

ESCOLA DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO PEDIATRIA E SAÚDE DA CRIANÇA
MESTRADO EM PEDIATRIA E SAÚDE DA CRIANÇA

RICARDO PESSINI PAGANIN

**ESTUDO DA RELAÇÃO DA OBESIDADE NA ADOLESCÊNCIA COM
ALTERAÇÕES DA CONECTIVIDADE CEREBRAL POR RESSONÂNCIA
MAGNÉTICA FUNCIONAL EM ESTADO DE REPOUSO**

Porto Alegre
2017

PÓS-GRADUAÇÃO - *STRICTO SENSU*



Pontifícia Universidade Católica
do Rio Grande do Sul

Ricardo Pessini Paganin

**Estudo Da Relação Da Obesidade Na Adolescência Com Alterações Da
Conectividade Cerebral Por Ressonância Magnética Funcional Em Estado De
Repouso**

Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de pós-graduação em Pediatria e Saúde da Criança do Instituto de Pesquisas Biomédicas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC-RS) como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Pediatria e Saúde da Criança

Orientador: Prof. Dr. Matteo Baldisserotto
Co-Orientador: Prof. Dr. Alexandre Rosa Franco

Porto Alegre, 2017

Ficha Catalográfica

P129 Paganin, Ricardo Pessini

Estudo Da Relação Da Obesidade Na Adolescência Com Alterações Da Conectividade Cerebral Por Ressonância Magnética Funcional Em Estado De Repouso / Ricardo Pessini Paganin . – 2017.

69 f.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina/Pediatria e Saúde da Criança, PUCRS.

Orientador: Prof. Dr. Matteo Baldisserotto.

Co-orientador: Prof. Dr. Alexandre Rosa Franco.

1. Obesidade. 2. Ressonância Funcional. 3. Adiposidade Visceral. 4. Ressonância Funcional em Estado de Repouso. 5. Obesidade em Adolescentes. I. Baldisserotto, Matteo. II. Franco, Alexandre Rosa. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da PUCRS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Ricardo Pessini Paganin

Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de pós-graduação em
Pediatria e Saúde da Criança do Instituto de Pesquisas Biomédicas da Pontifícia
Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC-RS) como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre em Pediatria e Saúde da Criança

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Rita Mattiello

Prof. Dr. Augusto Buschweitz

Prof. Dr. Bruno Hochhegger (suplente)

Parecer Avaliativo: _____

Porto Alegre, ____ de _____ de 2017

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, eternos mestres e orientadores.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Pediatria e Saúde da PUCRS, pelo curso e oportunidades proporcionadas

Ao InsCer (Instituto do Cérebro do Rio Grande do Sul), pela formação profissional e apoio constantes.

Ao Prof. Matteo Baldisserotto, pelo estímulo e orientação.

Ao Prof. Alexandre Rosa Franco, pelos ensinamentos vitais e apoio irrestrito.

Aos adolescentes estudados, sem os quais o projeto não existiria.

À Dra. Juliana Eloi, pelo projeto original e compartilhamento de dados.

Ao CNPq, pela verba de pesquisa e bolsa proporcionados.

À Carla Roithmann, secretária do PPG, pela simpatia e solicitude.

A todos professores prévios, que me permitiram chegar aqui.

À Paula, por estar sempre comigo no caminho.

RESUMO

Introdução: A obesidade na infância e adolescência representa um problema de saúde preocupante, sendo considerada uma epidemia global pela Organização Mundial de Saúde e um importante fator para obesidade na vida adulta. Os mecanismos neurocognitivos que levam à obesidade ainda são pobremente compreendidos, no entanto, novos estudos baseados em Ressonância Magnética Funcional (RMF), incluindo pacientes adultos, têm revelado conectividades alteradas comparando pacientes obesos e não obesos, os quais incluem mecanismos relacionados a recompensa e circuitos de autocontrole. Não obstante, estas diferenças não são consistentemente estudadas em adolescentes e crianças obesas.

Objetivo: Demonstrar possíveis diferenças de conectividade funcional entre adolescentes obesos e controles, avaliados com RMF em Estado de Repouso (RMFER).

Método: Dados foram obtidos de 38 pacientes, com idade entre 15 e 18 anos, sendo 16 no grupo obeso e 22 no grupo controle. Os sujeitos foram submetidos a RMFER, e também RM abdominal para a quantificação de adiposidade visceral. Dados de Índice de Massas Corporal (IMC) foram coletados. Usando o software AFNI, mapas de escore Z de conectividade funcional foram obtidos de regiões de interesse localizadas nas amígdalas, córtex do cíngulo posterior e córtex pré-frontal bilateral. Estes mapas foram analisados usando testes t e análise de regressão múltipla com os dados de IMC e de adiposidade visceral, considerando significativo um valor p de $< 0,05$, corrigido através do software clustsim.

Resultados: Análise de grupo não demonstrou diferenças em relação ao IMC entre os grupos obeso e não obeso. A análise de regressão múltipla também não demonstrou diferenças com os dados de IMC. No entanto, análise de regressão com o coeficiente de adiposidade visceral demonstrou redução da conectividade entre ambas amígdalas e as ínsulas posteriores. Outras conectividades reduzidas com este coeficiente foram observadas entre a amígdala direita e córtex do cíngulo, entre o córtex pré-frontal medial direito e ambos precúneos parietais, entre o córtex pré-frontal medial esquerdo e o precúneo direito e lóbulo parietal superior direito, bem como conectividade aumentada entre o cíngulo posterior e o precúneo direito.

Conclusão: Estes achados sugerem que a obesidade na adolescência, especificamente associada a maior adiposidade visceral, é também relacionada a alterações da conectividade funcional cerebral, possivelmente devido a mecanismos de autocontrole e recompensa.

ABSTRACT

Introduction: Obesity in childhood and adolescence represents a concerning healthcare issue, being considered a global epidemic by the World Health Organization and an important risk factor for adulthood obesity. The neurocognitive mechanisms that lead to obesity are still poorly understood, however new studies based on Functional Magnetic Resonance (FMR) including adult patients have revealed altered connectivities between obese and non-obese patients, which include reward related mechanisms and self control circuits. Nonetheless, these differences are not consistently studied in obese children and adolescents. **Objective:** To demonstrate possible differences of functional connectivity between obese adolescents and controls evaluated with Resting State FMR (RSFMR). **Method:** Data was obtained from 38 patients, aged between 15 and 18 years old, 16 in the obese group and 22 in the control group. The subjects underwent RSFMR, and also abdominal MR for the quantification of visceral adiposity. Body Mass Index (BMI) data was also obtained. Using AFNI software, Z score maps of functional connectivity were obtained from regions of interest located in the amygdalae, posterior cingulate cortex and bilateral pre frontal cortex. These maps were correlated using t test and multiple regression analysis to the BMI and visceral adiposity data, considering a corrected p value of <0.05 . **Results:** Group analysis showed no significant differences between obese and control patients. Multiple regressions analysis also showed no significant results with BMI data. However, multiple regression analysis with the visceral adiposity score showed decreasing functional connectivity between both amygdalae and both posterior insulae. Other reduced connectivities with this score were observed between right amygdala and cingulate cortex, the right prefrontal medial cortex and both parietal precuneus, the left prefrontal medial cortex and right precuneus and superior parietal lobule, as well as increased connectivity between the posterior cingulus and right precuneus. **Conclusion:** These findings suggest that adolescent obesity, specially associated with higher visceral adiposity, is also related with altered brain functional connectivity, possibly related with self-control and reward mechanisms.

LISTA DE TABELAS E ILUSTRAÇÕES

Tabela 1 – Dados dos Grupos.....	28
Figura 1 – Clusters de ativação principais.....	28
Tabela 2 – Resultados da análise de RI.....	29
Figura 2 – Clusters de ativação secundários.....	29

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

PUCRS – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

INSCER – Instituto do Cérebro do Rio Grande do Sul

OMS – Organização Mundial da Saúde

RM – Ressonância Magnética

RMF – Ressonância Magnética Funcional

RMFER – Ressonância Magnética Funcional em Estado de Repouso

RSN – Resting State Networks (Redes Funcionais de estado de Repouso)

BOLD – Blood Oxygen Level Dependent

AFNI – Analysis of Functional NeuroImages)

ABS – Análise Baseada em Sementes

RI – Regiões de Interesse

ACI – Análise de Componentes Independentes

HoRe – Homogeneidade Regional

IMC – Índice de Massa Corporal

FrSBe – Frontal Systems Behavior Scale

MNI – Montreal National Institute

CAV – Coeficiente de Adiposidade Visceral

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	14
2.1	Objetivo Principal	14
2.1	Objetivo Secundário	14
3	HIPOTESES	15
3.1	Hipótese principal:	15
3.2	Hipóteses Secundárias:	15
4	JUSTIFICATIVA	16
5	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA	17
5.1	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL E O EFEITO BOLD	17
5.1.1	RMF EM ESTADO DE REPOUSO	18
5.1.1	MÉTODOS DE ANÁLISE DE RSFMRI	19
5.1.1.1	Análise Estatística	19
5.2	OBESIDADE COMO PROBLEMA MUNDIAL	21
5.3	OBESIDADE E CONECTIVIDADE FUNCIONAL	22
6	MATERIAIS E MÉTODOS	24
7	RESULTADOS	27
8	DISCUSSÃO	30
9	CONCLUSÕES	33
	REFERÊNCIAS	34
	APÊNDICE A	38
	APÊNDICE B	40
	ANEXO A	42
	ANEXO B	48
	ANEXO C	50

1 INTRODUÇÃO

A obesidade infantil tem representado nas últimas décadas um grande problema de saúde pública, sendo considerada uma epidemia global pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e o principal fator de risco para obesidade na idade adulta (Nanda, 2004; Freedman *et al.*, 2005; Whitmer, R. A. *et al.*, 2007). O Caribe e a América Latina possuem a maior taxa de sobrepeso e obesidade em crianças e adolescentes no mundo, e sua prevalência aumenta em cerca de 0,5% ao ano (Jaacks, L. *et al.*, 2015), chegando a taxas de 29,7% no Rio Grande do Sul (Vieira *et al.*, 2007; Reuter *et al.*, 2013).

O excesso de peso pode ocasionar sérios problemas à saúde da criança, devido ao elevado risco de doenças cardiovasculares e respiratórias nessa população. Crianças obesas apresentam, com maior frequência, aumento dos níveis de colesterol e triglicerídeos e da pressão arterial, além de apresentarem maior intolerância à glicose (Freedman *et al.*, 2005)

A obesidade, causada pelo excesso de consumo energético, é primariamente influenciada por comportamento alimentar, que é modulado pelo sistema nervoso central (De Araujo e Rolls, 2004a). Além de sua origem central, está relacionada a pior desempenho cognitivo e escolar (Elias, M. F. *et al.*, 2005; Li, Y. *et al.*, 2008), doenças neurodegenerativas como Alzheimer na vida adulta (Whitmer, R. A. *et al.*, 2007) e alterações morfológicas e funcionais em exames de imagem do encéfalo com técnicas avançadas (Yau *et al.*, 2012; Saute *et al.*, 2016).

Recentemente, tem ocorrido um interesse crescente em ativações diferenciais de certas regiões e redes do cérebro entre pacientes obesos e eutróficos usando Ressonância Magnética Funcional em “estado de repouso” (RMFER), ou *resting state functional Magnetic Resonance Imaging*, em inglês (García-García *et al.*, 2013). A RMFER, permite avaliar a conectividade intrínseca de redes funcionais cerebrais em indivíduos saudáveis e/ou com problemas de saúde (neurológicos ou psiquiátricos) (Biswal *et al.*, 1995; Fox *et al.*, 2005), o que sugere um potencial de uso desse método como um novo biomarcador de monitoramento de doenças (Fox e Greicius, 2010). Este exame consiste na aquisição de imagens de RM enquanto o paciente não

executa nenhum tipo de tarefa cognitiva específica, sendo orientado apenas a relaxar, fixar os olhos em uma cruz na tela, e não pensar em nada em particular durante um período que varia entre 5 a 10 minutos. Inúmeros projetos de pesquisa mostraram que a RMFER pode ser usado para melhor compreender transtornos mentais e doenças neurológicas, incluindo a depressão, bipolaridade, autismo, déficit de atenção, esquizofrenia, epilepsia, esclerose múltipla e doença de Alzheimer (Fox *et al.*, 2005). Ele também é extensivamente utilizado para entender melhor o funcionamento normal do cérebro humano (Van Den Heuvel e Pol, 2010).

Usando o RMFER, várias regiões cerebrais que são co-ativadas foram identificadas e nomeadas como distintas redes de estado de repouso, ou *resting state networks* (RSNs) (Smith *et al.*, 2009). Muitas destas redes são implicadas em processos cognitivos superiores e demonstraram estar alteradas em pacientes obesos, como no córtex orbitofrontal e pré-frontal medial (Zhang *et al.*, 2015), na ativação de circuitos putaminais (García-García *et al.*, 2013), na “rede de modo padrão” (default mode network) e na rede temporal (Kullmann *et al.*, 2012). Além disto, estudos em crianças obesas demonstraram alterações da conectividade cerebral após programas de exercícios (Krafft *et al.*, 2014) e hipertonicidade de mecanismos de recompensa, especialmente nas redes de saliência e recompensa (García-García *et al.*, 2013) sobre o circuito de autocontrole (De Araujo e Rolls, 2004a). Estas redes cerebrais apresentam uma tradução comportamental ainda não completamente elucidada, e a variedade de topografias de conectividade alterada pode estar relacionada a um aspecto multifatorial e de diferentes redes interativas.

Face a estes avanços, o objetivo deste estudo é comparar os dados de RMFER de pacientes adolescentes obesos com os dados de pacientes eutróficos, com vistas a consistência com os estudos prévios e a identificar possíveis novas diferenças de conectividade.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Principal

Comparar a conectividade cerebral em adolescentes obesos, em comparação a adolescentes eutróficos, através de RMFER.

2.1 Objetivo Secundário

Identificar possíveis efeitos de magnitude do IMC e a adiposidade visceral dos pacientes estudados em relação as possíveis alterações de conectividade encontradas

3 HIPOTEESES

3.1 Hipótese principal:

Que existam diferenças na conectividade funcional entre os grupos de adolescentes obesos e não obesos..

3.2 Hipóteses Secundárias:

Que o grau de IMC influencie nas alterações de conectividade cerebral.

Que o grau de adiposidade visceral influencie na conectividade cerebral.

4 JUSTIFICATIVA

A obesidade é um problema de saúde pública, tratada como epidemia no SUS, que carrega consigo diversas alterações fisiológicas, sendo fator de risco para doenças cardiovasculares, metabólicas e hepáticas. Além disto, existem evidências crescentes demonstrando que o excesso de peso acarreta déficits cognitivos, alterações morfoestruturais e funcionais no cérebro. Estudos empregando técnicas avançadas de neuroimagem, utilizando especialmente RM de alto campo, têm revelado anormalidades microestruturais e químicas no parênquima cerebral de indivíduos obesos, que não são passíveis de detecção nos exames de neuroimagem rotineiros. A quantificação de possíveis alterações na microestrutura cerebral de crianças e adolescentes obesos por meio destas técnicas avançadas pode facilitar a intervenção precoce nestes indivíduos, prevenindo a obesidade adulta e o conseqüente elevado risco cerebrovascular associado, bem como de outras entidades cada vez mais prevalentes na idade adulta, como a doença de Alzheimer e a demência vascular.

5 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

5.1 RMF E O EFEITO BOLD

A percepção de modificação da circulação cerebral em resposta a diferentes estímulos é antiga, sendo primeiramente descrita em estudos do final do século XIX por Angelo Mosso (Sandrone *et al.*, 2012) e Roy & Sherrington (Roy e Sherrington, 1890). Basicamente, em resposta a um estímulo, a microcirculação cerebral responsável pela função neurológica sendo executada causa um aumento de sangue oxigenado local, aumentando a proporção de oxihemoglobina:deoxihemoglobina. No entanto, mesmo com esse conhecimento, por longo tempo não houve método não invasivo adequado para a avaliação destas mudanças microcirculatórias.

Para este fim, foi desenvolvido então a RMF, que também utiliza-se de um princípio bastante antigo, já observado por Linus Pauling e Charles Coryell – a modificação das propriedades magnéticas da hemoglobina conforme seu estado de (des)oxigenação (Pauling e Coryell, 1936). A avaliação por RM consiste, de maneira simplificada, na avaliação de tempos de relaxamento de diferentes tecidos por aferência de sinais magnéticos emitidos por prótons de hidrogênio submetidos a pulsos de radiofrequência em um alto campo magnético, no entanto, o uso clínico inicial deste método consistia somente na formação de imagens estáticas. Em 1990, Ogawa e colegas(Ogawa *et al.*, 1990) demonstraram os princípios até hoje utilizados para a RMF, que consistem na avaliação de imagens cerebrais através de sequências temporais ponderadas em Gradiente-eco, o efeito BOLD (Blood Oxygen Level Dependent, em inglês) , demonstrado na figura x. Portanto, considera-se então o efeito BOLD uma medida indireta da ativação neuronal.

Ao adquirir as imagens, o conjunto de dados de múltiplas regiões cerebrais é registrado, e o efeito BOLD de cada região é então analisado, de acordo com o desenho do pesquisador. Por exemplo, em um estudo simples consiste em movimentar a mão direita, verificando-se um aumento do sinal BOLD na porção do giro pré-central esquerdo responsável por este movimento.

No entanto, diferentemente dos métodos tradicionais de RM, a avaliação destes dados não se dá por interpretação visual somente, mas sim por um processamento em múltiplas etapas através de diferentes protocolos, softwares e finalidades.

5.1.1 RMF EM ESTADO DE REPOUSO

Uma questão levantada nos primeiros estudos de RMF envolvia as variações de sinal BOLD nos indivíduos enquanto não existia tarefa a ser realizada. Apesar de inicialmente ser considerada somente ruído, em 1995 artigo de Biswal (Biswal *et al.*, 1995) já demonstrou conectividade intrínseca entre os córtices motores de cada hemisfério cerebral em pacientes escaneados no estado de repouso, ou seja, mesmo sem nenhum estímulo ao momento do estudo, as atividades de sinal obtidas nestas regiões são significativamente correlacionadas.

Portanto, a análise na RMFER relaciona-se não à ativação cerebral, como ocorre na RMF baseada em tarefas, mas sim na conectividade cerebral intrínseca de múltiplas regiões do indivíduo.

Uma gama de estudos já demonstrou haver consistência de redes cerebrais avaliadas por RMFER entre indivíduos saudáveis, bem como a diferença de conectividades entre grupos de indivíduos saudáveis e com diversas patologias (Giraldo-Chica e Woodward, 2016; Mcleod *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2016). Na obesidade, o tema é abordado primariamente em adultos, e foram demonstradas alterações no córtex orbitofrontal e pré-frontal medial (Zhang *et al.*, 2015), na ativação de circuitos putaminais (García-García *et al.*, 2013), na “rede de modo padrão” (default mode network) e na rede temporal (Kullmann *et al.*, 2012). Além disto, estudos em crianças obesas demonstraram alterações da conectividade cerebral após programas de exercícios (Krafft *et al.*, 2014) e hipertonicidade de mecanismos de recompensa sobre o circuito de autocontrole (De Araujo e Rolls, 2004a). Um estudo de rsfMRI em adolescentes obesos demonstrou alterações na conectividade entre o cíngulo anterior e a ínsula e entre o giro temporal médio e o precúneo e o cíngulo (Moreno-Lopez, L. *et al.*, 2016).

5.1.1 MÉTODOS DE ANÁLISE DE RSFMRI

A aquisição de dados para estudo de RSFMRI gera um grande número de imagens, que devem ser analisadas não de forma visual, como a RM convencional, mas sim por métodos computacionais. Isto ocorre porque são geradas múltiplas imagens, cujo objetivo é formar ao final um mapa de sinais BOLD, que represente o indivíduo como se o cérebro fosse inteiramente examinado no mesmo momento, sem distúrbios externos. No entanto, ao curso do exame, podem ocorrer múltiplos fatores que irão interferir com este pressuposto, como variações devidas a batimentos cardíacos e respiração, pequenos movimentos da cabeça, não uniformidade do campo magnético no espaço, pequenas diferenças de tempo entre as imagens adquiridas e outros.

Software

Para compensar estes obstáculos, várias etapas de pré-processamento são obrigatórias, e diversos Softwares são usados para esta finalidade. Um dos mais completos para esta tarefa é o AFNI – Analysis of Functional Neuroimaging, um software livre apoiado pelo National Institutes of Health, órgão de saúde do governo Americano, e foi o programa utilizado para este estudo(Cox, 1996).

Pré processamento

Os passos seguidos consistem em: Correção de movimento; Correção do tempo da imagem; Correção de Distorções Geométricas; Co-registro; Normalização Espacial; Filtragem Espacial; Filtragem Temporal; Controle de Qualidade. Caso os dados de um paciente sejam julgados inadequados devido a muitos artefatos de imagem, aquisição incorreta, movimentação exacerbada ou outros erros, os dados são excluídos. Estes passos são essenciais para a obtenção de dados com qualidade adequada para o estudo, pois erros no pré-processamento podem acarretar posteriores erros de análise.

5.1.1.1 Análise Estatística

No entanto, após a obtenção de um arquivo com qualidade contendo as informações adequadas da conectividade cerebral do paciente, ainda é necessário definir o método de análise destes dados. Alguns dos procedimentos mais frequentemente utilizados são discutidos a seguir:

Análise baseada em sementes (ABS)

A análise baseada em sementes é o mais tradicional método de análise em RSfMRI, tendo sido o primeiro a ser descrito (Biswal *et al.*, 1995). Ele consiste na seleção pelo pesquisador de região ou regiões de interesse (RI) através de coordenadas espaciais correspondentes à área cerebral a ser estudada, com dimensões pré-definidas, avaliando então as diferenças de conectividade deste local com demais porções do encéfalo entre os diferentes grupos. Uma limitação significativa deste método refere-se a uma hipótese fechada, ou seja, somente onde o pesquisador imagina haver alterações ou não é que será realizada a análise, perdendo outros potenciais dados (Lee *et al.*, 2013).

Análise de Componentes independentes (ACI)

Outro método bastante utilizado para análise de RSfMRI, a ACI apresenta um modelo de análise inverso ao baseado em sementes. Nele o pesquisador não pré-define áreas de interesse para a conectividade, sendo as redes cerebrais identificadas pelo próprio programa computacional. Ao realizar-se a análise, são constituídas múltiplas redes de repouso, com múltiplas consistentemente demonstradas em humanos (Damoiseaux *et al.*, 2006). Após serem identificadas, estas redes podem então ser comparadas entre os diferentes grupos. A vantagem deste método consiste na proposta aberta, ou seja, os resultados não necessariamente dependem da hipótese prévia do pesquisador (Damoiseaux *et al.*, 2006).

Homogeneidade Regional (HoRe)

A homogeneidade regional é um método proposta para avaliar as conectividades de pequenas porções cerebrais do cérebro em relação a seus vizinhos mais próximos, através de pequenas flutuações no sinal BOLD. Ao contrário da ABS e ACI, que são métodos mais utilizados para avaliar conexões cerebrais distantes, a HoRe privilegia modificações locais (Jiang e Zuo, 2015).

Análise de Grafos

Grafos são representações matemáticas de redes complexas, demonstradas por nodos e bordas sendo que regiões anatômicas são representadas pelos nodos e as a conectividade entre elas é representada pelas bordas. Também é possível demonstrar e quantificar o mecanismo organizacional destas redes através deste método (Wang *et al.*, 2010).

5.2 OBESIDADE COMO PROBLEMA MUNDIAL

A obesidade é considerada uma doença crônica, entre as mais prevalentes do mundo, e inúmeras patologias já demonstraram associação com esta condição, com alto grau de morbidade. A maioria da população mundial vive em países onde sobrepeso e obesidade causam mais mortes do que a desnutrição (Ard *et al.*, 2016).

Por exemplo, revisão de análises prospectivos (Collaboration, 2009) demonstrou aumento de em 30% na mortalidade geral para cada 5kg/m² adicionado; sendo que foram ainda maiores as taxas para mortalidade por eventos vasculares (40%) e por diabetes, insuficiência renal ou falência hepática (60-120%).

Além disto, a obesidade infantil é o maior fator de risco para a obesidade adulta (Freedman *et al.*, 2005), sendo considerada uma epidemia global pela OMS e o principal fator de risco para obesidade na idade adulta (Nanda, 2004; Freedman *et al.*, 2005; Whitmer, R. A. *et al.*, 2007). O Caribe e a América Latina possuem a maior taxa de sobrepeso e obesidade em crianças e adolescentes no mundo, e sua prevalência aumenta em cerca de 0,5% ao ano (Jaacks, L. *et al.*, 2015), chegando a taxas de 29,7% no Rio Grande do Sul (Vieira *et al.*, 2007; Reuter *et al.*, 2013).

5.3 OBESIDADE E CONECTIVIDADE FUNCIONAL

Diversos estudos já demonstraram diferenças na conectividade funcional através da RMFER entre pacientes obesos e não obesos. Artigo de Hogenkamp e colegas (Hogenkamp *et al.*, 2016) demonstrou, em pacientes obesas do sexo feminino, maior ativação do putame, claustrum e insula, mesmo após ingestão alimentar, sugerindo diferenças no mecanismo de recompensa.

Garcia-Garcia e colegas (García-García *et al.*, 2013) demonstraram aumento na conectividade funcional entre a rede de saliência e o putame, também sugerindo diferentes respostas a mecanismos de recompensa.

Usando o método de HoRe, Zhang e colegas (Zhang *et al.*, 2015) evidenciaram menor sincronicidade da atividade regional no córtex orbitofrontal e pré frontal medial, somente antes da ingestão alimentar. Tais achados não foram reproduzidos na avaliação após alimentação.

Wijngaarden e colegas (Wijngaarden *et al.*, 2015) encontraram aumento de conectividade entre o hipotálamo e a insula esquerda em pacientes obesos com jejum noturno, bem como maior conectividade entre a amígdala e o córtex pré frontal medial nos pacientes eutróficos. Após jejum prolongado, ocorreu aumento na conectividade do hipotálamo em pacientes eutróficos e redução de conectividade nos pacientes obesos.

Outro estudo de Lips e colegas (Lips *et al.*, 2014) demonstrou alteração na conectividade funcional entre o hipotálamo e córtex pré-frontal medial, bem como entre a amígdala e ínsula direita sem pacientes obesos, achado que modificou-se após ingestão alimentar.

Em relação a pacientes adolescentes, estudo recente de Moreno-Lopez e colegas (Moreno-Lopez, L. *et al.*, 2016) também demonstrou diferentes conectividade funcional entre grupos de obesos e não obesos, especialmente em áreas ligadas a interocepção, controle cognitivo e memória emocional.

Estes diferentes estudos demonstram alterações de conectividade variadas entre si, no entanto não necessariamente contraditórias, visto que provavelmente a obesidade é ocasionada por alterações em diferentes redes cerebrais. Nosso estudo

visa a enriquecer o conhecimento sobre estas diferentes alterações e demonstra possíveis redes de maior relevância.

6 MATERIAIS E MÉTODOS

Os dados foram obtidos do estudo “Estudo Da Relação Da Obesidade Na Adolescência Com Alterações Cerebrovasculares e Hepáticas”, conforme segue:

Participantes

Foram constituídos dois grupos de indivíduos, sendo um grupo de estudo e um grupo controle. O primeiro grupo foi constituído por 23 adolescentes com idades variando de 10 a 18 anos com percentil de índice de massa corporal (IMC) igual ou superior a 97, sendo este considerado o critério para obesidade. O segundo grupo controle foi constituído por 23 adolescentes eutróficos, emparelhadas com sexo e idades com o grupo de estudo, com IMCs entre os percentis 25 e 75. Os participantes originaram-se de estudo epidemiológico, procedentes de Veranópolis-RS. Foram excluídos indivíduos com doenças crônicas, com doença hepatorenal e em uso de drogas hepatotóxicas, nefrotóxicas, corticosteroides e imunossupressores, com hipertensão arterial sistêmica, que apresentem doenças crônicas que possam determinar deposição de gordura hepática ou determinar espessamento precoce da EMI.

Instrumentos e Procedimentos

Nos dois grupos, foram realizadas medidas antropométricas e avaliação quantitativa do parênquima cerebral por RM.

Os dados antropométricos foram avaliados de acordo com protocolo proposto pela OMS de 2004 (Barba *et al.*, 2004). Foi avaliado o peso, a estatura, o índice de massa corporal com seus respectivos escores Z, bem como a circunferência abdominal e o seu Percentil.

Todos participantes realizaram avaliação neuropsicológica, através do Escore de Depressão de Beck e a Frontal Systems Behavior Scale (FrSBe).

Os exames de RM foram obtidos em um magneto GE Signa HDx 3.0T de 16 canais (General Electric, Milwaukee, WI). Os dados estruturais de RM foram obtidos com seqüências volumétricas fastSPGR, ponderadas em T1, adquiridas com tempo de repetição (TR) / tempo de eco (TE) / tempo de inversão (TI) de 6.3 / 2.3 / 600 milliseconds milissegundos (ms), respectivamente, com ângulo de inversão de 25

graus, resolução isotrópica de 1 mm³ e matriz de 256x256. Como atlas anatômico de referência foi utilizado o modelo fornecido pelo MNI (*Montreal Neurological Institute*), denominado MNI-152. As imagens para o estudo funcional foram obtidas com o paciente observando um ponto fixo na tela do aparato de RM, com sequências T2* EPI BOLD com 28 segmentos, 4 mm de espessura, com intervalo de 0,4 mm, FOV de 192x192mm, tamanho de matriz de 64x64, TE=30ms, TR=2000ms, angulo de inversão de 90° com total de 210 volumes. A RM abdominal foi realizada com um coil abdominal de 8 canais, com os pacientes em posição supina e membros estendidos acima da cabeça e os seguintes parâmetros de imagem: FOV 250x250 mm, matriz de 512x512, espessura de corte de 1mm, TE=2,276ms, TR=6,37ms.

Análises

A análise dos dados funcionais foi realizada pelo software livre AFNI – Analysis of Functional Neuroimaging (<https://afni.nimh.nih.gov/afni/>) (Cox, 1996), com uso do programa *afni_proc.py* e pré-processamento padrão através dos seguintes passos: remoção dos primeiros 3 TRs, despiking, correção têmporo-espacial, correção de movimento, passagem de filtro de banda (0.01=0.1 Hz), normalização ao template MNI152 com transformação não linear e borramento. Foi realizada então regressão múltipla com censura para movimentos significativos de TRs, sendo censurados acima de 0,9.

A seleção das RI deu-se baseada no atlas MNI, compreendendo o córtex pré=frontal medial bilateralmente (x=+-43 y=48 z=-8), amígdalas (x=+-23 y=-4 z=-19) e cíngulo posterior (x=5 y=-49 z=40). Estas regiões foram reamostradas para cada indivíduo com o cálculo da série de tempo BOLD e posterior transformação do mesmo em mapas de correlação com escore z através do método de Fisher. A figura demonstrando esta seleção localiza-se no apêndice A.

A análise de grupo de cada mapa de conectividade foi feita por análise de covariância usando 3dttest++, comparando os grupos obeso x não obeso. A análise de regressão foi realizada através do 3dRegAna, consistindo de regressão linear múltipla, utilizando-se dos mapas de escore Z obtidos pelas RI, relacionados separadamente com IMC e o coeficiente de gordura visceral, utilizando-se como cofator a idade. O resultado foi corrigido através do 3dClustsim para análise

bidirecional usando o terceiro vizinho mais próximo (NN3) e com nível de significância $p < 0,05$.

Foram realizadas análises complementares de ACI e HoRe, através do programa MELODIC do software FSL (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/>) (Smith *et al.*, 2004), e do programa 3dReHo do software AFNI, respectivamente, com posterior análise através do AFNI com os programas 3dttest++ para comparação entre grupos e o programa 3dRegAna para análise de regressão com os índices de adiposidade visceral.

O coeficiente de adiposidade visceral (CAV) foi calculado da seguinte maneira: regiões de interesse de gordura foram desenhadas manualmente entre L3 e L4, realizadas pelo mesmo radiologista experiente, e então calculado como a área de gordura intra-abdominal dividida pela área intra-abdominal total. O método está exemplificado no apêndice B.

Foi realizada adicional análise de regressão com os dados de adiposidade visceral, adicionando-se o escore de Depressão de Beck e o FrSBe para avaliação de possíveis fatores comportamentais concomitantes.

O estudo foi realizado de forma retrospectiva. Os autores assinaram termos de sigilo de utilização de dados.

Todos participantes realizaram a assinatura do Termo de Consentimento Informado escrito aos pais ou tutores legais dos participantes. Tanto aos participantes e aos pais foi explicada como será realizada pesquisa e serão esclarecidas eventuais dúvidas sobre o projeto. Os participantes e seus pais eram livres para desistir do projeto caso assim desejassem. Os resultados dos exames foram fornecidos aos pais e tutores legais.

O estudo principal e o atual foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa desta instituição, sob o número 1.455.246.

7 RESULTADOS

Dos 46 pacientes selecionados inicialmente, foi possível a obtenção de dados adequados de RMER de 38, estando 16 no grupo obeso e 22 no grupo não obeso. Os motivos de inadequação dos dados foram relacionados a dificuldades na aquisição de imagem, entre elas dados de RMFER corrompidos, campo de visão inadequado e desconforto do paciente impossibilitando o término do exame. Não ocorreram exclusões por movimento excessivo. Os dados antropométricos dos dois grupos são demonstrados na tabela 1. Não foram observadas diferenças significativas de sexo e idade entre os grupos, ocorrendo diferenças no IMC e no coeficiente de gordura visceral entre grupo obeso e não obeso.

Após a análise estatística, não foram encontradas diferenças significativas na conectividade funcional entre obesos e não obesos pelos dados de IMC em todos os RIs. A regressão das regiões de interesse utilizando-se os dados de IMC também não demonstrou regiões de ativação diferencial significativas.

No entanto, utilizando-se a relação linear com o CAV, evidenciou-se relação linear estatisticamente significativa com a conectividade funcional nas RI das amígdalas esquerda e direita, giro frontal médio e giro do cíngulo posterior.. Os resultados estão demonstrados na figura 1 e tabela 2.

Ambas amígdalas demonstraram um decréscimo na conectividade funcional com as ínsulas posteriores, bilateralmente, conforme o CAV aumentava. Para a RIA da amígdala esquerda, existe um cluster que mostra conectividade reduzida com o córtex temporal superior esquerdo e a ínsula. Para a RI da amígdala direita, um decréscimo na conectividade funcional conforme o CAV aumenta foi visto no cíngulo posterior esquerdo e precúneo.

Com a RI do giro frontal médio esquerdo, existe uma redução na conectividade funcional com o precúneo direito conforme o CAV se eleva. Diferentemente, existe aumento da conectividade funcional do cíngulo posterior com o cúneo/precúneo direito conforme o CAV aumenta. Estes achados estão demonstrados na figura 2.

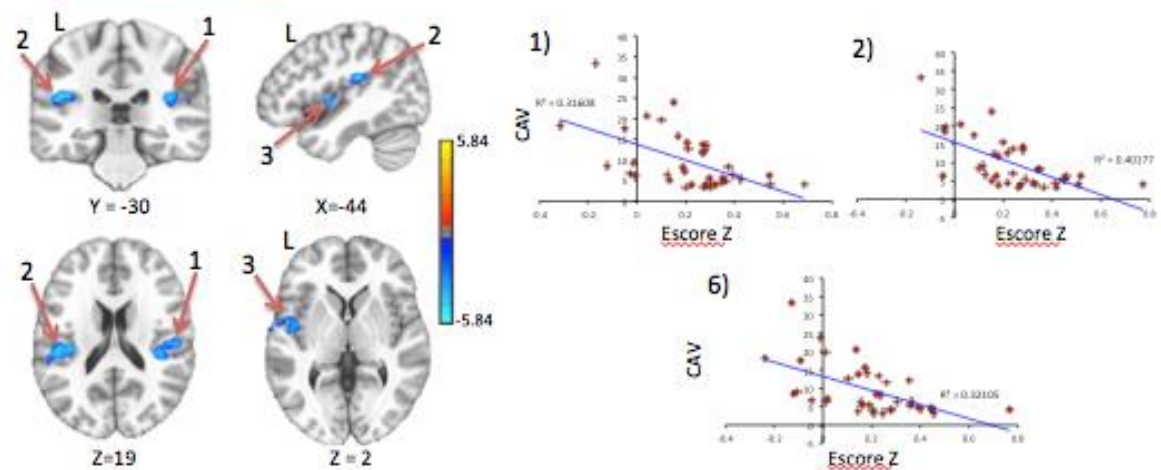
Tabela 1. Dados dos grupos participantes.

	Obesos	Controles	Diferença entre grupos (escore p)	Total
Sexo (F/M), (total)	9/7	12/10	0.590*	21/17
Idade em anos (m/DP)	16,06/0,57	16,90/0,75	0.137**	16.55
IMC - kg/m ² (m/DP)	31,31/3,3	21,54/1,6	0.022**	25.65
Coefficiente de Adiposidade Visceral (m/DP)	15,53/6,9	5.39/1,6	0.001**	9.66

* teste χ^2 ** Teste t para amostras independentes
m/DP = média, Desvio Padrão

Fig. 1: Clusters demonstrando correlação negativa de conectividade funcional nas amígdalas esquerda e direita com o CAV. Índices descritos na Tabela 2.

A) RI Amígdala Esquerda



B) RI Amígdala direita

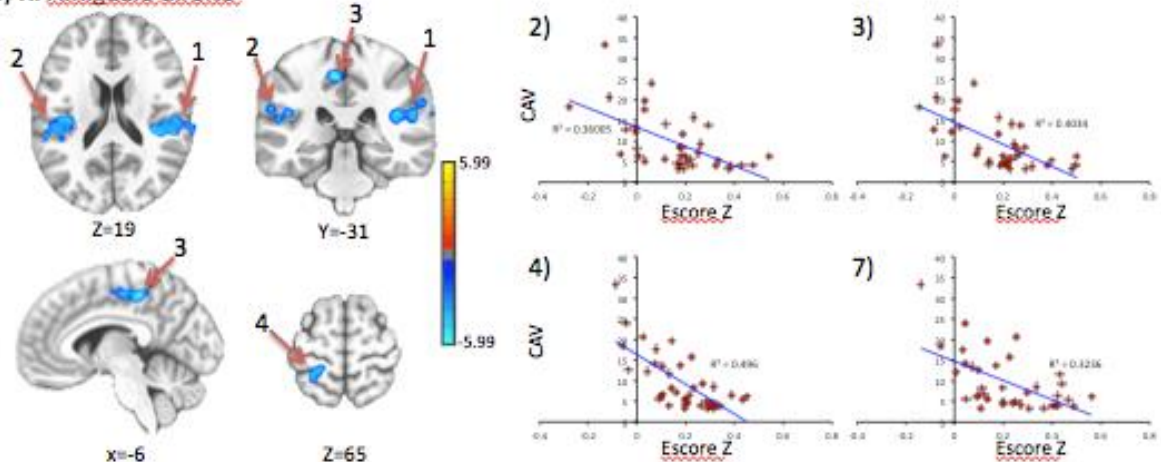
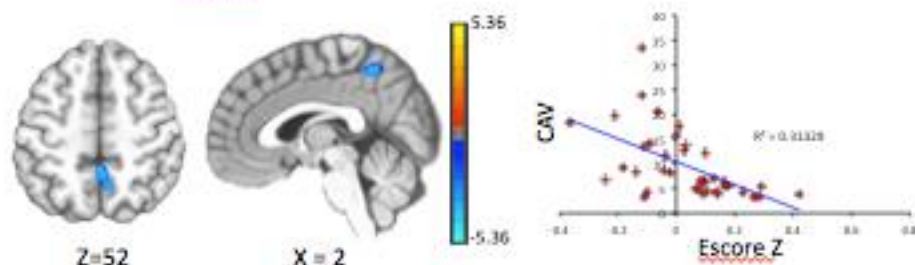


Fig. 2: Clusters demonstrando a correlação da conectividade funcional do Giro Frontal Médio Esquerdo e cíngulo posterior com o CAV. Índices descritos na Tabela 2.

A) RI Frontal Médio Direito



B) RI Cíngulo Posterior

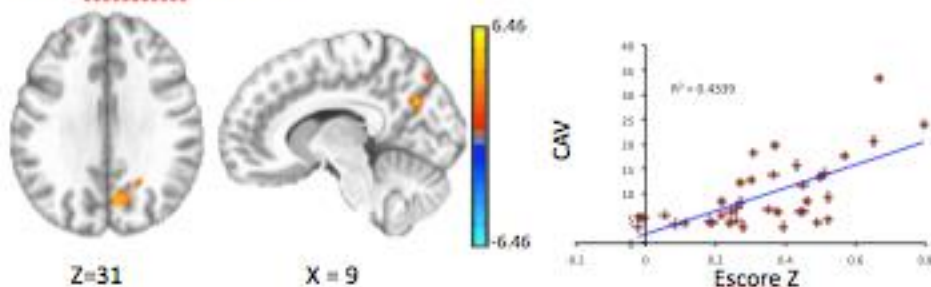


Tabela 2: clusters de ativação.

Região de Interesse	Cluster (índice na Fig. 1)	Área	Tamanho de Cluster (μ)	Coordenadas MNI (x,y,z)
Amígdala Direita	1	Ínsula Posterior Direita	4509	51.1 , 28.7, 19.4
	2	Ínsula Posterior Esquerda	3753	-45.9 , 28.6 , 17.9
	3	Cíngulo Posterior Esquerdo	2970	-8.8 , 31.0 , 50.8
	4	Precúneo Esquerdo	1485	-26.2 , 43.4, 65.1
Amígdala Esquerda	1	Ínsula Posterior Direita	2322	47.3 , 25.5 , 18.5
	2	Ínsula Posterior Esquerda	2052	-44.8 , 27.6, 18.8
	3	Córtex Temporal Superior e Ínsula Esquerdos	1188	-52.6 , 3.6 , 1.5
Giro Frontal Médio Esquerdo	-	Precúneo Direito	1620	1.5 , 46.5 , 52.5
Cíngulo Posterior	-	Cúneo e Precúneo Direito	1728	14.4 , 69.8 , 36.7

Os resultados destas análises foram correlacionados com os dados da Escala de Depressão de Beck, não sendo encontrada correlação entre adiposidade visceral e a referida conectividade alterada. Os resultados das análises de ICA e HoRe não demonstraram achados consistentes e claramente interpretáveis.

8 DISCUSSÃO

A avaliação da conectividade cerebral em estado de repouso dos adolescentes demonstrou relação inversa entre o grau de adiposidade visceral e a conectividade das amígdalas com as respectivas ínsulas posteriores, entre amígdala direita e giro do cíngulo, e entre giros frontais médios e lobos parietais bilateralmente, especialmente em precúneos. A ínsula posterior já mostrou-se associada com somatosensoriedade, percepção dolorosa, sensação visceral e gustação (Stephani *et al.*, 2011). Notadamente, em 1982, Mesulam e Mufson (Mesulam e Mufson, 1982) já levantaram a hipótese de que a ínsula posterior talvez seja o único local do cérebro que integra dados de todos os cinco sentidos, portanto, a redução de conectividade desta área pode estar intimamente relacionada à não supressão dos diferentes estímulos que ocasionam o aumento da ingestão alimentar. Suporta esta ideia o fato de que pacientes obesos apresentam aumento de conectividade insular quando recebem estímulos alimentares (Frank *et al.*, 2013). O giro do cíngulo está associado com diversas áreas cerebrais e já demonstrou, estar relacionado, em diferentes partes, a dor, conflito, motricidade, recompensa, emoção, detecção de erros e memória (Beckmann *et al.*, 2009). Já os lobos parietais, e em especial precúneos, estão associados principalmente a funções cognitivas superiores, como abstração cognitiva e processos visuo-espaciais, processamento de si e consciência (entre eles a default mode network) (Cavanna e Trimble, 2006).

Estudo recente de Moreno-Lopez e colegas (Moreno-Lopez, Laura *et al.*, 2016) demonstrou alterações na conectividade cerebral na comparação de adolescentes obesos e eutróficos, com redução de conectividade entre a ínsula/opérculo e o córtex cingular anterior e córtex pré-motor, bem como entre o córtex temporal médio e cíngulo posterior e o precúneo. Foi demonstrada conectividade aumentada e entre o córtex pré frontal dorso-lateral e o córtex visual primário. Também foi evidenciada

associação diferencial com obesos e não obesos na sensibilidade à recompensa entre ínsula/opérculo e giro frontal superior, e entre o córtex temporal médio e o opérculo frontal esquerdo. Os autores associaram estes achados a fatores referentes a interocepção (ínsula), memória emocional (giro temporal médio) e controle cognitivo (córtex pré-frontal dorsolateral), com consequente desregulação de redes neurais relacionadas a internalização de estímulos e controle cognitivo.

Não obstante, foi demonstrado que a reorganização das redes cerebrais em pacientes obesos é ampla, e inclusive diferenciada conforme o estímulo (Geha *et al.*, 2017). Ao estudar conectividade global, foi demonstrada redução de conectividade em múltiplas áreas, e aumento de conectividade em um menor número. A maioria dos achados são condizentes com nosso estudo, observando-se conectividade reduzida no repouso e ao estímulo calórico nas ínsulas e na DMN, bem como na amígdala ao estímulo calórico, no entanto foi evidenciada conectividade aumentada no córtex pré-frontal medial.

É de interesse notar que as alterações observadas em nosso estudo somente ocorreram na correlação com adiposidade visceral, e não IMC. Este achado pode dever-se ao fato que, em geral, a adiposidade visceral é vista como mais nociva globalmente, incluindo-se ao volume cerebelar (Raschpichler *et al.*, 2013) e espessura cortical (Saute *et al.*, 2016).

Adicionalmente, é sabido que a conectividade entre a amígdala e a ínsula está relacionada a desordens emocionais na infância e adolescência (Perlman *et al.*, 2012; Bebko *et al.*, 2015). No entanto, não encontramos correlação entre alterações de conectividade e o índice de Depressão de Beck em nosso estudo, reduzindo a possibilidade de viés por esta entidade.

Nosso estudo tem diversas limitações. Primeiramente, é uma análise retrospectiva, realizada com adolescentes de faixa etária próxima à adulta. Outras limitações são inerentes ao processo de RMF, como inhomogeneidade dos dados de imagem. No entanto, a utilização de critérios restritos para a valorização das diferenças de conectividade cerebral e a consistência entre resultados obtidos de lados opostos nos dá confiança nos achados descritos. Uma questão que também é inerente à RMF e ao desenho do estudo de característica transversal é a causalidade,

ou seja, não é possível saber se a obesidade causa estas diferenças de conectividade ou se estas diferenças predispõem a ela.

9 CONCLUSÕES

A obesidade é um problema de saúde mundial, epidêmico e com significância cada vez melhor demonstrada. O controle neural sobre os mecanismos que a causam ainda está em fases iniciais de demonstração, sendo necessário um extenso trabalho para desvendá-lo de maneira mais adequada. A constante melhora do nosso entendimento do funcionamento cerebral através da RMF pode trazer múltiplos novos entendimentos sobre esta condição.

Foi tentado demonstrar através deste estudo uma parte destes mecanismos, com foco especial em uma população de alto risco para a obesidade adulta, e que, com melhora nesta condição, poderia ser a mais beneficiada para a prevenção, devido à longevidade futura.

REFERÊNCIAS

ARD, J. D.; MILLER, G.; KAHAN, S. Nutrition Interventions for Obesity. **Medical Clinics of North America**, v. 100, n. 6, p. 1341-1356, 2016. ISSN 0025-7125.

BEBKO, G. et al. Decreased amygdala–insula resting state connectivity in behaviorally and emotionally dysregulated youth. **Psychiatry Research: Neuroimaging**, v. 231, n. 1, p. 77-86, 2015. ISSN 0925-4927.

BECKMANN, M.; JOHANSEN-BERG, H.; RUSHWORTH, M. F. Connectivity-based parcellation of human cingulate cortex and its relation to functional specialization. **Journal of Neuroscience**, v. 29, n. 4, p. 1175-1190, 2009. ISSN 0270-6474.

BISWAL, B. et al. Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar mri. **Magnetic resonance in medicine**, v. 34, n. 4, p. 537-541, 1995. ISSN 1522-2594.

CAVANNA, A. E.; TRIMBLE, M. R. The precuneus: a review of its functional anatomy and behavioural correlates. **Brain**, v. 129, n. 3, p. 564-583, 2006. ISSN 0006-8950.

COLLABORATION, P. S. Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. **The Lancet**, v. 373, n. 9669, p. 1083-1096, 2009. ISSN 0140-6736.

DAMOISEAUX, J. et al. Consistent resting-state networks across healthy subjects. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 37, p. 13848-13853, 2006. ISSN 0027-8424.

DE ARAUJO, I. E.; ROLLS, E. T. Representation in the human brain of food texture and oral fat. **The Journal of neuroscience**, v. 24, n. 12, p. 3086-3093, 2004. ISSN 0270-6474.

ELIAS, M. F. et al. Obesity, diabetes and cognitive deficit: The Framingham Heart Study. **Neurobiology of aging**, v. 26 Suppl 1, p. 11-6, Dec 2005. ISSN 0197-4580 (Print)
0197-4580 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16223549> >.

FREEDMAN, D. S. et al. The relation of childhood BMI to adult adiposity: the Bogalusa Heart Study. **Pediatrics**, v. 115, n. 1, p. 22-27, 2005. ISSN 0031-4005.

GARCÍA-GARCÍA, I. et al. Alterations of the salience network in obesity: a resting-state fMRI study. **Human brain mapping**, v. 34, n. 11, p. 2786-2797, 2013. ISSN 1097-0193.

GEHA, P. et al. Reorganization of brain connectivity in obesity. **Human brain mapping**, v. 38, n. 3, p. 1403-1420, 2017. ISSN 1097-0193.

GIRALDO-CHICA, M.; WOODWARD, N. D. Review of thalamocortical resting-state fMRI studies in schizophrenia. **Schizophr Res**, v. 13, n. 16, p. 30355-3, 2016. ISSN 1573-2509 (Electronic) 0920-9964 (Linking).

HOGENKAMP, P. et al. Higher resting-state activity in reward-related brain circuits in obese versus normal-weight females independent of food intake. **International Journal of Obesity**, 2016. ISSN 0307-0565.

JAACKS, L.; SLINING, M.; POPKIN, B. Recent trends in the prevalence of under-and overweight among adolescent girls in low-and middle-income countries. **Pediatric obesity**, 2015. ISSN 2047-6310.

JIANG, L.; ZUO, X.-N. Regional homogeneity a multimodal, multiscale neuroimaging marker of the human connectome. **The Neuroscientist**, p. 1073858415595004, 2015. ISSN 1073-8584.

KRAFFT, C. E. et al. An eight month randomized controlled exercise intervention alters resting state synchrony in overweight children. **Neuroscience**, v. 256, p. 445-455, 2014. ISSN 0306-4522.

KULLMANN, S. et al. The obese brain: association of body mass index and insulin sensitivity with resting state network functional connectivity. **Human brain mapping**, v. 33, n. 5, p. 1052-1061, 2012. ISSN 1097-0193.

LEE, M.; SMYSER, C.; SHIMONY, J. Resting-state fMRI: a review of methods and clinical applications. **American Journal of Neuroradiology**, v. 34, n. 10, p. 1866-1872, 2013. ISSN 0195-6108.

LI, Y. et al. Overweight is associated with decreased cognitive functioning among school-age children and adolescents. **Obesity**, v. 16, n. 8, p. 1809-15, Aug 2008. ISSN 1930-7381 (Print) 1930-7381 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18551126> >.

LIPS, M. A. et al. Resting-state functional connectivity of brain regions involved in cognitive control, motivation, and reward is enhanced in obese females. **Am J Clin Nutr**, v. 100, n. 2, p. 524-31, Aug 2014. ISSN 1938-3207 (Electronic) 0002-9165 (Linking).

MCLEOD, K. R. et al. Atypical within- and between-hemisphere motor network functional connections in children with developmental coordination disorder and attention-deficit/hyperactivity disorder. **Neuroimage Clin**, v. 12, p. 157-64, 2016. ISSN 2213-1582 (Electronic) 2213-1582 (Linking).

MORENO-LOPEZ, L. et al. Disrupted functional connectivity in adolescent obesity. **NeuroImage: Clinical**, v. 12, p. 262-268, 2016. ISSN 2213-1582.

MORENO-LOPEZ, L. et al. Disrupted functional connectivity in adolescent obesity. **Neuroimage Clin**, v. 12, p. 262-8, 2016. ISSN 2213-1582 (Electronic) 2213-1582 (Linking).

NANDA, K. Non-alcoholic steatohepatitis in children. **Pediatric transplantation**, v. 8, n. 6, p. 613-618, 2004. ISSN 1399-3046.

OGAWA, S. et al. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 87, n. 24, p. 9868-9872, 1990. ISSN 0027-8424.

PAULING, L.; CORYELL, C. D. The magnetic properties and structure of hemoglobin, oxyhemoglobin and carbonmonoxyhemoglobin. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 22, n. 4, p. 210-216, 1936. ISSN 0027-8424.

PERLMAN, G. et al. Amygdala response and functional connectivity during emotion regulation: a study of 14 depressed adolescents. **Journal of affective disorders**, v. 139, n. 1, p. 75-84, 2012. ISSN 0165-0327.

RASCHPICHLER, M. et al. Abdominal fat distribution and its relationship to brain changes: the differential effects of age on cerebellar structure and function: a cross-sectional, exploratory study. **BMJ open**, v. 3, n. 1, p. e001915, 2013. ISSN 2044-6055.

REUTER, C. P. et al. Prevalence of obesity and cardiovascular risk among children and adolescents in the municipality of Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 131, n. 5, p. 323-330, 2013. ISSN 1516-3180.

ROY, C. S.; SHERRINGTON, C. S. On the regulation of the blood-supply of the brain. **The Journal of physiology**, v. 11, n. 1-2, p. 85, 1890.

SANDRONE, S. et al. Angelo Mosso (1846–1910). **Journal of Neurology**, v. 259, n. 11, p. 2513-2514, 2012. ISSN 1432-1459. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s00415-012-6632-1> >.

STEPHANI, C. et al. Functional neuroanatomy of the insular lobe. **Brain Structure and Function**, v. 216, n. 2, p. 137-149, 2011. ISSN 1863-2653.

VIEIRA, M. D. F. A. et al. Diagnosis of overweight and obesity in adolescents from the 1993 Pelotas Birth Cohort Study, Rio Grande do Sul State, Brazil: comparison of two diagnostic criteria. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, n. 12, p. 2993-2999, 2007. ISSN 0102-311X.

WANG, J.; ZUO, X.; HE, Y. Graph-based network analysis of resting-state functional MRI. **Frontiers in systems neuroscience**, v. 4, p. 16, 2010. ISSN 1662-5137.

WHITMER, R. A. et al. Body mass index in midlife and risk of Alzheimer disease and vascular dementia. **Current Alzheimer research**, v. 4, n. 2, p. 103-9, Apr 2007. ISSN 1567-2050 (Print) 1567-2050 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17430231> >.

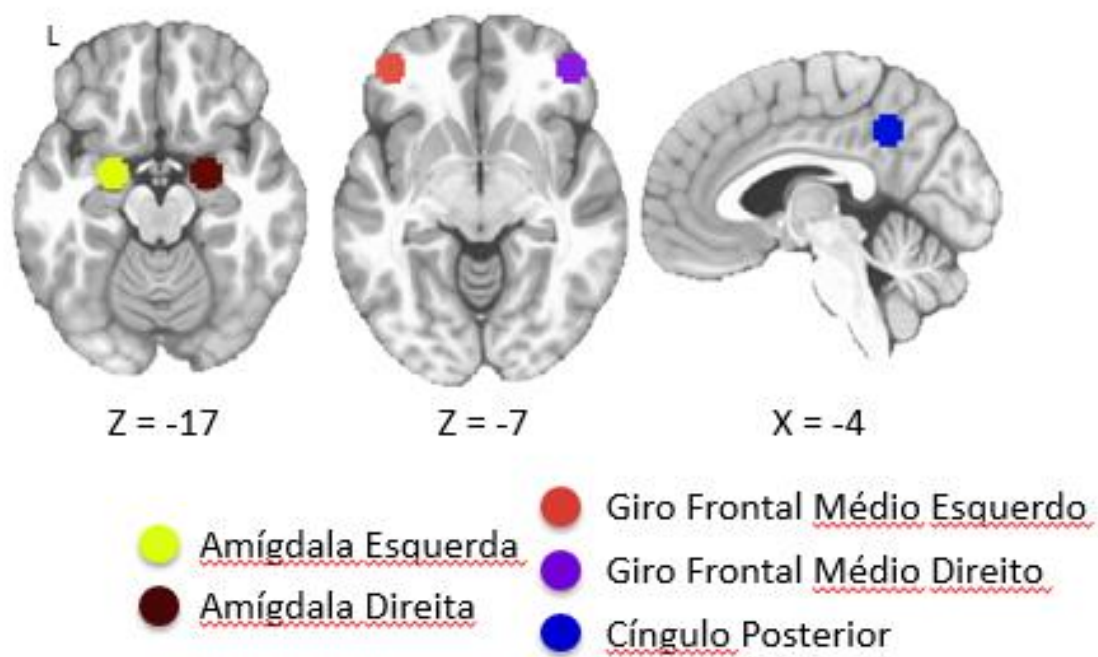
WIJNGAARDEN, M. et al. Obesity is marked by distinct functional connectivity in brain networks involved in food reward and salience. **Behavioural brain research**, v. 287, p. 127-134, 2015. ISSN 0166-4328.

ZHANG, B. et al. Altered baseline brain activities before food intake in obese men: a resting state fMRI study. **Neuroscience letters**, v. 584, p. 156-161, 2015. ISSN 0304-3940.

ZHANG, Y. et al. Enhanced resting-state functional connectivity between core memory-task activation peaks is associated with memory impairment in MCI. **Neurobiology of aging**, v. 45, p. 43-9, 2016. ISSN 1558-1497 (Electronic) 0197-4580 (Linking).

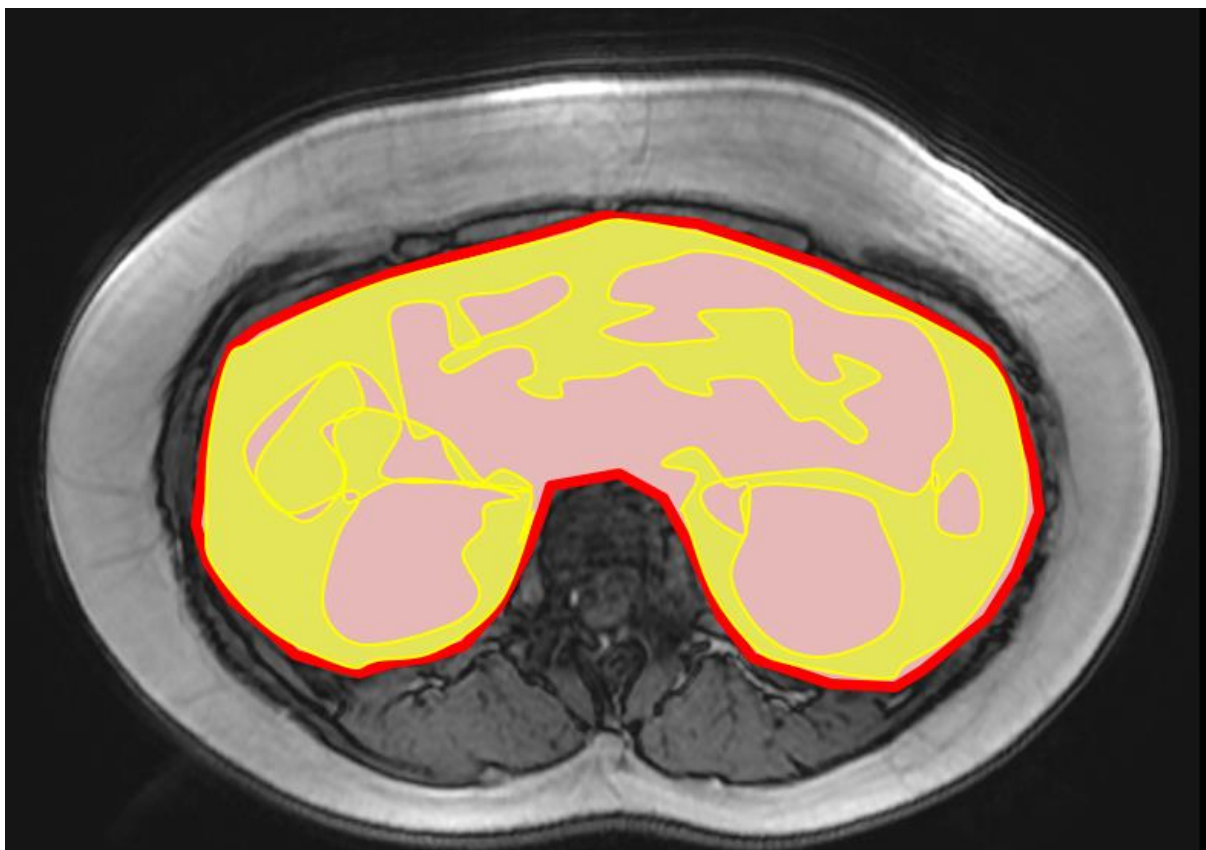
APÊNDICE A

Seleção de Regiões de Interesse



APÊNDICE B

Seleção do Coeficiente de Adiposidade Visceral



Gordura intra-abdominal: Amarelo

Área Intra-abdominal Total: Amarelo + Vermelho

$CAV = \text{Gordura Intra-Abdominal} / \text{Área Intra-Abdominal Total}$

ANEXO A

Documentos de aprovação da Pesquisa

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTUDO DA RELAÇÃO DA OBESIDADE NA ADOLESCÊNCIA COM ALTERAÇÕES DA CONECTIVIDADE CEREBRAL POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL EM ESTADO DE REPOUSO

Pesquisador: Matteo Baldisserotto

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 52287215.2.0000.5338

Instituição Proponente: UNIAO BRASILEIRA DE EDUCACAO E ASSISTENCIA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.455.248

Apresentação do Projeto:

Ver conclusões.

Objetivo da Pesquisa:

Ver conclusões.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Ver conclusões.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Ver conclusões.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Ver conclusões.

Recomendações:

Não se aplica.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Em face as respostas do pesquisador opinamos pela aprovação.

Salientamos que no protocolo apresentado na Plataforma permanece a citação de "IMC 97" e não o percentil 97(cuidado necessário para publicações futuras).

Endereço: Av. Ipiranga, 6681, prédio 40, sala 505
 Bairro: Partenon CEP: 90.619-900
 UF: RS Município: PORTO ALEGRE
 Telefone: (51)3320-3345 Fax: (51)3320-3345 E-mail: cep@pu.rs.br

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



Continuação do Parecer: 1.455.246

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o CEP-PUCRS, de acordo com suas atribuições definidas na Resolução CNS n° 466 de 2012 e da Norma Operacional n° 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_634311.pdf	03/03/2016 11:29:27		Aceito
Outros	cartaresposta.pdf	03/03/2016 11:28:10	Ricardo Pessini Paganin	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	22/02/2016 07:35:58	Ricardo Pessini Paganin	Aceito
Outros	CartarespostaaoCEPProjetoRicardo.pdf	04/01/2016 16:36:50	Matteo Baldisserotto	Aceito
Outros	Cartachefeservico2.pdf	04/01/2016 16:35:07	Matteo Baldisserotto	Aceito
Outros	Cartarefenteprojetoguardachuva.pdf	08/12/2015 15:17:45	Matteo Baldisserotto	Aceito
Outros	VerbaProjetoGuardaChuva.pdf	08/12/2015 15:17:02	Matteo Baldisserotto	Aceito
Outros	APROVACAOGUARDACHUVA.pdf	08/12/2015 15:16:26	Matteo Baldisserotto	Aceito
Outros	DocumentoUnificado.pdf	08/12/2015 15:16:06	Matteo Baldisserotto	Aceito
Outros	CartadeAprovacaodaComissaoCientifica.pdf	08/12/2015 15:15:48	Matteo Baldisserotto	Aceito
Outros	LinkCurriculoLattes.pdf	08/12/2015 15:15:12	Matteo Baldisserotto	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMODECONSENTIMENTOGuardaChuva.pdf	08/12/2015 15:12:51	Matteo Baldisserotto	Aceito
Outros	protocoloentregacpc.pdf	08/12/2015 15:12:03	Matteo Baldisserotto	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TermodeCompromissoparaUtilizacaodosDados.pdf	08/12/2015 15:11:24	Matteo Baldisserotto	Aceito
Orçamento	OrcamentoProjetoGuardachuva.pdf	08/12/2015 15:10:05	Matteo Baldisserotto	Aceito

Endereço: Av. Ipiranga, 6681, prédio 40, sala 505
 Bairro: Partenon CEP: 90.619-900
 UF: RS Município: PORTO ALEGRE
 Telefone: (51)3320-3345 Fax: (51)3320-3345 E-mail: cep@puccs.br

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



Continuação do Parecer: 1.455.246

Orçamento	OrcamentoprovadopeloCPC.pdf	08/12/2015 15:09:53	Matteo Baldisserotto	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostoricardopaganin.pdf	08/12/2015 15:04:51	Matteo Baldisserotto	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PORTO ALEGRE, 17 de Março de 2016

Assinado por:
Denise Cantarelli Machado
(Coordenador)

Endereço: Av. Ipiranga, 6681, prédio 40, sala 505
 Bairro: Partenon CEP: 90.619-900
 UF: RS Município: PORTO ALEGRE
 Telefone: (51)3320-3345 Fax: (51)3320-3345 E-mail: cep@pucrs.br

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: RELAÇÃO DA OBESIDADE NA ADOLESCENCIA COM ALTERAÇÕES CEREBROVASCULARES E HEPATICAS

Pesquisador: Matteo Baldissotto

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 09685713.9.0000.5336

Instituição Proponente: UNIAO BRASILEIRA DE EDUCACAO E ASSISTENCIA

Patrocinador Principal: CONS NAC DE DESENVOLVIMENTO CIENTIFICO E TECNOLOGICO

DADOS DA NOTIFICAÇÃO

Tipo de Notificação: Outros

Detalhe: LOCAL DE COLETA DOS EXAMES LABORATORIAIS

Justificativa: O farmacêutico responsável anteriormente pelas coletas está impossibilitado de

Data do Envio: 15/08/2013

Situação da Notificação: Aguardando revisão do parecer do colegiado

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 362.317

Data da Relatoria: 15/08/2013

Apresentação da Notificação:

Vide conclusões

Objetivo da Notificação:

Vide conclusões

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Vide conclusões

Comentários e Considerações sobre a Notificação:

Vide conclusões

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide conclusões

Endereço: Av. Ipiranga, 6681

Bairro:

CEP: 90.619-900

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)320-3345

Fax: (51)320-3345

E-mail: cep@pucrs.br

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



Continuação do Parecer: 362.317

Recomendações:

Vide conclusões

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O CEP-PUCRS informa que, tomou ciência da notificação de modificação de local e de corolito de exames laboratoriais, datada de 13 de agosto de 2013, referente ao projeto intitulado: **RELAÇÃO DA OBESIDADE NA ADOLESCÊNCIA COM ALTERAÇÕES CEREBROVASCULARES E HEPATICAS.**

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

PORTO ALEGRE, 16 de Agosto de 2013

Assinador por:
caio coelho marques
(Coordenador)

Endereço: Av. Piranga, 0681
Bairro: CEP: 90.619-900
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)320-3346 Fax: (51)320-3346 E-mail: cep@pucrs.br

ANEXO B

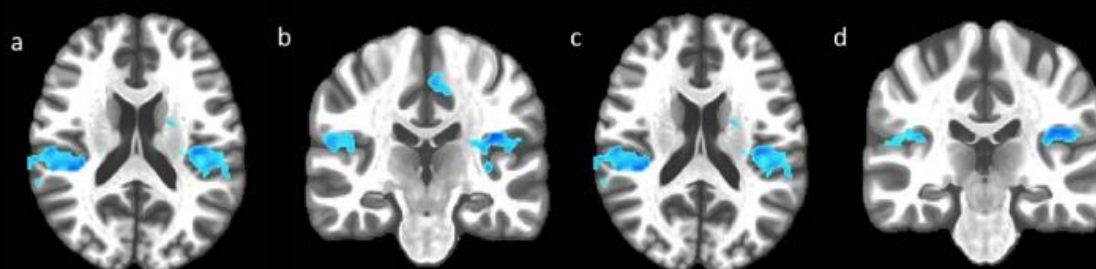
Pôster apresentado World Congress Of Brain, Behavior And Emotions

ALTERAÇÕES DE CONECTIVIDADE FUNCIONAL EM ADOLESCENTES OBESOS

Paganin RP, Soder RB, Franco AR, Portuguez MW, Braghirolli MLS, Costa JC, Baldisserotto M

InsCer – Instituto do Cérebro do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

Introdução: A obesidade na infância e adolescência representa um grande problema de saúde pública e é considerada uma epidemia global pela Organização Mundial de Saúde, e grande fator de risco para a obesidade adulta. Os mecanismos neurocognitivos que levam à obesidade ainda não estão adequadamente elucidados, no entanto novos estudos baseados em Ressonância Magnética Funcional (RMF) sobre obesidade em adultos têm evidenciado alterações na conectividade cerebral em pacientes obesos quando comparados a controles, inclusive em redes relacionadas a mecanismo de recompensa e circuito de autocontrole. No entanto estes aspectos não foram significativamente estudados em crianças e adolescentes obesos. **Objetivo:** Demonstrar possíveis diferenças de conectividade funcional entre adolescentes obesos e controles através de Ressonância Magnética Funcional em estado de Repouso (RMFER). **Método:** Foram realizadas análises baseadas em sementes em dados de RMFER coletados de 38 pacientes entre 15 e 18 anos, sendo 16 no grupo obesos e 22 no grupo controle, com regiões de interesse localizadas nas amígdalas, cíngulo posterior e córtex pré-frontal medial bilateral, correlacionadas a partir de teste t e análises de regressão múltipla com dados de Índice de Massa Corporal (IMC) e dados de adiposidade total e visceral, extraídos a partir de corte transversal de Ressonância Magnética Abdominal. O processamento e análise de dados foi realizado com o software livre AFNI, e o nível de significância utilizado de $p < 0,05$. **Resultados:** As análises de grupo não demonstraram diferenças significativas nos testes t e análises de regressão múltipla na correlação com o IMC. As análises de regressão múltipla incluindo a adiposidade visceral demonstram significativa redução na conectividade funcional entre as amígdalas e ínsulas posteriores. Também foram observadas conectividades reduzidas em relação à adiposidade visceral entre a amígdala direita e giro do cíngulo, córtex pré-frontal medial direito e precúneos, córtex pré-frontal medial esquerdo e precúneo direito e lóbulo parietal superior direito, bem como entre cíngulo posterior e precúneo direito. **Conclusão:** os achados descritos demonstram que a obesidade em adolescentes também está relacionada a alterações de conectividade funcional cerebral, possivelmente relacionadas a mecanismos de recompensa e autocontrole.



Clusters demonstrando correlação negativa entre a conectividade da amígdala direita (a e b) e esquerda (c e d) e o córtex insular posterior bilateralmente. Também é observado cluster de correlação negativa entre a amígdala direita e o giro do cíngulo esquerdo (b)

ANEXO C

Artigo submetido ao Obesity Journal
(www.obesity.org/publications/obesity-journal)

25/07/2017

ScholarOne Manuscripts

 Obesity[# Home](#)[/ Author](#)

Submission Confirmation

[Print](#)

Thank you for your submission

Submitted to
Obesity

Manuscript ID
17-0787-Orig

Title
Resting State FMRI Alterations in Obese Adolescents

Authors
Paganin, Ricardo
Franco, Alexandre
Silveira Braghirolli, Maria
Wetters Portuguez, Mima
Costa da Costa, Jaderson
Baldisserotto, Matteo

Date Submitted
25-Jul-2017

[Author Dashboard](#)

Resting State fMRI Alterations in Obese Adolescents

Ricardo Pessini Paganin^{1,2}, Alexandre Rosa Franco^{1,3,4*}, Ricardo Bernardi Soder^{1,4},
Mirna Wetters Portuguese^{1,4,5}, Maria Luiza Silveira Braghirolli⁷, Jaderson Costa da
Costa^{1,4,6}, Matteo Baldisserotto^{1,2,4,6}

¹PUCRS, Brain Institute of Rio Grande do Sul, PUCRS, Porto Alegre, RS, Brazil

²PUCRS, Pediatrics and Children's Health Postgraduate Program, PUCRS, Brazil

³PUCRS, School of Engineering, Porto Alegre, RS, Brazil

⁴PUCRS, School of Medicine, Porto Alegre, RS, Brazil

⁵PUCRS, Geriatrics and Gerontology Institute

⁶PUCRS, Medicine and Health Sciences Postgraduate Program

⁷Porto Alegre, RS

*** Corresponding authors:**

Alexandre Rosa Franco, email: alexandre.franco@pucrs.br. Brain Institute of Rio Grande do Sul, PUCRS, Avenida Ipiranga, 6690, prédio 63, 90610-000, Porto Alegre, RS, Brazil

Matteo Baldisserotto, email: matteo.baldisserotto@pucrs.br Brain Institute of Rio Grande do Sul, PUCRS, Avenida Ipiranga, 6690, prédio 63, 90610-000, Porto Alegre, RS, Brazil

Ricardo Pessini Paganin, email: ricardopaganin@gmail.com Brain Institute of Rio Grande do Sul, PUCRS, Avenida Ipiranga, 6690, prédio 63, 90610-000, Porto Alegre, RS, Brazil

Relevant conflicts of interest/financial disclosures: Nothing to report

INTRODUCTION

Child obesity has been a major public health problem in the last decades. The World Health Organization (WHO) considers child obesity a global health epidemic and the main risk factor for obesity in adulthood (Nanda, 2004; Freedman *et al.*, 2005; Whitmer, Rachel A *et al.*, 2007). Countries in the Caribbean and Latin America have the highest rate of overweight and obesity in children and adolescents, and their prevalence increases by about 0.5% per year (Jaacks, L. M. *et al.*, 2015), reaching rates of 29.7% in Rio Grande do Sul (Vieira *et al.*, 2007; Reuter *et al.*, 2013). It is hypothesized that this epidemic could be caused by changes in brain functional organization, in order to regulate both internal and external stimuli (García-García *et al.*, 2013).

Overweight can cause serious problems for the child's health due to the high risk of cardiovascular and respiratory diseases. Obese children have, more frequently, increased cholesterol and triglyceride levels and higher blood pressure, in addition to having a higher glucose intolerance (Freedman *et al.*, 2005).

Obesity, caused by excess food consumption, is primarily influenced by eating behavior which is modulated by the central nervous system (De Araujo e Rolls, 2004b). Obesity has been also related to poor cognitive and school performance (Elias, Merrill F *et al.*, 2005; Li, Yanfeng *et al.*, 2008), neurodegenerative diseases such as Alzheimer's in adulthood (Whitmer, Rachel A *et al.*, 2007) and morphological and functional alterations in brain imaging with advanced techniques (Yau *et al.*, 2012; Saute *et al.*, 2016).

Recently, there has been increasing interest in differential activations of certain brain regions and networks between obese and eutrophic patients using resting state functional magnetic resonance imaging (rsfMRI) (García-García *et al.*, 2013). RsfMRI permits us to evaluate the intrinsic connectivity of functional brain networks in healthy individuals and / or with neurological or psychiatric diseases (Biswal *et al.*, 1995; Fox *et al.*, 2005), which suggests a potential of using this method as a new biomarker of disease monitoring. Performing the exam is simple, compared to task-based fMRI, where this examination consists of the acquisition of magnetic resonance imaging

while the patient does not perform any specific cognitive task, being oriented only to relax, to maintain their fixed on a crosshair on the screen, and to think of nothing in particular, during a period that varies between 5 to 10 minutes. Numerous research projects have shown that rsfMRI can be used to better understand mental disorders and neurological diseases including depression, bipolarity, autism, attention deficit, schizophrenia, epilepsy, multiple sclerosis and Alzheimer's disease(Fox e Greicius, 2010) It is also has extensively used to better understand the normal functioning of the human brain(Van Den Heuvel e Pol, 2010).

With rsfMRI, several brain areas that are typically co-activated have been identified as distinct resting state networks (RSNs)(Smith *et al.*, 2009). Many of these networks are implicated in high order cognitive processes and have been shown to be altered in obese patients, such as in the orbitofrontal and medial prefrontal cortex(Zhang *et al.*, 2015) in the activation of putative circuits(García-García *et al.*, 2013), in the Default Mode Network (DMN) and temporal lobe network(Kullmann *et al.*, 2012). Additionally, studies on obese children have demonstrated changes in brain connectivity after an exercise program(Krafft *et al.*, 2014), especially in the salience and reward networks(García-García *et al.*, 2013), and hyperconnectivity of reward mechanisms on the self-control circuit(De Araujo e Rolls, 2004b).

The objective of this study is to compare rsfMRI data from obese adolescents with healthy matched controls in order to understand the comorbidities of adolescent obesity within the brain. It is believed that there are functional alterations in the salience and reward networks within the obese patients. that there are differences of brain networks, and that are located especially in the salience and reward networks.

METHODS

Subjects

Within this study subjects were divided in two groups, one being the High BMI (HB) and another being the healthy controls (HC). The first group (OB) consisted of 23 adolescents with ages ranging from 10 to 18 years old with a percentile of body mass index (BMI) equal to or greater than 97. The HC group consisted of 23 eutrophic adolescents, matched with sex and ages with the OG, with BMIs between the 25th and 75th percentiles.

Individuals with chronic diseases, with hepatorenal disease and currently using hepatotoxic, nephrotoxic, corticosteroid or immunosuppressive drugs, with systemic arterial hypertension, or currently present with chronic diseases that can determine liver fat deposition or early atherosclerosis were not included in the study. In both groups, anthropometric measurements and quantitative evaluation of the cerebral parenchyma by MRI were performed. Participants were recruited from an epidemiologic study with high school students in the city of Veranópolis, Brazil.

Anthropometric data were evaluated according to the protocol proposed by the World Health Organization of 2004 (Barba *et al.*, 2004). The weight, height, body mass index with their respective z scores, as well as their abdominal circumference and their percentile were measured and calculated.

All participants read and signed a written Informed Consent Form, as well as their parents or legal guardians. This study was approved by the Research Ethics Committee of this institution.

MR Imaging

All MRI scans were collected on a GE Healthcare Signa HDx 3.0T magnet (General Electric, Milwaukee, WI). Brain images were collected with an 8-channel head coil. Structural images were obtained with a T1-weighted fast SPGR volumetric sequences acquired with a TR/TE/TI of 6.3/ 2.3 /600 milliseconds (ms), respectively,

with inversion angle of 10 degrees, isotropic resolution of 1 mm³ and matrix of 256x256. The images for the functional study were obtained with the subject observing a fixed cross for 7 minutes. The subject was requested to maintain the eyes fixed on the cross, not think of anything in particular and maintain their head still. Images were acquired with a T2* EPI BOLD with 28 slices of 4 mm thickness with 0.4 mm gap, FOV of 192x192mm, size of Matrix of 64x64, TE/TR = 30/2000ms, inversion angle of 90° and a total of 210 volumes. Abdominal MRI was performed with an 8-channel abdominal coil, with supine patients and extended limbs above the head and the following imaging parameters: FOV of 250x250 mm, 512x512 matrix, 1mm cutoff thickness, TE/TR = 2.27/6.37ms.

FMRI Data Processing

All functional neuroimaging was processed and analyzed using AFNI (<https://afni.nimh.nih.gov/afni/>) (Cox, 1996). Functional data was preprocessed using the *afni_proc.py* pipeline and included the following steps: removal of the first 3 TRs, despiking, slice-time correction, motion correction, non-linear spatial normalization to the MNI152 template (using the T1 image as reference), and blurred with a 6mm FWHM Gaussian Kernel. Additionally, a multiple regression was calculated with the functional data, where the average cerebral-spinal fluid signal, a localized white matter signal (radius=25 mm) (Jo *et al.*, 2010), the six demeaned and derivative of the motion parameters were used as regressors of no interest. Within the multiple regression, time points with large motion (> 0.9mm) were censored and the data were bandpass filtered (0.01–0.1 Hz). The residual of this multiple regression was used for the following steps.

Functional connectivity was measured from 5 regions of interest. Based on the MNI atlas, the following brain regions were selected as seed ROIs: Right and left prefrontal medial cortex (x=+-43 y=48 z=-8), right and left amygdala (x=+-23 y=-4 z=-19) and right posterior cingulate (x=5 y=-49 z=40). Seeds were created with an 8mm radius and are shown in Supplementary Figure 1. The average time-series within each seed was correlated with the time-series of all the voxels within the brain. The resulting correlation was transformed to z using Fisher's method, in order to perform parametric statistical analysis. The connectivity maps were then used in the group level analysis.

Abdominal Fat Processing

The Visceral Fat Coefficient (VFC) was measured by the following procedure; regions of fat interest were manually drawn between L3 and L4, and then the area of intra-abdominal fat was divided by the total intra-abdominal area. The same experienced radiologist performed all measurements.

Neuropsychological Assessments

To reduce the emotional bias of the imaging analysis and to evaluate possible correlations between Obesity and mood disorders, the Beck Depression Inventory (BDI) was assessed for each volunteer.

Imaging Statistical Analysis

The functional connectivity of each group (HB vs. HC) was compared for each seed using AFNI's *3dttest++* tool. BDI scores and age were used as covariates in this analysis. Regression analysis was performed to measure the relationship of the functional connectivity and BMI or Visceral Fat Coefficient (VFC) was calculated using the *3dRegAna* tool. An analysis of the relationship of functional connectivity and BDI was also performed. Age was entered as a covariate within the regression analysis. All neuroimaging statistical analysis were corrected for multiple comparisons using *3dClustsim*, with an $\alpha < 0.05$.

RESULTS

Of the 46 volunteers initially selected, the final dataset that was used in the analysis consisted of 38 subjects, 16 from the OG and 22 from the HC group. The reasons for data loss were related to difficulties in image acquisition, among them, data from corrupted EPI and exams interrupted due to patient discomfort. Excessive head motion was not detected on the remaining imaging data. The anthropometric data are shown in table 1. No statistical significant differences were observed between the groups, except in the BMI and in the VFC between obese and non-obese groups. Also, there were no relationship between the VFC and BDI.

With the functional connectivity data, no statistically significant differences were observed between the two groups for all the 5 seed regions. A regression of the functional connectivity with the BMI score also showed no statistically significant results.

However, statistically significant results were shown when calculating the linear relationship of the functional connectivity of the right and left amygdala, left middle frontal gyrus and posterior cingulate seeds with the VFC. Results are described and shown in table 2 and figures 1 and 2, respectively. Within this analysis, BDI scores were used as regressors of no interest.

Both right and left amygdala seeds showed a decrease in functional connectivity with the posterior insula as the VFC increased. For the left amygdala seed, there is a cluster that shows a decrease in connectivity with the left superior temporal cortex and insula. For the right amygdala seed, a decrease in functional connectivity as VFC increases is seen the left posterior cingulate and precuneus.

With the seed placed in the left middle frontal cortex, there is a decrease in functional connectivity with the right precuneus as VFC increases. Different than previously described results, there is an increase in functional connectivity of the posterior cingulate with the right cuneus and precuneus as VFC increases.

DISCUSSION

Resting state functional neuroimaging data in adolescents showed an inverse relationship between the degree of visceral adiposity and the connectivity of the amygdala with the posterior insula, right amygdala and the cingulate gyrus, and the frontal gyrus with the precuneus. The posterior insula has already been shown to be associated with somatosensory, painful perception, visceral sensation and gustation(Stephani *et al.*, 2011). The cingulate gyrus is associated with several brain areas and has been shown to be related in different parts to pain, conflict, motor, reward, emotion, error detection and memory(Beckmann *et al.*, 2009). The parietal lobes, and especially the precuneus, are mainly associated with higher cognitive functions, such as cognitive abstraction and visual-spatial processes, self-processing and consciousness (among them the default mode network)(Cavanna e Trimble, 2006).

In a recent study by Moreno-Lopez et al(Moreno-Lopez, Laura *et al.*, 2016), they demonstrated changes in cerebral connectivity, when comparing of obese and eutrophic adolescents, with reduced connectivity between the insula/operculum and the anterior cingulate cortex and the premotor cortex, as well as a reduction in connectivity between the middle temporal cortex and the posterior cingulate and precuneus. There was increased connectivity between the pre dorsolateral frontal cortex and primary visual. The study also showed a differential association between the sensibility towards reward and the connectivity of the insula / operculum and superior frontal gyrus, and between the middle temporal cortex and the left frontal operculum. The authors postulated that these findings relate with factors related to interoception (insula), emotional memory (mean temporal gyrus) and cognitive control (dorsolateral prefrontal cortex), with consequent deregulation of neural networks related to stimulus internalization and cognitive control.

Nevertheless, it has been demonstrated that the reorganization of the brain networks in obese patients is broad, and even differentiated according to the stimulus, according to Geha et al(Geha *et al.*, 2017). When studying global connectivity, it has

been shown a reduction in connectivity in brain regions, and an increase in a much smaller number. Most of these previous findings are consistent with our results, with a reduction in connectivity in the, amygdala, insula and the Default Mode Network related to an increase in VFC. However, there is an increased connectivity with the middle prefrontal cortex and the precuneus.

It is of interest to note that the changes observed in our study only occurred in the correlation with visceral adiposity measurement, not BMI. This finding may be due to the fact that, in general, visceral adiposity is considered to be more harmful globally, including to the cerebellar volume(Raschpichler *et al.*, 2013) and cortical thickness(Saute *et al.*, 2016).

Additionally, it is known that the connectivity between the amygdala and the insula is related to emotional disorders in childhood and adolescence(Perlman *et al.*, 2012; Bebko *et al.*, 2015). However, we found no correlation between connectivity changes and the Beck Depression index in our study, reducing the possibility of bias by this measurement.

Our study has limitations. Firstly, we analyzed adolescents close to adulthood age, which could approximate our results to adult different connectivities. However, it is known that the brain is still maturing at this age(Arain *et al.*, 2013). Secondly, FMRI has inherent limitations, such as imaging data inhomogeneity and the impossibility of causality definition, where we cannot say if the connectivity differences cause obesity or obesity changes the cerebral connectivities.

CONCLUSIONS

Obesity is an epidemic healthcare issue, with definite and expanding morbidities associated. The neural control over its causing mechanisms is still in early discovery, with intensive work still necessary to properly demonstrate it. The constant improvement of our knowledge of brain functioning through FMRI may bring multiple new understandings about this condition.

We tried to demonstrate with this study some of these mechanisms, with special attention in a population that has high risk for adulthood obesity, and who could most

benefit from the prevention and treatment of this condition, given the progressive course of the morbidities associated.

6. Acknowledgements

This work was funded by a grant from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq – CAAE: 09685713.9.0000. 5336). We thank Neide Maria Burcatto, nutritionist at the municipality of the city of Veranópolis, Brazil, for her efforts in recruiting the adolescents and the exceptional technical support.

7. References

- ARAIN, M. et al. Maturation of the adolescent brain. **Neuropsychiatric disease and treatment**, v. 9, p. 449, 2013.
- ARD, J. D.; MILLER, G.; KAHAN, S. Nutrition Interventions for Obesity. **Medical Clinics of North America**, v. 100, n. 6, p. 1341-1356, 2016. ISSN 0025-7125.
- BARBA, C. et al. Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. **The lancet**, v. 363, n. 9403, p. 157, 2004. ISSN 0140-6736.
- BEBKO, G. et al. Decreased amygdala–insula resting state connectivity in behaviorally and emotionally dysregulated youth. **Psychiatry Research: Neuroimaging**, v. 231, n. 1, p. 77-86, 2015. ISSN 0925-4927.
- BECKMANN, M.; JOHANSEN-BERG, H.; RUSHWORTH, M. F. Connectivity-based parcellation of human cingulate cortex and its relation to functional specialization. **Journal of Neuroscience**, v. 29, n. 4, p. 1175-1190, 2009. ISSN 0270-6474.
- BISWAL, B. et al. Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar mri. **Magnetic resonance in medicine**, v. 34, n. 4, p. 537-541, 1995. ISSN 1522-2594.
- CAVANNA, A. E.; TRIMBLE, M. R. The precuneus: a review of its functional anatomy and behavioural correlates. **Brain**, v. 129, n. 3, p. 564-583, 2006. ISSN 0006-8950.
- COLLABORATION, P. S. Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. **The Lancet**, v. 373, n. 9669, p. 1083-1096, 2009. ISSN 0140-6736.
- COX, R. W. AFNI: software for analysis and visualization of functional magnetic resonance neuroimages. **Computers and Biomedical research**, v. 29, n. 3, p. 162-173, 1996. ISSN 0010-4809.

DAMOISEAUX, J. et al. Consistent resting-state networks across healthy subjects. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 37, p. 13848-13853, 2006. ISSN 0027-8424.

DE ARAUJO, I. E.; ROLLS, E. T. Representation in the human brain of food texture and oral fat. **The Journal of neuroscience**, v. 24, n. 12, p. 3086-3093, 2004a. ISSN 0270-6474.

_____. Representation in the human brain of food texture and oral fat. **Journal of Neuroscience**, v. 24, n. 12, p. 3086-3093, 2004b. ISSN 0270-6474.

ELIAS, M. F. et al. Obesity, diabetes and cognitive deficit: The Framingham Heart Study. **Neurobiology of aging**, v. 26 Suppl 1, p. 11-6, Dec 2005. ISSN 0197-4580 (Print)

0197-4580 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16223549> >.

ELIAS, M. F. et al. Obesity, diabetes and cognitive deficit: the Framingham Heart Study. **Neurobiology of aging**, v. 26, n. 1, p. 11-16, 2005. ISSN 0197-4580.

FOX, M. D.; GREICIUS, M. Clinical applications of resting state functional connectivity. **Frontiers in systems neuroscience**, v. 4, 2010.

FOX, M. D. et al. The human brain is intrinsically organized into dynamic, anticorrelated functional networks. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, n. 27, p. 9673-9678, 2005. ISSN 0027-8424.

FRANK, S.; KULLMANN, S.; VEIT, R. Food related processes in the insular cortex. **Frontiers in human neuroscience**, v. 7, 2013.

FREEDMAN, D. S. et al. The relation of childhood BMI to adult adiposity: the Bogalusa Heart Study. **Pediatrics**, v. 115, n. 1, p. 22-27, 2005. ISSN 0031-4005.

GARCÍA- GARCÍA, I. et al. Alterations of the salience network in obesity: A resting- state fMRI study. **Human brain mapping**, v. 34, n. 11, p. 2786-2797, 2013. ISSN 1097-0193.

GEHA, P. et al. Reorganization of brain connectivity in obesity. **Human brain mapping**, v. 38, n. 3, p. 1403-1420, 2017. ISSN 1097-0193.

GIRALDO-CHICA, M.; WOODWARD, N. D. Review of thalamocortical resting-state fMRI studies in schizophrenia. **Schizophr Res**, v. 13, n. 16, p. 30355-3, 2016. ISSN 1573-2509 (Electronic)
0920-9964 (Linking).

HOGENKAMP, P. et al. Higher resting-state activity in reward-related brain circuits in obese versus normal-weight females independent of food intake. **International Journal of Obesity**, 2016. ISSN 0307-0565.

JAACKS, L.; SLINING, M.; POPKIN, B. Recent trends in the prevalence of under- and overweight among adolescent girls in low- and middle- income countries. **Pediatric obesity**, 2015. ISSN 2047-6310.

JAACKS, L. M.; SLINING, M. M.; POPKIN, B. M. Recent trends in the prevalence of under- and overweight among adolescent girls in low- and middle- income countries. **Pediatric obesity**, v. 10, n. 6, p. 428-435, 2015. ISSN 2047-6310.

JIANG, L.; ZUO, X.-N. Regional homogeneity a multimodal, multiscale neuroimaging marker of the human connectome. **The Neuroscientist**, p. 1073858415595004, 2015. ISSN 1073-8584.

JO, H. J. et al. Mapping sources of correlation in resting state FMRI, with artifact detection and removal. **Neuroimage**, v. 52, n. 2, p. 571-582, 2010. ISSN 1053-8119.

KRAFFT, C. E. et al. An eight month randomized controlled exercise intervention alters resting state synchrony in overweight children. **Neuroscience**, v. 256, p. 445-455, 2014. ISSN 0306-4522.

KULLMANN, S. et al. The obese brain: association of body mass index and insulin sensitivity with resting state network functional connectivity. **Human brain mapping**, v. 33, n. 5, p. 1052-1061, 2012. ISSN 1097-0193.

LEE, M.; SMYSER, C.; SHIMONY, J. Resting-state fMRI: a review of methods and clinical applications. **American Journal of Neuroradiology**, v. 34, n. 10, p. 1866-1872, 2013. ISSN 0195-6108.

LI, Y. et al. Overweight is associated with decreased cognitive functioning among school-age children and adolescents. **Obesity**, v. 16, n. 8, p. 1809-15, Aug 2008. ISSN 1930-7381 (Print)

1930-7381 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18551126> >.

LI, Y. et al. Overweight is associated with decreased cognitive functioning among school-age children and adolescents. **Obesity**, v. 16, n. 8, p. 1809-1815, 2008. ISSN 1930-739X.

LIPS, M. A. et al. Resting-state functional connectivity of brain regions involved in cognitive control, motivation, and reward is enhanced in obese females. **Am J Clin Nutr**, v. 100, n. 2, p. 524-31, Aug 2014. ISSN 1938-3207 (Electronic)

0002-9165 (Linking).

MCLEOD, K. R. et al. Atypical within- and between-hemisphere motor network functional connections in children with developmental coordination disorder and attention-deficit/hyperactivity disorder. **Neuroimage Clin**, v. 12, p. 157-64, 2016. ISSN 2213-1582 (Electronic)

2213-1582 (Linking).

MESULAM, M.; MUFSON, E. J. Insula of the old world monkey. III: Efferent cortical output and comments on function. **Journal of Comparative Neurology**, v. 212, n. 1, p. 38-52, 1982. ISSN 1096-9861.

MORENO-LOPEZ, L. et al. Disrupted functional connectivity in adolescent obesity. **Neuroimage Clin**, v. 12, p. 262-8, 2016. ISSN 2213-1582 (Electronic)
2213-1582 (Linking).

MORENO-LOPEZ, L. et al. Disrupted functional connectivity in adolescent obesity. **NeuroImage: Clinical**, v. 12, p. 262-268, 2016. ISSN 2213-1582.

NANDA, K. Non-alcoholic steatohepatitis in children. **Pediatric transplantation**, v. 8, n. 6, p. 613-618, 2004. ISSN 1399-3046.

OGAWA, S. et al. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 87, n. 24, p. 9868-9872, 1990. ISSN 0027-8424.

PAULING, L.; CORYELL, C. D. The magnetic properties and structure of hemoglobin, oxyhemoglobin and carbonmonoxyhemoglobin. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 22, n. 4, p. 210-216, 1936. ISSN 0027-8424.

PERLMAN, G. et al. Amygdala response and functional connectivity during emotion regulation: a study of 14 depressed adolescents. **Journal of affective disorders**, v. 139, n. 1, p. 75-84, 2012. ISSN 0165-0327.

RASCHPICHLER, M. et al. Abdominal fat distribution and its relationship to brain changes: the differential effects of age on cerebellar structure and function: a cross-sectional, exploratory study. **BMJ open**, v. 3, n. 1, p. e001915, 2013. ISSN 2044-6055.

REUTER, C. P. et al. Prevalence of obesity and cardiovascular risk among children and adolescents in the municipality of Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 131, n. 5, p. 323-330, 2013. ISSN 1516-3180.

ROY, C. S.; SHERRINGTON, C. S. On the regulation of the blood-supply of the brain. **The Journal of physiology**, v. 11, n. 1-2, p. 85, 1890.

SANDRONE, S. et al. Angelo Mosso (1846–1910). **Journal of Neurology**, v. 259, n. 11, p. 2513-2514, 2012. ISSN 1432-1459. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s00415-012-6632-1> >.

SAUTE, R. et al. Increased brain cortical thickness associated with visceral fat in adolescents. **Pediatric obesity**, 2016. ISSN 2047-6310.

SMITH, S. M. et al. Correspondence of the brain's functional architecture during activation and rest. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 31, p. 13040-13045, 2009. ISSN 0027-8424.

SMITH, S. M. et al. Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. **Neuroimage**, v. 23, p. S208-S219, 2004. ISSN 1053-8119.

STEPHANI, C. et al. Functional neuroanatomy of the insular lobe. **Brain Structure and Function**, v. 216, n. 2, p. 137-149, 2011. ISSN 1863-2653.

VAN DEN HEUVEL, M. P.; POL, H. E. H. Exploring the brain network: a review on resting-state fMRI functional connectivity. **European neuropsychopharmacology**, v. 20, n. 8, p. 519-534, 2010. ISSN 0924-977X.

VIEIRA, M. D. F. A. et al. Diagnosis of overweight and obesity in adolescents from the 1993 Pelotas Birth Cohort Study, Rio Grande do Sul State, Brazil: comparison of two diagnostic criteria. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, n. 12, p. 2993-2999, 2007. ISSN 0102-311X.

WANG, J.; ZUO, X.; HE, Y. Graph-based network analysis of resting-state functional MRI. **Frontiers in systems neuroscience**, v. 4, p. 16, 2010. ISSN 1662-5137.

WHITMER, R. A. et al. Body mass index in midlife and risk of Alzheimer disease and vascular dementia. **Current Alzheimer research**, v. 4, n. 2, p. 103-9, Apr 2007. ISSN 1567-2050 (Print)

1567-2050 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17430231> >.

WHITMER, R. A. et al. Body mass index in midlife and risk of Alzheimer disease and vascular dementia. **Current Alzheimer Research**, v. 4, n. 2, p. 103-109, 2007. ISSN 1567-2050.

WIJNGAARDEN, M. et al. Obesity is marked by distinct functional connectivity in brain networks involved in food reward and salience. **Behavioural brain research**, v. 287, p. 127-134, 2015. ISSN 0166-4328.

YAU, P. L. et al. Obesity and metabolic syndrome and functional and structural brain impairments in adolescence. **Pediatrics**, v. 130, n. 4, p. e856-e864, 2012. ISSN 0031-4005.

ZHANG, B. et al. Altered baseline brain activities before food intake in obese men: A resting state fMRI study. **Neuroscience letters**, v. 584, p. 156-161, 2015. ISSN 0304-3940.

ZHANG, Y. et al. Enhanced resting-state functional connectivity between core memory-task activation peaks is associated with memory impairment in MCI. **Neurobiology of aging**, v. 45, p. 43-9, 2016. ISSN 1558-1497 (Electronic)

0197-4580 (Linking).

Table Legends:

Table 1: Group characteristics.

	High BMI	Healthy Controls	Group Difference (p-score)	Total or Mean
Sex (F/M)	9/7	12/10	0.590*	21/17
Age (years)	16,06	16.90	0.137**	16.55
BMI(kg/m ²)	31.31	21.54	0.022**	25.65
Visceral Fat Coefficient	15.53	5.39	0.001**	9.66

* Chi-square test

** Independent Sample T-test

Table 2: Activation Clusters

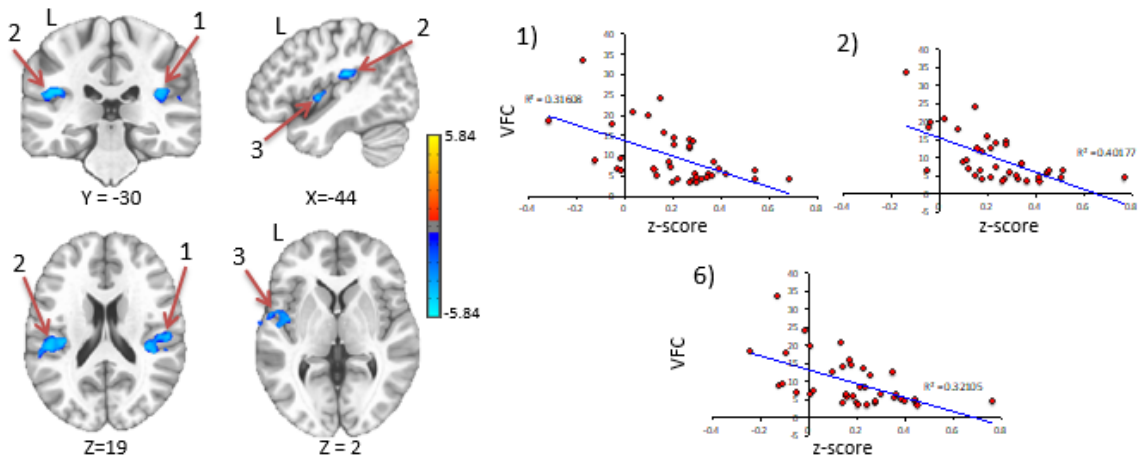
Seed	Cluster index in Figure 1	Area	Cluster Size (μ)	mni coordinates (x,y,z)
Right Amygdala	1	Right posterior insula	4509	51.1 , 28.7, 19.4
	2	Left posterior Insula	3753	-45.9 , 28.6 , 17.9
	3	Left posterior cingulate	2970	-8.8 , 31.0 , 50.8
	4	Left precuneus	1485	-26.2 , 43.4, 65.1
Left Amygdala	1	Right posterior insula	2322	47.3 , 25.5 , 18.5
	2	Left posterior Insula	2052	-44.8 , 27.6, 18.8

	3	Left superior temporal cortex and insula	1188	-52.6 , 3.6 , 1.5
Left Middle Frontal Gyrus	-	Right Precuneus	1620	1.5 , 46.5 , 52.5
Posterior Cingulate	-	Right Cuneus and Precuneus	1728	14.4 , 69.8 , 36.7

Figure Legends

Figure 1: Clusters showing the negative correlation of the functional connectivity of the Left and Right Amygdala Seeds with VFC. Clusters indexes are described in Table 2.

A) Left Amygdala Seed



B) Right Amygdala Seed

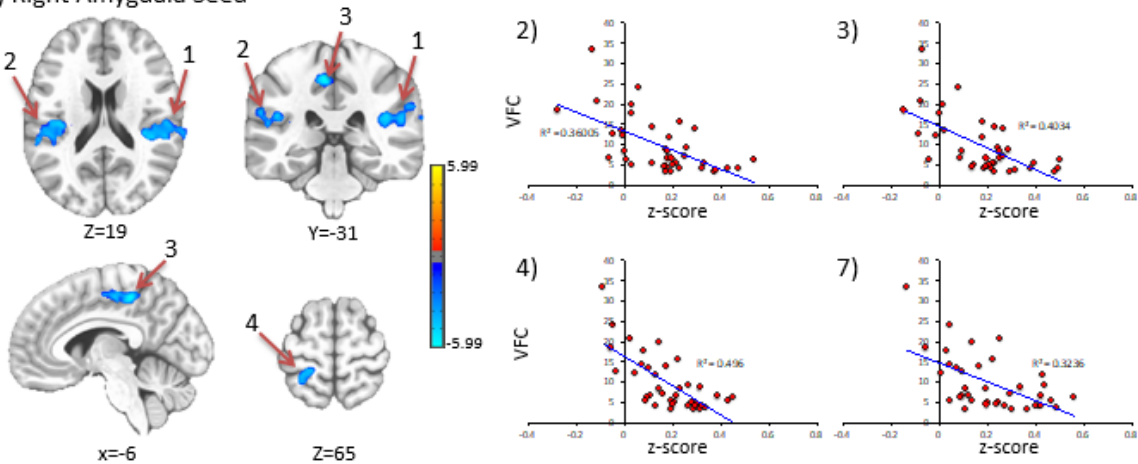
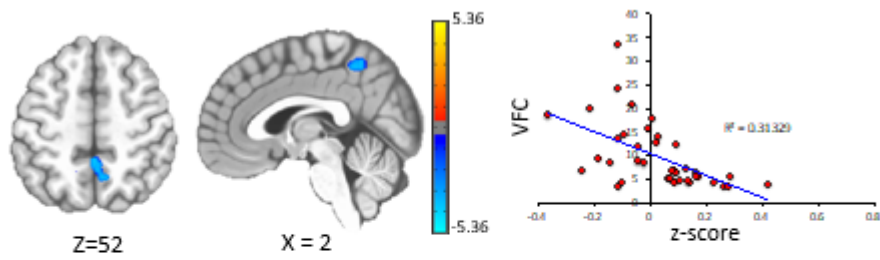
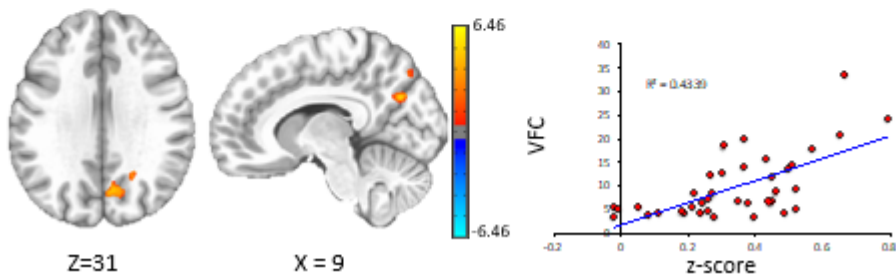


Figure 2. Clusters showing the correlation of the functional connectivity of the Left Middle Frontal Seed and Posterior Cingulate Seeds with VFC. Clusters are described in Table 2

A) Left Middle Frontal Seed



B) Posterior Cingulate Seed



Supplementary Figure 1: Location of Seeds.

