide-se em: Estágio Latente (alto risco para desenvolver TB), Estágio I (ausência de prejuízo relevante no período interepisdio), Estágio II (alterações clínicas e de biomarcadores no período interepisdio), Estágio III (prejuízo importante clínico e de biomarcadores no período interepisdio) e Estágio IV (prejuízo importante clínico e

de biomarcadores no período interepisódio – nesse estágio, o paciente necessita de cuidador e perde a capacidade de autonomia e autocuidado) (32) (Tabela 1).

Tabela 1 - “Estadiamento clínico no Transtorno Bipolar”

Table 1. Clinical staging in bipolar disorder.					
Stage	Clinical features	Biomarkers	Cognition	Maintenance treatment	Prognosis
Latent	At risk for developing BD, positive family history, mood or anxiety symptoms without criteria for threshold BD	Polymorphisms that confer susceptibility to BD	No impairment	↓ Exposure to pathogens	Good prognosis when protected from pathogens
I	Well-defined periods of euthymia without overt psychiatric symptoms	↑ TNF- α ↑ 3-nytrotyrosine	No impairment	Mood stabilizer monotherapy; psychoeducation	Good prognosis with careful prophylaxis
II	Symptoms in interepisodic periods related to comorbidities	↑ TNF- α ↓ BDNF ↑ 3-nytrotyrosine	Transient impairment	Combined treatment (pharmacotherapy + psychotherapy; focus on the treatment of comorbidities)	Prognosis depends on how well comorbidities can be managed. Worse than stage I
III	Marked impairment in cognition and functioning	Morphometric changes in brain may be present ↑ TNF- α ↓ BDNF ↑ 3-nytrotyrosine	Severe cognitive impairment associated with functioning impairment (unable to work or very impaired performance)	Complex regimens usually required; consider innovative strategies	Reserved prognosis; rescue therapy required
IV	Unable to live autonomously owing to cognitive and functional impairment	Ventricular enlargement and/or white matter hyperintensities ↑ TNF- α ↓ BDNF ↑ Glutathione reductase and transferase ↑ 3-nytrotyrosine	Cognitive impairment prevents patients from living independently	Palliative; daycare center	Poor prognosis

BD: Bipolar disorder; BDNF: Brain-derived neurotrophic factor.

Fonte: (32).

Na última década, técnicas de neuroimagem e de genética proliferaram e vem se tornando promissoras ferramentas para se estabelecer a base de modelos neurofisiológicos do TB e esquizofrenia.

Gama *et al.*, (2013) (33) demonstraram que pacientes bipolares em estágios avançados da doença apresentam maior volume ventricular e alargamento de sulcos, quando comparados a pacientes bipolares de mesma idade mas em estágios mais iniciais da doença.

Para que seja possível fazer a quantificação de volumes de diferentes regiões cerebrais em estudos de RM, são necessárias técnicas de processamento de imagem. Os métodos de processamento mais usados são a volumetria manual e o processamento automático voxel-a-voxel.

Na volumetria manual é realizada uma delimitação de regiões de interesse (regions of interest - ROIs); já os métodos de processamento automático voxel-a-voxel realizam uma série de transformações nas imagens para que as mesmas sejam analisadas estatisticamente.

Os diversos estudos tem evidenciado que as alterações microestruturais na substância branca das vias neurais do sistema límbico podem ser possíveis marcadores do TB. O fórnix, o corpo caloso, o giro do cíngulo estão entre os principais tratos envolvidos nestes circuitos neurais (17).

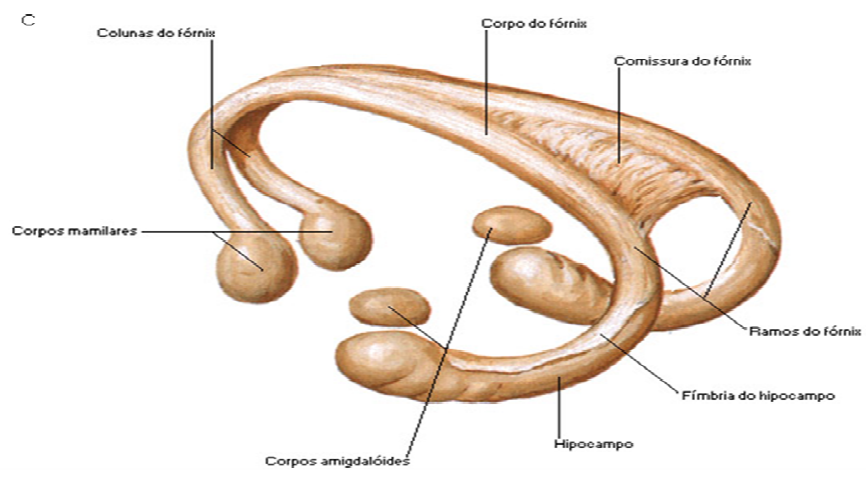
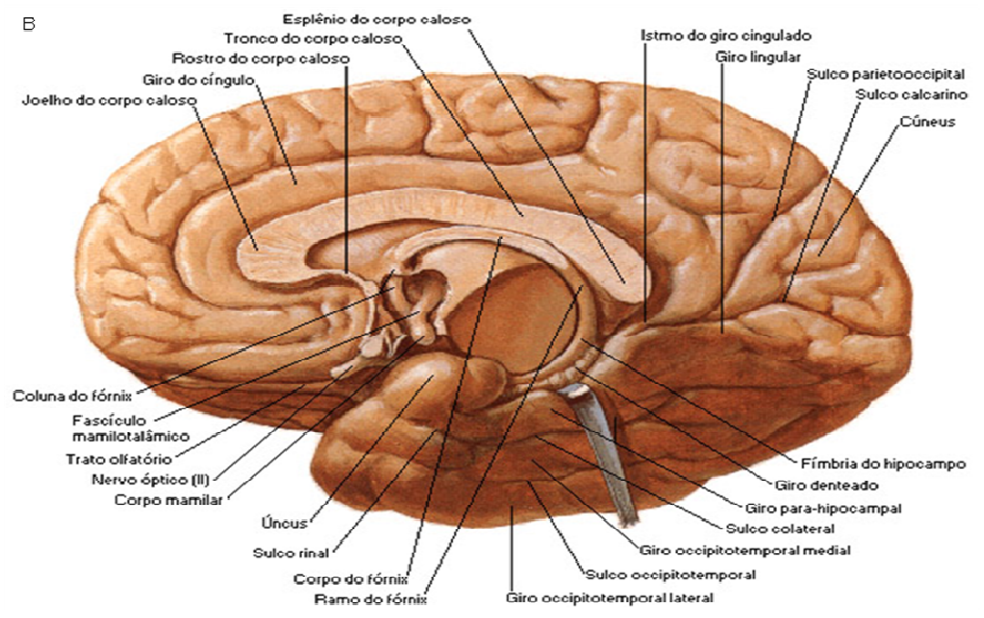
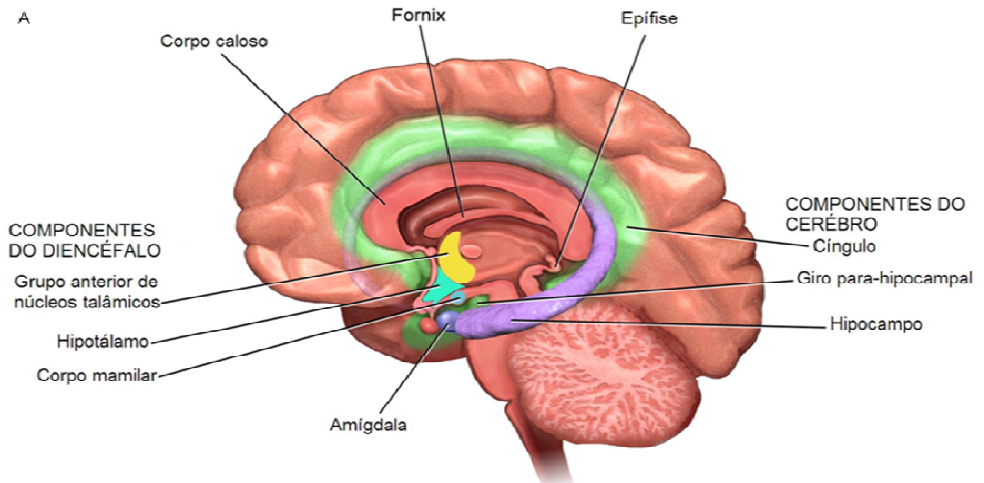
Essas novas técnicas mantêm viva a expectativa de que a neuroimagem possa ter utilidade também na prática clínica psiquiátrica, para auxiliar no diagnóstico e no seguimento de um paciente, assim como na avaliação de prognóstico.

2.2 ANATOMIA DO SISTEMA LÍMBICO E DOS TRATOS DE SUBSTÂNCIA BRANCA

2.2.1 Sistema Límbico

Na face medial de cada hemisfério cerebral observa-se um anel cortical contínuo constituído pelo giro do cíngulo, giro para-hipocampal e hipocampo (Figura 3A-C, 3-E e Figura 4). Este anel cortical contorna as formações inter-hemisféricas e foi considerado por Broca como um lobo independente, o *grande lobo límbico* (de limbo, contorno). Este lobo é filogeneticamente muito antigo, existindo em todos os vertebrados.

Do ponto de vista funcional admitiu-se durante muito tempo que o lobo límbico teria funções olfatórias, fazendo parte do chamado *rinencéfalo*, ou encéfalo olfatório. Em 1937, o neuroanatomista James Papez publicou um trabalho famoso (34), no qual propunha uma nova teoria para explicar o mecanismo da emoção. Este mecanismo envolveria as estruturas do lobo límbico, do hipotálamo e do tálamo, todas unidas por um circuito hoje conhecido como circuito de Papez (Figura 3C, D, E).



Corpos mamilares

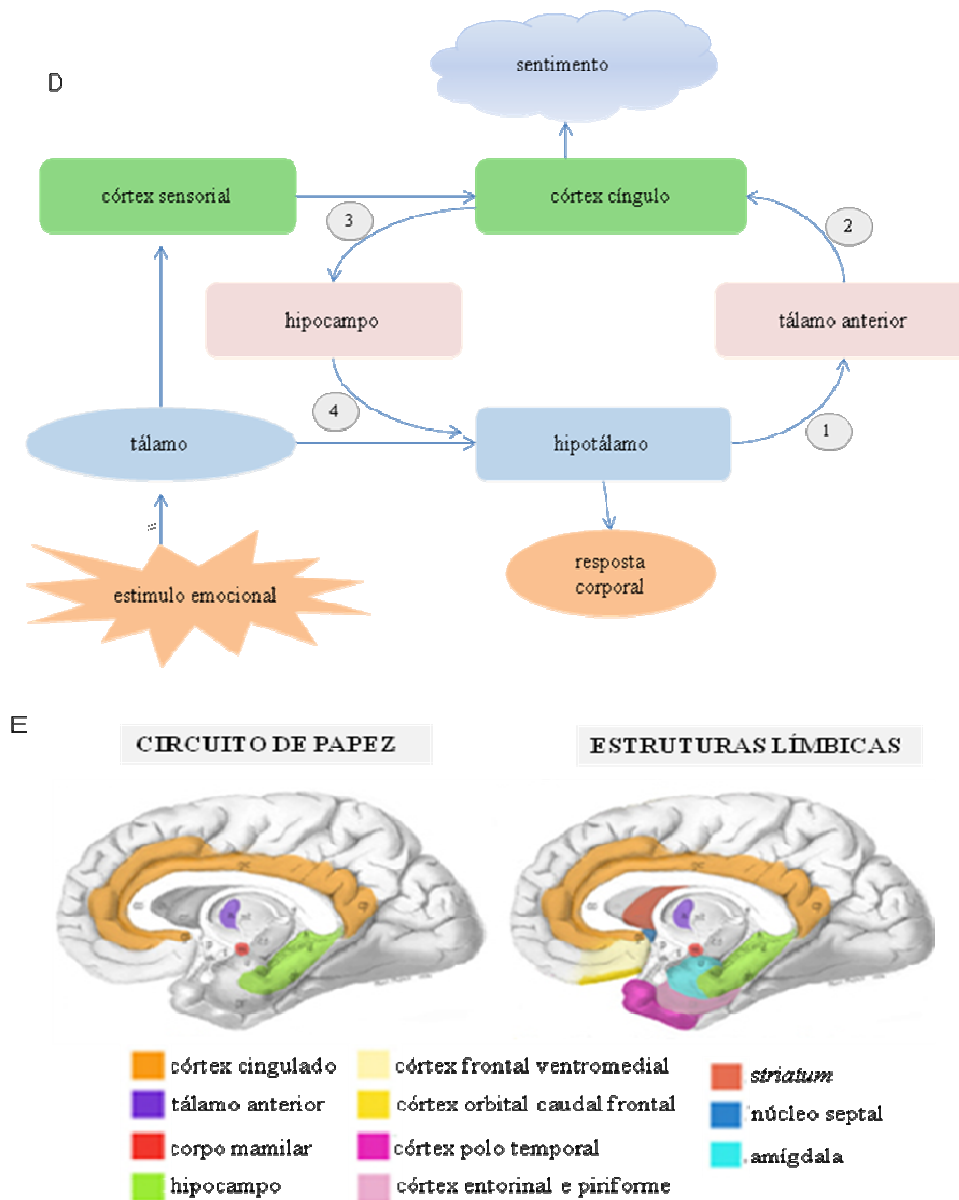


Figura 3 – Sistema Límbico e Circuito de Papez.

Fonte: A) modificada do site (35); B) (36); C) (36); D) modificada de Dalgleish (37) e E) modificada de Barger et al. (38).

Estas estruturas compreenderiam um mecanismo harmonioso, que não só elaboraria o processo subjetivo central da emoção, mas também participaria de sua expressão. O trabalho de Papez foi fundamentalmente teórico e especulativo, embora ele chamasse a atenção para certos dados clínicos, como as dramáticas alterações do comportamento emocional causadas pela raiva (hidrofobia), cujo vírus lesa preferencialmente o hipocampo. Embora muitos aspectos da teoria da emoção de Papez não sejam mais aceitos, o ponto fundamental, isto é, a importância das

estruturas do lobo límbico e de suas conexões nas manifestações emocionais está, hoje, amplamente confirmado. Verificou-se também que estas estruturas não participam da apreciação consciente dos odores, sendo, pois, incorreto incluí-las no rinencéfalo, ou seja, no encéfalo olfatório. Este termo é hoje usado em um conceito muito mais restrito para indicar apenas estruturas relacionadas diretamente com a olfação, ou seja, o nervo, bulbo e tracto olfatórios, a estria olfatória lateral e o úncus. As demais formações anatômicas que tradicionalmente integravam o rinencéfalo são hoje estudadas como parte do chamado sistema límbico. Este pode, pois, ser conceituado como um sistema relacionado fundamentalmente com a regulação dos processos emocionais e do sistema nervoso autônomo constituído pelo lobo límbico e pelas estruturas subcorticais a ele relacionadas.

2.2.1.1 Componentes do sistema límbico

Não há completo acordo entre os autores quanto às estruturas que deveriam fazer parte do sistema límbico. Assim, enquanto alguns autores consideram como integrando este sistema uma parte da formação reticular e todo o hipotálamo, outros seguem o ponto de vista inicial de MacLean e colocam nele apenas parte do hipotálamo (acreditamos que se todo o hipotálamo for considerado parte do sistema límbico, uma certa unidade funcional que ainda existe nesse sistema ficará perdida pelo acréscimo de novas funções, como regulação da temperatura, secreção de hormônios, regulação do sono e dos ritmos circadianos).

A seguir, apresentamos uma relação de estruturas cuja inclusão no sistema límbico é admitida pela maioria dos autores, agrupando-as em duas categorias: componentes corticais, constituídos de áreas de associação terciárias, e componentes subcorticais.

Componentes Corticais

- a) *giro do cíngulo* - contorna o corpo caloso, ligando-se ao giro para-hipocampal pelo istmo do giro do cíngulo (Figura 3A, B, E). É constituído de um tipo de córtex intermediário entre o isocórtex e o allocórtex que alguns autores chamam de mesocórtex. É percorrido por um feixe de fibras, o fascículo do cíngulo;

- b) *giro para-hipocampal* - situa-se na face inferior do lobo temporal (Figura 4) e, em grande parte, é constituído de um córtex muito antigo, paleocórtex, que do ponto de vista citoarquitetural se classifica como allocórtex;
- c) *hipocampo* (o termo hipocampo é empregado no seu sentido mais amplo e inclui o hipocampo propriamente dito, ou corno de Ammon, o giro denteado e o subiculum.

Estas três estruturas, em conjunto, são frequentemente denominadas formação do hipocampo) - eminência alongada e curva que no homem situa-se no assoalho do corno inferior dos ventrículos laterais acima do giro para-hipocampal (Figura 4). O hipocampo é constituído de um córtex muito antigo, arquicórtex, do tipo allocórtex. Proteja-se para o corpo mamilar e área septal através de um feixe compacto de fibras, o fórnix (Figura 3C).

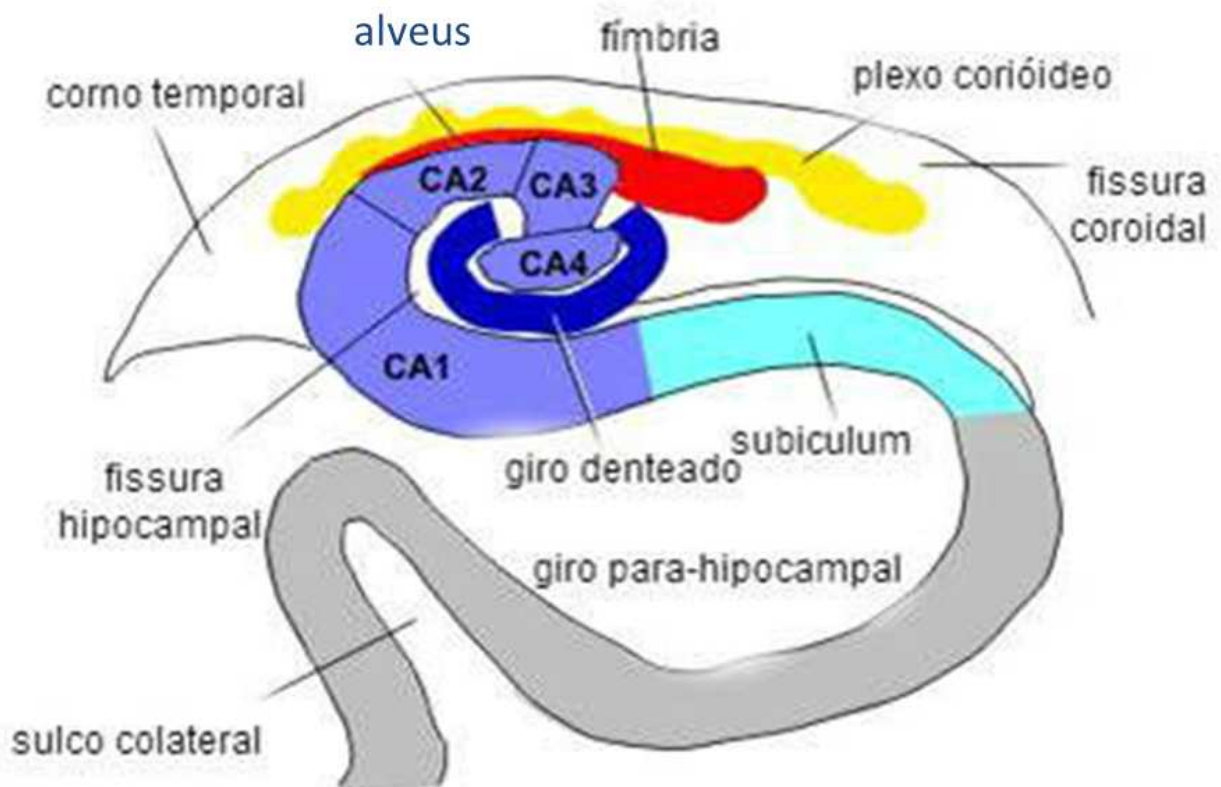


Figura 4 - Anatomia do hipocampo.
Fonte: modificada de Hesselink (39).

Fornix

O fornix é a principal via eferente do hipocampo e conecta várias regiões do sistema límbico, incluindo o núcleo septal, o núcleo accumbens, tálamo e córtex do cíngulo. Todas estas estruturas foram comprometidas em diferentes graus em estudos estruturais e funcionais em pacientes BP (40).

Corpo caloso

O corpo caloso anterior tem sido relacionado ao transtorno bipolar desde 1903, quando descreveu que os sintomas detectados em pacientes com lesões no corpo caloso anterior eram similares aos sintomas dos pacientes com transtorno bipolar.

Componentes Subcorticais

- a) *corpo amigdalóide* - também chamado núcleo amigdalóide, é um dos núcleos da base. Situa-se no lobo temporal, próximo ao úncus (Figura 3 A,B, E) e em relação com a cauda do núcleo caudado. É constituído de numerosos subnúcleos e suas conexões são extremamente amplas e complexas. A maioria de suas fibras eferentes agrupa-se em um feixe compacto, a estria terminal (uma parte das fibras eferentes do corpo amigdalóide constitui a via amigdalófuga ventral, que termina no núcleo dosomedial do tálamo e no hipotálamo), que acompanha a curvatura do núcleo caudado e termina principalmente no hipotálamo;
- b) *área septal* - situada abaixo do rostro do corpo caloso, anteriormente à lâmina terminal e à comissura anterior, a área septal compreende grupos de neurônios de disposição subcortical conhecidos como *núcleos septais*. Alguns destes neurônios se estendem até a base do septo pelúcido. A área septal tem conexões extremamente amplas e complexas, destacando-se suas projeções para o hipotálamo e para a formação reticular, através do feixe prosencefálico medial;
- c) *núcleos mamilares* - pertencem ao hipotálamo e situam-se nos corpos mamilares. Recebem fibras do hipocampo que chegam pelo fórnix e se projetam principalmente para os núcleos anteriores do tálamo e para a formação reticular, respectivamente pelos fascículos mamilo-talâmico e mamilo-tegmentar;

- d) *núcleos anteriores do tálamo* - situam-se no tubérculo anterior do tálamo. Recebem fibras dos núcleos mamilares e projetam-se para o giro do cíngulo;
- e) *núcleos habenulares* - situam-se na região do triângulo das habenulas no epitálamo. Recebem fibras aferentes da estria medular e projetam-se para o núcleo interpeduncular do mesencéfalo.

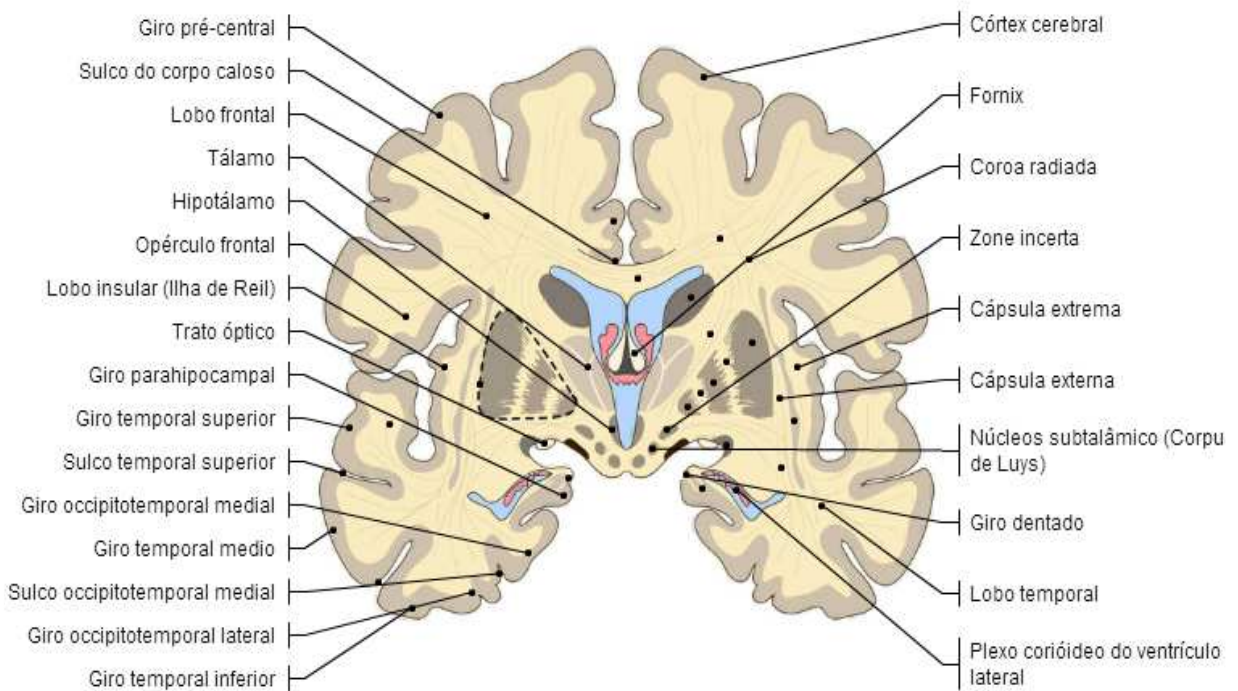


Figura 5 - Corte frontal do cérebro.

Fonte: (41).

2.2.1.2 Conexões do sistema límbico

Conexões Intrínseca

Os diversos componentes do sistema límbico mantêm entre si numerosas e complexas intercomunicações. Dentre elas, a mais conhecida é o *circuito de Papez*, circuito fechado que une as seguintes estruturas límbicas, enumeradas na seqüência que representa a direção predominante dos impulsos nervosos (Figura 3D): hipocampo, fórnix, corpo mamilar, fascículo mamilo-talâmico, núcleos anteriores do tálamo, cápsula interna, giro do cíngulo, giro para-hipocampal e novamente o hipocampo, fechando o circuito. A importância desse circuito no mecanismo das

emoções foi apontada inicialmente por Papez e há evidência de que ele está envolvido também no mecanismo da memória.

O corpo amigdalóide e a área septal, que mantêm entre si conexões recíprocas, embora não façam parte do circuito de Papez, ligam-se a este circuito em vários pontos.

Conexões Extrínsecas

As estruturas do sistema límbico têm amplas conexões com setores muito diversos do sistema nervoso central, destacando-se, por sua importância, as conexões recíprocas que mantêm com o hipotálamo.

Conexões Aferentes

É do senso comum que as pessoas podem se emocionar pela simples recordação de episódios passados armazenados na memória. Mais frequentemente, entretanto, as emoções são desencadeadas pela entrada no sistema nervoso central de determinadas informações sensoriais. Assim, por exemplo, informações visuais, auditivas, somestésicas ou olfatórias que sinalizem perigo podem despertar medo. Há evidência de que todas essas modalidades de informações sensoriais têm acesso ao sistema límbico, embora nunca diretamente. Elas são antes processadas nas áreas corticais de associação secundárias e terciárias e penetram no sistema límbico por vias que chegam ao giro para-hipocampal (área entorrinal) de onde passam ao hipocampo, ganhando assim o circuito de Papez. Fazem exceção os impulsos olfatórios, que passam diretamente da área cortical de projeção para o giro para-hipocampal e o corpo amigdalóide. Também as informações relacionadas com a sensibilidade visceral têm acesso ao sistema límbico, seja diretamente, através das conexões do núcleo do tracto solitário com o corpo amigdalóide, seja indiretamente, via hipotálamo. Ainda a propósito das conexões aferentes do sistema límbico, cabe lembrar as numerosas projeções serotoninérgicas e dopaminérgicas que ele recebe da formação reticular e que, segundo parece, exercem ação moduladora sobre a atividade de seus neurônios.

Conexões Eferentes

As conexões eferentes do sistema límbico são importantes porque, através delas, este sistema participa dos mecanismos efetutores que desencadeiam o

componente periférico e expressivo dos processos emocionais e, ao mesmo tempo, controlam a atividade do sistema nervoso autônomo. Essas funções são exercidas fundamentalmente através das conexões que o sistema límbico mantém com o hipotálamo e com a formação reticular do mesencéfalo. As primeiras, já estudadas a propósito do hipotálamo, são especialmente relevantes. Aliás, já foi dito que o hipotálamo é o principal "braço executivo" do sistema límbico. As conexões com a formação reticular do mesencéfalo se fazem basicamente através de três sistemas de fibras (Figura 6):

- a) *feixe prosencefálico medial* - situado entre a área septal e o tegmento do mesencéfalo, este feixe contém fibras que percorrem nos dois sentidos o hipotálamo lateral, onde muitas delas terminam. Ele constitui a principal via de ligação do sistema límbico com a formação reticular;
- b) *fascículo mamilo-tegmentar* - feixe de fibras que dos núcleos mamilares se projeta para a formação reticular do mesencéfalo;
- c) *estria medular* - feixe de fibras que se origina principalmente na área septal e termina nos núcleos habenuares do epitélamo. Estes, por sua vez, ligam-se ao núcleo interpeduncular do mesencéfalo, que se projeta para a formação reticular.

Como o hipotálamo e a formação reticular; têm conexões diretas com os neurônios pré-ganglionares do sistema autônomo, as vias acima descritas permitem ao sistema límbico participar do controle do sistema autônomo, o que é especialmente importante na expressão das emoções.

autônomo e os processos motivacionais essenciais à sobrevivência da espécie e do indivíduo, como fome, sede e sexo. Sabe-se também que alguns componentes do sistema límbico estão ligados diretamente ao mecanismo da memória e aprendizagem e participam da regulação do sistema endócrino. Algumas dessas funções serão estudadas com mais detalhes a seguir.

Regulação dos Processos Emocionais e Motivacionais

No mesmo ano em que Papez publicou seu famoso trabalho relacionando as estruturas límbicas com as emoções, dois cientistas, *Klüver* e *Bucy*, publicaram um trabalho experimental que veio confirmar as idéias de Papez. Estes autores fizeram uma ablação bilateral da parte anterior dos lobos temporais em macacos *Rhesus*, lesando algumas estruturas importantes do sistema límbico, como o hipocampo, o giro para-hipocampal e o corpo amigdalóide. Esta cirurgia resultou na maior modificação do comportamento de um animal até hoje obtida após um procedimento experimental. Estas alterações de comportamento são conhecidas como síndrome de *Klüver e Bucy* e consistem no seguinte:

- a) domesticação completa dos animais que usualmente são selvagens e agressivos;
- b) perversão do apetite, em virtude da qual os animais passam a alimentar-se de coisas que antes não comiam;
- c) agnosia visual manifestada pela incapacidade de reconhecer objetos ou mesmo animais que antes causavam medo, tais como cobras e escorpiões;
- d) tendência oral manifestada pelo ato de levar à boca todos os objetos que encontra (inclusive os escorpiões);
- d) tendência hipersexual, que leva os animais a tentarem continuamente o ato sexual (mesmo com indivíduos do próprio sexo ou de outra espécie) ou a se masturbarem continuamente.

Convém assinalar que quadros semelhantes a este já foram observados no homem, em consequência da ablação bilateral do lobo temporal para tratamento de formas agressivas de epilepsia.

Admite-se que a agnosia visual que ocorre na síndrome de *Klüver e Bucy* resulta de lesão das áreas visuais de associação localizadas no córtex do lobo temporal. Todos os demais sintomas que ocorrem nessa síndrome são

consequência de lesões em estruturas do sistema límbico, em especial do corpo amigdalóide.

Estes resultados despertaram grande interesse e levaram muitos cientistas a pesquisar a participação dos componentes do sistema límbico nos fenômenos emocionais. Algumas das evidências encontradas sobre esta participação serão analisadas a seguir.

Corpo Amigdalóide

As funções do corpo amigdalóide ou amígdala são muito variadas, refletindo também sua complexidade estrutural. Lesões ou estimulações desta área em animais resultam em alterações do comportamento alimentar (afagias e hiperfagias) ou da atividade das vísceras, bastante semelhantes às que se obtêm com procedimentos idênticos feitos no hipotálamo. O registro da atividade elétrica dos neurônios do corpo amigdalóide, tanto no homem como nos animais, evidencia uma ativação em situações com significado emocional, como encontros agressivos ou de natureza sexual. Embora alguns resultados sejam conflitantes, a maioria das experiências relata que em animais as lesões da amígdala resultam em uma domesticação do animal com um quadro hipersexual semelhante ao observado na síndrome de *Klüver e Bucy*. Também no homem lesões bilaterais do corpo amigdalóide resultam em considerável diminuição da excitabilidade emocional de indivíduos portadores de distúrbios de comportamento, manifestados pela agressividade. Por outro lado, a estimulação do corpo amigdalóide em animais desencadeia comportamentos de fuga ou de defesa, associados à agressividade. Coerentemente com este fato, no homem, focos epilépticos da região amigdaliana do lobo temporal frequentemente associam-se a um aumento da agressividade social.

Interessantes são as relações entre o corpo amigdalóide e o medo. Pacientes conscientes submetidos a estimulação elétrica do corpo amigdalóide durante o ato cirúrgico freqüentemente relatam sentimentos não direcionados de medo; geralmente acompanhados de manifestações viscerais características da situação, como dilatação da pupila e aumento do ritmo cardíaco. Já foi visto também que macacos que normalmente têm medo de cobras, depois de sofrerem amigdalectomia, perdem este medo, aproximam-se delas e até as comem.

Área Septal

Lesões bilaterais da área septal em animais causam a chamada "raiva septal", caracterizada por uma hiperatividade emocional, ferocidade e raiva diante de condições que normalmente não modificam o comportamento do animal. Há também um grande aumento da sede. Estimulações da área septal causam alterações da pressão arterial e do ritmo respiratório, mostrando o seu papel na regulação de atividades viscerais. Por outro lado as experiências de auto-estimulação a serem descritas no próximo item mostram que a área septal é um dos centros do prazer no cérebro.

Giro do Cíngulo

Verificou-se que a ablação do giro do cíngulo (cingulectomia) em carnívoros selvagens domestica completamente o animal. No homem, a cingulectomia já foi empregada no tratamento de psicóticos agressivos. Verificou-se, também, que a simples secção do fascículo do cíngulo, (cingulotomia), interrompendo o circuito de Papez, pode melhorar consideravelmente quadros graves de depressão e ansiedade (43) dando resultados que, quanto a este aspecto, se assemelham aos obtidos nas leucotomias frontais.

Hipocampo

O papel do hipocampo na regulação do comportamento emocional foi inicialmente apontando por Papez, que chamou a atenção para o aumento da realidade emocional causada por lesões do hipocampo pelo vírus da raiva. Lesões bilaterais do hipocampo em macacos resultam em um aumento da agressividade destes animais. Apesar de existirem dados experimentais que conflitam com este, a participação do hipocampo na regulação do comportamento emocional é hoje geralmente admitida. Outra função importante do hipocampo é a sua participação no fenômeno da memória que será estudado no próximo item.

2.2.1.4 Participação dos Mecanismos da Memória

Pode-se distinguir dois tipos de memória: memória recente, que permite a retenção de informações durante pouco tempo (horas ou dias), e memória remota, ou permanente, na qual esta retenção pode permanecer por vários anos (alguns

admitem também a existência de uma memória imediata em que a retenção de informações dura apenas alguns segundos).

Tratos de substância branca

Os feixes de substância branca encefálica podem ser divididos em fibras de projeção e fibras de associação. As primeiras ligam o córtex a centros subcorticais, as segundas ligam áreas corticais situadas em pontos diferentes do cérebro. Estas últimas podem, por sua vez, ser divididas em fibras de associação intrahemisféricas e fibras de associação inter-hemisféricas conforme associem áreas dentro de um mesmo hemisfério ou entre dois hemisférios (Figura 7).

Fibras de associação intra-hemisféricas

Conforme o seu tamanho, classificam-se em curtas e longas. As curtas associam áreas vizinhas do córtex como, por exemplo, dois giros passando nesse caso pelo fundo do sulco. São também chamadas, devido à sua disposição, fibras arqueadas do cérebro ou fibras em U.

As fibras de associação intra-hemisféricas longas unem-se em fascículos, sendo mais importantes os seguintes:

- a) *fascículo do cíngulo* - percorre o giro do mesmo nome, unindo o lobo frontal ao temporal, passando pelo lobo parietal;
- b) *fascículo longitudinal superior* - também denominado fascículo arqueado, liga os lobos frontal, parietal e occipital pela face súpero-lateral de cada hemisfério;
- c) *fascículo longitudinal inferior* - une o lobo occipital ao lobo temporal;
- d) *fascículo unciforme* - liga o lobo frontal ao temporal, passando pelo fundo do sulco lateral.

Fibras de associação inter-hemisféricas

São também chamadas fibras comissurais, pois fazem a união entre áreas simétricas dos dois hemisférios. Essas fibras agrupam-se para formar as três comissuras do telencéfalo, ou seja, comissura do fornix, comissura anterior e corpo caloso:

- a) *comissura do fornix* - pouco desenvolvidano homem, essa comissura é formada por fibras que se dispõem entre as duas pernas do fornix (Figura. 3C) e estabelecem conexão entre os dois hipocampos (arquicórtex);
- b) *comissura anterior* - tem uma porção olfatória que liga os bulbos e tractos olfatórios, e uma porção não olfatória que estabelece união entre os lobos temporais;
- c) *corpo caloso* - a maior das comissuras telencefálicas e também o maior feixe de fibras do sistema nervoso. Estabelece conexão entre áreas corticais simétricas dos dois hemisférios, com exceção daquelas do lobo temporal, que são unidas principalmente pelas fibras da comissura anterior. O corpo caloso permite a transferência de conhecimentos e informações de um hemisfério para o outro, fazendo com que eles funcionem harmonicamente.

Fibras de projeção

Estas fibras agrupam-se para formar o fornix e a cápsula interna. O fornix liga o hipocampo aos núcleos mamilares do hipotálamo, integrando o circuito de Papez, parte do sistema límbico. A cápsula interna é um grande feixe de fibras que separa o tálamo, situado medialmente, do núcleo lentiforme, situado lateralmente. Acima do núcleo lentiforme, a cápsula interna continua com a coroa radiada; abaixo, com a base do pedúnculo cerebral. Distinguem-se na cápsula interna três partes: a perna anterior, situada entre a cabeça do núcleo caudado e o núcleo lentiforme, a perna posterior, situada entre o tálamo e o núcleo lentiforme, e o joelho, situado no ângulo entre essas duas partes. A cápsula interna é uma formação muito importante porque por ela passa a maioria das fibras que saem ou que entram no córtex cerebral. Entre as fibras originadas no córtex e, por conseguinte, descendentes, temos os tractos córtico-espinhal, córtico-nuclear e córticopontino, além das fibras córtico-reticulares, córtico-rubras e córtico-estriatais. As fibras que passam na cápsula interna e se dirigem ao córtex vêm do tálamo, sendo, pois, denominadas radiações. Entre estas temos as radiações óptica e auditiva. Estas fibras não estão misturadas e têm posições bem definidas na cápsula interna, podendo, pois, ser lesadas separadamente, o que determina quadros clínicos diferentes. Assim, as fibras do tracto córtico-nuclear ocupam o joelho da cápsula interna, sendo seguidas, já na perna posterior, das fibras do tracto córtico-espinhal e das radiações talâmicas que levam ao córtex a sensibilidade somática geral. As radiações óptica e auditiva

também passam na perna posterior da cápsula interna, mas na porção situada abaixo do núcleo lentiforme (porção sublenticiforme da cápsula interna).

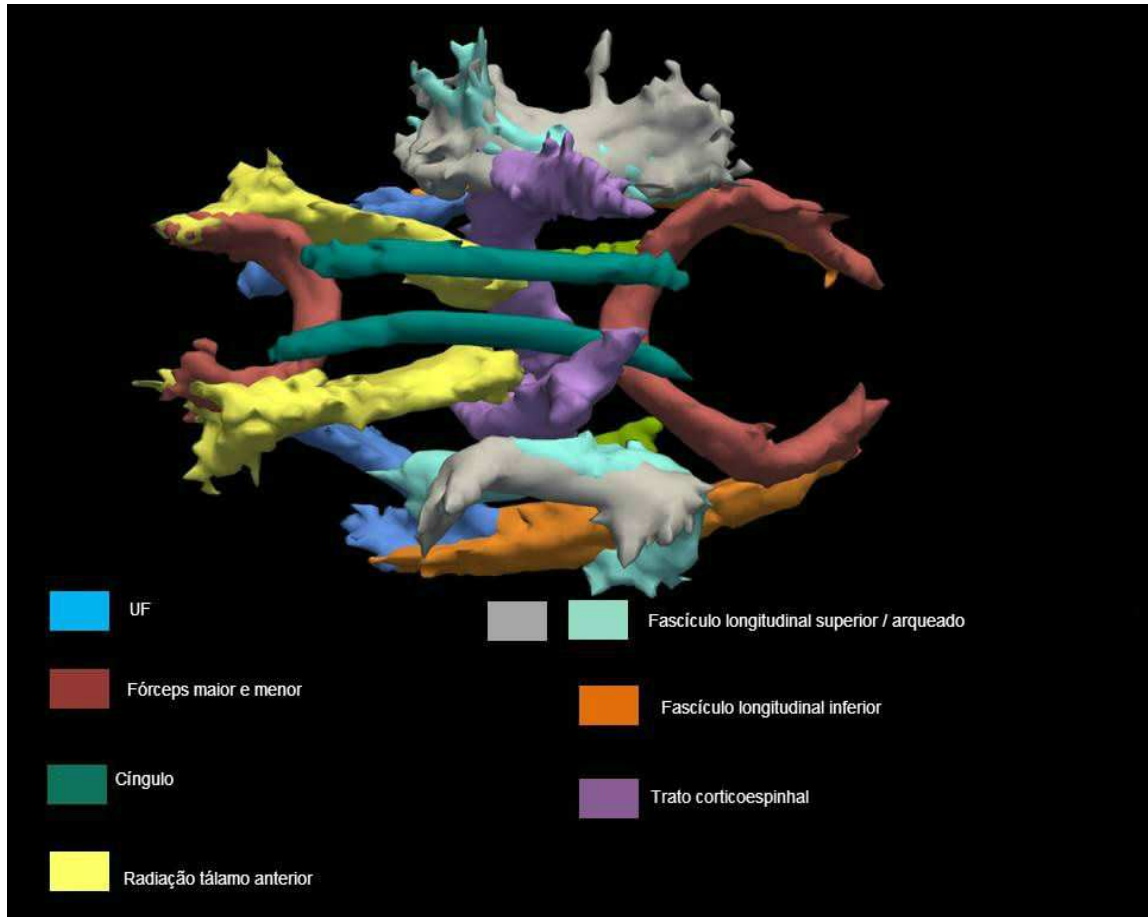


Figura 7 – Reconstrução gráfica tridimensional dos principais tratos de substância branca por técnica de DTI

Fonte: Imagem obtida a partir do *software Freesurfer 5.3* no Laboratório de Psiquiatria Molecular do HCPA.

2.3 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA ESTRUTURAL PRINCÍPIOS BÁSICOS

A RM é atualmente a técnica mais sofisticada para aquisição de imagens morfológicas do encéfalo. Habitualmente, usa-se o campo magnético de 1,5 T, ainda que equipamentos mais recentes tenham sido fabricados com campos mais potentes, como 3 T e 7 T (2).

Apesar do fenômeno físico da RM ter sido descrito em 1946 por Block e Purcell (44, 45), as primeiras imagens do corpo humano só foram possíveis cerca de trinta anos após. Este intervalo de tempo demonstra a complexidade deste método e

a necessidade, para a formação da imagem, do uso de tecnologias aparentemente tão distintas como os supercondutores e o processamento de sinais (46).

As propriedades de ressonância magnética têm origem na interação entre um átomo em um campo magnético externo; de forma mais precisa, é um fenômeno em que partículas contendo momento angular e momento magnético exibem um movimento de precessão quando estão sob ação de um campo magnético.

Os principais átomos que compõem o tecido humano são: hidrogênio, oxigênio, carbono, fósforo, cálcio, flúor, sódio, potássio e nitrogênio. Estes átomos, exceto o hidrogênio, possuem no núcleo atômico prótons e nêutrons. Apesar de outros núcleos possuírem propriedades que permitam a utilização em RM, o hidrogênio é o escolhido por três motivos básicos:

- é o mais abundante no corpo humano: cerca de 10% do peso corporal se deve ao hidrogênio (47);
- as características de RM se diferem bastante entre o hidrogênio presente no tecido normal e no tecido patológico;
- o próton do hidrogênio possui o maior momento magnético e, portanto, a maior sensibilidade a RM.

O átomo de hidrogênio possui como núcleo o próton. Os prótons são partículas carregadas positivamente, que possuem uma propriedade chamada de spin ou momento angular. Quando o paciente é posicionado no interior do magneto e fica sob a ação de um campo magnético de, por exemplo, 1,5 T, os prótons de hidrogênio irão se orientar de acordo com a direção do campo aplicado, como se fossem pequenas bússolas; porém, ao contrário das bússolas, que apontariam seu norte marcado na agulha para o sul magnético, os prótons de hidrogênio apontam tanto paralelamente quanto antiparalelamente ao campo (Figura 8A e B).

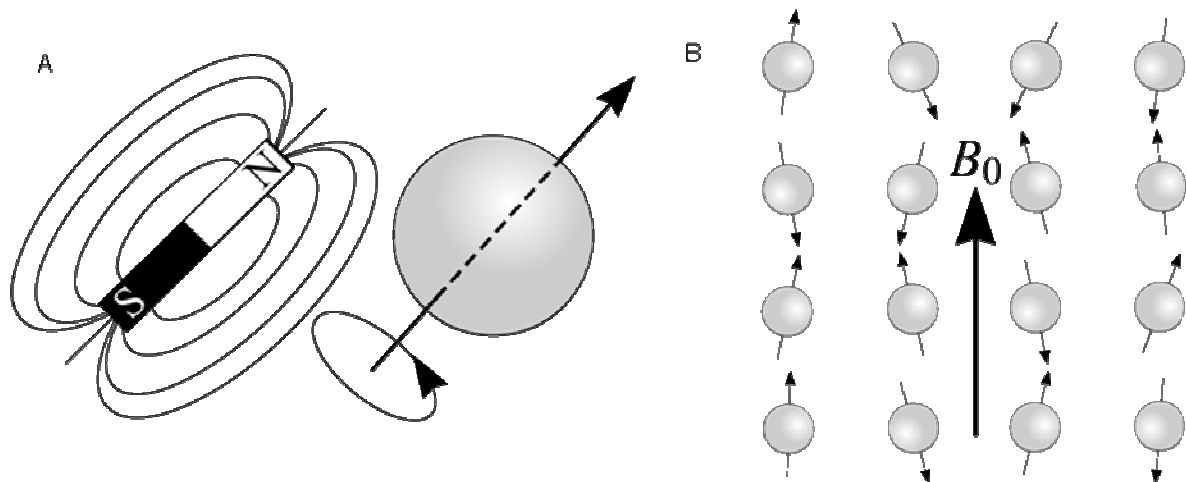


Figura 8 – Próton de hidrogênio.

A) O próton de hidrogênio pode ser visto como uma pequena esfera que possui um movimento de giro, ou spin, em torno do seu próprio eixo, comportando-se como um pequeno dipolo magnético ou como um ímã com um momento magnético associado.

B) Prótons de hidrogênio sob ação do campo magnético externo aplicado se distribuem em dois níveis de energia, sendo que um pequeno número maior de prótons se alinha paralelamente.

Fonte: (48).

Um campo magnético intenso é necessário para alinhar o núcleo de hidrogênio (próton) que existe em cada célula do corpo humano (como nos equipamentos de RM). Uma vez alinhados os núcleos de hidrogênio, o aparelho emite uma frequência de 63,8 MHz causando a excitação destes núcleos. A excitação dos núcleos de hidrogênio gera uma onda de energia, conhecida como ressonância. Através desta onda de energia o aparelho determina a posição espacial (coordenadas x,y,z) e a intensidade do sinal (brilho) de cada ponto da imagem. Após receber cada pulso de RF os spins voltam a se realinhar liberando energia, a energia liberada é captada pelas bobinas (coils) considerando suas coordenadas espaciais que após conversão por cálculo matemático geram as imagens (49, 50).

A análise estrutural dos primeiros exames de RM eram muito semelhantes a análise que era realizada com os exames de tomografia computadorizada (TC), baseando-se fundamentalmente no tamanho dos ventrículos e de algumas estruturas encefálicas (51, 52). Os estudos de volumetria ainda são muito utilizados na atualidade, sendo que na sua maioria é realizada a análise computadorizada de imagens volumétricas de RM (6).

Muitos estudos estruturais em pacientes com BD tem utilizado técnicas de análise volumétricas voxel-a-voxel (voxel-based morphometry – VBM) (7). O pixel é o menor ponto da imagem que pode ser obtido. Assim uma imagem é formada por uma certa quantidade de pixels. O conjunto de pixels está distribuído em colunas e linhas que formam a matriz. Quanto maior o número de pixels numa matriz melhor é a sua resolução espacial, o que permite um melhor diferenciação espacial entre as estruturas. E após processos de reconstrução matemática, se obtém o Voxel (unidade 3D) capaz de designar profundidade na imagem radiológica. Pela normalização dos exames de RM em modelos padrão (“templates”) de encéfalos, podem ser feitas análises de grupos e comparado com voxels individuais e não com estruturas encefálicas maiores. Estes métodos possuem várias limitações como amostras pequenas de pacientes normais, o contorno de algumas estruturas encefálicas não terem limites tão bem definidos, distorções de algumas regiões encefálicas importantes incluindo o córtex pré-frontal. Além disso, estruturas relativamente pequenas em áreas maiores podem não ser detectadas por esses softwares (2, 53).

Para minimizar essas distorções inevitavelmente introduzidas por esses processos, tem se procurado utilizar cada vez mais modelos (templates) de encéfalos normais com amostras mais representativas, como a do Montreal Neurologic Institute (54).

Outras técnicas de morfometria baseada em voxel (VBM) tem sido utilizadas em estudos de pacientes com TB, como morfometria baseada em deformação (“deformation-based morphometry”) e mensuração da espessura cortical de todo o encéfalo e todas essas técnicas em conjunto tem possibilitado uma análise mais detalhada das diferenças neuroanatômicas encefálicas dos pacientes com TB e dos controles normais (55, 56).

A técnica de transferência de magnetização (MT) utiliza as diferenças de energia entre os prótons de hidrogênio livres das moléculas de água e dos ligados a macromoléculas. Devido a sua imobilidade, os prótons de hidrogênio ligados a macromoléculas previamente saturados por pulsos de radiofrequência tipo “*off-frequency*”, transferem a sua energia aos prótons de hidrogênio das moléculas de água livres da vizinhança (Figura 9). Isso resulta em uma perda de sinal que é proporcional a densidade macromolecular. O índice de MT (MTR) permite

demonstrar uma nítida diferenciação de contraste entre os diferentes tecidos, o que nos pacientes com TB pode ser utilizado para o estudo da SB (57).

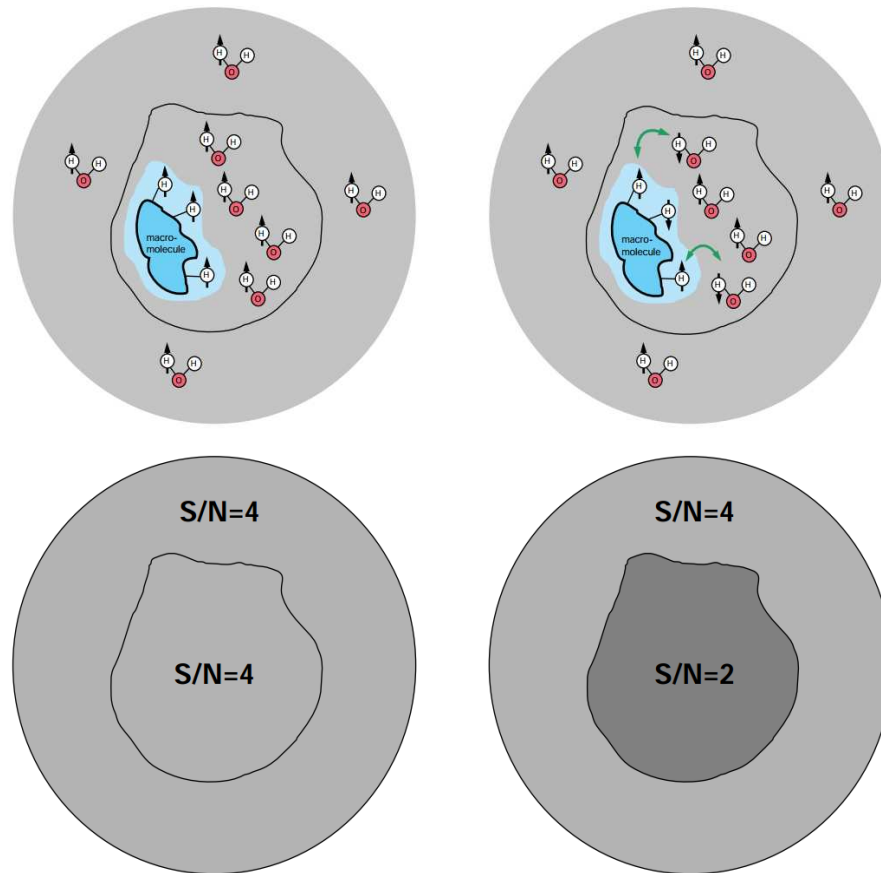


Figura 9 - Técnica de transferência de magnetização.
Fonte: (58).

A técnica de tensor de difusão (DTI) utiliza as propriedades da movimentação das moléculas de água para a compreensão sobre a estrutura microscópica dos tecidos encefálicos com anisotropia fracionada (FA), um índice quantitativo que reflete a integridade e coerência da SB (59).

A partir de seis gradientes já se pode obter as imagens por DTI, mas o aumento do número de direções permite uma melhor resolução das imagens (59). No líquido cefalorraquidiano (LCR) a difusão das moléculas de água é livre, isotrópica (forma de uma esfera), porém nos tratos de SB esse movimento é anisotrópico, ou seja, o movimento das moléculas de água é direcional (forma de uma elipse), e a difusão das moléculas de água é restrito, sendo o vetor resultante (Eingen vector) maior na direção da fibra de mielina. Além do FA, também podemos

utilizar outras medidas como difusividade média (MD), difusividade axial (DA) e difusividade radial (RD) (Figuras 10, 11 e 12).

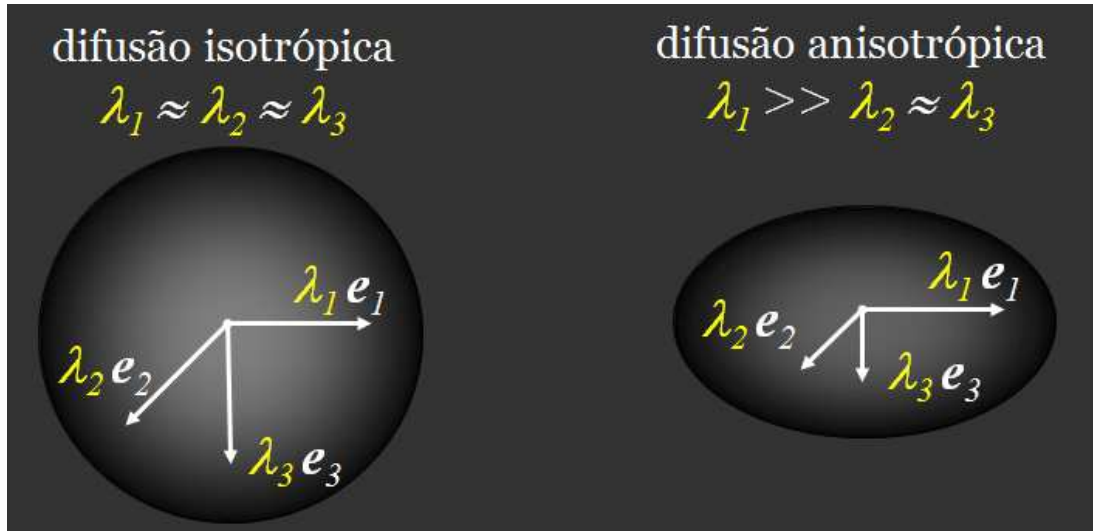


Figura 10 – Esfera da difusão isotrópica e da elipse da difusão anisotrópica.
Autovetores e autovalores. Eigenvectors expressam a magnitude e a direção da difusão das moléculas de água.

Fonte: modificada de Yendiki (60).

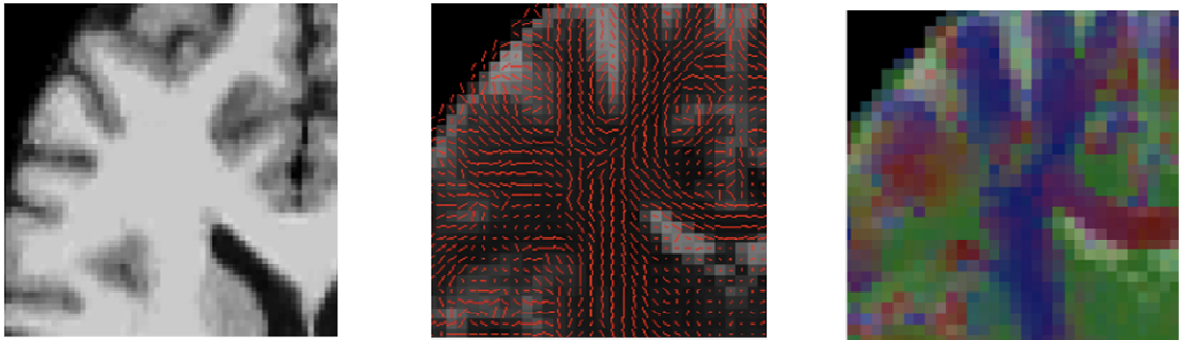


Figura 11 - Mapa de Tensores.

A direção do autovetor é dada pelo maior autovalor, sendo estabelecido por convenção a direção do autovetor: Azul- crânio-caudal, Verde- antero-posterior e Vermelho- látero-lateral.

Fonte: (60).



Figura 12 - Representação do elipsóide, visualização dos dados e mapa de cores de DTI.

Fonte: (60).

As análises de DTI permitem que se possam fazer análises e comparações quanto a integridade da SB em vários aspectos. Os primeiros estudos com DTI em TB mediram a media de anisotropia e a difusividade média em regiões específicas da SB (61). A medida individualizada por regiões de interesse (ROI) para se ter certeza de que não estão sendo misturados os voxels da SB e do LCR na mesma região. Alguns estudos tem utilizado a análise voxel-a-voxel (VBM). As distorções anatômicas são inevitáveis quando se utiliza normalização de encéfalos individuais com modelos padronizados (templates) (57).

A reconstrução virtual dos tratos de SB fornece informações anatômicas abrangentes e permite o teste de hipóteses anatomicamente conduzido para mudanças na FA. A DTI também pode analisar os tratos de substância branca individualmente, permitindo uma melhor compreensão da neuroanatomia dos indivíduos saudáveis e auxiliando na identificação de alterações nas conexões da SB em pacientes TB (62, 63) (Figura 13).

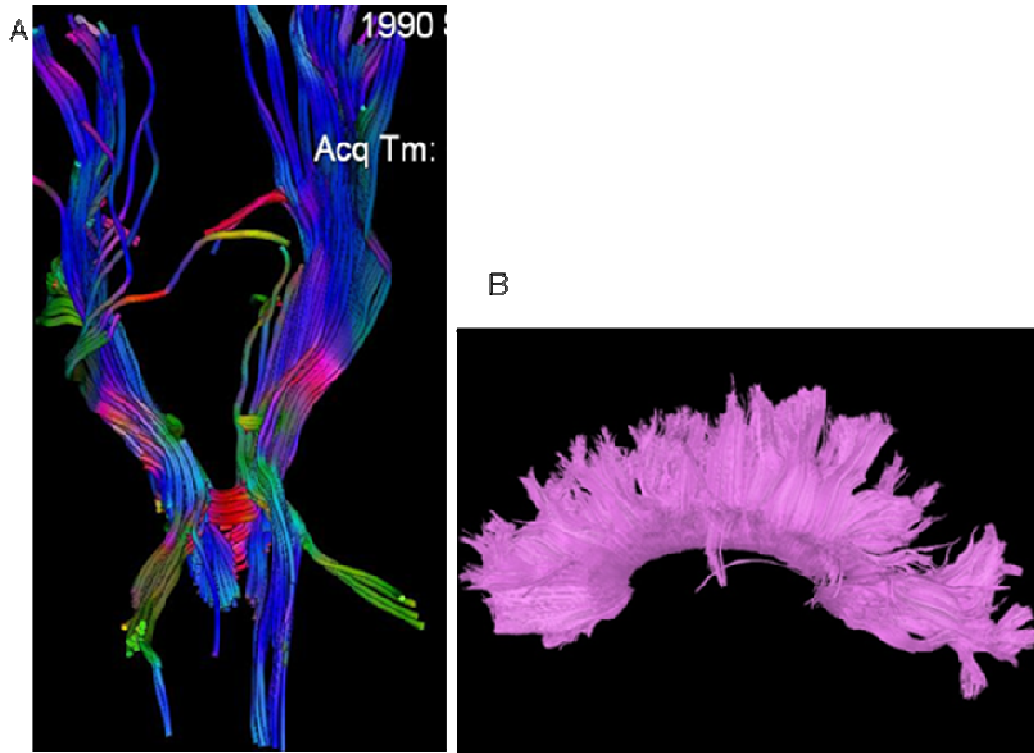


Figura 13 - Representação em 3 D dos tratos de substância branca usando a técnica DTI.

A) tratos cortico-espinais B) Corpo caloso
 Fonte: Arquivo pessoal.

2.3.1 Análise morfológica voxel-a-voxel de estudos de ressonância

Os métodos de processamento mais usados para a avaliação dos volumes das estruturas cerebrais são a volumetria manual e o processamento automático voxel-a-voxel. Na volumetria manual é realizada uma delimitação de regiões de interesse (regions of interest -ROIs); já os métodos de processamento automático voxel-a-voxel realizam uma série de transformações nas imagens para que as mesmas sejam analisadas estatisticamente. Houve avanços nas técnicas de avaliação dos volumes das estruturas encefálicas na última década (54, 56). A maioria dos estudos era realizada com métodos de delineamento manual para quantificação da substância cinzenta, porém esses métodos de delineamento manual são observador dependentes, conseqüentemente mais sujeitos a imprecisões e vieses, apresentando baixa reprodutibilidade quando a imagem é avaliada por pesquisadores diferentes, ou pelo mesmo observador em tempos diferentes. O pesquisador deve delimitar manualmente o ROI em diversos cortes

consecutivos, onde a estrutura de interesse estiver presente; assim, torna-se muito difícil a avaliação de todo encéfalo. Por estes motivos, os estudos que utilizam o método de ROI em geral, se limitam à investigação de poucas regiões cerebrais, as quais se supõem estarem mais diretamente envolvidas na fisiopatologia do transtorno neurológico ou psiquiátrico em questão. Apesar de amplamente difundidos e validados, os métodos de ROI apresentam limitações importantes (2). Nos últimos anos, novos métodos de análise de imagens têm sido desenvolvidos com o objetivo de superar as dificuldades das técnicas baseadas na delimitação de ROIs. Entre estes, um dos mais promissores é o da morfometria baseada no voxel (VBM) (7). Um dos programas que vem sendo amplamente difundido para este fim é o Statistical Parametric Mapping (SPM). Este programa foi desenvolvido por membros do Wellcome Department of Cognitive Neurology, UK (64-68), e funciona sobre a plataforma do programa MATLAB (Mathworks Inc, Sherborn, MA, USA). Nesses estudos, as imagens de cada sujeito são transformadas de forma a se conformar a um espaço anatômico padronizado e em seguida são feitas comparações estatísticas entre grupos para cada voxel do volume cerebral. A adaptação da metodologia descrita acima para estudos de RM estrutural (VBM) segue os padrões de adaptação para RM estrutural definidos inicialmente por Wright et al. (1995) (69). Esta adaptação permite a comparação da concentração local de substância cinzenta entre dois grupos de sujeitos para cada um dos milhares de voxels de todo o volume cerebral. Tal volume de busca é composto de aproximadamente 250.000 voxels (medindo 2 mm³ cada um) somente para o compartimento de substância cinzenta. Os métodos de VBM representam avanço importante por serem menos laboriosos, não dependerem do observador e não serem tendenciosos para uma estrutura cerebral em particular, podendo fornecer uma avaliação das diferenças anatômicas entre grupos através de todo o cérebro ao contrário da técnica por ROIs (7).

Para que seja possível aplicar este tipo de análise estatística voxel-a-voxel, etapas de pré-processamento de imagens precisam ser cumpridas, incluindo: conversão das imagens para o formato Analyze; redefinição do ponto central da imagem, reorientação da imagem; normalização espacial; segmentação e suavização das imagens (Figura 14). A etapa final consiste na aplicação de um teste estatístico para cada voxel do volume cerebral, que permite a produção de mapas estatísticos paramétricos, os quais evidenciam os voxels com intensidade de sinal

(concentração) de substância cinzenta significativamente diferente entre os grupos estudados, num determinado limiar de significância estatística definido pelo pesquisador. O processo da normalização espacial permite realizar o alinhamento de imagens de RM dentro do espaço padrão definido pelo modelo ideal ou imagem-modelo (template). A imagem-modelo aplicada com o SPM é conformada para o espaço definido pelo International Consortium for Brain Mapping (ICBM) e o projeto P-20 do National Institute of Health (NIH P-20), aproximando-se do espaço descrito no Atlas Estereotáxico do Cérebro Humano (70) (Figura 15). A normalização espacial do SPM consiste em realinhar a imagem cerebral adquirida tendo outra imagem cerebral padrão como guia, sendo esta adequada ao modelo neuroanatômico do atlas. A segmentação em imagens cerebrais de RM tem por finalidade separar os compartimentos de substância cinzenta, substância branca e líquido céfalo-raquidiano, fazendo com que as imagens correspondentes a cada um destes compartimentos se torne um arquivo separado. Os filtros de suavização são utilizados para borramento e redução de ruído.

Mais recentemente com as técnicas de RM de maior resolução espacial, é possível a identificação de anormalidades mais sutis em regiões menores do encéfalo, destacando-se os estudos de DTI (2).

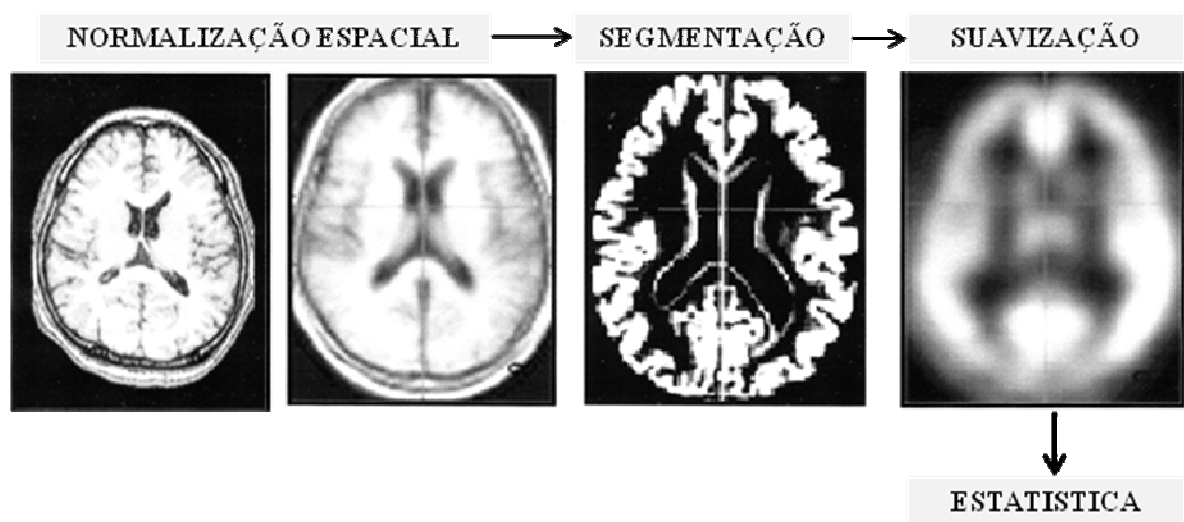


Figura 14 - Resumo dos processos de morfometria voxel-a-voxel.

Fonte: Modificada de (71).

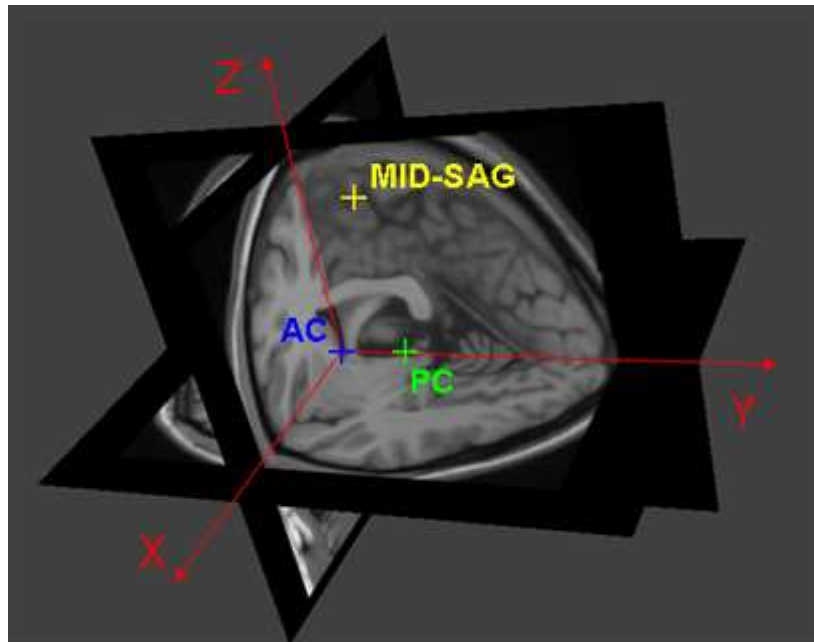


Figura 15 - Sistema de coordenadas de Talairach.
Fonte: site (72).

2.3.2 Imagem por tensor de difusão

Vários estudos de morfometria baseada em voxel (VBM) que compararam pacientes com TB e controles relataram déficits volumétricos e reduções na densidade da SB em pacientes (73-76). Estas alterações na SB têm sido encontradas em pacientes eutímicos (77), em pacientes TB em curso inicial da doença (78-80) e em parentes saudáveis de pacientes com TB (81). A redução de volume na SB foi associada com a vulnerabilidade genética ao TB (76, 82). Conseqüentemente, anormalidades da SB foram propostas como potenciais biomarcadores de endofenótipos em TB (83). Contudo, a fisiopatologia destas anormalidades da SB ainda não é bem estabelecida.

DTI é uma técnica de promissora para a avaliação das alterações da integridade da SB em várias doenças psiquiátricas, uma vez que permite uma exploração dos aspectos microestruturais da SB, sendo mais sensível do que a RM convencional estrutural (84), além de fornecer uma análise quantitativa baseada na mobilidade das moléculas de água nos diferentes tecidos encefálicos. A principal ferramenta da DTI é a medida da anisotropia fraccionada (FA), um indicador de mielinização e de coerência dos tratos de SB, sendo que maiores valores de FA

indicam uma maior coerência. Para este fim, a DTI pode ser útil para a exploração da SB como potencial biomarcador microestrutural em TB.

Adicionalmente, os resultados têm sido inconsistentes, sendo que alguns estudos relataram valores de FA reduzidos (57, 61, 85, 86), outros demonstraram valores de FA aumentados (87, 88) enquanto outros não encontraram nenhuma diferença (89) dos valores de FA entre pacientes com TB e voluntários saudáveis.

Uma metanálise recente (90), identificou dois aglomerados significativos de redução de FA no lado direito do cérebro, um deles localizado na SB próxima ao giro hipocampal e o outro próximo ao córtex do cíngulo anterior em região subgenual direita. Estes dois aglomerados de alteração FA podem ser a base do processamento emocional anormal e da alteração límbico-funcional em TB.

Sarrazin (11) usando técnica de tratografia do cérebro total no primeiro grande estudo multicêntrico internacional de pacientes e controles TB encontraram redução dos valores de FA globais (GFA) ao longo dos tratos de SB inter-hemisféricos, límbicos e fronto-temporais em TB. Os pacientes com características psicóticas apresentaram valores de GFA mais baixos do que os pacientes sem tais características ao longo do CC. Estes resultados destacam o papel da desconectividade interhemisférica no TB e ainda sugerem que os pacientes TB com quadros psicóticos poderiam ser um subtipo relevante de TB com aspectos fisiopatológicos específicos. Os resultados também fornecem evidência adicional do envolvimento de alteração de conectividade do cíngulo e do fascículo arqueado em TB. A dinâmica de como a doença se desenvolve ainda não é bem estabelecida e muitas questões ainda estão em aberto em relação a diversos aspectos tais como risco, traços TB ou déficits degenerativos. É, portanto, crucial estudar as populações em maior risco de desenvolver transtorno bipolar. A RM tem sido apontada cada vez mais como promissora ferramenta de estadiamento precoce no TB, avaliação de progressão e de resposta ao tratamento.

3 JUSTIFICATIVA

Há evidências crescentes de que as alterações da SB estão relacionadas fortemente a fisiopatologia do transtorno bipolar. Estudos pós-morte e de RM têm fornecido evidência adicional de que as alterações da SB correlacionam-se com a patogênese do TB. Foram encontradas alterações na expressão de genes de oligodendrócitos e da mielina (91) e uma menor densidade de células oligodendrogliais (92) e da glia (93) no córtex pré-frontal de pacientes com TB em comparação com voluntários saudáveis (VS). Exames de RM relataram redução de volume de SB do hemisfério esquerdo (82) e de volume total da SB encefálica (77, 94) em comparação com pacientes VS.

Vários estudos relataram que as áreas de hipersinal na SB (HSB) na doença bipolar (95, 96), parecem ser um dos achados neuroimagem mais robustos e consistentes na literatura (97, 98). Também foi descrito que quanto mais extensas as áreas HSB, pior foi a resposta ao tratamento e também estavam relacionadas a um maior número de hospitalizações (99). A presença das áreas de HSB podem ser um indicativo de uma interrupção nas fibras da SB (100, 101), e/ou uma indicação precoce de desmielinização localizada (102). As técnicas de neuroimagem, particularmente a RM, se tornaram rapidamente ferramentas importantes para o estudo do cérebro humano em geral e no estudo do THB, especificamente.

Vários estudos quantitativos e qualitativos tem evidenciado anormalidades na SB tanto em pacientes esquizofrênicos quanto em pacientes com THB. Os estudos com técnica de tensor de difusão (DTI) sugerem alteração na conectividade de várias regiões cerebrais nestes pacientes, especialmente entre o córtex pré-frontal e o lobo temporal.

A técnica de DTI que é uma técnica de RM não invasiva que permite medir o movimento randômico das moléculas da água numa escala microscópica. A informação da difusão da substância branca pode ser avaliada por medidas derivadas da DTI, como anisotropia fracionada (FA) e o coeficiente de difusão aparente (ADC).

Apesar de existirem diversos trabalhos que utilizaram o DTI para investigar as alterações na integridade da microestrutura da SB no TB, especialmente das regiões frontais, corpo caloso e do sistema límbico, ainda hoje existem poucos estudos multicêntricos com resultados robustos que possam esclarecer o verdadeiro papel

dessas alterações nos tratos de SB em relação aos aspectos fisiopatológicos do TB e se possa avaliar sua relevância clínica como possíveis biomarcadores de neuroimagem.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO PRINCIPAL

Investigar os mecanismos fisiopatológicos do transtorno do humor bipolar com enfoque na substância branca (SB) cerebral.

4.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

Fazer uma comparação dos volumes de substância branca total, do volume do corpo caloso e do volume total de substância cinzenta entre pacientes com TB em estágio inicial, avançado e em relação aos seus respectivos controles normais.

Enfoque na avaliação da microestrutura da substância branca por meio de técnicas avançadas de RM.

5 METODOLOGIA

Os pacientes foram selecionados do universo de pacientes atendidos no Programa de Transtornos Bipolares do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (PROTAHBI-HCPA). Foram avaliados 300 casos consecutivos, já em tratamento, com diagnóstico de TB em atendimento no PROTAHBI. Destes, somente foram incluídos aqueles que preenchessem os critérios de inclusão: serem maiores de 18 anos; preencher os critérios para TB do DSM-IV-TR através da entrevista clínica estruturada (SCID) (103); preencher os critérios de remissão, atingindo escores menores que 7 nas escalas de humor (Young Mania Rating Scale, YMRS, e Hamilton Depression Scale HAM-D) (104, 105). Foram excluídos aqueles que apresentavam comorbidade com retardo mental ou doenças médicas instáveis. Outros critérios de inclusão e exclusão específicos foram adotados dependendo da pesquisa realizada.

A classificação em estágios foi feita através da aplicação de entrevista semi-estruturada com coleta de dados a respeito do curso do TB, comorbidades, histórico de atividades laborais, histórico das relações sociais e histórico de auto-cuidado. Após, os dados foram confirmados através de revisão de prontuário e entrevista com familiares.

A avaliação da funcionalidade foi feita através da aplicação da Escala Breve de Funcionamento (FAST) (106). A coleta de dados sociodemográficos, clínicos, informações sobre tratamento medicamentoso, e a classificação em estágios foram realizadas por equipe treinada através de entrevista semi-estruturada. Posteriormente, os dados foram conferidos com o médico assistente, familiares e/ou prontuário médico.

Cinquenta e cinco indivíduos foram inscritos para este protocolo de estudo; Vinte e nove pacientes e vinte e seis controles pareados por idade, gênero, escolaridade e índice de massa corporal (IMC). O projeto de caso-controle duplo incluiu 14 pacientes com BD em fase precoce (indivíduos que exibem o mesmo estatus no período interepisódico como fizeram antes do início do TB); 15 pacientes com TB na fase tardia (pessoas que são incapazes de manter o auto-cuidado pessoal e de viver autonomamente) e seus respectivos controles pareados (14 e 12 sujeitos). A definição de estadiamento foi de acordo com o modelo de estadiamento TB (31). Todos os indivíduos tinham que ter pelo menos 18 anos e não mais de 60. O

consentimento informado escrito foi obtido de todos os indivíduos de acordo com a Declaração de Helsinque e do protocolo do estudo foi aprovado pelo comitê de ética local. Todos os pacientes receberam tratamento farmacológico por seu psiquiatra de acordo com protocolos clínicos. Pacientes com doenças clínicas graves, detectado durante entrevistas clínicas ou durante a revisão de registros médicos, foram excluídos. O grupo controle foi composto por voluntários saudáveis que não tinham história atual ou anterior, bem como sem história familiar de primeiro grau de um transtorno psiquiátrico grave, incluindo demência ou retardo mental avaliada pela versão não-paciente da entrevista clínica estruturada para o DSM-IV (SCID). O SCID Eixo I e Eixo II foram administrados para confirmar o diagnóstico. Os dados sociodemográficos, clínicos e farmacológicos foram coletados através de entrevista estruturada com o paciente e exame dos registros clínicos. Os itens HAM-D e a YMRS foram administrados por avaliadores treinados para avaliar depressivos e maníacos sintomas, respectivamente. Os dados de ressonância magnética (RM) foram obtidos em um aparelho de 1.5 Tesla Philips Achieva (Amsterdam, Holanda). Sequências ponderadas em T1 sagital com alta resolução 3D MPRAGE (aquisição rápida Gradiente eco preparada por magnetização) foram adquiridos com NEX = 1, matriz imagem = 256 x 232, flip angle= 8 graus, tempo de eco = 4 ms, tempo de repetição = 8.63 ms e voxel de tamanho de 1 x 1 x 1 mm³ e com 160 imagens. As segmentações volumétricas corticais e subcorticais foram realizados com o *softwares* de reconstrução de imagens Freesurfer suíte análise v.5.1.0, (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>). Este processo inclui a correção de movimento, a remoção de tecidos não cerebral (107), a transformação de Talairach automatizada, segmentação volumétrica da SB subcorticais e das estruturas de SC profundas (33, 108), de normalização da intensidade (109), de tesselação dos limites de SB /SC, automatização de correção de topologia (110, 111), e deformação da superfície do seguinte gradiente de intensidade para colocar de forma ótima as SC / SB e os limites do LCR no local onde ocorre a maior mudança na intensidade e define a transição para o outro tipo de tecido (112-114). Estudos anteriores demonstraram que segmentações subcorticais realizadas por *Freesurfer* são fiáveis quando comparado com uma segmentação manual (108, 115). Todas as imagens foram processadas e verificadas pelo mesmo pesquisador. O volume intracraniano foi regredido a partir de volumes de corpo caloso, branca e cinzenta.

Todas as tabulações de dados e análises estatísticas foram realizadas pelo *software* SPSS versão 19.0 (IBM SPSS Statistics for Windows, Armonk, NY: IBM Corp.).

5.1 ASPECTOS ÉTICOS

Todos os participantes foram capazes de entender os instrumentos de pesquisa, e também de entender e assinar o termo de consentimento livre e esclarecido, previamente à entrada no estudo. Também tinham a possibilidade de retirar o consentimento a qualquer momento. A identidade dos participantes foi mantida em sigilo durante todas as etapas do estudo, e houve a garantia de que as informações coletadas seriam utilizadas exclusivamente com finalidades científicas. Os princípios bioéticos de autonomia, beneficência, não maleficência, veracidade e confidencialidade foram seguidos. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

6 ARTIGOS

6.1 ARTIGO 1

Artigo aceito para publicação em 02 de setembro de 2015, na Revista Brasileira de Psiquiatria (ID RBP-2015-RA-1793).

Neurobiological underpinnings of bipolar disorder focusing on findings of diffusion tensor imaging, a systematic review

Juliana A Duarte ¹, Jaisa Q de Araújo e Silva ², André AS Goldani ³, Raffael Massuda ⁴,
Clarissa S Gama ⁵

¹ Laboratory of Molecular Psychiatry, National Science and Technology Institute for Translational Medicine (INCT-TM), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS, Brazil; Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil; and Department of Radiology and Magnetic Resonance Hospital de Clinicas de Porto Alegre (HCPA).

² Radiology resident at Tomoclinica - Canoas, RS, Brazil.

³ Laboratory of Molecular Psychiatry, National Science and Technology Institute for Translational Medicine (INCT-TM), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS, Brazil and Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

⁴ Laboratory of Molecular Psychiatry, National Science and Technology Institute for Translational Medicine (INCT-TM), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto

Alegre, RS, Brazil; Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil; and Department of Psychiatry, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, Brazil.

⁵ Laboratory of Molecular Psychiatry, National Science and Technology Institute for Translational Medicine (INCT-TM), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS, Brazil; Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

Please direct correspondence to: Clarissa S Gama, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, R. Ramiro Barcelos, 2350, 90035903, Porto Alegre - RS, Brazil;
Phone: +55 51 3359 8845;
email: cgama@hcpa.edu.br

Abstract

Objective: To review the available data on diffusion tensor imaging (DTI) with bipolar disorder (BD), assessing in particular any reductions in fraction anisotropy (FA) in the white matter (WM) tracts.

Methods: We performed a systematic review of the PubMed/MEDLINE database. FA reduction and WM tract abnormalities were divided anatomically into three groups: commissural, association and projection tracts.

Results: Eighteen studies met the inclusion criteria. The corpus callosum was the main impaired commissural tract related with FA reductions. Five studies revealed decreased FA values in the cingulum association tract. Two studies showed decreased FA in the anterior thalamic radiation and one in the corticospinal tract. Conversely, three studies found increased FA values in the WM tracts involved in BD physiopathology.

Conclusion: Despite considerable heterogeneity, these results indicate a direct link between executive cognitive functioning and abnormal WM microstructural integrity of fronto-limbic tracts in remitted BD patients. Therefore, these findings further contribute to the neuronal disruption that underlies the symptomatology of BD.

Keywords: bipolar disorder; DTI; systematic review

Introduction

Bipolar disorder (BD) is a severe psychiatric disorder that affects approximately 1.5% of the world population^(1, 2) and remains one of the leading worldwide causes of disability, morbidity, and mortality.^(3, 4) The progression of BD is frequently associated with an increased number of episodes⁽⁵⁻⁸⁾, subclinical symptoms in the interepisodic period^(9, 10), higher rates of comorbidities⁽¹¹⁾, increased risks for suicide⁽¹²⁾, a higher number of hospital admissions⁽¹³⁾ and poorer responses to treatment.⁽⁶⁾ Furthermore, several studies have shown a strong association between the number of mood episodes and unfavorable clinical outcomes, especially cognitive and functional impairment.^(14, 15)

In BD, neural substrate reactivity is changed by repeated mood episodes that ultimately promoting a brain rewiring that leads to an increased vulnerability to life stress.⁽¹⁶⁻¹⁸⁾ Changes in brain structure have been widely reported in BD patients.⁽¹⁹⁾ Over the past decade, substantial effort has been put forth in neuroimaging research to understand the neural system abnormalities underlying BD, and significant progress has been made in identifying regional brain differences that could contribute to the symptoms of acute episodes.⁽²⁰⁾

Morphometric studies have demonstrated that patients with BD show an enlargement of the third and lateral ventricles; a reduction in the gray matter volumes of the orbital and medial prefrontal cortex, ventral striatum and mesotemporal cortex; and an increase in the size of the amygdala. Such neuroanatomical changes tend to be more pronounced in patients with repeated episodes. With respect to neuropathological findings, recent data suggest that changes in neuroplasticity, particularly in cell resilience and connectivity, are the main findings associated with BD.⁽²¹⁻²⁵⁾

Other studies suggest that structural brain changes are found mainly in the frontal, temporal and limbic white matter (WM) regions.⁽²⁶⁻³¹⁾ WM abnormalities have been widely

detected in the pathophysiological features of BD, especially with diffusion tensor imaging (DTI) techniques.⁽²⁹⁾

Diffusion imaging principles are based on the measurement of the motion of water molecules within tissues.⁽³²⁾ Free water usually moves equally in all directions in an isotropic fashion. When the movement of water molecules is restricted, however, preferential directions are taken and movement consequently becomes anisotropic. Therefore, water mobility in the brain is markedly reduced in compact tissue, such as WM, is reduced to a lesser extent in grey matter (GM), and is almost free in the cerebrospinal fluid (CSF). Thus pathological processes that alter the normal brain structure may affect water motion and thereby affect the resulting diffusion indexes.⁽³³⁾

Diffusion images can be acquired from a minimum of three gradient directions that yield two different types of sequences: diffusion-weighted imaging (DWI) and DTI. The use of more than six encoding directions improves the accuracy of the tensor measurement for any arbitrary orientation (Figure 1).⁽³⁴⁾

The WM tracts can be divided anatomically into three groups: commissural, projection and association tracts. Commissural tracts are fibers that interconnect the hemispheres of the brain, such as the corpus callosum. Association tracts are groups of fibers that interconnect cortical areas within the same hemisphere, and projection tracts are efferent and afferent fibers that interconnect the cortex to subcortical structures.⁽³⁵⁻³⁸⁾

Previous investigations have hypothesized that microstructural changes in the WM of the frontal–subcortical circuits lead to a disconnection syndrome between the frontal and subcortical regions.⁽³⁰⁾ These network alterations have been associated with clinical symptoms of BD, thus suggesting that DTI is a promising technique to evaluate the underpinnings of neuropathology in BD.⁽³⁹⁾

The aim of this review is to assess studies that have used DTI in patients with BD, particularly where there is fractional anisotropy, and discuss the relevancy and connection of the findings to pathophysiology.

Methods

Systematic review

The recorded variables for each article included imaging technique (magnetic resonance imaging - MRI, DTI), imaging analysis (whole-brain/region of interest [ROI]), field strength, gender, mean age, exposure to medication, brain regions analyzed and principal findings (HR vs. controls, HR vs. BD).

Selection procedures

Inclusion criteria were (a) original articles published in English peer-reviewed journals; (b) articles where study participants were diagnosed with BD type I (BD-I) or BD type II (BD-II); and (c) articles where studies used structural or neurochemical imaging techniques. Studies were independently assessed for inclusion and exclusion criteria by two researchers.

Search strategies

A search in the PubMed/MEDLINE database was performed with the following medical subject headings (MeSH): “imaging, diffusion tensor and bipolar disorder”, “diffusion tractography and bipolar disorder”, and “tractography, diffusion and bipolar disorder”. There were no limits regarding year of publication, and the search included papers through January 2015.

Results

The search resulted in 127 articles. Searching and exclusion processes are summarized in Figure 2. We found 18 published DTI studies that identified WM changes in subjects with bipolar disorder. We assessed the fractional anisotropy (FA) in three different anatomical groups: commissural, projection and association tracts. The tracts regarding FA results are presented in Figure 3.

Results are highly heterogeneous, and most publications reported decreased FA values in white matter tracts (Table 1). The main finding was decreased FA values in commissural and association tracts; particularly in the fronto-limbic tracts (Table 2).⁽⁴⁰⁻⁴²⁾

FA and WM tracts

With respect to the commissural tracts, most authors found decreased FA values in the corpus callosum.^(29-31, 40, 43-47)

Regarding association tracts, five studies found decreased FA values in the cingulum.^(29, 40, 43, 47, 48) With respect to the projection tracts, two studies noted decreased FA in the ATR and one study found decreased FA in the corticospinal tract (CST) (Table 2).

Conversely, three studies reported increased FA values. Wessa et al.⁽⁴⁹⁾ found increased FA values in the medial frontal, precentral, inferior parietal, and occipital white matter. Mahon et al.⁽⁵⁰⁾ observed higher FA levels within the right and left frontal white matter, while Versace et al.⁽⁵¹⁾ observed increased FA in the left uncinate fasciculus (reduced radial diffusivity distally and increased longitudinal diffusivity centrally), left optic radiation (increased longitudinal diffusivity), and right anterior thalamic radiation.

Discussion

Most studies reported decreased FA values in regions involved in emotion processing, such as the commissural tracts, especially the corpus callosum, and the association tracts.^(40-42, 52-55) The latter (association tracts) includes the uncinated fasciculus⁽⁵⁶⁻⁵⁹⁾, the anterior thalamic radiations^(58, 59) and the cingulum.^(43, 56)

The findings of decreased FA values are consistent with the description of BD as a disconnection syndrome.^(60, 61) The two major symptom domains in BD are mood instability and poor cognitive control over executive functions.⁽⁵²⁾ Historically, these regions have been found to be involved in emotional processing. In 1937, Papez⁽⁶²⁾ proposed that emotion regulation is enabled through rich reciprocal connections between parts of the prefrontal cortex with the amygdala, anterior temporal regions, subgenual anterior cingulate cortex, striatum, and thalamus.

Contrary to the main findings, Wessa et al.⁽⁴⁹⁾, Mahon et al.⁽⁵⁰⁾ and Versace et al.⁽⁵¹⁾ found increased FA values in different WM tracts. Although not supported in the literature, a number of variables may explain these results. For example, most of these studies were performed before 2009 and used either fewer DTI directions or older versions of reconstruction software or involved patient selection bias.

The main region exhibiting decreased FA values was the corpus callosum, the major interhemispheric WM connection that integrates emotional, cognitive, motor and sensory information. The anterior CC regions integrate all right and left prefrontal cortex, anterior cingulate and insula-regions implicated in emotional deregulation, a core symptom of BD.

With respect to the association tracts, several studies have reported impairment in white matter connection in patients with BD, most of which indicate impairment occurring in the cingulum^(29, 40, 43, 45, 48) and the uncinate fasciculus (UF)^(40, 46, 51). The cingulum is a complex fiber system that forms a central component of the entire limbic network where the

UF carries association fibers between the medial PFC and the anterior temporal lobe, including the amygdala. These regions have been extensively related to the pathophysiology of BD.⁽⁶³⁻⁶⁵⁾

In projection fibers, three studies described decreased FA values in the anterior thalamic radiation (ATR). The ATR connects the dorsomedial and anterior thalamic nuclei with the prefrontal cortex, and the anterior part of the ATR are connected with the hippocampus through the fornix. Alterations of the connections between the thalamus and the limbic areas may be relevant to cognitive processing and clinical symptoms observed in patients with BD.^(47, 66) Alterations in the fiber integrity of the ATR in BD patients have been previously reported in accordance with functional magnetic resonance imaging (fMRI) and structural findings.⁽¹⁹⁾

It is noted that certain pathways are important and could also be related to the pathophysiology of BD. The fornix is a projection tract that is located underneath the CC and connects the hippocampus with the mammillary body as well as with other cortical and subcortical structures.⁽³⁰⁾ Both structures are part of the limbic system and known to be involved in memory processes. The lack of previous reports regarding fornix alterations in BD, may be due to the anatomic characteristics of the fornix and the spatial resolution of current MRI methods.⁽⁴⁷⁾

Previous investigations have hypothesized that microstructural changes in the WM of the frontal–subcortical circuits lead to a disconnection syndrome between the frontal and subcortical regions.⁽³⁹⁾ These results indicate a direct link between executive cognitive functioning and the abnormal WM microstructural integrity of the fronto-limbic tracts in remitted BD patients, and they add further evidence of the neuronal disruption that underlies the residual symptomatology of BD.

It is not clear whether the number of episodes, length of illness and other clinical progression characteristics are associated with decreased FA values. However, BD has a poorer longer-term outcome than previously thought, with persistent cognitive impairment and functional decline.^(67, 68) The main cognitive impairment has been found to affect executive functions, while moderate cognitive deficits have been observed on other cognitive tests, such as verbal memory, response inhibition, sustained attention, psychomotor speed, abstraction and set-shifting⁽⁶⁹⁾, domains that are intimately correlated with WM and brain connectivity.⁽⁷⁰⁻⁷²⁾

Recently, a neuroinflammatory component has been implicated in the pathophysiology of certain psychiatric disorders⁽⁷³⁾, a plausible explanation as to why WM lesions are present in patients with BD.⁽⁷⁴⁾

Of note, WM is particularly vulnerable to the inflammatory neurotoxic effects of BD.⁽⁷⁵⁾ The cognitive decline along the course of the disease seems to be associated, at least in part, with the vulnerability toward the toxic effects of inflammation.⁽⁷⁵⁾ Additionally, immune disturbances have been linked to BD and symptom severity, mood episodes, staging, effect of medications, metabolic disturbances, neurotrophin alterations, and increased frequency of comorbid autoimmune and allergic disorders.⁽⁷⁶⁾ In this context, DTI findings would be promising for a better understanding of the neurobiological underpinnings of pathophysiology in BD.

Disclosure

The authors report no conflicts of interest.

References

1. Angst J. The emerging epidemiology of hypomania and bipolar II disorder. *J Affect Disord.* 1998;50(2-3):143-51.

2. Narrow WE, Rae DS, Robins LN, Regier DA. Revised prevalence estimates of mental disorders in the United States: using a clinical significance criterion to reconcile 2 surveys' estimates. *Arch Gen Psychiatry*. 2002;59(2):115-23.
3. Goodwin FK, Jamison KR, Ghaemi SN. *Manic-Depressive Illness: Bipolar Disorders and Recurrent Depression*. New York: Oxford University Press; 2007.
4. Murray CJ, Lopez AD. Evidence-based health policy--lessons from the Global Burden of Disease Study. *Science*. 1996;274(5288):740-3.
5. Ketter TA, Houston JP, Adams DH, Risser RC, Meyers AL, Williamson DJ, et al. Differential efficacy of olanzapine and lithium in preventing manic or mixed recurrence in patients with bipolar I disorder based on number of previous manic or mixed episodes. *J Clin Psychiatry*. 2006;67(1):95-101.
6. Swann AC, Bowden CL, Calabrese JR, Dilsaver SC, Morris DD. Differential effect of number of previous episodes of affective disorder on response to lithium or divalproex in acute mania. *Am J Psychiatry*. 1999;156(8):1264-6.
7. Scott J, Paykel E, Morriss R, Bentall R, Kinderman P, Johnson T, et al. Cognitive-behavioural therapy for severe and recurrent bipolar disorders: randomised controlled trial. *Br J Psychiatry*. 2006;188:313-20.
8. Kapczinski F, Magalhães PV, Balanzá-Martinez V, Dias VV, Frangou S, Gama CS, et al. Staging systems in bipolar disorder: an International Society for Bipolar Disorders Task Force Report. *Acta Psychiatr Scand*. 2014;130(5):354-63.
9. Altshuler LL, Post RM, Black DO, Keck PE, Nolen WA, Frye MA, et al. Subsyndromal depressive symptoms are associated with functional impairment in patients with bipolar disorder: results of a large, multisite study. *J Clin Psychiatry*. 2006;67(10):1551-60.
10. Judd LL, Schettler PJ, Solomon DA, Maser JD, Coryell W, Endicott J, et al. Psychosocial disability and work role function compared across the long-term course of bipolar I, bipolar II and unipolar major depressive disorders. *J Affect Disord*. 2008;108(1-2):49-58.
11. Matza LS, Rajagopalan KS, Thompson CL, de Lissovoy G. Misdiagnosed patients with bipolar disorder: comorbidities, treatment patterns, and direct treatment costs. *J Clin Psychiatry*. 2005;66(11):1432-40.
12. Hawton K, Sutton L, Haw C, Sinclair J, Harriss L. Suicide and attempted suicide in bipolar disorder: a systematic review of risk factors. *J Clin Psychiatry*. 2005;66(6):693-704.
13. Goldberg JF, Ernst CL. Features associated with the delayed initiation of mood stabilizers at illness onset in bipolar disorder. *J Clin Psychiatry*. 2002;63(11):985-91.

14. Martinez-Aran A, Vieta E, Torrent C, Sanchez-Moreno J, Goikolea JM, Salamero M, et al. Functional outcome in bipolar disorder: the role of clinical and cognitive factors. *Bipolar Disord.* 2007;9(1-2):103-13.
15. Hayes JF, Miles J, Walters K, King M, Osborn DP. A systematic review and meta-analysis of premature mortality in bipolar affective disorder. *Acta Psychiatr Scand.* 2015;131(6):417-25.
16. Kapczinski F, Vieta E, Andreazza AC, Frey BN, Gomes FA, Tramontina J, et al. Allostatic load in bipolar disorder: implications for pathophysiology and treatment. *Neurosci Biobehav Rev.* 2008;32(4):675-92.
17. Vieta E, Popovic D, Rosa AR, Solé B, Grande I, Frey BN, et al. The clinical implications of cognitive impairment and allostatic load in bipolar disorder. *Eur Psychiatry.* 2013;28(1):21-9.
18. Grande I, Magalhães PV, Kunz M, Vieta E, Kapczinski F. Mediators of allostasis and systemic toxicity in bipolar disorder. *Physiol Behav.* 2012;106(1):46-50.
19. Strakowski SM, Adler CM, Almeida J, Altshuler LL, Blumberg HP, Chang KD, et al. The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a consensus model. *Bipolar Disord.* 2012;14(4):313-25.
20. Womer FY, Kalmar JH, Wang F, Blumberg HP. A Ventral Prefrontal-Amygdala Neural System in Bipolar Disorder: A View from Neuroimaging Research. *Acta Neuropsychiatr.* 2009;21(6):228-38.
21. Gama CS, Kunz M, Magalhães PV, Kapczinski F. Staging and neuroprogression in bipolar disorder: a systematic review of the literature. *Rev Bras Psiquiatr.* 2013;35(1):70-4.
22. Hoge EA, Friedman L, Schulz SC. Meta-analysis of brain size in bipolar disorder. *Schizophr Res.* 1999;37(2):177-81.
23. Vita A, De Peri L, Sacchetti E. Gray matter, white matter, brain, and intracranial volumes in first-episode bipolar disorder: a meta-analysis of magnetic resonance imaging studies. *Bipolar Disord.* 2009;11(8):807-14.
24. Hajek T, Kopecek M, Kozeny J, Gunde E, Alda M, Höschl C. Amygdala volumes in mood disorders--meta-analysis of magnetic resonance volumetry studies. *J Affect Disord.* 2009;115(3):395-410.
25. Pfaffenseller B, Gama CS, Kapczinski F, Duarte JA, Kunz M. Anatomical faces of neuroprogression in bipolar disorder. *Neuropsychiatry* 2012;2(4):2.
26. Haller S, Xekardaki A, Delaloye C, Canuto A, Lövblad KO, Gold G, et al. Combined analysis of grey matter voxel-based morphometry and white matter tract-based spatial statistics in late-life bipolar disorder. *J Psychiatry Neurosci.* 2011;36(6):391-401.

27. Ellison-Wright I, Bullmore E. Anatomy of bipolar disorder and schizophrenia: a meta-analysis. *Schizophr Res.* 2010;117(1):1-12.
28. Selvaraj S, Arnone D, Job D, Stanfield A, Farrow TF, Nugent AC, et al. Grey matter differences in bipolar disorder: a meta-analysis of voxel-based morphometry studies. *Bipolar Disord.* 2012;14(2):135-45.
29. Sarrazin S, Poupon C, Linke J, Wessa M, Phillips M, Delavest M, et al. A multicenter tractography study of deep white matter tracts in bipolar I disorder: psychotic features and interhemispheric disconnectivity. *JAMA Psychiatry.* 2014;71(4):388-96.
30. Oertel-Knöchel V, Reinke B, Alves G, Jurcoane A, Wenzler S, Prvulovic D, et al. Frontal white matter alterations are associated with executive cognitive function in euthymic bipolar patients. *J Affect Disord.* 2014;155:223-33.
31. Oertel-Knöchel V, Reinke B, Feddern R, Knake A, Knöchel C, Prvulovic D, et al. Episodic memory impairments in bipolar disorder are associated with functional and structural brain changes. *Bipolar Disord.* 2014;16(8):830-45.
32. Le Bihan D, Breton E, Lallemand D, Grenier P, Cabanis E, Laval-Jeantet M. MR imaging of intravoxel incoherent motions: application to diffusion and perfusion in neurologic disorders. *Radiology.* 1986;161(2):401-7.
33. Sbardella E, Tona F, Petsas N, Pantano P. DTI Measurements in Multiple Sclerosis: Evaluation of Brain Damage and Clinical Implications. *Mult Scler Int.* 2013;2013:671730.
34. Jellison BJ, Field AS, Medow J, Lazar M, Salamat MS, Alexander AL. Diffusion tensor imaging of cerebral white matter: a pictorial review of physics, fiber tract anatomy, and tumor imaging patterns. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2004;25(3):356-69.
35. Standring S. *Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice* 40 ed. Hardcover: Elsevier; 2008.
36. Faria AV, Oishi K, Mori S. Study of white matter anatomy and 3D tract reconstruction by diffusion tensor imaging. *International Journal of Imaging Systems and Technology Neuroimaging.* 2010;20(1):6.
37. Gray H. *Anatomy : descriptive and surgical:* London : J.W. Parker; 1858. 794 p.
38. Moore KL, Dalley A, Agur A. *Clinically oriented anatomy.* 7 ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2014.
39. Schneider MR, DelBello MP, McNamara RK, Strakowski SM, Adler CM. Neuroprogression in bipolar disorder. *Bipolar Disord.* 2012;14(4):356-74.
40. Maller JJ, Thaveenthiran P, Thomson RH, McQueen S, Fitzgerald PB. Volumetric, cortical thickness and white matter integrity alterations in bipolar disorder type I and II. *J Affect Disord.* 2014;169:118-27.

41. Liu JX, Chen YS, Hsieh JC, Su TP, Yeh TC, Chen LF. Differences in white matter abnormalities between bipolar I and II disorders. *J Affect Disord.* 2010;127(1-3):309-15.
42. Caseras X, Lawrence NS, Murphy K, Wise RG, Phillips ML. Ventral striatum activity in response to reward: differences between bipolar I and II disorders. *Am J Psychiatry.* 2013;170(5):533-41.
43. Emsell L, Leemans A, Langan C, Van Hecke W, Barker GJ, McCarthy P, et al. Limbic and callosal white matter changes in euthymic bipolar I disorder: an advanced diffusion magnetic resonance imaging tractography study. *Biol Psychiatry.* 2013;73(2):194-201.
44. Leow A, Ajilore O, Zhan L, Arienzo D, GadElkarim J, Zhang A, et al. Impaired inter-hemispheric integration in bipolar disorder revealed with brain network analyses. *Biol Psychiatry.* 2013;73(2):183-93.
45. Canales-Rodríguez EJ, Pomarol-Clotet E, Radua J, Sarró S, Alonso-Lana S, Del Mar Bonnín C, et al. Structural abnormalities in bipolar euthymia: a multicontrast molecular diffusion imaging study. *Biol Psychiatry.* 2014;76(3):239-48.
46. Ambrosi E, Rossi-Espagnet MC, Kotzalidis GD, Comparelli A, Del Casale A, Carducci F, et al. Structural brain alterations in bipolar disorder II: a combined voxel-based morphometry (VBM) and diffusion tensor imaging (DTI) study. *J Affect Disord.* 2013;150(2):610-5.
47. Benedetti F, Yeh PH, Bellani M, Radaelli D, Nicoletti MA, Poletti S, et al. Disruption of white matter integrity in bipolar depression as a possible structural marker of illness. *Biol Psychiatry.* 2011;69(4):309-17.
48. Wang F, Jackowski M, Kalmar JH, Chepenik LG, Tie K, Qiu M, et al. Abnormal anterior cingulum integrity in bipolar disorder determined through diffusion tensor imaging. *Br J Psychiatry.* 2008;193(2):126-9.
49. Wessa M, Houenou J, Leboyer M, Chanraud S, Poupon C, Martinot JL, et al. Microstructural white matter changes in euthymic bipolar patients: a whole-brain diffusion tensor imaging study. *Bipolar Disord.* 2009;11(5):504-14.
50. Mahon K, Wu J, Malhotra AK, Burdick KE, DeRosse P, Ardekani BA, et al. A voxel-based diffusion tensor imaging study of white matter in bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology.* 2009;34(6):1590-600.
51. Versace A, Almeida JR, Hassel S, Walsh ND, Novelli M, Klein CR, et al. Elevated left and reduced right orbitomedial prefrontal fractional anisotropy in adults with bipolar disorder revealed by tract-based spatial statistics. *Arch Gen Psychiatry.* 2008;65(9):1041-52.
52. Agarwal N, Port JD, Bazzocchi M, Renshaw PF. Update on the use of MR for assessment and diagnosis of psychiatric diseases. *Radiology.* 2010;255(1):23-41.

53. Adler CM, Holland SK, Schmithorst V, Wilke M, Weiss KL, Pan H, et al. Abnormal frontal white matter tracts in bipolar disorder: a diffusion tensor imaging study. *Bipolar Disord.* 2004;6(3):197-203.
54. Haznedar MM, Roversi F, Pallanti S, Baldini-Rossi N, Schnur DB, Licalzi EM, et al. Fronto-thalamo-striatal gray and white matter volumes and anisotropy of their connections in bipolar spectrum illnesses. *Biol Psychiatry.* 2005;57(7):733-42.
55. Beyer JL, Taylor WD, MacFall JR, Kuchibhatla M, Payne ME, Provenzale JM, et al. Cortical white matter microstructural abnormalities in bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology.* 2005;30(12):2225-9.
56. Versace A, Andreazza AC, Young LT, Fournier JC, Almeida JR, Stiffler RS, et al. Elevated serum measures of lipid peroxidation and abnormal prefrontal white matter in euthymic bipolar adults: toward peripheral biomarkers of bipolar disorder. *Mol Psychiatry.* 2014;19(2):200-8.
57. Benedetti F, Absinta M, Rocca MA, Radaelli D, Poletti S, Bernasconi A, et al. Tract-specific white matter structural disruption in patients with bipolar disorder. *Bipolar Disord.* 2011;13(4):414-24.
58. Lin F, Weng S, Xie B, Wu G, Lei H. Abnormal frontal cortex white matter connections in bipolar disorder: a DTI tractography study. *J Affect Disord.* 2011;131(1-3):299-306.
59. McIntosh AM, Muñoz Maniega S, Lymer GK, McKirdy J, Hall J, Sussmann JE, et al. White matter tractography in bipolar disorder and schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 2008;64(12):1088-92.
60. Basser PJ, Pierpaoli C. Microstructural and physiological features of tissues elucidated by quantitative-diffusion-tensor MRI. *J Magn Reson B.* 1996;111(3):209-19.
61. Sexton CE, Mackay CE, Ebmeier KP. A systematic review of diffusion tensor imaging studies in affective disorders. *Biol Psychiatry.* 2009;66(9):814-23.
62. Papez JW. A proposed mechanism of emotion. *Arch NeurPsych.* 1937;38(4):18.
63. Mahon K, Burdick KE, Szeszko PR. A role for white matter abnormalities in the pathophysiology of bipolar disorder. *Neurosci Biobehav Rev.* 2010;34(4):533-54.
64. Heilbronner SR, Haber SN. Frontal cortical and subcortical projections provide a basis for segmenting the cingulum bundle: implications for neuroimaging and psychiatric disorders. *J Neurosci.* 2014;34(30):10041-54.
65. Brambilla P, Bellani M, Yeh PH, Soares JC, Tansella M. White matter connectivity in bipolar disorder. *Int Rev Psychiatry.* 2009;21(4):380-6.
66. Birbaumer N, Schmidt R. *Biologische Psychologie*: Springer; 2006.

67. Kauer-Sant'Anna M, Kapczinski F, Andreazza AC, Bond DJ, Lam RW, Young LT, et al. Brain-derived neurotrophic factor and inflammatory markers in patients with early- vs. late-stage bipolar disorder. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2009;12(4):447-58.
68. Rosa AR, Magalhães PV, Czepielewski L, Sulzbach MV, Goi PD, Vieta E, et al. Clinical staging in bipolar disorder: focus on cognition and functioning. *J Clin Psychiatry.* 2014;75(5):e450-6.
69. Czepielewski LS, Massuda R, Goi P, Sulzbach-Vianna M, Reckziegel R, Costanzi M, et al. Verbal episodic memory along the course of schizophrenia and bipolar disorder: a new perspective. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2015;25(2):169-75.
70. Charlton RA, Barrick TR, McIntyre DJ, Shen Y, O'Sullivan M, Howe FA, et al. White matter damage on diffusion tensor imaging correlates with age-related cognitive decline. *Neurology.* 2006;66(2):217-22.
71. Bennett IJ, Madden DJ. Disconnected aging: cerebral white matter integrity and age-related differences in cognition. *Neuroscience.* 2014;276:187-205.
72. Debette S, Markus HS. The clinical importance of white matter hyperintensities on brain magnetic resonance imaging: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2010;341:c3666.
73. Berk M, Kapczinski F, Andreazza AC, Dean OM, Giorlando F, Maes M, et al. Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. *Neurosci Biobehav Rev.* 2011;35(3):804-17.
74. Najjar S, Pearlman DM, Alper K, Najjar A, Devinsky O. Neuroinflammation and psychiatric illness. *J Neuroinflammation.* 2013;10:43.
75. Fotuhi M, Do D, Jack C. Modifiable factors that alter the size of the hippocampus with ageing. *Nat Rev Neurol.* 2012;8(4):189-202.
76. Makris N, Worth AJ, Sorensen AG, Papadimitriou GM, Wu O, Reese TG, et al. Morphometry of in vivo human white matter association pathways with diffusion-weighted magnetic resonance imaging. *Ann Neurol.* 1997;42(6):951-62.
77. Wang F, Kalmar JH, He Y, Jackowski M, Chepenik LG, Edmiston EE, et al. Functional and structural connectivity between the perigenual anterior cingulate and amygdala in bipolar disorder. *Biol Psychiatry.* 2009;66(5):516-21.
78. Zanetti MV, Jackowski MP, Versace A, Almeida JR, Hassel S, Duran FL, et al. State-dependent microstructural white matter changes in bipolar I depression. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2009;259(6):316-28.
79. Bruno S, Cercignani M, Ron MA. White matter abnormalities in bipolar disorder: a voxel-based diffusion tensor imaging study. *Bipolar Disord.* 2008;10(4):460-8.

80. Torgerson CM, Irimia A, Leow AD, Bartzokis G, Moody TD, Jennings RG, et al. DTI tractography and white matter fiber tract characteristics in euthymic bipolar I patients and healthy control subjects. *Brain Imaging Behav.* 2013;7(2):129-39.

Table (artigo I) 1 - Diffusion Tensor Imaging Studies in Bipolar Disorder

Study	Patients	Age	BD type I/II/other	Durat. disease (years)	State thymic	Subs. use	Drugs	Tesla Direction	B Value	Software	Voxel size (mm ³)	Measures	Results
Maller et al., 2014 (14)	BD 31 HC 31	43,29 (9,13) 39,58 (10,7)	16/15/0	N/A	N/A	N/A	7 drugs (6.288) BD-I/ 10 (5.738) BD-II	1,5 12	0 /1000	FMRIs Diffusion toolbox/TBSS	0.9x0.9x3	FA, DA, DR	Widespread significant FA differences between controls and all BD subjects primarily along the CC, cingulum bundles, fornices, SLF, ILF/FOFs, thalami, and uncinated fasciculi. There were significant differences in FA and all its constituent values between controls and BD- and BD-2subjects separately.
Knöchel et al., 2014	BD 21 HC 20	35,67 (10,6) 36,90 (11,0)	21/0/0	7,62	Eutimic	N/A	mood stabilizers (n = 21), antidepressants (n = 9), neuroleptics (n = 12), anxiolytics (n = 3)	3 60	0 /1000	TBSS FSL 4.1	3x3x3	FA, MD, DR, DA	Patients with BD showed significantly higher MD, DR, and DA scores in comparison with CONs in the left superior longitudinal fascicle. FA scores were not significantly different between groups.
Sarrazin et al., 2014 (11)	BD 118 HC 86	36.32 (10.4) 37.26 (11.2)	118/0/0	15.57	Eutimic	25 alcohol	lithium (n=39), other mood stabilizers (n= 64), antipsychotics (n=52), antidepressants (n=54)	3 41	0 /1000	Connectomist 2.0 and BrainVisa 4.2	2x2x2	GFA	Compared with controls, BD-I patients had significant reductions in mean generalized fractional anisotropy values along the body and the splenium of the CC, the left cingulum, and the anterior part of the left arcuate fasciculus when controlling for age, gender, and acquisition site. Patients with a history of psychotic features had a lower mean generalized fractional anisotropy value than those without along the body of the CC.
Oertel-Knöchel et al., 2014 (12)	BD 30 HC 32	39,22 (12,3) 39,22 (10,3)	30/0/0	10,2	Eutimic	N/A	8.30 (7.40) medication in years	3 60	0 /1000	FMRIB/MRIST/TBSS	1x1x1	DA, DR, FA, MD	Significantly lower FA values in BD patients than in controls were found. The CC tended to show lower FA and higher DR in BD patients compared with controls. The splenium and the truncus showed significantly lower FA, and the truncus showed higher DR in BD patients compared with controls. FA values were significantly reduced in BD patients in the right thalamic radiation and showed trend level significance in the left anterior thalamic radiation.

Canales-Rodríguez et al., 2014 (19)	BD 40 HC 40	40.6 (8.9) 40.4 (9.3)	40/0/0	15,9	Eutimic	Excluded	39 mood stabilizers (n = 39) or lithium alone in combination with other (n = 30), calproato (n = 2), lamotrigine (n = 2), other (n = 5), antidepressants (n = 9), antipsychotics (n = 22), combination (n = 1)	1.5 55	0 /1500	Brain Extraction Tool (FSL)	2x2x3	FA, MD, PTO, GFA	Significant reductions in FA were observed in the splenium of CC and right insula. There was a widespread pattern of increased MD in gray and white matter tissues including anterior cingulum, left insula, and subcortical nuclei without significant decreases in BD patients. Three of the contrasts (fractional anisotropy, mean diffusivity, and generalized fractional anisotropy) revealed abnormalities in subcortical structures, including the hippocampus, the thalamus and the caudate nucleus.
Ambrosi et al., 2013 (20)	BD 20 HC 21	41,95 (13,1) 34,61 (10,8)	0/20/0	12,6	Eutimic	Excluded	19 lithium (n = 7), anticonvulsants (n = 10), antidepressants (n = 8), antipsychotics (n = 10)	1,5 12	N/A	FSL /FMRIB/TBSS	N/A	FA	Significant and widespread FA reduction in patients with BD-II compared with controls in all major WM tracts studied, including cortico-cortical association tracts, i.e., uncinate, inferiorfronto-occipital, inferior longitudinal, and superior longitudinal fasciculi, interhemispheric tracts, as well as limbic tracts and parahippocampal tract.
Emsell et al., 2013 (17)	BD 35 HC 43	44 (10) 42 (10)	35/0/0	12	Eutimic	7 alcohol	10 (7) years lithium use	1,5 64	0 /1300	Explore DTI	2.5x2.5x2.5	FA, MD, AD, RD	Significant differences between patients and control subjects in FA, MD, and RD in the CC. In the fornix, significant differences were found in MD, AD, and RD. In all of these cases, anisotropy decreased and diffusivity increased in patients compared with control subjects.
Leow et al., 2013 (18)	BD 25 HC 24	41.6 (12.7) 41.6 (10.6)	25/0/0	20.8	Eutimic	N/A	valproic acid (n=7), carbamazepine (n=1), lamotrigine (n=3), antipsychotic (n=14), SSRI antidepressant (n=8), antidepressants (n=5), BDZ (n=3)	3 64	0 /1000	DTI Studio	1x1 x1	FA, MD	Statistically significant group differences in FA including the genu of CC, the body of CC and the splenium of CC. There was no significant group difference in MD for any white matter structure as the genu exhibited higher MD values in the bipolar group.
Loggerson et al., 2013 (17)	BD 27 HC 26	44.2 (12.9) 41.5 (12.1)	27/0/0	23.2	Eutimic	13alcohol 7 drug abuse	antipsychotics (n=16), anticonvulsants (n=15), antidepressants (n=14), benzodiazepines (n=5)	3 64	0 /1000	TrackVis	2x2x2	FA	No differences in fiber FA between BD vs healthy subjects were observed except for reduced FA in one of the corticospinal tracts (CST-R2).

Benedetti et al., 2011 (21)	BD 40	47.79 (13.2)	40/0/0	13.54	Eutimic	Excluded	lithium (n=14)	3 N/A	0 /900	TBSS	1.88x1.87x 2.3	MD, FA, DI, DR	Compared with control subjects, patients showed lower FA in the genu of the CC and in anterior and right superior-posterior corona radiata and higher values of radial diffusivity were found in WM tracts of splenium, genu and body of CC, right mid-dorsal part of the cingulum bundle, left anterior and bilateral superior and posterior corona radiata, bilateral superior longitudinal fasciculus, and right posterior thalamic radiation.
	HC 21	39.86 (11.0)											
Wessa et al., 2009 (23)	BD 22	45.41 (12.6)	14/08/2	22	Eutimic	Excluded	lithium (n=10), anticonvulsants (n=11), atypical antipsychotics (n=5)	1.5 41	0 /700	BrainVisa 3/ TBSS	1.88x1.87x 2.3	MD, FA	Fractional anisotropy was significantly increased in bipolar patients relative to healthy controls in medial frontal, precentral, inferior parietal, and occipital white matter. No group differences in mean diffusivity were found.
	HC 21	42.95 (13.1)											
Wang et al., 2009 (118)	BD 33	30.4 (10.8)	33/0/0	N/A	10 mani/hipoman, depression, 16 euthymic	17 (13 alcohol and/or nine other substances, four other substances)	lithium (n=9), anticonvulsants (n=16), antipsychotics (n=14), antidepressants (n=12), benzodiazepines (n=7)	3 32	0 /1000	WFU Pick Atlas tool	1.5 x1.5 x 1.5	FA	An association was found between pACC-amygdala functional connectivity measurements and the structural integrity of ventro-frontal white matter, including the uncinate fasciculus where FA was significantly decreased in the BD group.
	HC 31	31.8 (9.6)											
Zanetti et al., 2009 (119)	BD 37	34.1 (9.1)	37/0/0	11.6	16 depressed/21 remission	Excluded	Depression: lithium (n=6), valproate (n=6), lamotrigine (n=5), antipsychotics (n=8), antidepressants (n=7), benzodiazepines (n=6). Remission: lithium (n=6), valproate (n=2), carbamazepine (n=3), antipsychotics (n=11), antidepressants (n=9), benzodiazepine (n=4)	3 6	0 /850	Bioimage Suite 2.0	1.6 x 1.6 x 3	FA, MD	Significantly decreased FA and increased MD in bilateral prefronto-limbic-striatal white matter and right inferior fronto-occipital, superior and inferior longitudinal fasciculi were shown in all BD-I patients vs controls and in depressed BD-I patients compared to both controls and remitted BD-I patients. These findings suggest that BD-I depression may be associated with acute microstructural WM changes.
	HC 26	28.8 (9.5)											

Mahon et al., 2009 (120)	BD 30 HC 38	33.4 (8.7) 31.9 (8.6)	25/2/3	N/A	N/A	11 alcohol or other substances	all treated with antidepressants and / or mood stabilizers	1,5 25	0 /1000	DTI Studio	N/A	DA, DR, FA	Voxelwise analysis of the white matter revealed three regions of higher FA in the right and left frontal white matter and on 4 region of lower FA in the left cerebellum in BD patients compared to healthy volunteers. These findings suggest that compared to healthy volunteers, adult patients with BD have higher FA in the bilateral frontal white matter corresponding approximately to fibers of the corticopontine/corticospinal tract and superior longitudinal fasciculus as well as superior thalamic radiation fibers. In addition, FA was lower in the left cerebellar white matter, thus corresponding approximately to the pontine crossing tract, in patients compared to healthy volunteers.
Versace et al., 2008 (121)	BD 21 HC 25	35.9 (8.9) 29.48 (9.4)	31/0/0	N/A	12,29 depressed / 11,82 remission	10 alcohol or other substances	all medicated	3 N/A	0 /850	FSL/TBSS	N/A	N/A	Subjects with BD vs the controls had significantly greater FA in the left uncinate fasciculus (reduced radial diffusivity distally and increased longitudinal diffusivity centrally), left optic radiation (increased longitudinal diffusivity), and right anterior thalamic radiation (no significant diffusivity change). Subjects with BD vs the controls had significantly reduced FA in the right uncinate fasciculus (greater radial diffusivity). Decreased FA was observed in the left optic radiation and in the right anterior thalamic radiation among subjects with BD taking mood stabilizers vs those with BD not taking mood stabilizers, as well as in the left optic radiation among depressed vs remitted subjects with BD.
Wang et al., 2008 (22)	BD 42 HC 42	32.6 (10.1) 28.7 (9.1)	42/0/0	N/A	11 mania/hypom, 9 depres, 22 euthymic	N/A	lithium (n=11), anticonvulsants (n=20), antipsychotics (n=19), antidepressants (n=17), benzodiazepines (n=8), levothyroxine sodium (n=5)	3 32	0 /1000	BioImage Suite	N/A	FA	Fractional anisotropy was significantly decreased in the anterior cingulum in the bipolar disorder group compared with the healthy group; however, fractional anisotropy in the posterior cingulum did not differ significantly between groups.
Wang et al., 2008 (22)	BD 33 HC 40	32 (10.1) 29.2 (9.2)	33/0/0	N/A	7 mania/hypom, 7 depres, 19 euthymic	11 alcohol, 6 substance abuse, 3 other substances	no medication (n=6), lithium (n=8), anticonvulsants (n=17), atypical antipsychotics (n=17), benzodiazepines (n=8)	3 32	0 /1000	BioImage Suite	N/A	FA	Using complementary ROI- and voxel-based DTI methods, we found decreased FA values in the participants with BD compared to those with HC in the anterior and middle CC subregions encompassing the genu, rostral body and the anterior portion of the mid-body.

Bruno et al., 2008 (57)	BD 36	39	25/11/0	13.8	N/A	N/A	lithium (n=23), sodium valproate (n=3), carbamazepine (n=4), lamotrigine(n=3), neuroleptic (n=9)	1.5 7	0 / 700	SPM2	N/A	MD, FA	In the patient group, mean diffusivity was increased in the right posterior frontal and bilateral prefrontal white matter, while FA was increased in the inferior, middle temporal and middle occipital regions.
	HC 28												

BD: bipolar disorder; HC: healthy comparison participants; BD-I: bipolar I disorder; BD-II: bipolar II disorder; FMRI: functional magnetic resonance imaging; TBSS: tract-based spatial statistics; FA: fractional anisotropy; AD: axial diffusivity; RD: radial diffusivity; SLF= superior longitudinal fasciculi; ILF: inferior longitudinal fasciculi; FOFs: fronto-occipital fasciculi; MD: mean diffusivity; GFA: generalized fractional anisotropy; PTO: probability of return to the origin; SSRI: selective serotonin re-uptake inhibitors; BDZ: DISC1-binding zinc finger protein; WFU: Wake Forest University School of Medicine PickAtlas; CC: corpus callosum; WM: white matter; ROI: region of interest; SPM: statistical parametric mapping; N/A: not mentioned in text.

Table (artigo I) 2 - White matter tracts with decreased FA values from DTI studies

White matter tracts	Studies	Main results
Commissural tracts	Maller et al. 2014 ⁴⁰	Corpus callosum Fornix
	Sarrazin et al. 2014 ²⁹	Corpus callosum
	Oertel-Knöchel et al. 2014 ³¹	Corpus callosum Fornix
	Emsell et al. 2013 ⁴³	Corpus callosum
	Leow et al. 2013 ⁴⁴	Corpus callosum
	Canales-Rodríguez et al. 2014 ⁴⁵	Corpus callosum
	Ambrosi et al. 2013 ⁴⁶	Interhemispheric tracts
	Benedetti et al. 2011 ⁴⁷	Corpus callosum
Wang et al. 2008 ⁴⁸	Corpus callosum	
Association tracts	Maller et al. 2014 ⁴⁰	Cingulum bundles Superior longitudinal fasciculi Inferior longitudinal fasciculi Fronto occipital fasciculi Uncinate fasciculi
	Sarrazin et al. 2014 ²⁹	Cingulum Arcuate fasciculus
	Emsell et al. 2013 ⁴³	Cingulum
	Ambrosi et al. 2013 ⁴⁶	Uncinate Inferiorfronto-occipital Inferior longitudinal Superior longitudinal fascicule
	Canales-Rodríguez et al. 2014 ⁴⁵	Cingulum bundle Superior fronto-occipital fasciculus
	Zanetti et al. 2009 ⁷⁸	Prefronto-limbic-striatal white matter Inferior fronto-occipital Inferior longitudinal Superior longitudinal fasciculi
	Versace et al. 2008 ⁵¹	Uncinate fasciculus
	Wang et al. 2008 ⁴⁸	Cingulum
	Bruno et al. 2008 ⁷⁹	Inferior longitudinal fasciculus
Projection tracts	Maller et al. 2014 ⁴⁰	Thalami (not specified)
	Canales-Rodríguez et al. 2014 ⁴⁵	Corona radiata
	Benedetti et al. 2011 ⁴⁷	Corona radiata
	Versace et al. 2008 ⁵¹	Optic radiation Anterorhthalmic radiation
	Oertel-Knöchel et al. 2014 ³¹	Right thalamic radiation
Other tracts	Torgerson et al. 2013 ⁸⁰	Corticospinal tract

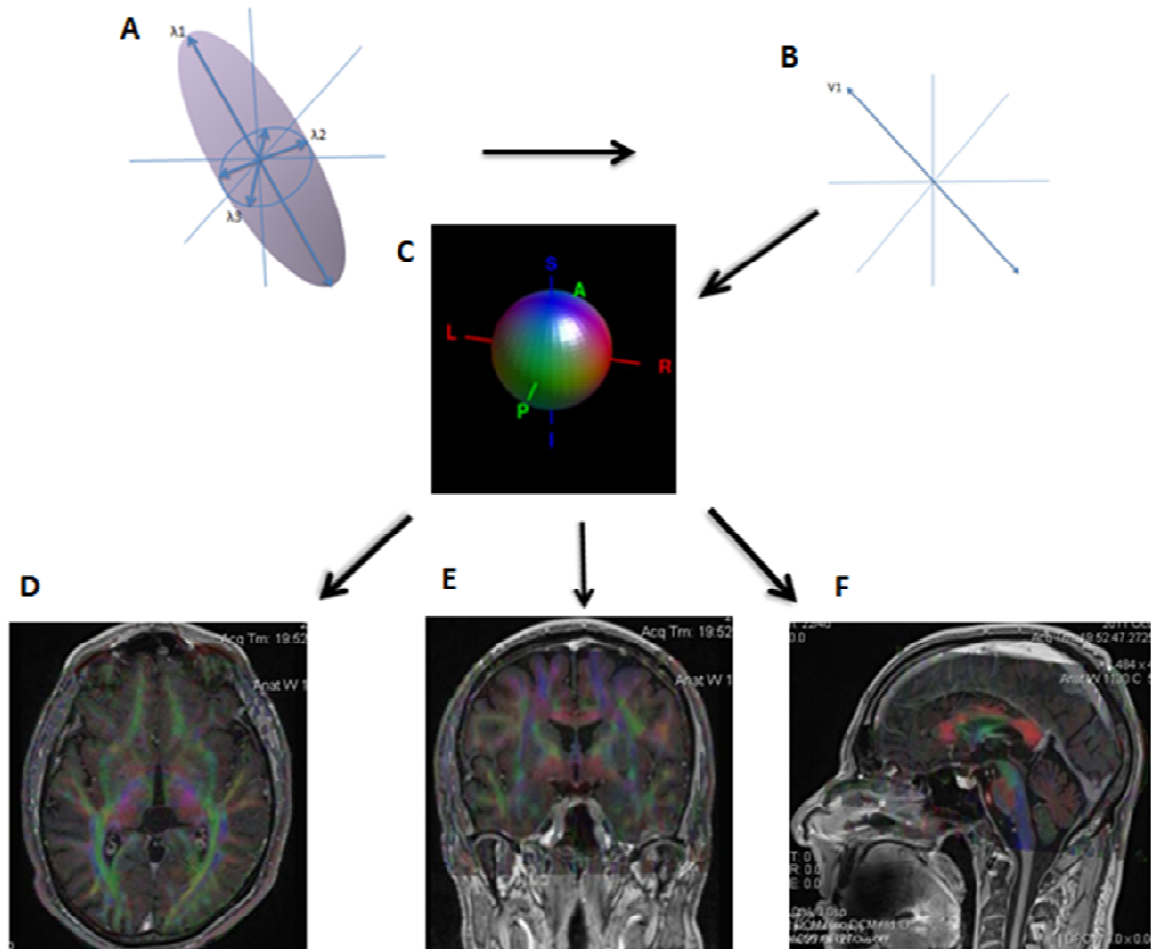


Figure (artigo I) 1. Diffusion measurements along multiple axes; the shape and the orientation of a diffusion ellipsoid is estimated.

From the estimated ellipsoid (A), the orientation of the longest axis can be found (B), which is assumed to represent the local fiber orientation. This orientation information is converted to a color at each pixel. By combining the intensity of the anisotropy map and color, a color-coded orientation map is created (C). The diffusion tensor image map is rendered in the axial (D), coronal (E), and sagittal (F) planes. The color coding depicts the local fiber orientation, that is, the principal eigenvector of the diffusion tensor, with red indicating mediolateral, green denoting anteroposterior, and blue representing superoinferior. The color coding is also indicated by the red-green-blue sphere (C).

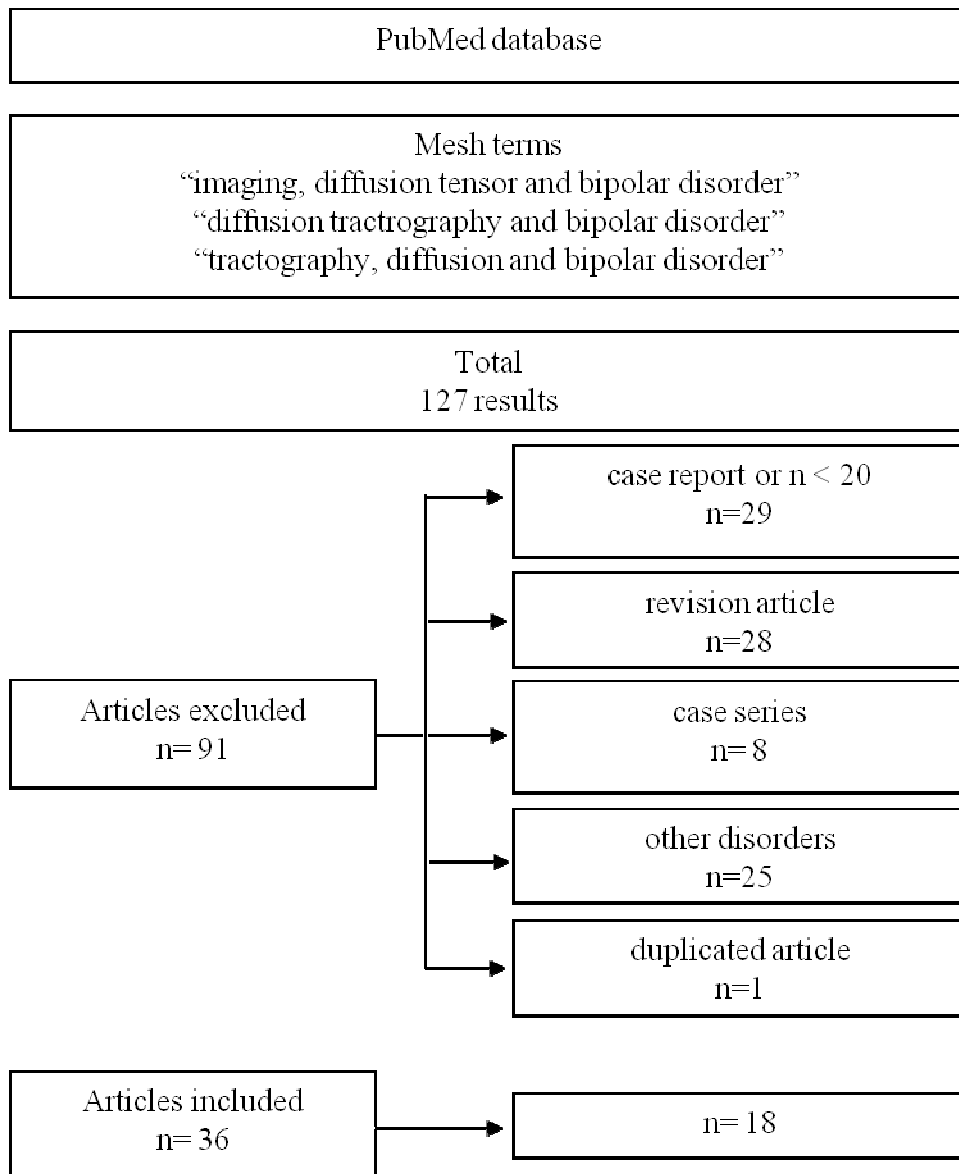


Figure (artigo I) 2. Flowchart of identification and selection of studies for systematic review of DTI and BD.

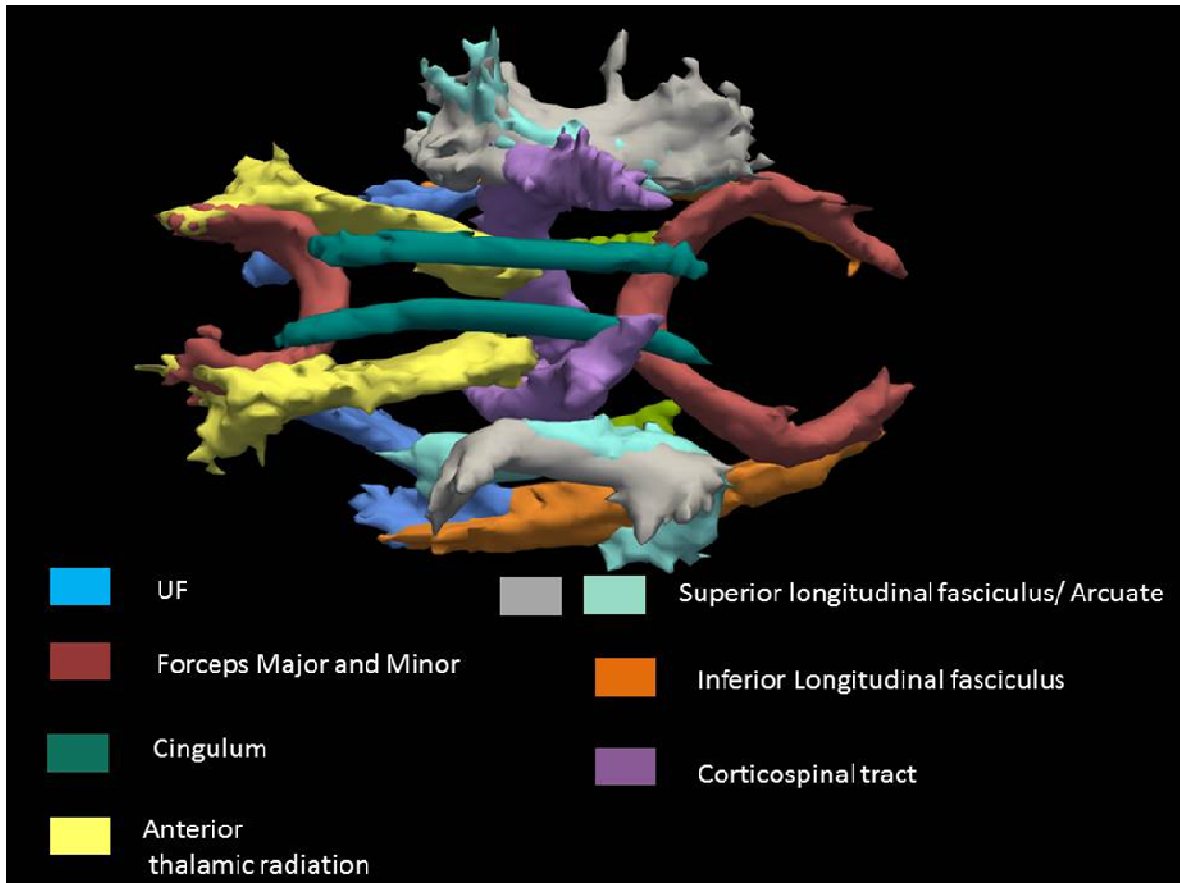


Figure (artigo I) 3. White matter tract reconstruction based on diffusion tensor imaging and the respective authors regarding decreased FA results.

Uncinate fasciculus (UF)^{46, 51, 77}; corpus callosum (CC)/forceps^{29, 31, 40, 43-46, 48, 57}; cingulum^{29, 40, 43, 47, 48}; anterior thalamic radiation (ATR)^{31, 51}; superior longitudinal fasciculus (SLF)^{29, 31, 40, 46, 78}; inferior longitudinal fasciculus (ILF)^{40, 46, 78, 79}; corticospinal.⁸⁰

6.2 ARTIGO 2

Artigo a ser enviado para publicação, na revista Acta Psychiatrica Scandinavica.

White matter and corpus callosum volumes are decreased in patients with bipolar disorder at early and late stages

Juliana Duarte^{a,b}, Raffael Massuda^{b,c}, Pedro D Goi^b, Mireia Viana-Sulzbach^b, Rafael Colombo^{b,c}, Flavio Kapczinski^b, Clarissa S Gama^{b,*}

- a) Department of Radiology and Magnetic Resonance Hospital de Clinicas de Porto Alegre (HCPA). Tomoclínica – Canoas, RS, Brazil.
- b) Laboratory of Molecular Psychiatry, National Science and Technology Institute for Translational Medicine (INCT-TM), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS, Brazil; Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.
- c) Department of Psychiatry, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, Brazil.
- d) University of Caxias do Sul, Caxias do Sul, RS, Brazil - Laboratory of Pharmacology and Physiology.

***Corresponding Author:** Clarissa S Gama, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, R. Ramiro Barcelos, 2350, 90035903, Porto Alegre - RS, Brazil; Phone: +55 51 3359 8845; email: cgama@hcpa.edu.br

Abstract**Objective**

The aim of the present study was to compare differences in global white matter (WM), corpus callosum (CC) and total gray matter (GM) volumes in patients with type I bipolar disorder (BD) at early and late stages compared with controls.

Method

Fifty-five subjects were enrolled to this study protocol. The double case-control design included 14 patients with BD at early stage; 15 patients at late stage and their respective matched controls (14 and 12 subjects).

Results

CC and total WM volumes were significantly smaller in patients with BD at early and late stages. There was no difference for total GM volume at early stage group, but in patients at late stage total GM volume was significantly smaller.

Conclusion

The total GM volume reduction in patients at late stage is in agreement with the neuroprogression theory in BD. The reduction of WM volumes in total WM and in CC in early and late stages support the possibility that an early demyelination process could occur underlying the BD clinical manifestation. Our findings may direct to the investigation of WM in populations at high risk to develop BD, perhaps as early biomarkers before the overt syndrome.

Key words: bipolar disorder; magnetic resonance imaging; affective disorders; staging; biomarkers

Introduction

Bipolar disorder (BD) is a debilitating mood condition that affects approximately 1.3% of people worldwide (1), although some studies report up to 3.9% lifetime prevalence (2) and 4-6% in adults when broad diagnostic criteria are applied (3).

Recurrent episodes influence the outcome of BD by increasing a patient's vulnerability to subsequent episodes and reducing the treatment response (4). An episode-dependent deterioration pattern has been widely described in serum biomarkers (5, 6), brain imaging (7, 8), and functioning (9-13).

Alterations in brain structures have been widely reported in BD; including enlargement of the third and lateral ventricles, reduction in the gray matter volumes of the orbital and medial prefrontal cortex, ventral striatum and mesotemporal cortex (1-3). White matter (WM) through structural volumetric imaging has provided evidence of subtle abnormalities in patients with BD compared to healthy volunteers (14).

The most-studied WM sub-region in BD is the corpus callosum (CC), the largest WM tract that connects the two hemispheres of the brain. Several studies have found that the CC is smaller in patients with BD (15-20). One of them has shown a decrease in volume of the posterior CC in late stage BD, but not in early stage (21).

Previous investigations have hypothesized that microstructural changes in the WM of the frontal-subcortical circuits lead to a disconnection syndrome between the frontal and subcortical regions (5). These network alterations have been associated with cognitive symptoms of BD, suggesting that WM alteration may occur as an early neuropathological process underpinning the overt cognitive decline (22).

In summary, it is not clear whether WM alterations appear early in the course of BD or present an episode-dependent reduction like gray matter (GM). Thus, the aim of the present study was to compare differences in global WM, CC and total GM volumes in patients with type I BD at early and late stages compared with healthy controls.

Methods

Fifty-five subjects were enrolled to this study protocol; twenty-nine patients and twenty-six controls matched for age, gender, education and body mass index (BMI). The double case-control design included 14 patients with BD at early stage (individuals who

exhibit the same status in the interepisodic period as they did before the onset of BD); 15 patients with BD at late stage (individuals who are unable to maintain personal self-care and to live autonomously) and their respective matched controls (14 and 12 subjects). The definition of staging was in accordance with the BD staging model described elsewhere (23).

All subjects were required to be at least age 18 and no older than 60. Written informed consent was obtained from all subjects in accordance with the Declaration of Helsinki and the study protocol was approved by the local ethics committee.

Inclusion criteria for patients were (a) fulfill DSM-IV criteria for bipolar I (24) and (b) meeting criteria of remission defined as a score <7 on the 17-item Hamilton-depression scale (HAM-D, (25) and on the Young mania rating scale (YMRS, (26) for at least one month previous to the assessment. All patients received pharmacological treatment by their psychiatrist according to clinical protocols. Patients with severe clinical illnesses, detected during clinical interviews or during review of medical records, were excluded.

The control group consisted of healthy volunteers who had no current or previous history as well as no first-degree family history of a major psychiatric disorder, including dementia or mental retardation assessed by the non-patient version of the Structured Clinical Interview for DSM-IV (SCID).

The SCID Axis I and Axis II were administered to confirm diagnosis. Sociodemographic, clinical and pharmacological data were collected via a structured interview with the patient and examination of clinical records. The 17-item HAM-D and the YMRS were administered by trained raters to assess depressive and manic symptoms, respectively.

Magnetic resonance imaging (MRI) data were obtained in a Philips Achieva 1.5 Tesla scanner (Amsterdam, the Netherlands). T1 high resolution sagittal 3D MPRAGE (Magnetization Prepared Rapid Acquisition Gradient Echo) were acquired with NEX=1, image matrix=256 x 232, flip angle=8 degrees, echo time=4 ms, repetition time=8.63 ms and voxel size 1 x 1 x 1 mm³ yielding 160 slices.

The cortical and subcortical volumetric segmentations were performed with the Freesurfer image analysis suite v.5.1.0, (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>). This process includes motion correction, removal of non-brain tissue (27), automated Talairach transformation, segmentation of the subcortical WM and deep GM volumetric structures (28, 29) intensity normalization (30), tessellation of the GM/WM boundary, automated

topology correction (31, 32), and surface deformation following intensity gradients to optimally place the gray/white and gray/cerebrospinal fluid borders at the location where the greatest shift in intensity defines the transition to the other tissue class (33-35). Previous studies have shown that subcortical segmentations performed by Freesurfer are reliable when compared to a manual segmentation (28, 36). All images were processed and checked by the same researcher. Intracranial volume was regressed out from volumes of corpus callosum, white and gray matter.

Demographic and clinical characteristics were analyzed using chi-square, Mann-Whitney or T-test. Descriptive analyses are presented as mean (standard deviation) or median (interquartile range) and p-values < 0.05 were considered significant (significance are indicated by * and bold). Appropriated tests for parametric or nonparametric distribution are indicated in Tables 1 and 2.

Results

The subjects' general characteristics are summarized in Table 1. Data of patients with BD are presented in Table 2. CC ($p = 0.035$ for early and $p = 0.028$ for late-stage groups) and total WM volumes (TWMV) ($p = 0.005$ for early, $p = 0.021$ for late stage) were significantly smaller in patients with BD than in controls. There was no difference for total GM volume at early stage group ($p = 0.306$). Total GM volume was significantly smaller in patients with BD at late stage compared to controls ($p = 0.001$). Results of volumes are shown in Figure 1.

Discussion

In our knowledge, this is the first study to examine CC, total WM and total GM volumes in patients with BD at early and late stages compared to matched controls. CC and total WM volumes were decreased in patients with BD at early and late stages; total GM volume was decreased in patients at late stage, but not at early stage when compared to matched controls.

Our findings support the growing body of evidence that patients with BD have smaller total WM volume, particularly CC, comparing to controls and are in accordance with previous studies (16, 37, 38). A meta-analysis of magnetic resonance imaging studies showed reduction for total intracranial and WM volumes in patients with BD at first episode, but not for GM and whole brain volumes (39). These meta-analytical findings are in line with our

results of decreased CC and total WM volumes in patients with BD at early stage, but contrast to others that found decrease of CC volume only in patients at late stage (21).

The hypothesis of different patterns of changes in brain morphology over the course of bipolar disorder (39) is widely supported by many authors (1-3, 14, 40-42). Illness progression or neuroprogression (43), a term that explain the pathological reorganization of central nervous system (CNS) as a consequence of recurrent mood episodes and their influence on BD outcome has been used to explain the vulnerability to subsequent episodes and the changes in the treatment response (4). The neuroprogression pattern has been widely described in serum biomarkers (5, 6), functioning (9-13), cognitive performance (44, 45), and brain imaging (7, 8, 42). The classical brain findings in BD are result of GM reduction, including enlargement of the third and lateral ventricles, reduction in the total GM volumes of the orbital and medial prefrontal cortex, ventral striatum and mesotemporal cortex (1-3). They also seem to be related to the illness progression (42).

On the other hand, a number of studies have shown that the CC may play a significant role in the pathophysiology BD (40, 41) and highlight the importance of WM alterations underpinning the clinical presentation of BD (39). The CC is the main interhemispheric commissure and is crucial for the interhemispheric communication and cognitive processes (40, 41). Abnormalities of the CC may lead to altered interhemispheric communication, which could be relevant for the pathophysiology of the cognitive disturbances present in patients with BD (46-48). It is also possible that reduced CC volume is secondary to abnormalities of glial cells (49). The role of glia, especially oligodendrocytes and the myelin they produce, are essential in achieving and maintaining optimal brain function (50). In humans, approximately 50% of the WM volume is composed of myelin, demonstrating that changes in volume can cause serious functional repercussions (51). The myelination can increase the speed of propagation of electrical information ~100 times. At the same time, there is a 30 fold reduction in the refractory period, increasing the number of action potentials propagate per unit time. Taken together, these changes increase the connectivity and promote an 3000 fold increase in brain processing capacity information, essential functions for the maintenance of cognition (50, 52). The continuum of increasing myelin vulnerability resulting from the human brain's protracted myelination that underlies disease phenotypes have been reported in BD (53).

WM in general and CC seem to be particularly vulnerable to perceived stress (54) and has been shown to be impaired by stressful events and trauma (55, 56). Reductions in CC volume have been demonstrated in both children (57) and adults with post-traumatic stress disorder (PTSD) (58, 59). Although there is robust evidence of gross WM involvement in BD, the origin of these abnormalities remains unclear. Evidence suggests that neuronal metabolic disorders, inflammation and mitochondrial dysfunction are associated with demyelination and functional deterioration in BD (43, 60). Some of these changes may be mediated by decrease in the activity of protein kinase B (Akt), and increase in the activity of glycogen synthase kinase 3 β (GSK-3 β). Activation of GSK-3 β increases inflammation and promotes demyelination, while the inactivation by phosphorylation of this protein acts in the opposite way (50). As a matter of fact, structural MRI studies found abnormalities in volume, signal intensity and microstructure in patients suffering from BD (16, 37, 38).

The increasing attention of WM disruption in other neuropsychiatric conditions, such as multiple sclerosis (MS) has been drawing an analogy considering the inflammatory processes and clinical progression of WM abnormalities. In MS, these alterations of WM appear to be related to pathologic severity (61-65); however, the particular dysfunction in prefrontal modulation of subcortical and medial temporal structures within the anterior limbic network may result in mood deregulation, similar to the clinical presentation of BD (66-68).

As seen in MS, where WM infiltration by immune cells is the major hallmark of the illness (69), in BD there is an inflammatory component well documented (70-74); that could exert deleterious effects on glia components, such as myelin (50, 53, 75, 76) and, further on, in WM, as mentioned before. It has been previously reported that the WM lesions in MS precede the clinical presentation and the functioning and cognitive decline (45, 77). In BD, many WM abnormalities are present at the first episode (39); differently from GM findings, that show an episode-dependent deterioration pattern (42) along with cognitive and functioning decline (13, 44).

In conclusion, even considering the limitations of the sample size and cross-sectional design of this study, the total GM volume reduction in patients at late stage is in agreement with the neuroprogression theory in BD. The reduction of WM volumes in total WM and in CC in early and late stages of the disease is consistent with disconnection syndrome of frontal and subcortical regions described since the early stage of the illness (39). These

findings on WM, added to the current evidence, support the possibility that an early demyelination process could occur underlying the BD symptoms. Our findings, together with current literature, direct to the need to investigate WM in populations at high risk to develop BD, perhaps as early biomarkers before the overt syndrome.

References

1. SMITH DJ, NICHOLL BI, CULLEN B, et al. Prevalence and characteristics of probable major depression and bipolar disorder within UK biobank: cross-sectional study of 172,751 participants. *PLoS One*. 2013;8:e75362.
2. KESSLER RC, BERGLUND P, DEMLER O, JIN R, MERIKANGAS KR, WALTERS EE. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry*. 2005 Jun;62:593-602.
3. JOHNSON KR, JOHNSON SL. Cross-national prevalence and cultural correlates of bipolar I disorder. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*. 2014 Jul;49:1111-7.
4. LEOW A, AJILORE O, ZHAN L, et al. Impaired inter-hemispheric integration in bipolar disorder revealed with brain network analyses. *Biol Psychiatry*. 2013 Jan;73:183-93.
5. OERTEL-KNÖCHEL V, REINKE B, ALVES G, et al. Frontal white matter alterations are associated with executive cognitive function in euthymic bipolar patients. *J Affect Disord*. 2014 Feb;155:223-33.
6. TORGERSON CM, IRIMIA A, LEOW AD, et al. DTI tractography and white matter fiber tract characteristics in euthymic bipolar I patients and healthy control subjects. *Brain Imaging Behav*. 2013 Jun;7:129-39.
7. BENEDETTI F, YE H PH, BELLANI M, et al. Disruption of white matter integrity in bipolar depression as a possible structural marker of illness. *Biol Psychiatry*. 2011 Feb;69:309-17.
8. WESSA M, HOUENOU J, LEBOYER M, et al. Microstructural white matter changes in euthymic bipolar patients: a whole-brain diffusion tensor imaging study. *Bipolar Disord*. 2009 Aug;11:504-14.
9. WANG F, KALMAR JH, HE Y, et al. Functional and structural connectivity between the perigenual anterior cingulate and amygdala in bipolar disorder. *Biol Psychiatry*. 2009 Sep;66:516-21.
10. ZANETTI MV, JACKOWSKI MP, VERSACE A, et al. State-dependent microstructural white matter changes in bipolar I depression. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2009 Sep;259:316-28.
11. MAHON K, WU J, MALHOTRA AK, et al. A voxel-based diffusion tensor imaging study of white matter in bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology*. 2009 May;34:1590-600.
12. VERSACE A, ALMEIDA JR, HASSEL S, et al. Elevated left and reduced right orbitomedial prefrontal fractional anisotropy in adults with bipolar disorder revealed by tract-based spatial statistics. *Arch Gen Psychiatry*. 2008 Sep;65:1041-52.

13. ROSA AR, MAGALHÃES PV, CZEPIELEWSKI L, et al. Clinical staging in bipolar disorder: focus on cognition and functioning. *J Clin Psychiatry*. 2014 May;75:e450-6.
14. MAHON K, BURDICK KE, SZESZKO PR. A role for white matter abnormalities in the pathophysiology of bipolar disorder. *Neurosci Biobehav Rev*. 2010 Mar;34:533-54.
15. ARNONE D, MCINTOSH AM, CHANDRA P, EBMEIER KP. Meta-analysis of magnetic resonance imaging studies of the corpus callosum in bipolar disorder. *Acta Psychiatr Scand*. 2008 Nov;118:357-62.
16. ATMACA M, OZDEMIR H, YILDIRIM H. Corpus callosum areas in first-episode patients with bipolar disorder. *Psychol Med*. 2007 May;37:699-704.
17. BRAMBILLA P, NICOLETTI MA, SASSI RB, et al. Magnetic resonance imaging study of corpus callosum abnormalities in patients with bipolar disorder. *Biol Psychiatry*. 2003 Dec;54:1294-7.
18. COFFMAN JA, BORNSTEIN RA, OLSON SC, SCHWARZKOPF SB, NASRALLAH HA. Cognitive impairment and cerebral structure by MRI in bipolar disorder. *Biol Psychiatry*. 1990 Jun;27:1188-96.
19. HAUSER P, DAUPHINAIS ID, BERRETTINI W, DELISI LE, GELERNTER J, POST RM. Corpus callosum dimensions measured by magnetic resonance imaging in bipolar affective disorder and schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 1989 Nov;26:659-68.
20. WALTERFANG M, WOOD AG, REUTENS DC, et al. Corpus callosum size and shape in first-episode affective and schizophrenia-spectrum psychosis. *Psychiatry Res*. 2009 Jul;173:77-82.
21. LAVAGNINO L, CAO B, MWANGI B, et al. Changes in the corpus callosum in women with late-stage bipolar disorder. *Acta Psychiatr Scand*. 2015 Jun;131:458-64.
22. SCHNEIDER MR, DELBELLO MP, MCNAMARA RK, STRAKOWSKI SM, ADLER CM. Neuroprogression in bipolar disorder. *Bipolar Disord*. 2012 Jun;14:356-74.
23. KAPCZINSKI F, MAGALHÃES PV, BALANZÁ-MARTINEZ V, et al. Staging systems in bipolar disorder: an International Society for Bipolar Disorders Task Force Report. *Acta Psychiatr Scand*. 2014 Nov;130:354-63.
24. FIRST MB, SPITZER RL, GIBBON M, WILLIAMS JB. Structured Clinical Interview for DSM-IV (SCID). New York; 1988.
25. HAMILTON M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1960 Feb;23:56-62.
26. YOUNG RC, BIGGS JT, ZIEGLER VE, MEYER DA. A rating scale for mania: reliability, validity and sensitivity. *Br J Psychiatry*. 1978 Nov;133:429-35.
27. SÉGONNE F, DALE AM, BUSA E, et al. A hybrid approach to the skull stripping problem in MRI. *Neuroimage*. 2004 Jul;22:1060-75.
28. FISCHL B, SALAT DH, BUSA E, et al. Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. *Neuron*. 2002 Jan 31;33:341-55.
29. FISCHL B, SALAT DH, VAN DER KOUWE AJ, et al. Sequence-independent segmentation of magnetic resonance images. *Neuroimage*. 2004;23 Suppl 1:S69-84.

30. SLED JG, ZIJDENBOS AP, EVANS AC. A nonparametric method for automatic correction of intensity nonuniformity in MRI data. *IEEE Trans Med Imaging*. 1998 Feb;17:87-97.
31. FISCHL B, LIU A, DALE AM. Automated manifold surgery: constructing geometrically accurate and topologically correct models of the human cerebral cortex. *IEEE Trans Med Imaging*. 2001 01/;20:70-80.
32. SEGONNE F, PACHECO J, FISCHL B. Geometrically accurate topology-correction of cortical surfaces using nonseparating loops. *IEEE Trans Med Imaging*. 2007 Apr;26:518-29.
33. DALE AM, FISCHL B, SERENO MI. Cortical surface-based analysis. I. Segmentation and surface reconstruction. *Neuroimage*. 1999 Feb;9:179-94.
34. DALE AM, SERENO MI. Improved Localizadon of Cortical Activity by Combining EEG and MEG with MRI Cortical Surface Reconstruction: A Linear Approach. *J Cogn Neurosci*. 1993;5:162-76.
35. FISCHL B, DALE AM. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 Sep;97:11050-5.
36. TAE WS, KIM SS, LEE KU, NAM EC, KIM KW. Validation of hippocampal volumes measured using a manual method and two automated methods (FreeSurfer and IBASPM) in chronic major depressive disorder. *Neuroradiology*. 2008 Jul;50:569-81.
37. BRAMBILLA P, NICOLETTI M, SASSI RB, et al. Corpus callosum signal intensity in patients with bipolar and unipolar disorder. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004 Feb;75:221-5.
38. YURGELUN-TODD DA, SILVERI MM, GRUBER SA, ROHAN ML, PIMENTEL PJ. White matter abnormalities observed in bipolar disorder: a diffusion tensor imaging study. *Bipolar Disord*. 2007 Aug;9:504-12.
39. VITA A, DE PERI L, SACCHETTI E. Gray matter, white matter, brain, and intracranial volumes in first-episode bipolar disorder: a meta-analysis of magnetic resonance imaging studies. *Bipolar Disord*. 2009 Dec;11:807-14.
40. GAZZANIGA MS. Cerebral specialization and interhemispheric communication: does the corpus callosum enable the human condition? *Brain*. 2000 Jul;123 (Pt 7):1293-326.
41. SÁNCHEZ MM, HEARN EF, DO D, RILLING JK, HERNDON JG. Differential rearing affects corpus callosum size and cognitive function of rhesus monkeys. *Brain Res*. 1998 Nov;812:38-49.
42. STRAKOWSKI SM, DELBELLO MP, ZIMMERMAN ME, et al. Ventricular and periventricular structural volumes in first- versus multiple-episode bipolar disorder. *Am J Psychiatry*. 2002 Nov;159:1841-7.
43. BERK M, KAPCZINSKI F, ANDREAZZA AC, et al. Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. *Neurosci Biobehav Rev*. 2011 Jan;35:804-17.
44. LEBOWITZ BK, SHEAR PK, STEED MA, STRAKOWSKI SM. Verbal fluency in mania: relationship to number of manic episodes. *Neuropsychiatry Neuropsychol Behav Neurol*. 2001 2001 Jul-Sep;14:177-82.

45. BURDICK KE, KETTER TA, GOLDBERG JF, CALABRESE JR. Assessing cognitive function in bipolar disorder: challenges and recommendations for clinical trial design. *J Clin Psychiatry*. 2015 Mar;76:e342-50.
46. BORKOWSKA A, RYBAKOWSKI JK. Neuropsychological frontal lobe tests indicate that bipolar depressed patients are more impaired than unipolar. *Bipolar Disord*. 2001 Apr;3:88-94.
47. EL-BADRI SM, ASHTON CH, MOORE PB, MARSH VR, FERRIER IN. Electrophysiological and cognitive function in young euthymic patients with bipolar affective disorder. *Bipolar Disord*. 2001 Apr;3:79-87.
48. WILDER-WILLIS KE, SAX KW, ROSENBERG HL, FLECK DE, SHEAR PK, STRAKOWSKI SM. Persistent attentional dysfunction in remitted bipolar disorder. *Bipolar Disord*. 2001 Apr;3:58-62.
49. ONGÜR D, DREVETS WC, PRICE JL. Glial reduction in the subgenual prefrontal cortex in mood disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Oct;95:13290-5.
50. HAROUTUNIAN V, KATSEL P, ROUSSOS P, DAVIS KL, ALTSHULER LL, BARTZOKIS G. Myelination, oligodendrocytes, and serious mental illness. *Glia*. 2014 Nov;62:1856-77.
51. MILLER DJ, DUKA T, STIMPSON CD, et al. Prolonged myelination in human neocortical evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 Oct;109:16480-5.
52. GRYDELAND H, WALHOVD KB, TAMNES CK, WESTLYE LT, FJELL AM. Intracortical myelin links with performance variability across the human lifespan: results from T1- and T2-weighted MRI myelin mapping and diffusion tensor imaging. *J Neurosci*. 2013 Nov;33:18618-30.
53. WATKINS CC, SAWA A, POMPER MG. Glia and immune cell signaling in bipolar disorder: insights from neuropharmacology and molecular imaging to clinical application. *Transl Psychiatry*. 2014;4:e350.
54. LI H, LI W, WEI D, et al. Examining brain structures associated with perceived stress in a large sample of young adults via voxel-based morphometry. *Neuroimage*. 2014 May;92:1-7.
55. JACKOWSKI AP, DOUGLAS-PALUMBERI H, JACKOWSKI M, et al. Corpus callosum in maltreated children with posttraumatic stress disorder: a diffusion tensor imaging study. *Psychiatry Res*. 2008 Apr;162:256-61.
56. RINNE-ALBERS MA, VAN DER WEE NJ, LAMERS-WINKELMAN F, VERMEIREN RR. Neuroimaging in children, adolescents and young adults with psychological trauma. *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2013 Dec;22:745-55.
57. DE BELLIS MD, KESHAVAN MS, SHIFFLETT H, et al. Brain structures in pediatric maltreatment-related posttraumatic stress disorder: a sociodemographically matched study. *Biol Psychiatry*. 2002 Dec;52:1066-78.
58. KITAYAMA N, BRUMMER M, HERTZ L, QUINN S, KIM Y, BREMNER JD. Morphologic alterations in the corpus callosum in abuse-related posttraumatic stress disorder: a preliminary study. *J Nerv Ment Dis*. 2007 Dec;195:1027-9.
59. VILLARREAL G, HAMILTON DA, GRAHAM DP, et al. Reduced area of the corpus callosum in posttraumatic stress disorder. *Psychiatry Res*. 2004 Sep;131:227-35.

60. BARTZOKIS G, LU PH, HEYDARI P, et al. Multimodal magnetic resonance imaging assessment of white matter aging trajectories over the lifespan of healthy individuals. *Biol Psychiatry*. 2012 Dec;72:1026-34.
61. BENDFELDT K, BLUMHAGEN JO, EGGER H, et al. Spatiotemporal distribution pattern of white matter lesion volumes and their association with regional grey matter volume reductions in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Hum Brain Mapp*. 2010 Oct;31:1542-55.
62. BENDFELDT K, KUSTER P, TRAUD S, et al. Association of regional gray matter volume loss and progression of white matter lesions in multiple sclerosis - A longitudinal voxel-based morphometry study. *Neuroimage*. 2009 Mar;45:60-7.
63. FILIPPI M, AGOSTA F. Magnetization transfer MRI in multiple sclerosis. *J Neuroimaging*. 2007 Apr;17 Suppl 1:22S-6S.
64. VAN WAESBERGHE JH, KAMPHORST W, DE GROOT CJ, et al. Axonal loss in multiple sclerosis lesions: magnetic resonance imaging insights into substrates of disability. *Ann Neurol*. 1999 Nov;46:747-54.
65. SCHMIERER K, SCARAVILLI F, ALTMANN DR, BARKER GJ, MILLER DH. Magnetization transfer ratio and myelin in postmortem multiple sclerosis brain. *Ann Neurol*. 2004 Sep;56:407-15.
66. SARRAZIN S, POUPON C, LINKE J, et al. A multicenter tractography study of deep white matter tracts in bipolar I disorder: psychotic features and interhemispheric disconnectivity. *JAMA Psychiatry*. 2014 Apr;71:388-96.
67. STRAKOWSKI SM, ADLER CM, ALMEIDA J, et al. The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a consensus model. *Bipolar Disord*. 2012 Jun;14:313-25.
68. HALLAHAN B, NEWELL J, SOARES JC, et al. Structural magnetic resonance imaging in bipolar disorder: an international collaborative mega-analysis of individual adult patient data. *Biol Psychiatry*. 2011 Feb;69:326-35.
69. SORENSEN PS. Multiple sclerosis: pathophysiology revisited. *Lancet Neurol*. 2005 Jan;4:9-10.
70. KAPCZINSKI F, DAL-PIZZOL F, TEIXEIRA AL, et al. Peripheral biomarkers and illness activity in bipolar disorder. *J Psychiatr Res*. 2011 Feb;45:156-61.
71. KAPCZINSKI F, DAL-PIZZOL F, TEIXEIRA AL, et al. A systemic toxicity index developed to assess peripheral changes in mood episodes. *Mol Psychiatry*. 2010 Aug;15:784-6.
72. MAES M, SMITH R, SCHARPE S. The monocyte-T-lymphocyte hypothesis of major depression. *Psychoneuroendocrinology*. 1995;20:111-6.
73. STERTZ L, MAGALHÃES PV, KAPCZINSKI F. Is bipolar disorder an inflammatory condition? The relevance of microglial activation. *Curr Opin Psychiatry*. 2013 Jan;26:19-26.
74. HAARMAN BC, RIEMERSMA-VAN DER LEK RF, DE GROOT JC, et al. Neuroinflammation in bipolar disorder - A [(11)C]-(R)-PK11195 positron emission tomography study. *Brain Behav Immun*. 2014 Aug;40:219-25.
75. PFAFFENSELLER B, FRIES GR, WOLLENHAUPT-AGUIAR B, et al. Neurotrophins, inflammation and oxidative stress as illness activity biomarkers in bipolar disorder. *Expert Rev Neurother*. 2013 Jul;13:827-42.

76. GOS T, SCHROETER ML, LESSEL W, et al. S100B-immunopositive astrocytes and oligodendrocytes in the hippocampus are differentially afflicted in unipolar and bipolar depression: a postmortem study. *J Psychiatr Res.* 2013 Nov;47:1694-9.
77. RAHN K, SLUSHER B, KAPLIN A. Cognitive impairment in multiple sclerosis: a forgotten disability remembered. *Cerebrum.* 2012 Nov;2012:14.

Table (artigo II) 1. Characteristics of healthy controls and patients with bipolar disorder (BD)

	<i>Early Stage</i>			<i>Late Stage</i>		
	<i>BD (n=14)</i>	<i>Controls (n=14)</i>	<i>p-value</i>	<i>BD (n=15)</i>	<i>Controls (n=12)</i>	<i>p-value</i>
Sex (Male/Female)	4/10	6/8	0.430 ^a	4/8	8/7	0.299 ^a
Mean age, years (S.D.)	40.79 (14.22)	39.93 (10.03)	0.855 ^b	52.07 (11.08)	52.15 (11.08)	0.985 ^b
Mean number of years at school (S.D.)	10.29 (3.17)	11.18 (2.76)	0.434 ^b	8.17 (2.04)	8.80 (2.37)	0.470 ^b
BMI (S.D.)	26.80 (5.49)	27.50 (3.85)	0.680 ^b	31.31 (6.92)	27.54 (5.67)	0.133 ^b
Marital status						
Single	2 (14.29%)	2 (12.29%)	0.492 ^a	5 (33.33%)	1 (8.33%)	0.367 ^a
Married	10 (71.43%)	10 (71.43%)		5 (33.33%)	7 (58.34%)	
Divorced	1 (7.14%)	2 (14.28%)		3 (20%)	3 (25%)	
Widow(er)	1 (7.14%)	0		2 (13.34%)	1 (8.33%)	
Work situation						
Employed	12 (85.71%)	14 (100%)	0.379 ^a	2 (13.33%)	12 (100%)	0.001*^a
Unemployed	2 (14.29%)	0		2 (13.33%)	0	
Medical benefits	0	0		6 (40%)	0	
Invalidity	0	0		5 (33.34%)	0	

^a Qui-square^b T-Test

S.D. = Standard Deviation

BMI = Body Mass Index

Table (artigo II) 2. Characteristics of patients with bipolar disorder (BD)

	<i>BD early (n=14)</i>	<i>BD late (n=15)</i>	<i>p-value</i>
Illness duration, years (Median, I.R.)	8 (7.5)	18 (23.75)	0.017* ^a
N° of mood episodes (Median, I.R.)	5 (4)	16 (26.5)	<0.0001* ^a
Suicide attempts (Median, I.R.)	2 (0)	1 (1)	0.023* ^a
N° of hospitalizations (Median, I.R.)	2 (2.5)	3 (4)	0.093 ^a
HAM-D (Median, I.R.)	0 (2)	5 (2.5)	0.011* ^a
YMRS (Median, I.R.)	0 (2)	1 (2.5)	0.572
Number of patients that are under:			0.003* ^b
One drug	7 (50%)	0	
Two drugs	6 (42.9%)	5 (33.33%)	
Three drugs	0	5 (33.33%)	
Four drugs	1 (7.1%)	4 (26.67%)	
Five or more drugs	0	1 (6.67%)	
Number of patients under Clozapine	0	5	0.042* ^b
Number of patients under:			
Lithium	9 (64.3%)	5 (41.7%)	
Anticonvulsivants	9 (64.3%)	9 (75%)	
Atypical antipsychotics	6 (42.9%)	12 (100%)	
Typical antipsychotics	0	4 (33.3%)	
Antidepressants	4 (28.6%)	2 (16.7%)	
Benzodiazepines	0	4 (33.3%)	

a Mann-Whitney

b Qui-square

I.R. = Interquartile Range

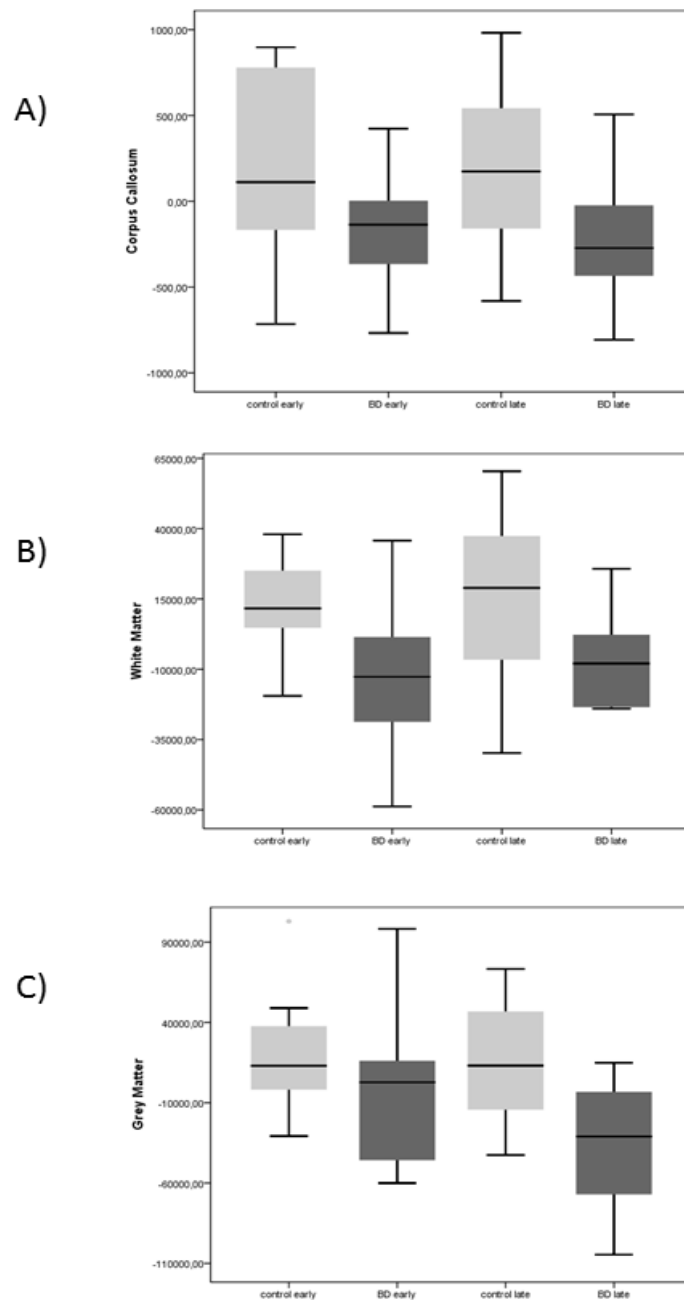


Figure (artigo II) 1. Total corpus callosum, white matter volume and gray matter volume.

A) Box-plot of total corpus callosum size in patients at early and late BD and their matched controls. Median levels are indicated by horizontal lines. Mann-Whitney test was performed to compare groups (control early vs. BD early, $p = 0.035$ and control late vs. BD late, $p = 0.028$). B) Box-plot of total white matter volume in patients with BD and their matched controls. Median levels are indicated by horizontal lines. Mann-Whitney test was performed to compare groups (control early vs. BD early, $p = 0.005$ and control late vs. BD late, $p = 0.021$). C) Box-plot of total gray matter volume in patients with BD and their matched controls. Median levels are indicated by horizontal lines. Mann-Whitney test was performed to compare groups (control early vs. BD early, $p = 0.306$ and control late vs. BD late, $p = 0.001$).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Desde o início dos estudos de neuroimagem na década de 80 em pacientes com transtornos psiquiátricos, especialmente pacientes com TB, já eram descritas alterações estruturais encefálicas tais como redução volumétrica global do encéfalo, dilatação de sulcos subaracnóides e aumento das dimensões dos ventrículos em exames de tomografia computadorizada (TC). A TC, no entanto, por apresentar uma baixa resolução de contraste, tem utilidade limitada na avaliação destes pacientes com TB, podendo demonstrar apenas alterações mais grosseiras, não permitindo a adequada avaliação de estruturas menores como as amígdalas que são de extrema relevância nestes pacientes.

Na década de 90 com a chegada avassaladora dos aparelhos de RM, houve um novo impulso na busca de um biomarcador que pudesse explicar de forma mais consistente e elucidativa a fisiopatologia dos pacientes com TB. Estes estudos iniciais baseavam-se nos mesmos princípios dos estudos realizados com TC, ou seja, na avaliação estrutural das anormalidades encefálicas.

Com o crescente avanço das técnicas modernas de neuroimagem, especialmente utilizando-se a RM, abriu-se um novo horizonte de possibilidades para avaliação de volume de substância branca, cinzenta e de segmentação de estruturas subcorticais, destacando-se as técnicas de baseadas em VBM. Ainda nessa década, surgiram estudos bastante promissores com técnicas de DTI, de transferência de magnetização e de espectroscopia de prótons por RM, com o intuito de analisar mais detalhadamente as alterações microscópicas que ocorrem na substância branca e que já haviam sido amplamente descritas em estudos pós-mortem.

As pesquisas com pacientes psiquiátricos é complexa, uma vez que dependendo do estágio da doença e do estado de eutimia, pode-se não se conseguir um seguimento adequado destes pacientes, o que tem sido repetidamente relatado em outros estudos e que foi observado durante a realização da nossa pesquisa. Outra dificuldade foi parear os pacientes em estágios mais avançados para grau de escolaridade, uma vez que estes pacientes, apesar da idade avançada, geralmente possuem um grau de escolaridade inferior aos controles de mesma idade, devido ao prejuízo causado pela própria doença que se manifesta precocemente geralmente na adolescência, forçando-os a abandonar seus estudos.

Os nossos achados da revisão sistemática são concordantes com os da literatura, sendo que a maioria dos estudos encontrou redução dos valores de FA dos tratos de substância branca das regiões fronto-límbicas. Os resultados da nossa pesquisa são inéditos, pois encontramos redução de volume na substância branca total e no corpo caloso em pacientes com TB nas fases iniciais da doença, bem como nos pacientes em estágios mais avançados. Esses achados podem explicar a síndrome desconectiva que estes pacientes apresentam desde os estágios precoces da doença. Também encontramos redução de volume total da substância cinzenta apenas nos pacientes com TB em estágios mais tardios, o que pode ser a explicação para o declínio cognitivo acentuado que estes pacientes apresentam nas fases finais e que os torna totalmente dependentes.

O TB é um processo dinâmico, que apresenta uma evolução clínica e um deterioro cognitivo proporcional ao número de crises e tempo de doença. A fisiopatologia exata deste processo ainda necessita de investigação, sendo que as alterações genéticas e neuroanatômicas tem demonstrado ser ferramentas promissoras para sua completa elucidação. Os estudos de neuroimagem para avaliação das alterações encefálicas, especialmente da microestrutura da substância branca prometem nos trazer ainda mais informações como tivemos nos últimos 20 anos. Estudos de RM com DTI com mais direções, “connectomes”, avaliação de FA global de todo encéfalo, estudos de volumetria com VBM e os estudos com RM funcional poderão nos fornecer cada vez mais embasamento para a compreensão desta doença. Esperamos que este seja o início de um longo caminho na pesquisa das bases neurofisiopatológicas do TB.

REFERÊNCIAS

1. Pompili M, Harnic D, Gonda X, Forte A, Dominici G, Innamorati M, et al. Impact of living with bipolar patients: Making sense of caregivers' burden. *World J Psychiatry*. 2014;4(1):1-12.
2. Strakowski SM, Adler CM, Almeida J, Altshuler LL, Blumberg HP, Chang KD, et al. The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a consensus model. *Bipolar Disord*. 2012;14(4):313-25.
3. Nasrallah HA, Jacoby CG, McCalley-Whitters M. Cerebellar atrophy in schizophrenia and mania. *Lancet*. 1981;1(8229):1102.
4. Yates WR, Jacoby CG, Andreasen NC. Cerebellar atrophy in schizophrenia and affective disorder. *Am J Psychiatry*. 1987;144(4):465-7.
5. Rothschild AJ, Benes F, Hebben N, Woods B, Luciana M, Bakanas E, et al. Relationships between brain CT scan findings and cortisol in psychotic and nonpsychotic depressed patients. *Biol Psychiatry*. 1989;26(6):565-75.
6. Hallahan B, Newell J, Soares JC, Brambilla P, Strakowski SM, Fleck DE, et al. Structural magnetic resonance imaging in bipolar disorder: an international collaborative mega-analysis of individual adult patient data. *Biol Psychiatry*. 2011;69(4):326-35.
7. Ashburner J, Friston KJ. Voxel-based morphometry--the methods. *Neuroimage*. 2000;11(6 Pt 1):805-21.
8. Phillips ML, Swartz HA. A critical appraisal of neuroimaging studies of bipolar disorder: toward a new conceptualization of underlying neural circuitry and a road map for future research. *Am J Psychiatry*. 2014;171(8):829-43.
9. Piguet C, Fodoulian L, Aubry JM, Vuilleumier P, Houenou J. Bipolar disorder: Functional neuroimaging markers in relatives. *Neurosci Biobehav Rev*. 2015.
10. Learn Genetics. Drug Use Changes the Brain Over Time 2015 [Available from: Available from: mso-bidi-language: AR-SA"><http://learn.genetics.utah.edu/content/addiction/brainchange/>.
11. Sarrazin S, Poupon C, Linke J, Wessa M, Phillips M, Delavest M, et al. A multicenter tractography study of deep white matter tracts in bipolar I disorder: psychotic features and interhemispheric disconnectivity. *JAMA Psychiatry*. 2014;71(4):388-96.
12. Oertel-Knöchel V, Reinke B, Alves G, Jurcoane A, Wenzler S, Prvulovic D, et al. Frontal white matter alterations are associated with executive cognitive function in euthymic bipolar patients. *J Affect Disord*. 2014;155:223-33.
13. Jellison BJ, Field AS, Medow J, Lazar M, Salamat MS, Alexander AL. Diffusion tensor imaging of cerebral white matter: a pictorial review of physics, fiber tract anatomy, and tumor imaging patterns. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2004;25(3):356-69.
14. Maller JJ, Thaveenthiran P, Thomson RH, McQueen S, Fitzgerald PB. Volumetric, cortical thickness and white matter integrity alterations in bipolar disorder type I and II. *J Affect Disord*. 2014;169:118-27.
15. Liu JX, Chen YS, Hsieh JC, Su TP, Yeh TC, Chen LF. Differences in white matter abnormalities between bipolar I and II disorders. *J Affect Disord*. 2010;127(1-3):309-15.
16. Caseras X, Lawrence NS, Murphy K, Wise RG, Phillips ML. Ventral striatum activity in response to reward: differences between bipolar I and II disorders. *Am J Psychiatry*. 2013;170(5):533-41.

17. Emsell L, Leemans A, Langan C, Van Hecke W, Barker GJ, McCarthy P, et al. Limbic and callosal white matter changes in euthymic bipolar I disorder: an advanced diffusion magnetic resonance imaging tractography study. *Biol Psychiatry*. 2013;73(2):194-201.
18. Leow A, Ajilore O, Zhan L, Arienzo D, GadElkarim J, Zhang A, et al. Impaired inter-hemispheric integration in bipolar disorder revealed with brain network analyses. *Biol Psychiatry*. 2013;73(2):183-93.
19. Canales-Rodríguez EJ, Pomarol-Clotet E, Radua J, Sarró S, Alonso-Lana S, Del Mar Bonnín C, et al. Structural abnormalities in bipolar euthymia: a multicontrast molecular diffusion imaging study. *Biol Psychiatry*. 2014;76(3):239-48.
20. Ambrosi E, Rossi-Espagnet MC, Kotzalidis GD, Comparelli A, Del Casale A, Carducci F, et al. Structural brain alterations in bipolar disorder II: a combined voxel-based morphometry (VBM) and diffusion tensor imaging (DTI) study. *J Affect Disord*. 2013;150(2):610-5.
21. Benedetti F, Yeh PH, Bellani M, Radaelli D, Nicoletti MA, Poletti S, et al. Disruption of white matter integrity in bipolar depression as a possible structural marker of illness. *Biol Psychiatry*. 2011;69(4):309-17.
22. Wang F, Jackowski M, Kalmar JH, Chepenik LG, Tie K, Qiu M, et al. Abnormal anterior cingulum integrity in bipolar disorder determined through diffusion tensor imaging. *Br J Psychiatry*. 2008;193(2):126-9.
23. Wessa M, Houenou J, Leboyer M, Chanraud S, Poupon C, Martinot JL, et al. Microstructural white matter changes in euthymic bipolar patients: a whole-brain diffusion tensor imaging study. *Bipolar Disord*. 2009;11(5):504-14.
24. Johnson KR, Johnson SL. Cross-national prevalence and cultural correlates of bipolar I disorder. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*. 2014;49(7):1111-7.
25. Kessler RC, Berglund P, Demler O, Jin R, Merikangas KR, Walters EE. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry*. 2005;62(6):593-602.
26. Smith DJ, Nicholl BI, Cullen B, Martin D, Ul-Haq Z, Evans J, et al. Prevalence and characteristics of probable major depression and bipolar disorder within UK biobank: cross-sectional study of 172,751 participants. *PLoS One*. 2013;8(11):e75362.
27. Mahon K, Burdick KE, Szeszko PR. A role for white matter abnormalities in the pathophysiology of bipolar disorder. *Neurosci Biobehav Rev*. 2010;34(4):533-54.
28. Martínez-Arán A, Vieta E, Colom F, Torrent C, Sánchez-Moreno J, Reinares M, et al. Cognitive impairment in euthymic bipolar patients: implications for clinical and functional outcome. *Bipolar Disord*. 2004;6(3):224-32.
29. Martínez-Arán A, Vieta E, Reinares M, Colom F, Torrent C, Sánchez-Moreno J, et al. Cognitive function across manic or hypomanic, depressed, and euthymic states in bipolar disorder. *Am J Psychiatry*. 2004;161(2):262-70.
30. Kessing LV. Cognitive impairment in the euthymic phase of affective disorder. *Psychol Med*. 1998;28(5):1027-38.
31. Kapczinski F, Magalhães PV, Balanzá-Martinez V, Dias VV, Frangou S, Gama CS, et al. Staging systems in bipolar disorder: an International Society for Bipolar Disorders Task Force Report. *Acta Psychiatr Scand*. 2014;130(5):354-63.
32. Kapczinski F, Dias VV, Kauer-Sant'Anna M, Frey BN, Grassi-Oliveira R, Colom F, et al. Clinical implications of a staging model for bipolar disorders. *Expert Rev Neurother*. 2009;9(7):957-66.

33. Gama CS, Kunz M, Magalhães PV, Kapczinski F. Staging and neuroprogression in bipolar disorder: a systematic review of the literature. *Rev Bras Psiquiatr.* 2013;35(1):70-4.
34. Papez JW. A proposed mechanism of emotion. *Arch NeurPsych.* 1937;38(4):18.
35. Morfofisiologia Neurolocomotora. Estruturas cerebrais e suas funções: Sistema límbico 2014 [Available from: <https://morfofisiologianeurolocomotora.wordpress.com/tag/sistema-limbico/> Available from: Available from: <https://morfofisiologianeurolocomotora.wordpress.com/tag/sistema-limbico/> font-family:"Arial", "sans-serif"]
36. Netter FH. Atlas de Anatomia Humana. 2 ed. Porto Alegre: Artemed; 2000.
37. Dalgleish T. The emotional brain. *Nat Rev Neurosci.* 2004;5(7):583-9.
38. Barger N, Hanson KL, Teffer K, Schenker-Ahmed NM, Semendeferi K. Evidence for evolutionary specialization in human limbic structures. *Front Hum Neurosci.* 2014;8:277.
39. Hesselink J. The temporal lobe and limbic system 2015 [Available from: <http://spinwarp.ucsd.edu/NeuroWeb/Text/br-800epi.htm>].
40. Nolte J. The Human Brain An Introduction to its Functional Anatomy. Orlando, FL Mosby; 1998.
41. IMAIOS. Corte frontal do cérebro 2015 [Available from: <https://www.imaios.com/br/e-Anatomy/Cabeca-e-Pescoco/Cerebro-diagramas>].
42. Toni R, Malaguti A, Benfenati F, Martini L. The human hypothalamus: a morpho-functional perspective. *J Endocrinol Invest.* 2004;27(6 Suppl):73-94.
43. Ballantine HT, Cassidy WL, Flanagan NB, Marino R. Stereotaxic anterior cingulotomy for neuropsychiatric illness and intractable pain. *J Neurosurg.* 1967;26(5):488-95.
44. Bloch F. Nuclear induction. *Phys Rev.* 1946;70(7-8):14.
45. Purcell EM, Torrey HC, Pound RV. Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid. *Phys Rev.* 1946;69:1.
46. Mazzola A. Ressonância magnética: princípios e formação da imagem e aplicações em imagem funcional. *Revista Brasileira de Física Médica.* 2009;3(1):12.
47. Foster MA. Magnetic resonance in medicine and biology. New York: Pergamon Press; 1984.
48. Puddephat M. The principles of magnetic resonance imaging 2015 [Available from: Available from: <http://www.voxelcube.com/articles/1/the-principles-of-magnetic-resonance-imaging> mso-bidi-language:AR-SA"]
49. Bushong S. Magnetic Resonance Imaging: Physical and Biological Principles. St. Louis, MO: Mosby; 2003.
50. Huettal S, Song A, McCarthy G. Functional magnetic resonance imaging. Sunderland MA: Sinauer Associates 2003.
51. Besson JA, Henderson JG, Foreman EI, Smith FW. An NMR study of lithium responding manic depressive patients. *Magn Reson Imaging.* 1987;5(4):273-7.
52. Nasrallah HA, Coffman JA, Olson SC. Structural brain-imaging findings in affective disorders: an overview. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 1989;1(1):21-6.
53. Strakowski SM, DelBello MP, Sax KW, Zimmerman ME, Shear PK, Hawkins JM, et al. Brain magnetic resonance imaging of structural abnormalities in bipolar disorder. *Arch Gen Psychiatry.* 1999;56(3):254-60.

54. Hammers A, Allom R, Koeppe MJ, Free SL, Myers R, Lemieux L, et al. Three-dimensional maximum probability atlas of the human brain, with particular reference to the temporal lobe. *Hum Brain Mapp.* 2003;19(4):224-47.
55. Foland-Ross LC, Thompson PM, Sugar CA, Madsen SK, Shen JK, Penfold C, et al. Investigation of cortical thickness abnormalities in lithium-free adults with bipolar I disorder using cortical pattern matching. *Am J Psychiatry.* 2011;168(5):530-9.
56. Bora E, Fornito A, Yücel M, Pantelis C. Voxelwise meta-analysis of gray matter abnormalities in bipolar disorder. *Biol Psychiatry.* 2010;67(11):1097-105.
57. Bruno S, Cercignani M, Ron MA. White matter abnormalities in bipolar disorder: a voxel-based diffusion tensor imaging study. *Bipolar Disord.* 2008;10(4):460-8.
58. de Boer RW. Magnetization transfer contrast: *Medica Mundi*; 1992.
59. Beaulieu C. The basis of anisotropic water diffusion in the nervous system - a technical review. *NMR Biomed.* 2002;15(7-8):435-55.
60. Yendiki A. Introduction to diffusion MRI 2013 [Available from: <ftp.nmr.mgh.harvard.edu/pub/docs/dmri,fs.ppt>].
61. Adler CM, Holland SK, Schmithorst V, Wilke M, Weiss KL, Pan H, et al. Abnormal frontal white matter tracts in bipolar disorder: a diffusion tensor imaging study. *Bipolar Disord.* 2004;6(3):197-203.
62. McCrea SM. Bipolar disorder and neurophysiologic mechanisms. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2008;4(6):1129-53.
63. Mori S, Crain BJ, Chacko VP, van Zijl PC. Three-dimensional tracking of axonal projections in the brain by magnetic resonance imaging. *Ann Neurol.* 1999;45(2):265-9.
64. Mazziotta JC, Toga AW, Evans A, Fox P, Lancaster J. A probabilistic atlas of the human brain: theory and rationale for its development. The International Consortium for Brain Mapping (ICBM). *Neuroimage.* 1995;2(2):89-101.
65. Evans AC, Collins DL, Milner B. An MRI-based stereotactic atlas from 250 young normal subjects. *Journal Soc Neurosci.* 1992;18.
66. Evans AC, Collins DL, Mills SR, Brown ED, Kelly RL, Peters TM, editors. 3D statistical neuroanatomical models from 305 MRI volumes. *Proc IEEE-Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference*; 1993.
67. Lancaster JL, Woldorff MG, Parsons LM, Liotti M, Freitas CS, Rainey L, et al. Automated Talairach atlas labels for functional brain mapping. *Hum Brain Mapp.* 2000;10(3):120-31.
68. Lancaster JL, Rainey LH, Summerlin JL, Freitas CS, Fox PT, Evans AC, et al. Automated labeling of the human brain: a preliminary report on the development and evaluation of a forward-transform method. *Hum Brain Mapp.* 1997;5(4):238-42.
69. Wright IC, McGuire PK, Poline JB, Traverso JM, Murray RM, Frith CD, et al. A voxel-based method for the statistical analysis of gray and white matter density applied to schizophrenia. *Neuroimage.* 1995;2(4):244-52.
70. Talairach J, Tournoux P. *Co-planar Stereotaxic Atlas of the Human Brain: 3-Dimensional Proportional System - an Approach to Cerebral Imaging.* New York, NY: Thieme Medical Publishers; 1988.
71. Ohnishi T, Matsuda H, Tabira T, Asada T, Uno M. Changes in brain morphology in Alzheimer disease and normal aging: is Alzheimer disease an exaggerated aging process? *AJNR Am J Neuroradiol.* 2001;22(9):1680-5.
72. Performing a semimanual transformation on datasets to the Talairach coordinate system [Available from:

http://mipav.cit.nih.gov/pubwiki/index.php/Task_1_Performing_a_semimanual_transformation_on_datasets_to_the_Talairach_coordinate_system.

73. Stanfield AC, Moorhead TW, Job DE, McKirdy J, Sussmann JE, Hall J, et al. Structural abnormalities of ventrolateral and orbitofrontal cortex in patients with familial bipolar disorder. *Bipolar Disord*. 2009;11(2):135-44.
74. Bruno SD, Barker GJ, Cercignani M, Symms M, Ron MA. A study of bipolar disorder using magnetization transfer imaging and voxel-based morphometry. *Brain*. 2004;127(Pt 11):2433-40.
75. McIntosh AM, Job DE, Moorhead TW, Harrison LK, Lawrie SM, Johnstone EC. White matter density in patients with schizophrenia, bipolar disorder and their unaffected relatives. *Biol Psychiatry*. 2005;58(3):254-7.
76. Murray RM, Sham P, Van Os J, Zanelli J, Cannon M, McDonald C. A developmental model for similarities and dissimilarities between schizophrenia and bipolar disorder. *Schizophr Res*. 2004;71(2-3):405-16.
77. Davis KA, Kwon A, Cardenas VA, Deicken RF. Decreased cortical gray and cerebral white matter in male patients with familial bipolar I disorder. *J Affect Disord*. 2004;82(3):475-85.
78. Farrow TF, Hunter MD, Wilkinson ID, Green RD, Spence SA. Structural brain correlates of unconstrained motor activity in people with schizophrenia. *Br J Psychiatry*. 2005;187:481-2.
79. Lyoo IK, Lee HK, Jung JH, Noam GG, Renshaw PF. White matter hyperintensities on magnetic resonance imaging of the brain in children with psychiatric disorders. *Compr Psychiatry*. 2002;43(5):361-8.
80. Pillai JJ, Friedman L, Stuve TA, Trinidad S, Jesberger JA, Lewin JS, et al. Increased presence of white matter hyperintensities in adolescent patients with bipolar disorder. *Psychiatry Res*. 2002;114(1):51-6.
81. Ahearn EP, Speer MC, Chen YT, Steffens DC, Cassidy F, Van Meter S, et al. Investigation of Notch3 as a candidate gene for bipolar disorder using brain hyperintensities as an endophenotype. *Am J Med Genet*. 2002;114(6):652-8.
82. Kieseppä T, van Erp TG, Haukka J, Partonen T, Cannon TD, Poutanen VP, et al. Reduced left hemispheric white matter volume in twins with bipolar I disorder. *Biol Psychiatry*. 2003;54(9):896-905.
83. Hasler G, Drevets WC, Gould TD, Gottesman II, Manji HK. Toward constructing an endophenotype strategy for bipolar disorders. *Biol Psychiatry*. 2006;60(2):93-105.
84. Le Bihan D. Looking into the functional architecture of the brain with diffusion MRI. *Nat Rev Neurosci*. 2003;4(6):469-80.
85. Adler CM, DelBello MP, Jarvis K, Levine A, Adams J, Strakowski SM. Voxel-based study of structural changes in first-episode patients with bipolar disorder. *Biol Psychiatry*. 2007;61(6):776-81.
86. Frazier JA, Breeze JL, Papadimitriou G, Kennedy DN, Hodge SM, Moore CM, et al. White matter abnormalities in children with and at risk for bipolar disorder. *Bipolar Disord*. 2007;9(8):799-809.
87. Yurgelun-Todd DA, Silveri MM, Gruber SA, Rohan ML, Pimentel PJ. White matter abnormalities observed in bipolar disorder: a diffusion tensor imaging study. *Bipolar Disord*. 2007;9(5):504-12.
88. Haznedar MM, Roversi F, Pallanti S, Baldini-Rossi N, Schnur DB, Licalzi EM, et al. Fronto-thalamo-striatal gray and white matter volumes and anisotropy of their connections in bipolar spectrum illnesses. *Biol Psychiatry*. 2005;57(7):733-42.

89. Beyer JL, Taylor WD, MacFall JR, Kuchibhatla M, Payne ME, Provenzale JM, et al. Cortical white matter microstructural abnormalities in bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology*. 2005;30(12):2225-9.
90. Vederine FE, Wessa M, Leboyer M, Houenou J. A meta-analysis of whole-brain diffusion tensor imaging studies in bipolar disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011;35(8):1820-6.
91. Tkachev D, Mimmack ML, Ryan MM, Wayland M, Freeman T, Jones PB, et al. Oligodendrocyte dysfunction in schizophrenia and bipolar disorder. *Lancet*. 2003;362(9386):798-805.
92. Uranova NA, Vostrikov VM, Orlovskaya DD, Rachmanova VI. Oligodendroglial density in the prefrontal cortex in schizophrenia and mood disorders: a study from the Stanley Neuropathology Consortium. *Schizophr Res*. 2004;67(2-3):269-75.
93. Rajkowska G, Halaris A, Selemon LD. Reductions in neuronal and glial density characterize the dorsolateral prefrontal cortex in bipolar disorder. *Biol Psychiatry*. 2001;49(9):741-52.
94. Strakowski SM, Wilson DR, Tohen M, Woods BT, Douglass AW, Stoll AL. Structural brain abnormalities in first-episode mania. *Biol Psychiatry*. 1993;33(8-9):602-9.
95. Aylward EH, Reiss A, Barta PE, Tien A, Han W, Lee J, et al. Magnetic resonance imaging measurement of posterior fossa structures in schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 1994;151(10):1448-52.
96. Ahn KH, Lyoo IK, Lee HK, Song IC, Oh JS, Hwang J, et al. White matter hyperintensities in subjects with bipolar disorder. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2004;58(5):516-21.
97. Norris SD, Krishnan KR, Ahearn E. Structural changes in the brain of patients with bipolar affective disorder by MRI: a review of the literature. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 1997;21(8):1323-37.
98. Stoll AL, Renshaw PF, Yurgelun-Todd DA, Cohen BM. Neuroimaging in bipolar disorder: what have we learned? *Biol Psychiatry*. 2000;48(6):505-17.
99. Moore PB, Shepherd DJ, Eccleston D, Macmillan IC, Goswami U, McAllister VL, et al. Cerebral white matter lesions in bipolar affective disorder: relationship to outcome. *Br J Psychiatry*. 2001;178:172-6.
100. Soares JC, Mann JJ. The anatomy of mood disorders--review of structural neuroimaging studies. *Biol Psychiatry*. 1997;41(1):86-106.
101. Taylor WD, Payne ME, Krishnan KR, Wagner HR, Provenzale JM, Steffens DC, et al. Evidence of white matter tract disruption in MRI hyperintensities. *Biol Psychiatry*. 2001;50(3):179-83.
102. Hajek T, Carrey N, Alda M. Neuroanatomical abnormalities as risk factors for bipolar disorder. *Bipolar Disord*. 2005;7(5):393-403.
103. First MB, Spitzer RL, Gibbon M, Williams J, W B. Structured Clinical Interview for DSM-IV-TR Axis I Disorders, Research Version, Patient Edition. . New York Biometrics Research, New York State Psychiatric Institute 2002.
104. Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1960;23:56-62.
105. Young RC, Biggs JT, Ziegler VE, Meyer DA. A rating scale for mania: reliability, validity and sensitivity. *Br J Psychiatry*. 1978;133:429-35.
106. Rosa AR, Sánchez-Moreno J, Martínez-Aran A, Salamero M, Torrent C, Reinares M, et al. Validity and reliability of the Functioning Assessment Short Test (FAST) in bipolar disorder. *Clin Pract Epidemiol Ment Health*. 2007;3:5.

107. Sebastiani G, Gkouvatsos K, Pantopoulos K. Chronic hepatitis C and liver fibrosis. *World J Gastroenterol*. 2014;20(32):11033-53.
108. Vettiyil B, Gupta N, Kumar R. Positron emission tomography imaging in sarcoidosis. *World J Nucl Med*. 2013;12(3):82-6.
109. Kapczinski F, Streb LG. Neuroprogression and staging in psychiatry: historical considerations. *Rev Bras Psiquiatr*. 2014;36(3):187-8.
110. Insel T, Cuthbert B, Garvey M, Heinssen R, Pine DS, Quinn K, et al. Research domain criteria (RDoC): toward a new classification framework for research on mental disorders. *Am J Psychiatry*. 2010;167(7):748-51.
111. Scott J, Leboyer M, Hickie I, Berk M, Kapczinski F, Frank E, et al. Clinical staging in psychiatry: a cross-cutting model of diagnosis with heuristic and practical value. *Br J Psychiatry*. 2013;202(4):243-5.
112. Kempton MJ, Geddes JR, Ettinger U, Williams SC, Grasby PM. Meta-analysis, database, and meta-regression of 98 structural imaging studies in bipolar disorder. *Arch Gen Psychiatry*. 2008;65(9):1017-32.
113. Monkul ES, Malhi GS, Soares JC. Anatomical MRI abnormalities in bipolar disorder: do they exist and do they progress? *Aust N Z J Psychiatry*. 2005;39(4):222-6.
114. Phillips ML, Vieta E. Identifying functional neuroimaging biomarkers of bipolar disorder: toward DSM-V. *Schizophr Bull*. 2007;33(4):893-904.
115. Rosa AR, Magalhães PV, Czepielewski L, Sulzbach MV, Goi PD, Vieta E, et al. Clinical staging in bipolar disorder: focus on cognition and functioning. *J Clin Psychiatry*. 2014;75(5):e450-6.
116. Oertel-Knöchel V, Reinke B, Feddern R, Knake A, Knöchel C, Prvulovic D, et al. Episodic memory impairments in bipolar disorder are associated with functional and structural brain changes. *Bipolar Disord*. 2014;16(8):830-45.
117. Torgerson CM, Irimia A, Leow AD, Bartzokis G, Moody TD, Jennings RG, et al. DTI tractography and white matter fiber tract characteristics in euthymic bipolar I patients and healthy control subjects. *Brain Imaging Behav*. 2013;7(2):129-39.
118. Wang F, Kalmar JH, He Y, Jackowski M, Chepenik LG, Edmiston EE, et al. Functional and structural connectivity between the perigenual anterior cingulate and amygdala in bipolar disorder. *Biol Psychiatry*. 2009;66(5):516-21.
119. Zanetti MV, Jackowski MP, Versace A, Almeida JR, Hassel S, Duran FL, et al. State-dependent microstructural white matter changes in bipolar I depression. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2009;259(6):316-28.
120. Mahon K, Wu J, Malhotra AK, Burdick KE, DeRosse P, Ardekani BA, et al. A voxel-based diffusion tensor imaging study of white matter in bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology*. 2009;34(6):1590-600.
121. Versace A, Almeida JR, Hassel S, Walsh ND, Novelli M, Klein CR, et al. Elevated left and reduced right orbitomedial prefrontal fractional anisotropy in adults with bipolar disorder revealed by tract-based spatial statistics. *Arch Gen Psychiatry*. 2008;65(9):1041-52.