



BRUNNO MACHADO DE CAMPOS

"ANÁLISE DA RESPOSTA HEMODINÂMICA EM PACIENTES COM
EPILEPSIA DE LOBO TEMPORAL MESIAL ATRAVÉS DO USO
SIMULTÂNEO DE ELETROENCEFALOGRAFIA E RESSONÂNCIA
MAGNÉTICA FUNCIONAL"

Campinas

2013



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Faculdade de Ciências Médicas

BRUNNO MACHADO DE CAMPOS

"ANÁLISE DA RESPOSTA HEMODINÂMICA EM
PACIENTES COM EPILEPSIA DE LOBO TEMPORAL
MESIAL ATRAVÉS DO USO SIMULTÂNEO DE
ELETRENCEFALOGRAFIA E RESSONÂNCIA MAGNÉTICA
FUNCIONAL"

Orientador: Prof. Dr. Fernando cendes

Dissertação de Mestrado
apresentada a Pós-Graduação
da Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade
Estadual de Campinas -
UNICAMP para obtenção do
título de Mestre em Ciências.

Campinas

2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
MARISTELLA SOARES DOS SANTOS – CRB8/8402
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP

C157a Campos, Brunno Machado de, 1988-
Análise da resposta hemodinâmica em pacientes com epilepsia de lobo temporal mesial através do uso simultâneo de eletrencefalografia e ressonância magnética funcional / Brunno Machado de Campos . -- Campinas, SP : [s.n.], 2013.

Orientador : Fernando Cendes.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Eletroencefalografia - Imagem funcional de ressonância magnética. 2. Epilepsia. 3. Neurociências. 4. Neurofísica. I. Cendes, Fernando, 1962-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Analysis of the hemodynamic responses in patients with temporal lobe epilepsy by using simultaneous acquisitions of electroencephalography and functional magnetic resonance imaging.

Palavras-chave em inglês:

Electroencephalography - Magnetic resonance imaging, Functional Epilepsy
Neurosciences
Neurophysics

Área de concentração: Fisiopatologia Médica

Titulação: Mestre em Ciências

Banca examinadora:

Fernando Cendes [Orientador]
Edson Amaro Junior
Gabriela Castellano

Data da defesa: 15-02-2013

Programa de Pós-Graduação: Fisiopatologia Médica

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO

BRUNNO MACHADO DE CAMPOS

Orientador (a) PROF(A). DR(A). FERNANDO CENDES

MEMBROS:

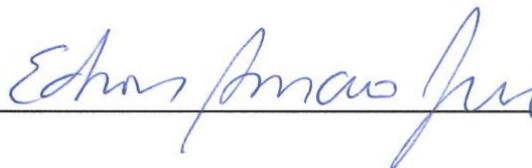
1. PROF(A). DR(A). FERNANDO CENDES



2. PROF(A). DR(A). GABRIELA CASTELLANO



3. PROF(A). DR(A). EDSON AMARO JUNIOR



Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas

Data: 15 de fevereiro de 2013

Agradecimentos

Agradeço primeiramente à minha família, meu pai, minha mãe e minha irmã, e por todos os mais próximos pelo apoio e estrutura que com certeza facilitaram em muito meu trabalho.

Agradeço ao Prof. Dr. Fernando Cendes, pela oportunidade, pelos aprendizados e por todas as possibilidades abertas e que me foram cedidas ao longo deste projeto.

À Dra. Ana Carolina Coan e ao Guilherme Côco Beltramini por toda a ajuda, confiança e disposição em ensinar.

Aos colegas de laboratório, que em muitos momentos foram pacientes e que em muitos outros auxiliaram de forma incondicional.

Agradeço a todos os voluntários e pacientes que colaboraram com este projeto.

Agradeço a Universidade Estadual de Campinas pela infraestrutura que viabilizou a boa prática de ensino de meus mestres assim como incontáveis aprendizados.

Agradeço à FAPESP pelo apoio financeiro cedido diretamente e por toda a infraestrutura que patrocinou sob o processo número 2011/03477-7.

"Faz-se ciência com os fatos, como se faz uma casa com pedras; mas um acúmulo de fatos não é ciência, assim como um monte de pedras não é uma casa."

Henri Poincaré

Sumário

Lista de Abreviaturas.....	vii
Lista de Tabelas.....	ix
Lista de Figuras.....	x
Lista de Anexos.....	xii
Resumo.....	xiii
Abstract.....	xv
1.Introdução.....	16
1.1. Epilepsia de Lobo Temporal.....	18
1.2 - Revisão: Imagem por Ressonância Magnética.....	20
1.3 - Revisão: Eletroencefalografia.....	24
1.4 - A Técnica EEG-RMf.....	25
1.5 - EEG-RMf e as Epilepsias.....	28
1.6 - ELT e as Redes de Alterações Estruturais.....	30
2.Objetivos.....	32
2.1.Objetivo Geral e Hipótese.....	33
2.2.Objetivos Específicos ou Secundários.....	33
3.Justificativa.....	34
3. Métodos.....	36
3.1.Aspectos Éticos.....	37
3.2.Identificação e Seleção dos Pacientes.....	37
3.3.Dados Clínicos.....	38
3.4.Aquisição do Exame de EEG-RMf.....	38
3.5.Processamento de Dados de EEG-RMf.....	39
3.6.Pós-Processamento e Análise Estatística em EEG-RMf.....	41
3.7.Pré-processamento e Análise Estatística em Morfometria Baseada em Voxel.....	51
4.Resultados.....	53
4.1.Pacientes com Esclerose Hipocampal.....	54
4.1.1.Analise de EEG-RMf.....	54
4.1.2.Análise estrutural - VBM.....	57
4.2.Pacientes não lesionais.....	58
4.2.1.Analise de EEG-RMf.....	58
4.2.2.Análise estrutural - VBM.....	62
5.Discussão.....	63
5.1.Dos Métodos.....	64
5.2. Dos Resultados.....	64
5.2.1.BOLD Positivo.....	65
5.2.2.BOLD Negativo.....	66
5.2.3.Redes Neurais Funcionais Vs. Estruturais.....	68
6.Conclusões.....	70
7.Perspectivas.....	72
7.Bibliografia.....	74
Anexos.....	78

Lista de Abreviaturas

EEG: Eletroencefalografia
RM: Ressonância Magnética
RMf: Ressonância Magnética Funcional
ELT: Epilepsia de Lobo Temporal
ELTM: Epilepsia de Lobo Temporal Mesial
NL: Não Lesional
AH: Atrofia Hipocampal
EH: Esclerose Hipocampal
DEI: Descargas Epilépticas Inter-ictais
BOLD: *Blood oxygen Level Dependent*
FRH: Função Resposta Hemodinâmica
VBM: *Voxel Based Morphometry*
RF: Radiofrequência
ATP: Adenosina Trifosfato
RSR: Razão Sinal Ruído
BCG: Balistocardiograma
DDP: Diferença de Potencial
ILAE: *International League Against Epilepsy*
AAS: *Average Artifact Subtraction*
SPM8: *Statistical Parametric Mapping 8*
EPI: *Echo Planar Imaging*
TE: Tempo de Eco
TR: Tempo de Repetição
FOV: Field of View
MNI: *Montreal Neurologic Institute*
MLG: Modelo Linear Geral

BOLDpos: BOLD positivo

BOLDneg: BOLD negativo

OATD: Onda Aguda Temporal Direita

OATE: Onda Aguda Temporal Esquerda

FWE: *Family Wise Error*

DMN: Default Mode Network

Lista de Tabelas

Tabela 1. Dados clínicos dos pacientes selecionados para análise de grupos.....	Pág. 48
Tabela 2. Resposta BOLD Precoce - Grupo ELT- EH.....	Pág. 55
Tabela 3. Resposta BOLD Tardio - Grupo ELT-EH.....	Pág. 57
Tabela 4. Análise Estrutural ELT-EH.....	Pág. 58
Tabela 5. Resposta BOLD Precoce - Grupo ELT-NL.....	Pág. 60
Tabela 6. Resposta BOLD Tardio - Grupo ELT-NL.....	Pág. 61
Tabela 7. Análise Estrutural ELT-NL.....	Pág. 62

Lista de Figuras

Fig. 1: Matriz de desenho experimental e barras de contraste. Esta matriz refere-se a experimento com duas sequências funcionais que totalizaram 1440 volumes. Nota-se dois grandes blocos com 12 colunas cada. Cada bloco de colunas refere-se a uma sequência funcional, no exemplo com 720 volumes (linhas das colunas). As duas primeiras colunas de cada bloco referem-se ao paradigma, sendo cada um, um evento distinto, detectado no EEG. As quatro colunas subsequentes, referem-se às derivadas de tempo e dispersão de cada uma das colunas de paradigma. As seis últimas colunas de cada bloco são regressores de movimento, sendo três de deslocamento nos eixos cartesianos, e três de rotação**Pág. 41**

Fig. 2: Processo de formação do paradigma evento relacionado. As marcações no EEG têm inícios e durações representadas em função retangular ($E(t)$) temporalmente dependente ao EEG. Esta função é convoluída à FRH ($C(t)$) gerando a resposta esperada ($C(t)*E(t)$) que será buscada no sinal de RM.....**Pág. 43**

Fig. 3: Mapa paramétrico estatístico spmT. Os tons de cinza foram escalonados pelo valor estatístico T encontrado para cada voxel. Este mapa está corregistrado ao modelo do MNI e possui correspondência espacial à imagem anatômica do indivíduo em questão..... **Pág. 44**

Fig. 4: Mapa paramétrico estatístico após aplicação do limiar estatístico com visualização em *Glass View* (cérebro transparente). Os pontos em tons de cinza localizam a ativação BOLD referente ao contraste estabelecido.....**Pág. 46**

Fig. 5: Imagem do software NCA - Neuroimaging Computational Analysis. Desenvolvido pelo autor e pelo físico Guilherme Côco Beltramini, este programa agiliza e automatiza os processamentos feitos pelo SPM8 e também possibilita análises diferenciadas em neuroimagem. Possui diversas utilidades de correção de imagens de RM e ferramentas estatísticas gerais.**Pág. 46**

Fig. 6: Representação das diferenças entre a análise do BOLD tardio e precoce. No primeiro, a FRH é convoluída equivalendo seu início, com o da atividade epileptiforme, desta forma o pico da FRH ocorre 5 segundos após o achado do EEG, de forma tardia. Já o BOLD precoce é encontrado definindo a inserção da FRH cinco segundos antes do achado do EEG, fazendo com que seu pico seja sincronizado à atividade epileptiforme.....**Pág. 47**

Fig. 7: Esquemática dos mapas e dos grupos para a análise de segundo nível. Estes procedimentos foram realizados para BOLD positivo e negativo nos instantes 0 segundos e -5 segundos anteriores às espículas (tardio e precoce).....**Pág. 50**

Fig. 8: Mapa de substância cinzenta. Neste exemplo, a imagem estrutural de alta resolução foi segmentada, normalizada e suavizada. A análise de VBM é realizada comparando as variações das concentrações locais entre mapas como este.....**Pág. 51**

Fig. 9: Visão geral das ativações (*Glass View*) e corregistro à imagem anatômica de alta resolução dos resultados referentes ao BOLD positivo precoce do grupo de ELT-EH. Para este teste, foi utilizado limiar mínimo de T de 0,005, sendo apresentados apenas aglomerados (cluster) de no mínimo 5 voxels contíguos.....**Pág. 54**

Fig. 10: Visão geral das desativações (*Glass View*) e corregistro à imagem anatômica de alta resolução dos resultados referentes ao BOLDneg precoce do grupo de ELT-EH. Para este teste, foi utilizado limiar mínimo de T de 0,005, sendo apresentados apenas clusters de no mínimo 5 voxels contíguos.....**Pág. 55**

Fig. 11: Visão geral das ativações (Glass View) e correção à imagem anatômica de alta resolução dos resultados referentes ao BOLD tardio do grupo de ELT-EH. Para este teste, foi utilizado limiar mínimo de T de 0,005, sendo apresentados apenas cluster de no mínimo 5 voxels contíguos.....**Pág. 56**

Fig. 12: Visão geral das ativações (Glass View) e correção à imagem anatômica de alta resolução dos resultados referentes ao BOLD negativo tardio do grupo de ELT-EH. Para este teste, foi utilizado limiar mínimo de T de 0,005, sendo apresentados apenas cluster de no mínimo 5 voxels contíguos.....**Pág. 56**

Fig. 13: Visão geral das ativações (Glass View) e correção à template anatômica de alta resolução dos resultados referentes à análise de VBM do grupo de ELT-EH. Para este teste, foi utilizado limiar mínimo de T de 0,001, sendo apresentados apenas cluster de no mínimo 5 voxels contíguos.....**Pág. 57**

Fig. 14: Visão geral das ativações (Glass View) e correção à imagem anatômica de alta resolução dos resultados referentes ao BOLD positivo precoce do grupo de ELT-NL. Para este teste, foi utilizado limiar mínimo de T de 0,005, sendo apresentados apenas cluster de no mínimo 5 voxels contíguos.....**Pág. 59**

Fig. 15: Visão geral das ativações (Glass View) e correção à imagem anatômica de alta resolução dos resultados referentes ao BOLD negativo precoce do grupo de ELT-NL. Para este teste, foi utilizado limiar mínimo de T de 0,005, sendo apresentados apenas cluster de no mínimo 5 voxels contíguos.....**Pág. 59**

Fig. 16: Visão geral das ativações (Glass View) e correção à imagem anatômica de alta resolução dos resultados referentes ao BOLD positivo tardio do grupo de ELT-NL. Para este teste, foi utilizado limiar mínimo de T de 0,005, sendo apresentados apenas cluster de no mínimo 5 voxels contíguos.....**Pág. 60**

Fig. 17: Visão geral das ativações (Glass View) e correção à imagem anatômica de alta resolução dos resultados referentes ao BOLD negativo tardio do grupo de ELT-NL. Para este teste, foi utilizado limiar mínimo de T de 0,005, sendo apresentados apenas cluster de no mínimo 5 voxels contíguos.....**Pág. 61**

Fig. 18: Visão geral das ativações (Glass View) e correção à imagem anatômica de alta resolução dos resultados referentes à análise de VBM do grupo de ELT-NL. Para este teste, foi utilizado limiar mínimo de T de 0,001, sendo apresentados apenas cluster de no mínimo 5 voxels contíguos.....**Pág. 62**

Lista de Anexos

Anexo 1: Formulário De Consentimento Para Pesquisa Médica.....**Pág. 73**

Anexo 2: NCA - Neuroimaging Computational Analysis.....**Pág. 81**

Resumo

Introdução: A técnica multimodal de eletroencefalografia (EEG) acoplada à ressonância magnética (RM) funcional (RMf) apresenta características físicas complementares. Este método permite não só avaliar atividades neurais fisiológicas, mas também a dinâmica de neuropatologias como a epilepsia. Dentro do grupo das epilepsias, as epilepsias de lobo temporal (ELT) são particularmente importantes pela sua elevada prevalência e morbidade.

Objetivo: Investigar e comparar os padrões de alterações hemodinâmicas associados a descargas epilépticas interictais (DEIs) em pacientes com ELT com (ELT-EH) ou sem (ELT-NL) sinais de esclerose hipocampal em exames de RM, através do uso combinado das técnicas de EEG e RMf (EEG-RMf).

Métodos: Foram submetidos a exames de EEG-RMf, 25 pacientes com diagnóstico de ELT, sendo 12 ELT-NL e 13 ELT-EH. As imagens de RM foram adquiridas em aparelho de 3T e o EEG amostrado com 64 eletrodos compatíveis com RM. O tempo das DEIs foi utilizado para avaliar as respostas BOLD positivas (BOLDpos) e negativas (BOLDneg). Foram realizadas análises de EEG-RMf individuais e para grupos, além de análise estrutural, com o software SPM8-VBM8. As análises funcionais foram realizadas com pico da função resposta hemodinâmica (FRH) em 0 segundo (precoce) e 5 segundos (tardio) após as DEIs.

Resultados: Os mapas BOLDpos no grupo ELT-EH mostraram alterações hemodinâmicas precoces no lobo temporal ipsilateral, ínsula e giro precentral contralateral, e tardias no putâmem ipsilateral, cíngulo anterior bilateral, ínsula e lobos temporais. No grupo ELT-NL, BOLDpos precoce difuso foi observado, com alterações mais significativas no giro medial frontal ipsilateral, enquanto BOLDpos tardio foi observado na ínsula ipsilateral e giro temporal superior. Em ambos os grupos a análise estrutural mostrou redução significativa de substância cinzenta em áreas que se estendem além do lobo temporal, porém sem sobreposição significativa com áreas de BOLDpos. Em ambos os grupos de pacientes, BOLDneg foi observado em áreas compatíveis com *default mode network* (DMN).

Interpretação: As redes funcionais relacionadas às DEIs diferem entre ELT-EH e ELT-NL. As regiões com atrofia mais significativa de substância cinzenta não coincidem com estas redes funcionais. Há possível supressão da atividade em áreas da DMN relacionadas com as DEIs em pacientes com ELT com ou sem sinais de EH.

Palavras-chave: EEG-fMRI, Epilepsia, Neurociência, Neurofísica.

Abstract

Introduction: The multimodal technique of electroencephalography (EEG) coupled to functional magnetic resonance imaging (fMRI) presents additional physical characteristics. This method allows not only to evaluate physiological neural activities, but also the dynamics of neuropathologies as epilepsy. Within the group of epilepsy, temporal lobe epilepsy (TLE) is particularly important due to its high prevalence and morbidity.

Objective: To investigate and compare the patterns of hemodynamic changes associated with interictal epileptiform discharges (IEDs) in patients with TLE with (TLE-HS) or without (TLE-NL) signs of hippocampal sclerosis in MRI, through the combined use of EEG and fMRI techniques (EEG-fMRI).

Methods: Twenty five patients diagnosed with TLE underwent EEG-fMRI scans, 12 with TLE-NL and 13 TLE-HS. MR images were acquired on a 3T scanner and EEG recorded with 64 electrodes compatible with MRI. The time for IED was used to assess the BOLD positive (BOLDpos) and negative (BOLDneg) responses. Analysis of EEG-fMRI MRI structural analyses were performed with SPM8-VBM8 software. The functional analyses were performed with the peak of the hemodynamic response function (HRF) in 0 second (early) and 5 seconds (late) after IED.

Results: The BOLDpos maps in TLE-HS group showed early hemodynamic changes in ipsilateral temporal lobe, contralateral insula and precentral gyrus and late hemodynamic changes in ipsilateral putamen, bilateral anterior cingulate, insula and temporal lobes. In TLE-NL, diffuse early BOLDpos was observed, with the most significant changes in the ipsilateral medial frontal gyrus, while late BOLDpos was observed in the ipsilateral insula and superior temporal gyrus. In both groups the structural analysis showed significant reduction of gray matter in areas that extend beyond the temporal lobe, but with no significant overlap with areas of BOLDpos. In both groups of patients BOLDneg was observed in areas consistent with default mode network (DMN).

Interpretation: The functional networks related to the IED differ in TLE-HS and TLE-NL. The regions with the most significant gray matter atrophy do not coincide with these functional networks. There is possible suppression of activity in the DMN areas related to IED in TLE patients with or without signs of HS.

1. Introdução

Pierre Flourens, por volta de 1825, realizou as primeiras descobertas relacionadas com o funcionamento cerebral. O mapeamento das funções cerebrais e a noção de localização dessas funções deram a ideia de que diferentes aspectos da mente humana podem ser representados em diferentes regiões do cérebro [1]. Após a publicação de Richard Caton em 1875, que demonstrava pela primeira vez a natureza elétrica do cérebro de animais através de um galvanômetro rudimentar, Hans Berger, na década de 1920, demonstrou que era possível registrar a atividade elétrica do cérebro humano, e associar os registros diretamente à atividade cortical, desenvolvendo a técnica chamada de Eletroencefalografia [2, 3]. O estudo das funções cerebrais foi alavancado com o desenvolvimento de complexos mecanismos que possibilitaram o estudo do cérebro não só no sentido da atividade eletrocortical, mas também com poderosas ferramentas de imagem, que possibilitaram estudos anatômicos *in vivo* e de forma não invasiva. O conceito de imagem gerada por ressonância magnética (RM) iniciou-se com os estudos dos grupos de Felix Bloch e Edward Purcell nos conceitos quânticos das medições dos efeitos sofridos por spins nucleares de prótons de hidrogênio imersos em campo magnético. O sucesso obtido por esses estudos concedeu-lhes o prêmio Nobel em Física de 1952.

Em meados 1970, Raymond Damadian, descreveu a importância da RM de spins na identificação de diferentes tecidos e de tumores através do espectro de frequência de ressonância. O conceito da Frequência de Larmor, frequência de precessão de átomos ou núcleos atômicos quando imersos em campo magnético externo, tornou possível associar componentes espaciais aos objetos, uma vez que o espectro da frequência do sinal obtido pode ser decodificado e associado a informações localizadoras dos tecidos. A codificação espacial foi decisiva às aplicações da RM e viabilizou a ideia de que era possível utilizar o espectro de frequência para se gerar imagens. Desde a primeira imagem de RM de corpo, humano ainda realizada de forma rudimentar por Damadian, Larry Minkoff e Michael Goldsmith em 1974, o interesse por esta nova modalidade de imagem cresceu exponencialmente, assim como os investimentos da indústria. Na década de 1980, os primeiros escâneres comerciais de alto campo para corpo todo começaram a ser comercializados, iniciando-se também o uso dos equipamentos na clínica experimental [4].

A partir do início da década de 1990, dentre os métodos aplicados à neurociência, vêm destacando-se os estudos científicos aplicados às funções cerebrais com a técnica de ressonância magnética funcional (RMf), sendo esta aplicada por cientistas da física, neurologia, psicologia, radiologia, entre outras. Desde então, a RMf é aplicada de forma satisfatória em vários centros do mundo, tornando-se atualmente uma das mais importantes ferramentas da neurologia experimental uma vez que possibilita a mensuração da atividade metabólica do cérebro sem procedimentos invasivos ou que fazem uso de radiação ionizante [5]. Este trabalho descreverá os princípios e aplicações da técnica funcional de RM, acoplada à Eletroencefalografia (EEG) em pacientes com Epilepsia de Lobo Temporal Mesial (ELTM), objetivando esclarecer dificuldades, discutir as vantagens, desvantagens e os resultados obtidos, através de conceitos teóricos e práticos do ponto de vista metodológico, computacional, físico e clínico.

1.1. Epilepsia de Lobo Temporal

Epilepsia é uma das patologias neurológicas de maior prevalência, acometendo cerca de 1% da população mundial. Entende-se que epilepsia não é, em sua natureza, uma única síndrome. Epilepsias são doenças que envolvem uma ampla variedade de sintomas e são decorrentes de processos patológicos distintos. As epilepsias são, portanto, consideradas como doenças que têm em comum crises epiléticas que ocorrem na ausência de quaisquer condições tóxico-metabólicas ou febril [6]. Crises epiléticas são eventos clínicos que refletem disfunção temporária de um conjunto de neurônios de parte do encéfalo (crises focais) ou de área mais extensa envolvendo os dois hemisférios cerebrais (crises generalizadas). Os sintomas de uma crise dependem das partes do cérebro envolvidas na disfunção. A crise epilética é causada por descarga elétrica anormal excessiva e transitória das células nervosas, decorrente de correntes elétricas que são fruto da movimentação iônica através da membrana celular. Pode ser identificada por manifestações clínicas, por registro de EEG ou por ambos [7,8,9].

Epilepsia do lobo temporal é uma nomenclatura estabelecida para denotar uma variedade de condições clínicas associadas a crises parciais complexas com origem presumida no lobo temporal [10]. A Classificação Internacional de Epilepsias e Síndromes Epiléticas de 1985 dividiu

as síndromes epilépticas de forma relacionada às localizações anatômicas dos focos primários ou origem das crises. A epilepsia de lobo temporal, neste sentido, é assim denominada puramente devido a localização anatômica do foco precursor da atividade epiléptica. No entanto, a definição deste foco e sua localização anatômica é geralmente realizada por evidências no estudo de exames de EEG não invasivo, podendo então, em alguns casos serem de compreensão não trivial e até enganosa [10].

Embora os pacientes possam apresentar achados eletroencefalográficos comuns, a ELT tem variedades de diferentes etiologias que podem implicar em redes neuronais distintas. Os estudos de ELT são particularmente importantes, pois está especialmente relacionado a dano progressivo clínico, cognitivo e de neuroimagem [11,12,13]. O conhecimento das diferenças de redes neurais em grupos homogêneos de ELT pode ter implicações importantes para a compreensão das anormalidades específicas, bem como o desenvolvimento de terapêuticas mais apropriadas [14,15].

A ELT, dentre as outras formas, é a mais frequente epilepsia parcial que ocorre em adultos e está geralmente relacionada à esclerose hipocampal (EH), o mais comum achado patológico em ELT refratária às drogas anti-epilépticas (DAEs). A EH pode ser identificada em imagens de RM *in vivo* como redução de volume, perda da estrutura interna e hipersinal do hipocampo nas imagens ponderadas em T2 [8,9]. Sugere-se, ainda, que a ELT associada a EH (ELT-EH) represente uma síndrome distinta [10]. O diagnóstico da ELT-EH, no início do curso da doença, é considerado especialmente importante porque as consequências da exposição por um longo período a eventos ictais podem ser reduzidas através de intervenções cirúrgicas que objetivam remover os tecidos desencadeadores das crises, fazendo com que entre 60% e 70% dos pacientes operados fiquem completamente livres de crises em seguimentos dos dois anos subsequentes à cirurgia [16]. Entretanto, para pacientes com ELT sem sinais nas imagens de RM de EH ou de outras lesões estruturais (ELT não lesional ou criptogênica) a indicação de tratamento cirúrgico para controle de crises refratárias às DAEs exige investigação mais complexa, uma vez que a localização do foco epileptogênico não pode ser bem estabelecida, baseada exclusivamente em um método com baixa

resolução espacial como o EEG. Para estes, procedimentos invasivos como monitorização por eletrodos profundos, os quais são dispendiosos e trazem grande morbidade, são muitas vezes necessários, e a despeito da utilização destes procedimentos avançados, os resultados cirúrgicos são muito aquém dos observados nas ELT lesionais.

Técnicas modernas de imagens por RM vêm sendo aplicadas no estudo das epilepsias. Através de RMf, almeja-se melhor interpretar, definir e diferenciar as redes funcionais relacionadas à dinâmica patológica em subgrupos de ELT, a fim de complementar as definições das síndromes epiléticas, a fim de melhor direcionar as intervenções clínicas ou possivelmente cirúrgicas.

1.2 - Revisão: Imagem por Ressonância Magnética

Os equipamentos de RM fazem uso de campos magnéticos intensos (B_0), geralmente entre 1 e 4 teslas (T), já havendo estudos da aplicação médica em equipamentos de até 7T. O campo B_0 é utilizado para homogeneizar direcionalmente os spins nucleares do hidrogênio gerando o movimento chamado de precessão. As imagens de RM são geradas utilizando-se gradientes magnéticos variáveis e campos eletromagnéticos oscilantes, conhecidos como pulsos de radiofrequência, que interferem na magnetização gerada por B_0 [17].

Sucintamente, para o núcleo atômico ser útil para imagens de RM ele deve ter momento magnético resultante e momento angular intrínseco, ou seja, spin. Em imagens de RM, os aparelhos trabalham principalmente com núcleo de hidrogênio, por este ser o mais comum átomo no corpo humano (relacionado à grande quantidade de água) [5]. No caso do hidrogênio, podem ser encontrados dois estados possíveis para o spin em precessão: paralelo a B_0 (menor energia, mais estável) e antiparalelo a B_0 (maior energia). Devido a essa diferença de energia, que cresce com a magnitude de B_0 (efeito Zeeman), há mais prótons no estado paralelo do que no estado antiparalelo. Pode-se mostrar que a diferença do número de spins nos estados paralelo e antiparalelo é:

$$N_p - N_a \cong N_s \times \frac{\Delta E}{2k_B T} \quad \text{Eq. 01}$$

onde N_s é o número total de spins, ΔE é a diferença de energia entre esses estados, k_B é a constante de Boltzmann e T é a temperatura [17].

O sinal que dá origem a imagens de RM é obtido através da excitação do sistema de spins da amostra. Para isso, por um curto intervalo de tempo, aplica-se na amostra um campo eletromagnético oscilante na forma de pulsos de radiofrequência (RF). A interação da RF com os spins em precessão dá origem ao fenômeno de RM, pois, a frequência do pulso de radiofrequência é a mesma da frequência de precessão do spin em questão (Frequência de Larmor). O pulso faz com que os spins atinjam um estado mais alto de energia (excitação), aumentando o ângulo com que precessionam em relação ao campo B_0 . Esse ângulo é chamado de *ângulo de flip*, e é representado da seguinte forma [17]:

$$\Delta\theta = \gamma B_1 \tau \quad \text{Eq. 02}$$

onde γ é a constante giromagnética intrínseca, B_1 é o campo magnético do pulso de radiofrequência e τ é o tempo de aplicação do pulso [17]. Toda a dinâmica do sistema foi fundamentada matematicamente por Felix Bloch e sendo descrita fenomenologicamente pela *Equação de Bloch* [17]:

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma \cdot \vec{M} \times \vec{B} - \frac{M_x \hat{i} + M_y \hat{j}}{T_2} - \frac{(M_z - M(0)) \hat{k}}{T_1} \quad \text{Eq. 03}$$

onde M é a magnetização (soma vetorial dos momentos magnéticos microscópicos no objeto), B o campo magnético aplicado, γ a razão giromagnética, e T_1 e T_2 são, respectivamente, os tempos de relaxação longitudinal e transversal [17].

Após a excitação gerada pelo pulso de RF, os spins retornam à sua posição de menor energia, fenômeno chamado de relaxação, devolvendo ao ambiente a energia anteriormente absorvida. O fenômeno de relaxação ocorre por dois mecanismos: relaxação longitudinal (interação

entre o Spin e o meio: "Spin-Rede") e relaxação transversal (interação entre spins: "Spin-Spin"). A primeira caracteriza-se pelo retorno dos spins antiparalelos aos seus estados de menor energia, cedendo energia para o meio no qual está imerso e recuperando a magnetização longitudinal (orientado à B_0) com constante de tempo T_1 . A expressão para a magnetização longitudinal expressa-se por [17]:

$$M_z(t) = M_z(0)e^{-\frac{t}{T_1}} + M_0 \left(1 - e^{-\frac{t}{T_1}}\right) \quad \text{Eq. 04.}$$

O segundo mecanismo de relaxação refere-se à defasagem dos spins no plano transversal a B_0 , fenômeno causado principalmente pelas interações entre os spins (Spin-Spin), em virtude de flutuações locais do campo magnético que geram defasagem ou dissincronia entre spins de um mesmo meio. Este fenômeno ocorre com uma constante de tempo T_2 e é representado pelas expressões de magnetização transversal, em suas componentes x e y :

$$M_x(t) = e^{-\frac{t}{T_2}} (M_x(0) \cos \omega_0 t + M_y(0) \sin \omega_0 t) \quad \text{Eq. 05}$$

$$M_y(t) = e^{-\frac{t}{T_2}} (M_y(0) \cos \omega_0 t - M_x(0) \sin \omega_0 t) \quad \text{Eq. 06.}$$

Inhomogeneidades em B_0 também afetam a relaxação com constante de tempo adicional T_2' . Assim, obtemos T_2^* , como o tempo característico de relaxação transversal, matematicamente dado pela expressão [17]:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_2'} \quad \text{Eq. 07.}$$

A energia devolvida ao ambiente depende do tipo e número de núcleos ressonantes com tal frequência que existirem no objeto. Essas emissões nucleares de ondas eletromagnéticas são detectáveis através da *Lei de Indução de Faraday*, gerando o sinal que será utilizado para se gerar a imagem. Os pulsos de radiofrequência são emitidos em sequências pré-estabelecidas, de acordo com o objeto ou interesse [5]. Para o cálculo da energia devolvida ao sistema após essas etapas

de relaxação, utiliza-se a *frequência de Larmor*, que é a frequência na qual o spin precessiona em torno de B_0 [17]:

$$\nu = \frac{\gamma}{2\pi} B_0 \quad \text{Eq. 08.}$$

A habilidade de examinar múltiplas propriedades biologicamente interessantes dos tecidos faz da RM uma ferramenta clínica poderosa e flexível. As principais vantagens da RM sobre as outras técnicas de imagem são a alta resolução espacial para tecidos moles e osso, o uso de radiação não ionizante e a possibilidade de obter imagens em qualquer plano do corpo.

RMf é uma modalidade de imageamento por RM sensível às funções do cérebro. Para tanto, esta modalidade necessita métodos que amostram com velocidade similar à velocidade das mudanças fisiológicas de interesse. A técnica de EPI (*Echo-Planar Imaging*) adquire imagens de todo o córtex com fortes gradientes, varrendo o espaço-K retangularmente na ordem de segundos, ou seja, de forma compatível com as mudanças fisiológicas associadas à atividade neural, definindo a RMf como uma técnica com alta resolução espacial, mas baixa resolução temporal, da ordem de segundos [5].

Para inferir mudanças locais na atividade neural, a RMf utiliza as respostas metabólicas e hemodinâmica do organismo, à estímulos pré-definidos, ou à atividades espontâneas, podendo também mapear a atividade basal do cérebro. O objetivo do imageamento funcional é obter imagens que sejam sensíveis ao funcionamento do cérebro. Existem métodos eletrofisiológicos que medem a atividade neural diretamente, mas são muito invasivos. A RMf, além de não invasiva, detecta efeitos relacionados com a atividade neural dependentes do nível de oxigenação do sangue, o chamado sinal BOLD (*Blood-Oxygen-Level Dependent*), resposta hemodinâmica do sistema vascular [5].

O sinal BOLD baseia-se em princípios físicos do magnetismo. O cérebro não armazena energia: o ATP (adenosina trifosfato) é formado principalmente a partir da oxidação da glicose presente no sangue e estudos mostram que este consumo se concentra em regiões com atividade

neural aumentada. O aumento do fluxo sanguíneo em regiões ativadas do cérebro acarreta aumento do transporte de glicose e oxigênio a fim de suprir as necessidades energéticas das células nervosas. Entretanto, há um atraso entre o início na demanda energética e a chegada dos suprimentos às células ativadas, gerando consumo local de glicose e oxigênio, o que causa a desoxigenação relativa do sangue. Isso ocorre até que o organismo supra as demandas, aumentando o fluxo sanguíneo nesta região, implicando na diminuição relativa da concentração de desoxiemoglobina (hemoglobina desoxigenada) e no aumento da concentração de oxiemoglobina (hemoglobina oxigenada). O aumento da oxigenação gera aumento da resposta magnética da região. A oxiemoglobina é diamagnética (exibe fraca interação com um campo magnético) e a desoxiemoglobina, paramagnética (alinha-se paralelamente a um campo magnético externo). Quando expostas a campo magnético, as moléculas de desoxiemoglobina criam gradientes próprios no campo magnético dentro dos vasos que irrigam o tecido, gerando uma defasagem dos spins das moléculas de água, reduzindo T_2^* e qualquer sinal de RM que dependa desse fator em até 20% em relação ao sangue totalmente oxigenado [18]. A oxigenação do sangue, portanto, gera aumento do sinal de RM, pois diminui a interferência gerada por gradientes locais. O sinal BOLD permite, desta forma, estudar a atividade cerebral de forma indireta, uma vez que esta causa variações locais na taxa de consumo de oxigênio e no fluxo sanguíneo de regiões ativas.

1.3 - Revisão: Eletroencefalografia (EEG)

Os neurônios são células excitáveis com propriedades elétricas intrínsecas que produzem campos magnéticos, elétricos e corrente elétrica variável no tempo quando em atividade. Estes fenômenos são gerados por correntes iônicas propagadas através das membranas celulares. Estas células têm a capacidade de se comunicar rapidamente e com precisão através de potenciais de ação, definidos como uma despolarização rápida de membrana que se propaga através do axônio até seu terminal. Em média, um neurônio pode formar mil sinapses e recebe mais de 10 mil ligações. Quando o potencial de ação chega ao terminal do axônio, o neurônio pré-sináptico libera neurotransmissores que irão afetar o potencial de membrana da célula pós-sináptica, sendo o potencial pós-sináptico classificável como excitatório ou inibitório. A integração

da informação neuronal dos sinais recebidos entre estas células ocorre no cone de implantação do axônio (estrutura entre o corpo celular e o axônio), onde outro potencial de ação será disparado somente se o limiar mínimo do potencial elétrico for ultrapassado [19].

O EEG é uma técnica secular primeiramente demonstrada por Caton (1875) que registra a atividade elétrica do cérebro, usando princípios de eletrônica e física [20]. A atividade elétrica registrada no EEG resulta principalmente de potenciais elétricos pós-sinápticos sincronizados de uma população de células piramidais e com pequena contribuição das células da glia. Os potenciais de ação não contribuem para os sinais de EEG, pois os campos elétricos gerados decaem exponencialmente com a distância e têm curta duração (1 a 2 ms), sendo sobrepostos pelos potenciais pós-sinápticos que duram de 10 a 250 ms. O sinal de EEG pode ser medido a uma distância considerável da fonte se os neurônios responsáveis estiverem regularmente organizados (axônios perpendiculares ao escalpo) e ativados de forma suficientemente sincronizada, gerando campo magnético e elétrico coerentes, propriedades estas presentes nas células piramidais [19].

O equipamento de EEG mensura a diferença de potencial entre cada eletrodo disposto no córtex e o eletrodo de referência, fazendo possível a triangulação da atividade cortical em um sistema em que os detectores estão dispostos de forma bem estabelecida. O acoplamento eletrodo-escalpo é aprimorado com o uso de gel condutor, diminuindo a resistência elétrica gerada pelo acoplamento com o couro cabeludo na maioria dos equipamentos e melhorando a razão sinal ruído (RSR). Após a medição do sinal, ele é amplificado e registrado. O EEG é uma técnica clinicamente consagrada nas avaliações das atividades neurais e de forma complementar (e oposta) à RMf, pois possui alta resolução temporal, na ordem de milisegundos, e baixa resolução espacial, na ordem de poucos centímetros [19].

1.4 - A Técnica EEG-RMf

A técnica de EEG associada à RMf (EEG-RMf) objetiva captar e representar espacialmente manifestações eletrofisiológicas e hemodinâmicas relacionadas à atividade cerebral de forma

simultânea. Desde sua primeira implementação realizada por John Ives em Boston, EUA, esta modalidade vem ganhando importância em áreas da neurociência como a epileptologia [21]. Técnicas multimodais exigem estudos relacionados à compatibilidade dos métodos associados em suas teorias mais fundamentais. O EEG-RMf possibilita relacionar dados obtidos por potenciais eletrocorticais e por ressonância magnética de núcleos de prótons de forma fenomenologicamente viável. Desde o início de sua aplicação científica, passou-se a desenvolver e aprimorar hardwares e softwares específicos compatíveis com as condições do experimento e superiores no tratamento dos sinais e eliminação de artefatos.

Em um estudo genérico de EEG-RMf, a série temporal de RMf é adquirida simultaneamente à aquisição dos sinais eletrocorticais do EEG. Para que se tornasse possível este tipo de acoplamento foi necessário primeiramente superar os desafios gerados pelo campo magnético do equipamento de RM. Equipamentos de EEG compatíveis foram criados utilizando-se ligas e materiais paramagnéticos e diamagnéticos, de forma a reduzir os efeitos do alto magnetismo no circuito. Os eletrodos do EEG possuem composição específica que não geram artefatos nas imagens ou aquecem, mas por outro lado possuem menor RSR. Técnicas de processamento de sinal possibilitam a eliminação dos artefatos gerados pelos gradientes da RM no EEG, além também da definição e possível remoção de artefatos indiretos originais da associação com a RM, como o balistocardiograma (BCG).

Quando nosso objetivo é obter dados de origem elétrica, temos alguns efeitos de origem clássica e quântica que se acentuam ou são gerados pela imersão em forte campo magnético. Podemos dizer que o campo magnético elevado aumenta a suscetibilidade do nosso sistema às interferências ou consequências de alguns efeitos físicos. Analisando-se as origens dos artefatos gerados pelo BCG em um traçado de EEG adquirido imerso em campo magnético forte, descobrimos que as origens teóricas desses efeitos indesejados são causados por fenômenos físicos conhecidos que podem ser relevantes e não possuem interpretações e enquadramentos triviais no sistema.

O Efeito Hall é um contribuinte dos artefatos de batimento cardíaco. Segundo Edwin Hall, variações no fluxo elétrico em material condutor imerso em campo magnético geram uma diferença de potencial (ddp) transversal a esse fluxo chamada Voltagem de Hall [22]. Em termos aplicados ao caso, íons presentes no sangue fazem com que os vasos tornem-se meios condutores de corrente iônica imersos em campo magnético. Os íons tendem a se polarizarem nas regiões limítrofes do meio condutor (paredes das artérias, veias, capilares ou arteríolas), de forma a gerarem um campo elétrico que por sua vez pode causar falsas inferências na leitura dos eletrodos de EEG.

A corrente de Foucault (Eddy Currents) é um fenômeno causado pela variação de campo magnético em um material condutor. A variação temporal do campo magnético gera corrente no meio condutor, o que no nosso caso resultaria em artefatos na captação de sinais pelos eletrodos de EEG. Essa variação é gerada pelos gradientes de campo do equipamento de ressonância magnética e nem tanto por movimentos motores ou capilares da cabeça do paciente. A lei da Indução de Faraday teoriza outro problema ocasionado necessariamente pela variação do fluxo sanguíneo nas artérias e capilares superficiais do córtex. A pulsação cardíaca gera variação de calibre dos capilares e arteríolas a fim de manter o fluxo. Essas variações geram uma movimentação de contração e dilatação do escalpo, que por sua vez causa a movimentação dos eletrodos. Este caso possui efeitos mais sutis, porém com solução complexa, já que não segue padrão de repetição, embora seja correlato ao batimento cardíaco. A Indução de Faraday pode ser representada de duas formas: variação de fluxo magnético em um circuito fechado ou movimentação deste circuito fechado em um campo magnético. No nosso caso a indução de corrente no eletrodo, que oscila espacialmente com a pulsação cardíaca, geraria mais um artefato com periodicidade relacionada à frequência do ciclo cardíaco, sendo então mais uma origem do BCG.

1.5 - EEG-RMf e as Epilepsias

No final da década de 90, foi quando muitos dos empecilhos técnicos descritos na **Sessão 1.5** associados ao registro de EEG durante aquisição de RM foram solucionados [23, 24, 25]. Subsequentemente, difundiram-se os estudos em pacientes com epilepsia, com o intuito de, através das melhores qualidades de cada ferramenta, caracterizar e melhor entender as redes funcionais associadas. No mundo, grandes centros de neuroimagem como o *Montreal Neurological Institute* (MNI), no Canadá e o *University College London* (UCL), na Inglaterra, foram pioneiros na metodologia de aquisição e processamento, além de terem obtido e publicado os primeiros achados relevantes com a aplicação do método em pacientes com epilepsia.

No Brasil, os estudos com EEG-RMf ganharam força com a ideia, desenvolvimento e realização da Cooperação Interinstitucional de Apoio a Pesquisas Sobre o Cérebro (CInAPCe) da FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo). Tendo como principal objetivo investigatório os mecanismos básicos que levam à epilepsia e às desordens a ela associadas, o CInAPCe busca o desenvolvimento de novos métodos e técnicas que permitam avançar no entendimento desses mecanismos, visando aprimorar o diagnóstico, prevenção e o tratamento de desordens epilépticas [26].

Neste sentido, a técnica de EEG-RMf é aplicada como uma ferramenta que pode auxiliar na avaliação da dinâmica de neuropatologias, e dentre as patologias mais estudadas, destaca-se a epilepsia. O significado das respostas BOLD em termos de atividade neuronal específica ainda está sob investigação, mas entende-se que esta técnica é capaz de avaliar as alterações metabólicas e proporcionar "retratos" do estado funcional do cérebro no momento em que ocorrem descargas epilépticas [14,15,27]. Com o EEG-RMf pode-se identificar variações positivas e negativas no sinal BOLD. Estudos anteriores explorando EEG-RMf em pacientes com epilepsias parciais demonstraram que as respostas BOLD podem ser obtidas através da correlação dos instantes ictais ou interictais localizados no EEG com os cortes funcionais, e que essa resposta

BOLD pode auxiliar a definição da zona de início ictal em pacientes com epilepsias focais refratárias [28, 29].

O uso do EEG-RMf é particularmente promissor em pacientes pré-cirúrgicos de ELT, uma vez que o método pode auxiliar no entendimento e definição do foco epileptogênico primário, principalmente em casos nos quais os métodos convencionais não forneceram um resultado contundente. Kobayashi e colaboradores (2009), propôs que a técnica pode auxiliar a definir o foco epileptogênico primário, ainda que esteja localizado em regiões temporais mesiais. A varredura temporal do BOLD nos instantes próximos ao da detecção das espículas neocorticais, detectadas por EEG de escalpo, pode resultar em BOLD em regiões mesiais relacionados a estas espículas, mas que foram gerados possivelmente por descargas epilépticas mesiais que não puderam ser detectadas por este tipo de EEG. Outro estudo cita a capacidade da técnica de EEG-RMf em fornecer informações adicionais ao EEG de rotina, o que pode auxiliar na indicação de tratamento cirúrgico de pacientes com epilepsias focais refratários às DAEs. [30, 31].

Estudos de caracterização homogênea de grupos de pacientes de ELT são relevantes devido à necessidade de melhor enquadrar ou diferenciar síndromes, com o intuito de aplicar terapêuticas mais apropriadas. Em estudos de EEG-RMf com grupos de pacientes com ELT, os mapas de BOLDpos retratam as áreas de alteração hemodinâmica comuns, com clusters que englobam hipocampo, ínsula e putâmem ipsilaterais às descargas epileptiformes [30, 32, 33]. Esses estudos, no entanto, agruparam pacientes com ELT de diversas etiologias. A subdivisão da ELT em estudos de EEG-RMf agrupando pacientes de etiologias distintas pode auxiliar a compreensão das diferentes redes neuronais interictais específicas de patologias específicas.

O BOLDneg associado às espículas em pacientes com ELT está geralmente associado e cíngulo posterior e lobo parietal inferior bilateral, regiões que fazem parte da *Default Mode Network* (DMN) [14,33]. A DMN é baseada na hipótese de que o cérebro possui uma rede neuronal organizada, responsável pela atividade neural basal, em instantes de repouso ou introspecção, e que sofre desativação relativa em momentos de atividades específicas. A hipótese da existência da DMN define o córtex pré-frontal medial, cíngulo posterior, lobo parietal inferior, córtex temporal lateral e hipocampo, como regiões constituintes desta rede. Na ELT, trabalhos anteriores sugerem que as descargas epiléticas podem provocar a desativação das áreas compatíveis com a DMN. O envolvimento da DMN, em mapas de BOLDneg, relacionados a espículas, evidencia que a atividade epileptiforme suspende temporariamente a função normal do cérebro, alterando seu estado de repouso [33, 34, 35].

1.6 - ELT e as Redes de Alterações Estruturais

O cérebro difere entre indivíduos distintos naturalmente ou por causas secundárias a patologias. Um método confiável de se mensurar as diferenças entre uma população baseia-se na comparação das concentrações locais dos tecidos corticais, como a substância cinzenta, branca e líquido segmentados a partir de imagens de RM de alta resolução. A morfometria baseada em voxel (VBM) é um método matemático proposto por John Ashburner e Karl J. Friston (2000), para ser sensível a estas diferenças, de forma a desconsiderar diferenças naturais inerentes à amostra. Ele faz isso através da anulação das diferenças de posição e volume total da amostra (sempre em relação a um *template* estabelecido) através de normalização espacial realizada por métodos matemáticos de transformações não lineares que mantêm as concentrações relativas entre os tecidos corticais. As diferenças de densidade dos tecidos são detectados através da comparação das intensidades locais de sinal de mapas segmentados pós-suavizados com filtro gaussiano [36]. Desde o seu início, o VBM tornou-se uma ferramenta bem estabelecida em estudos de morfometria podendo ser usado para detectar diferenças e atrofia corticais sutis [37].

No estudo da epilepsia, o VBM destaca-se por ser um método não invasivo de detecção de alterações estruturais nos tecidos corticais. A epilepsia de lobo temporal é recorrentemente

associada a notáveis alterações estruturais nas regiões mesiais. Estudos realizados em pacientes com sinais de EH demonstraram através do VBM que apesar do óbvio achado de alterações corticais ou lesões na área mesial do lobo temporal como no hipocampo e amígdala, a técnica de VBM mostra evidências de regiões atróficas que não são trivialmente identificadas em análises visuais realizadas por neurologistas experientes, as quais podem se estender para áreas além do lobo temporal mesial incluindo regiões extra-temporais [38].

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral e Hipótese

Avaliar e comparar os padrões BOLD através de exames de RMf e EEG adquiridos simultaneamente (EEG-RMf) em dois subgrupos de pacientes com ELT: ELT com sinais de EH nas imagens de RM (ELT-EH) e ELT com imagens de RM normais (ELT-NL).

Esta investigação, baseia-se na hipótese de que apesar dos grupos possuírem semelhantes etiologias de EEG interictal, causas subjacentes da epilepsia poderiam também contribuir para o padrão de alterações metabólicas observadas durante as DEIs. Além disso, procurou-se avaliar se a rede funcionais definidas através de exame de EEG-RMf estão relacionadas com a rede de anormalidades estruturais definidas por morfometria baseada em voxel (VBM).

2.2. Objetivos Específicos ou Secundários

- 1 – Avaliar e comparar padrão de BOLDpos em pacientes com ELT-EH e ELT-NL;
- 2 – Avaliar e comparar padrão de BOLDneg pacientes com ELT-EH e ELT-NL;
- 3 – Comparar as áreas de atrofia de substancia cinzenta com padrão de resposta BOLDpos em pacientes com ELT-EH e ELT-NL;
- 4 - Desenvolver e aperfeiçoar ferramentas que padronizem e auxiliem no estudo, processamento e interpretação dos resultados de experimentos funcionais de RM.

Justificativa

A compreensão das alterações hemodinâmicas relacionadas às DEIs e a sua sobreposição com alterações estruturais nas ELTs de diferentes etiologias, pode auxiliar na detecção de áreas-alvo e no subsequente desenvolvimento de novas terapêuticas para o controle de crises epiléticas, bem como para o tratamento das comorbidades nestes indivíduos.

3. Métodos

Os métodos aplicados no estudo foram realizados no Departamento de Neurologia do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas, sob as condições éticas (Sessão 3.1) e metodológicas coerentes com critérios clínicos propostos pelo estudo.

3.1 Aspectos Éticos

Todos os pacientes envolvidos neste trabalho foram devidamente instruídos sobre o estudo e seus riscos. O termo de consentimento informado (**Anexo 1**), aprovado pelo Comitê de Ética da UNICAMP, foi assinado por todos os pacientes que realizaram o exame, seguindo todos os protocolos previstos.

3.2 Identificação, Seleção e Classificação dos Pacientes

Foram incluídos no estudo pacientes que estão incluídos no serviço de neurologia do Hospital de Clínicas da Unicamp, que preencheram os seguintes critérios de inclusão:

1) Pacientes adultos (idade superior a 18 anos), com diagnóstico clínico e eletroencefalográfico de ELTM de acordo com os critérios da INTERNATIONAL LEAGUE AGAINST EPILEPSY (ILAE, 1989), que estavam em avaliação pré-operatória devido a crises epiléticas refratárias às DAEs [39].

2) Avaliação visual das imagens de RM sem alterações ou com sinais de EH.

3) Os três últimos EEGs de rotina, realizados de acordo com o protocolo de avaliação pré-operatória, demonstrando descargas epileptiformes interictais (DEIs).

Foram excluídos deste estudo pacientes com ELT secundária a outras lesões (tumores, mal formações do desenvolvimento cortical, traumas, lesões vasculares), EEGs de rotina recentes sem alterações epileptiformes detectáveis, com contra-indicações para realização de exames de RM ou que se recusaram a assinar o Termo de Consentimento Informado.

O grupo final foi composto por 29 pacientes (11 homens e 18 mulheres, idade média de 51 anos, variando entre 19-58 anos). De acordo com análise visual dos exames de RM, os pacientes foram divididos em: i) ELT com sinais a RM de EH (ELT-EH; N=14); ii) ELT com RM normal (ELT-NL; N=15).

3.3 Dados clínicos

Os dados clínicos de cada indivíduo incluído no estudo foram adquiridos de forma retrospectiva através de questionário estruturado ou por avaliações prospectivas para coleta de novos dados, quando necessário. O diagnóstico e a qualificação dos pacientes utilizados no projeto foram realizados por neurologistas (pesquisadores colaboradores) do grupo de epilepsia sob supervisão do orientador.

3.4 Aquisição do Exame de EEG-RMf

Todos os 29 indivíduos foram submetidos à aquisição simultânea de EEG-RMf. O EEG foi adquirido com taxa de amostragem de 5000Hz com 64 eletrodos dispostos no sistema internacional 10-10 (equidistantes entre si com a décima parte da distancia total para cada direção) e amplificados por equipamento compatível com RM BrainAmp 64 MRplus (Brain Products, Munich, Germany) sincronizado temporalmente ao exame de RMf. As aquisições funcionais foram realizadas em equipamento *Phillips Achieva* de 3 teslas (*Phillips Medical Systems - Best, The Netherlands*). O protocolo de RM era baseado em uma aquisição localizadora (imagem anatômica rudimentar, de rápida aquisição, para localização do paciente) seguida de sequência anatômica MPRAGE (imagem 3D de alta resolução, ponderada por T_1), com voxel de 1 mm^3 , FOV de $240 \times 240 \times 180 \text{ mm}^3$, 180 fatias, com TE e TR de 3.2 e 6.9 ms, respectivamente, com duração total de 6 minutos. Como continuidade ao exame de RM, dava-se início à aquisição de dados funcionais através do protocolo EPI (*Echo Planar Imaging*). As sequencias de EPI foram definidas com TE=30 ms, TR=2s, FOV de $240 \times 240 \times 117 \text{ mm}^3$, sendo 180 volumes com 39 fatias anatômicas e voxel de 3 mm^3 . Sequências EPIs entre 24-48 minutos foram adquiridas para cada paciente. Durante a aquisição dos exames, os pacientes foram orientados a permanecer em repouso, com os olhos

fechados. O sincronismo temporal entre o EEG e as imagens de RM era garantido por intermédio de marcação temporal realizada a cada aquisição de volume funcional. Isso era feito através de interface entre o *output-trigger* do equipamento de RM e o software que registrava o EEG.

3.5 Processamento de Dados de EEG-RMf

O EEG foi corrigido para os artefatos de gradiente e de batimento cardíaco e reamostrado para 250 Hz (facilitar a manipulação dos dados uma vez que o sinal já não pode mais ser saturado pelos artefatos) através do programa *Brain Vision Analyzer 2* (Brain Products). Os artefatos de gradientes são o somatório da interferência gerada no EEG pelos gradientes de campo e pelos pulsos de radiofrequência provindos da RM. Estes geram corrente elétrica nos eletrodos devido à indução eletromagnética, mascarando o sinal. Os artefatos de batimento cardíaco são artefatos de movimento gerados por micro-oscilações do paciente devido ao fluxo sanguíneo e do próprio batimento cardíaco.

A correção para artefatos de gradiente foi automatizada pelo *Analyzer 2*, porém, alguns parâmetros devem ser configurados. O método utilizado pelo programa para correção é o AAS (*Average Artifact Subtraction*), no qual parâmetros que se repetem em todos os TR, como a interferência gerada pelas sequências de pulso, são subtraídos pela média dos intervalos, removendo parâmetros redundantes de interferência. A correção para artefatos cardíacos foi realizada do mesmo modo (AAS). Outro tratamento comum em exames de EEG é a filtragem de frequência para valores inferiores à 0.5 Hz e superiores a 70 Hz, com o intuito de realçar ainda mais as características relevantes do sinal e eliminar artefatos remanescentes.

As imagens de RMf foram sempre realinhadas à média entre elas, corrigidas quanto ao tempo de aquisição de cada fatia, corregristradas, normalizadas e suavizadas. Para a análise das imagens de RM utilizou-se o programa SPM8 (*Statistical Parametric Mapping*, Londres, Inglaterra), para a plataforma Matlab (The MathWorks, Inc). O realinhamento das imagens de RMf foi feito para alinhar os volumes obtidos durante o exame sob um mesmo referencial cartesiano, ou seja, coincidir as coordenadas dos voxels de cada fatia dos volumes adquiridos entre si. A correção

devido ao tempo é necessária por existir um *Slice Timing*, ou tempo de aquisição para cada fatia do volume. Esta correção deve ser feita, pois os modelos estatísticos supõem que todas as fatias são adquiridas no mesmo instante, quando na verdade os cortes são adquiridos ao longo de cada TR (2 s) de forma não instantânea. O corregristo gera coincidência espacial entre as imagens funcionais e a imagem estrutural, com alta resolução espacial. Esse passo possibilita a apresentação dos resultados funcionais em imagens visualmente superiores.

A normalização das imagens é uma correção essencial principalmente ao se comparar exames de pessoas diferentes, pois, cada paciente possui tamanho e forma de cérebro distintos. Essa correção ajusta a imagem alongando-a ou contraindo-a a fim de se manter um padrão dimensional e de coordenadas entre aquisições de indivíduos diferentes. A normalização foi feita utilizando-se o modelo estrutural anatômico MNI, seguindo os padrões internacionais. Por fim os dados são suavizados. Neste processo as imagens passam por um filtro gaussiano tridimensional a fim de se atenuar discrepâncias muito acentuadas no sinal obtido entre voxels vizinhos.

Após os procedimentos de ajuste e correção dos resultados serem realizados para ambos os exames, os EEGs foram analisados por eletroencefalografistas experientes, com o intuito de se localizar ondas características de atividade epileptiforme ictal (de crise) ou interictal (atividade elétrica anormal que não leva à crise) no exame. No presente estudo, nenhum indivíduo apresentou atividade ictal detectada nos exames de EEG. As atividades epileptiformes interictais foram marcadas no próprio traçado (pico da onda aguda, com duração de zero segundos). Subsequentemente foram utilizados estes instantes demarcados como paradigma na busca do sinal BOLD através de análise estatística realizada no SPM8.

Do total de 29 pacientes com ELT, três foram excluídos devido à ausência de DEI no EEG adquirido concomitantemente a imagens de RM (todos do grupo ELT-NL). O número de DEI detectadas durante a RMf variou de 11 a 281 (média de 77,75) para os pacientes ELT-NL e de 5 a 923 (média de 141,30) para os pacientes ELT-EH. Não houve diferença do número de DEI entre os grupos (Teste-t de duas amostras, $p = 0,40$). No grupo ELT-EH, sete pacientes tiveram DEI bitemporais, cinco apenas DEI temporal à esquerda e dois apenas à direita. No grupo ELT-NL, sete

pacientes apresentaram DEI bitemporais, três tinham apenas temporal à esquerda e dois apenas à direita. As DEI estavam restritas aos eletrodos F8, T7, T8, P7, P8, TP9, TP10, FT7, FT8, TP7, TP8, FT9, FT10, com pequena diferença entre os campos de cada paciente. Nenhum paciente apresentou DEI fora dos lobos temporais ou diferentes das observadas nos EEGs de rotina.

3.6 Pós-Processamento e Análise Estatística em EEG-RMf

O pós-processamento dos dados de EEG-RMf foi realizado primeiramente para cada paciente individualmente, e, como um segundo passo, os resultados individuais foram agrupados para análises de grupo. Inicialmente, cada paciente escaneado teve seus dados estruturados em uma matriz de desenho experimental (**Fig. 1**).

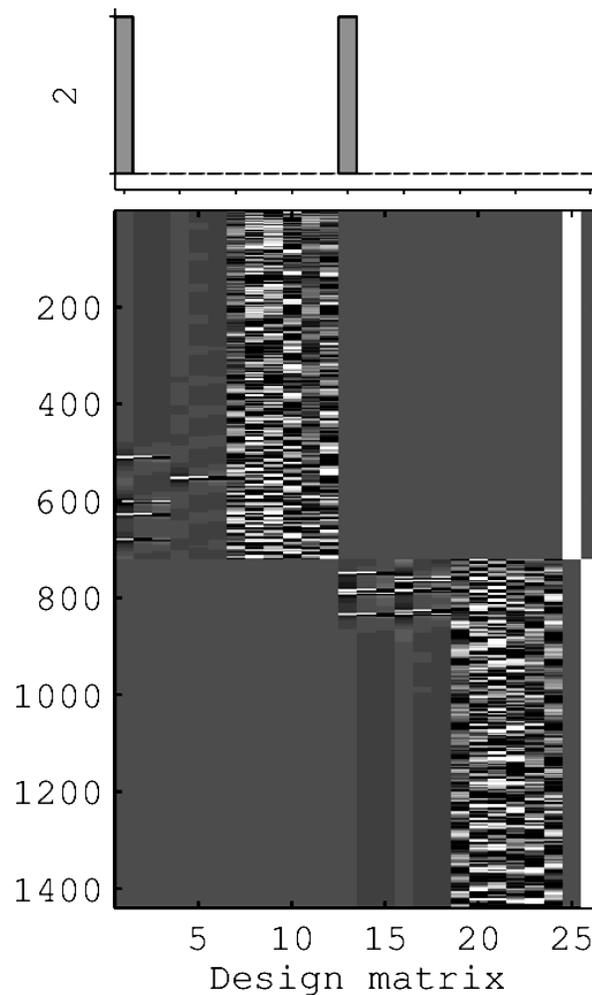


Fig. 1: Matriz de desenho experimental e barras de contraste. Esta matriz refere-se a experimento com duas sequências funcionais que totalizaram 1440 volumes. Nota-se dois grandes blocos com 12 colunas cada. Cada bloco de colunas refere-se a uma sequência

funcional, no exemplo com 720 volumes (linhas das colunas). As duas primeiras colunas de cada bloco referem-se ao paradigma, sendo cada um, um evento distinto, detectado no EEG. As quatro colunas subsequentes, referem-se às derivadas de tempo e dispersão de cada uma das colunas de paradigma. As seis últimas colunas de cada bloco são regressores de movimento, sendo três de deslocamento nos eixos cartesianos, e três de rotação.

Esta matriz de desenho representa todos os parâmetros considerados para a realização do MLG (Modelo Linear Geralizado), metodologia utilizada na análise estatística. Basicamente, cada bloco de colunas representa uma sequência funcional, e cada linha, um volume desta sequência. É possível notar que no caso da **Fig. 1**, foram adicionadas duas sequências funcionais que totalizaram pouco mais de 1400 volumes. As colunas de cada bloco representam os parâmetros de movimentos obtidos com o realinhamento das imagens, sendo, três parâmetros de translação e três parâmetros de rotação (6 colunas), as colunas restantes referem-se aos tipos de estímulos encontrados do traçado do EEG (uma coluna para cada estímulo) além de uma coluna com a derivada temporal dos estímulos e outra com a derivada de dispersão, totalizando as 12 colunas que podemos ver para cada EPI na **Fig. 1**. Os dados da matriz de desenho (regressores) entram no modelo proposto como paradigma (condições de interesse) e confundidores (variáveis que geram confusão, induzem ao erro). Todos os parâmetros incluídos são levados em consideração e interferem no ranque (peso ou relevância relativa) e na subsequente significância estatística que os eventos adicionados têm após a análise do sinal de RMf. A análise do sinal BOLD realizada pelo SPM8 inicia-se com a convolução da função resposta hemodinâmica (FRH) canônica, proposta por Karl J. Friston, com a coluna do paradigma que contém os inícios e durações das atividades ictais ou interictais no EEG (**Fig. 2**) [40].

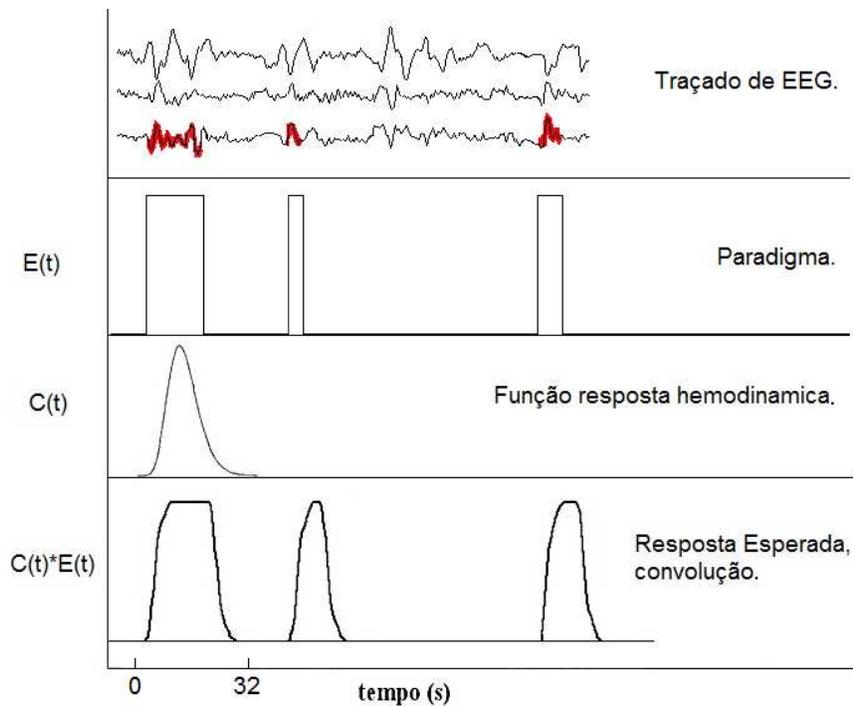


Fig. 2: Processo de formação do paradigma evento relacionado. As marcações no EEG têm inícios e durações representadas em função retangular ($E(t)$) temporalmente dependente ao EEG. Esta função é convoluída à FRH ($C(t)$) gerando a resposta esperada ($C(t)*E(t)$) que será buscada no sinal de RM.

Os instantes de inserção do paradigma podem ser feitos de formas diferentes. Alguns modelos utilizam como referência o exato momento em que a onda lenta é detectada no EEG, assim como demonstra a **Fig. 2**. Entretanto é possível desenhar o modelo de forma a procurar alterações hemodinâmicas segundos antes da detecção da espícula no EEG (análise de BOLD precoce), ou até segundos posteriores ao da detecção electrocortical (BOLD tardio). Neste trabalho foram utilizados os instantes -5 segundos anteriores à manifestação interictal do EEG e o exato instante de detecção como demonstra a **Fig. 3**. Essa forma de análise implica na convolução da FRH com o seu pico no instante de início da atividade epileptiforme (pois o pico da FRH tem atraso de ~5 segundos após seu início) e outra análise com o pico 5 segundos posterior ao início da manifestação no EEG. Esta forma de análise expande as possibilidades de se encontrar BOLD relacionado à atividade interictal, pois não limita ou pressupõe uma específica relação causa-efeito entre o achado do EEG e as alterações hemodinâmicas [31]. A análise do BOLD precoce justifica-se, pois assume que possa haver diferença temporal entre a atividade interictal registrada no

escalpo e o momento em que houve alguma alteração hemodinâmica na região profunda onde a espícula possa ter sido gerada, antes de se espalhar e ser detectada no neocórtex.

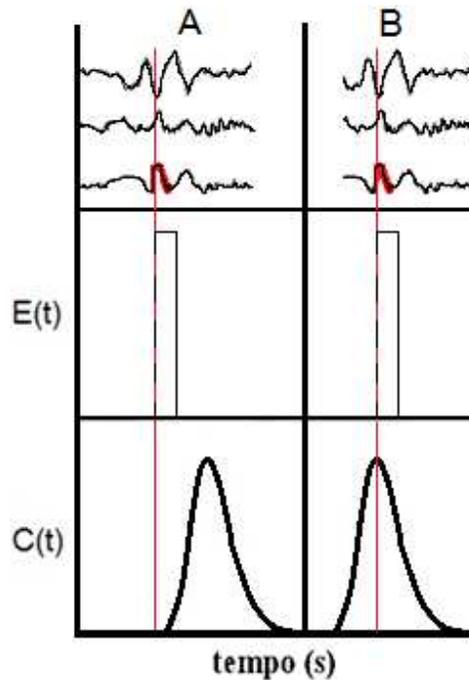


Fig. 3: Representação das diferenças entre a análise do BOLD tardio (B) e precoce (A). No primeiro, a FRH é convoluída equivalendo seu início, com o da atividade epileptiforme, desta forma o pico da FRH ocorre 5 segundos após o achado do EEG, de forma tardia. Já o BOLD precoce é encontrado definindo a inserção da FRH cinco segundos antes do achado do EEG, fazendo com que seu pico seja sincronizado à atividade epileptiforme.

Uma vez geradas todas as colunas (paradigma evento relacionado e confundidores), temos diretamente o sistema do MLG formado. Para um determinado voxel, este sistema pode ser representado, da seguinte forma:

$$\begin{bmatrix} Y_{vx(1)(t1)} \\ Y_{vx(1)(t2)} \\ \vdots \\ Y_{vx(1)(tn)} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X_1(t1) + X_2(t1) + \dots + X_k(t1) \\ X_1(t2) + X_2(t1) + \dots + X_k(t2) \\ \vdots \\ X_1(tn) + X_2(t1) + \dots + X_k(tn) \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} \beta_1 \\ \beta_2 \\ \vdots \\ \beta_k \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \varepsilon_{(1)} \\ \varepsilon_{(2)} \\ \vdots \\ \varepsilon_{(n)} \end{bmatrix} \quad \text{Eq. 09}$$

onde os valores de Y representam a série temporal do sinal de RM relativa ao voxel $vx(1)$, sendo que o índice n , varia de 1 até o número total de volumes (pontos temporais). Os valores de X representam as colunas da matriz de desenho, que contém os regressores (todas as variáveis independentes inclusas no sistema). No caso da matriz de desenho da **Fig. 1**, o índice k iria até 12, sendo este o número total colunas para cada sequência funcional. Neste sistema, os β 's (Betas) são as incógnitas e possuem o mesmo índice dos regressores. Os ε 's que são os erros residuais

associados, assumidos como independentes, possuem distribuição homogênea e são correlacionados com a serie temporal. O objetivo do sistema é superestimar os valores de β . Para cada voxel, temos n equações para se encontrar um número k de incógnitas, para mantermos a ortogonalidade do sistema, n deve ser sempre maior ou igual a k . O que ocorre normalmente é que o número de equações (n) é muito superior ao número de regressores (k) e desta forma obtemos varias soluções para um mesmo β , o que define este sistema como um sistema que encontra valores superestimados para as incógnitas. Nessa lógica, entendemos o paradoxo em se adicionar diversos regressores no sistema. Os regressores auxiliam em aumentar ou diminuir a significância dos achados através de correlações com fatores ruidosos ou significativos, mas por outro lado aumentam a complexidade do sistema diminuindo as soluções para uma mesma variável (diminuição dos graus de liberdade), aumentando o erro associado.

Após estimar os β 's, o objetivo é definir os valores estatísticos T. Para isso, devemos gerar contrastes que identifiquem as condições objetivadas. Esses contrastes são definidos na forma de matriz, atribuindo valores 0, 1 ou -1 que representem as interações entre as condições. Na **Fig. 1**, podemos notar ao topo duas colunas alinhadas às primeiras colunas de cada sequência funcional, definiu-se neste caso que o contraste seria a união destas duas colunas as quais se atribui valor 1, zerando os valores das colunas em que não se interessa ver o BOLD associado. O valor estatístico de T para um dado voxel, tendo o contraste definido, é dado pela seguinte equação:

$$T = \frac{C^T \times \beta_k}{\sigma_{(C^T \times \beta_k)}^2} \quad \text{Eq. 10}$$

onde C é a matriz de contraste referente à condição de interesse, β é o valor encontrado para o Beta referente a esta condição. O denominador $\sigma_{(C^T \times \beta_k)}^2$ representa a variância da transposta da matriz de contraste multiplicada por β . Após estimar o valor de T para todos os voxels da imagem, são gerados mapas paramétricos estatísticos. Estes mapas são corregistrados à imagem anatômica do indivíduo em questão, mas têm os valores de seus voxels iguais ao valor T encontrado (mapas *spmT* - **Fig. 4**) ou à soma dos Betas encontrados para cada condição (mapas *con*).

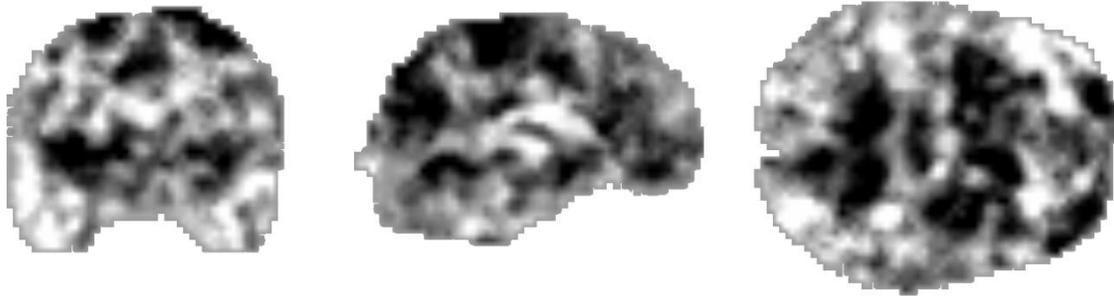


Fig. 4: Mapa paramétrico estatístico spmT de um dos pacientes. Os tons de cinza foram escalonados pelo valor estatístico T encontrado para cada voxel. Este mapa está corregrado ao modelo do MNI e possui correspondência espacial à imagem anatômica do indivíduo em questão.

Para visualização da análise estatística de primeiro nível (individual), utilizou-se um limiar mínimo para o valor de $p < 0.001$ (sem correção para múltiplas comparações) considerando todos os *clusters* (conglomerados) de voxels, sem número mínimo. Desta forma resultou-se nos voxels com sinais relacionados significativamente ao paradigma, como ilustra a **Fig. 5**. Os resultados da análise de primeiro nível verificam se toda a metodologia de pré-processamento das imagens foram aplicadas corretamente, checando o corregristo com a imagem modelo do MNI e com a imagem anatômica do paciente, existência de artefatos característicos de movimento, além de possibilitar uma análise clínica dedicada ao indivíduo em questão.

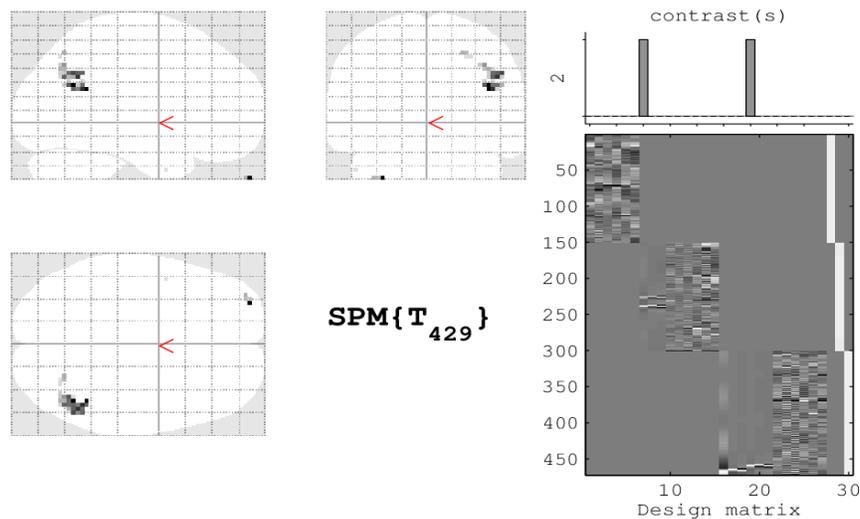


Fig. 5: Exemplo de mapa paramétrico estatístico após aplicação do limiar estatístico com visualização em *Glass View* (cérebro transparente). Os pontos em tons de cinza localizam a ativação BOLD referente ao contraste estabelecido.

Para que seja viável a realização de análise de grupo, realizada a partir dos mapas resultantes da análise de primeiro nível, é extremamente importante que se realize um pré e pós

processamento estritamente padronizado para todos os indivíduos. Foi desenvolvido para este trabalho programas (Neuroimaging Computational Analysis - University of Campinas - **Fig. 6**) em linguagem m-code (para Matlab), que reproduziam os mesmos passos e parâmetros para todas as análises, evitando erros humanos ou divergências teóricas na definição do modelo de correções (**Anexo 2**).

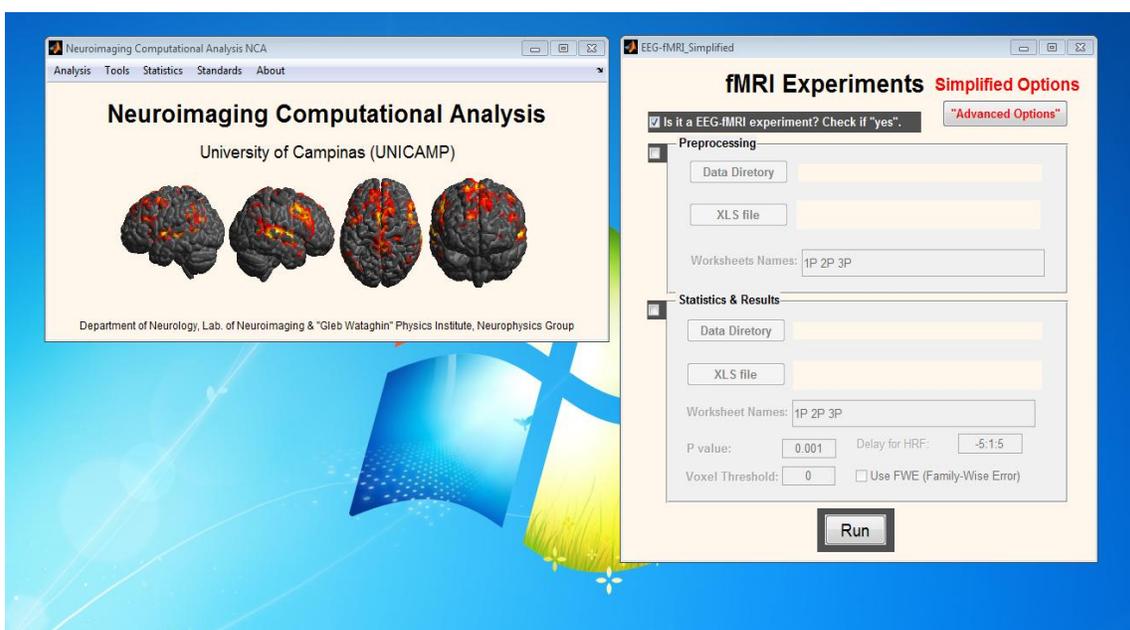


Fig. 6: Imagem do software NCA - Neuroimaging Computational Analysis. Desenvolvido pelo autor e pelo físico Guilherme Côco Beltramini, este programa agiliza e automatiza os processamentos feitos pelo SPM8, e também possibilita análises diferenciadas em neuroimagem. Possui diversas utilidades de correção de imagens de RM e ferramentas estatísticas gerais. Em anexo (**Anexo 2**), descrição das funcionalidades do programa.

De acordo com a qualidade das imagens de RM funcionais, um paciente do grupo ELT-EH foi excluído da análise, devido à presença de um artefato do cabo de EEG na imagem EPis. Dessa forma, o grupo final de pacientes incluídos no presente estudo foi composto por 25 indivíduos, sendo que 13 possuíam sinais de RM compatíveis com EH (grupo ELT-EH) e 12 apresentavam imagens de RM normais (grupo ELT-NL). A **Tabela 1** descreve os dados clínicos dos pacientes selecionados.

Tabela 1: Descrição e dados clínicos dos pacientes selecionados para análise de grupos

Idade	Gênero	Grupo	Semiologia de Crise	EEG de Rotina	EEG-fMRI (nº de espículas)	Análise estrutural (VBM)
24	F	ELT-EH	Jamais vu, olhar fixo, postura distônica do braço esquerdo, automatismo da mão direita	TD / ictal TD	TD (10)	não
40	F	ELT-EH	Medo, perda de consciência, olhar fixo, automatismo oral	Bilat, Predomi. R / ictal TD	TD(143) / TE(4)	não
38	M	ELT-EH	Olhar fixo, automatismo oral e bimanual	Bilat, Predomi. R	TD(32) / TE(203)	sim
56	F	ELT-EH	Dor abdominal, perda de consciência olhar fixo, automatismo oral e manual	Bilat, Predomi. L	TE(122)	sim
36	F	ELT-EH	Medo, perda de consciência, olhar fixo	Bilat, Predomi. L	TD(13) / TE(3)	sim
38	F	ELT-EH	Dor epigástrica, náusea, perda de consciência, mastigação, postura distônica do braço direito	TE	TD(3) / TE(15)	sim
50	M	ELT-EH	Dor de cabeça, automatismo manual	TE	TE(17)	sim
58	M	ELT-EH	Jamais vu, afasia, perda de consciência, olhar fixo	TE	TE(13)	não
46	F	ELT-EH	Sensação epigástrica, náusea, olhar fixo, mastigação	TE	TE(5)	sim
47	M	ELT-EH	Sensação ruim, perda de consciência, desvio do olhar para cima, automatismo oral	Bilat, Predomi. D	TD(187)	sim
38	F	ELT-EH	Sem aura, perda de consciência, fala sem sentido, automatismo manual	Bilat, Predomi. E	TD(260) / TE(663)	sim
28	M	ELT-EH	Sem aura. Perda de consciência, automatismo oral e bimanual.	Bilat, Predomi. D	TD(16) / TE(40)	sim
19	M	ELT-EH	Sensação abdominal, olhar fixo, anda em círculos.	TE	TE(88)	sim
20	M	ELT-NL	Sensação epigástrica crescente, olhar fixo	TE	TE(147)	sim

48	F	ELT-NL	Sensação de desconforto, medo de morrer, perda de consciência	Bilat, Predomi. E / ictal TE	TD(46) / TE(36)	sim
43	F	ELT-NL	Medo, perda de consciência, fala ictal, automatismo manual	Bilat, Predomi. D	TD(26) / TE(13)	sim
51	F	ELT-NL	Sensação epigástrica, olhar fixo, mastigação, automatismo manual	Bilat, Predomi. D	TD(11) / TE(12)	sim
27	M	ELT-NL	Sensação epigástrica ascendente, zumbido nos ouvidos, olhar fixo	Bilat, Predomi. D	TD(84)	sim
47	F	ELT-NL	Sem aura, perda de consciência súbita, automatismo manual	TE	TE(85)	sim
56	M	ELT-NL	Jamais vu, perda de consciência, hipomotora	TE	TE(13)	sim
45	F	ELT-NL	Sensação epigástrica, medo, afasia, perda de consciência, automatismo oral e bimanual	Bilat, Predom i. E / ictal TD	TD(24) / TE(18)	sim
27	F	ELT-NL	Medo, perda de consciência, deglutição, anda sem propósito	Bilat, Predom i. D	TD(241) / TE(40)	sim
37	F	ELT-NL	Sensação epigástrica, perda de consciência, mastigação, fala ictal.	Bilat / ictal TE	TD(24) / TE(28)	sim
28	F	ELT-NL	Sentimento religioso, perda de consciência, automatismo bimanual	Bilat, Predom i. E	TD(12) / TE(62)	sim
48	M	ELT-NL	Sensação epigástrica crescente, olhar fixo/hipomotor	Bilat, Predom i. D	TD(11)	sim

ELT: Epilepsia de Lobo Temporal; NL: Não Lesional; AH: Atrofia Hipocampal; Bilat: Bilateral Predomi: Predominante; TD: Temporal Direita; D: Direita; TE: Temporal Esquerda; E: Esquerda; F: Feminino; M: Masculino.

A análise de grupo baseou-se em um teste T para uma amostra realizado separadamente para o grupo de pacientes ELT-NL e ELT-EH. O intuito foi verificar estatisticamente as áreas comuns de BOLD positivo (BOLDpos) e negativo (BOLDneg), precoce e tardio (**Fig. 3**) associadas às DEI entre os pacientes dentro de cada grupo. O teste-T para uma amostra foi realizado

adicionando-se as imagens *con* geradas no primeiro nível e referentes aos estímulos de interesse denominados, onda aguda temporal direita (OATD) e onda aguda temporal esquerda (OATE).

Com a análise de primeiro nível realizada para todos os sujeitos, 38 mapas (ELT-EH: 8 mapas OATD e 11 mapas OATE; ELT-NL: 9 mapas OATD e 10 mapas OATE) de contrastes foram obtidos para cada tipo de BOLD (negativo e positivo) e para cada instante de inserção da FRH (tardio e precoce) (**Fig. 7**). Os pacientes com mapas de contraste referentes à OATD tiveram suas imagens reorientadas no sentido direito-esquerdo, ou seja, todos os mapas tiveram as DEI lateralizadas para a esquerda. Desta forma evitou-se diluição estatística dos achados da análise de segundo nível, devido às possíveis divergências de lateralidade entre os indivíduos dentro de cada grupo, fazendo com que os achados ipsilaterais às DEI fossem sempre representados do lado esquerdo. Os procedimentos de agrupamento e organização dos mapas de contraste estão representados pelo esquema da **Fig. 7**, e foram replicados para ambos os instantes de inserção da FRH e para mapas BOLDpos e BOLDneg. Os resultados do teste T para uma amostra realizado para ambos os grupos representam as áreas concordantes entre cada classificação (com EH e NL).

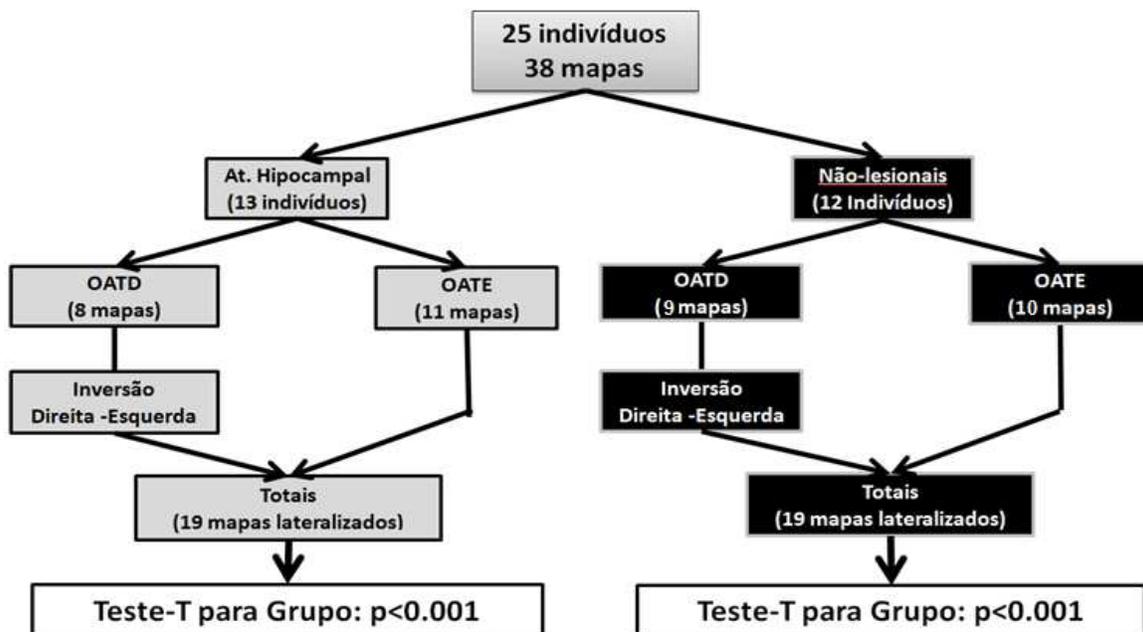


Fig. 7: Esquematização dos mapas e dos grupos para a análise de segundo nível. Estes procedimentos foram realizados para BOLD positivo e negativo nos instantes 0 segundos e -5 segundos anteriores às espículas (tardio e precoce).

3.7 Pré-processamento e Análise Estatística em Morfometria Baseada em Voxel

A morfometria baseada em voxel (em inglês, Voxel Based Morphometry - VBM), é uma técnica computacional que investiga divergências relativas na anatomia do cérebro entre grupos de indivíduos. O VBM realiza análise voxel a voxel a fim de encontrar áreas estatisticamente significativas que diferem entre cada sujeito e uma imagem modelo gerada com todas as imagens em questão [41]. Para este estudo foram utilizadas 74 imagens de indivíduos controles, que foram comparadas aos grupos de pacientes. Três dos pacientes não possuíam imagem anatômica com as especificações padronizadas para o estudo e foram excluídos (**Tabela 1**). As imagens anatômicas de alta resolução utilizadas (voxel de 1 mm^3 , FOV de $240 \times 240 \times 180 \text{ mm}^3$, 180 fatias, com TE e TR, 3.2 e 6.9 ms respectivamente, com duração total de 6 minutos) eram realinhadas, normalizadas para o mesmo espaço estereotático (MNI 152), moduladas e segmentadas em substância cinzenta, branca e líquido. As imagens segmentadas do tecido de interesse, no caso substância cinzenta, foram então submetidas a um filtro gaussiano com *kernel* de 10 mm^3 , removendo grandes variações de sinal entre voxels vizinhos (**Fig. 8**). Apesar de normalizar as imagens a um espaço padrão, a modulação mantém a proporcionalidade entre as regiões da imagem, possibilitando que a comparação entre indivíduos tenha boa correspondência anatômica, preservando as concentrações teciduais relativas.

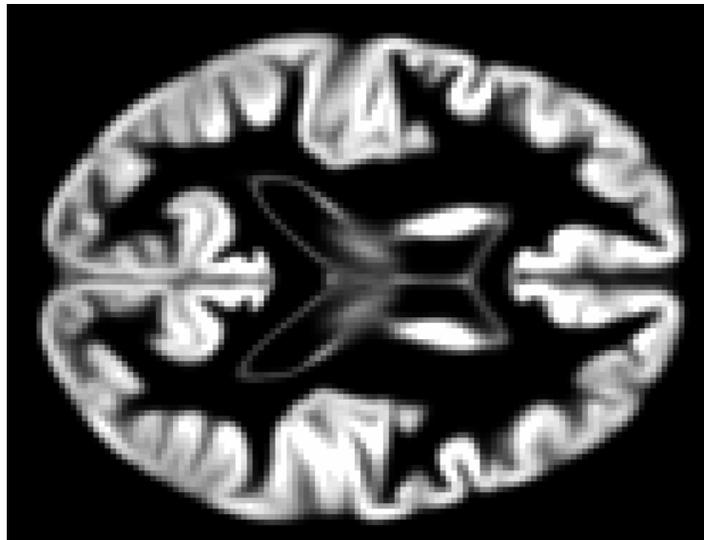


Fig. 8: Mapa de substância cinzenta. Neste exemplo, a imagem estrutural de alta resolução foi segmentada, normalizada e suavizada. A análise de VBM é realizada comparando as variações das concentrações locais entre mapas como este.

Após o processamento das imagens e criação dos mapas de substância cinzenta, um teste de covariância foi realizado a fim de localizar imagens com grandes alterações estruturais ou artefatos que possam induzir o resultado a falsos positivos. A análise estatística foi realizada com um teste T para duas amostras entre cada um dos grupos de pacientes separadamente e o grupo controle. As imagens de substância cinzenta suavizadas, foram utilizadas como dados de entrada. O teste T foi covariado com a idade e gênero dos indivíduos e o mapa paramétrico estatístico resultante foi gerado utilizando a matriz de contraste "[1 -1]", definindo contrastar a diferença entre o grupo controle e os grupos de pacientes. Desta forma, é possível avaliar os déficits de concentração de substância cinzenta dos pacientes em relação ao grupo controle, sugerindo as áreas atróficas daquele grupo. Para a visualização da análise estatística, foi definido um limiar mínimo de valor de T de 3.1952 correspondente a $p < 0.001$ não corrigido.

4. Resultados

Os achados resultantes das análises de grupo de EEG-fMRI e VBM foram organizados separando os grupos de pacientes, BOLDpos (tardio e precoce), BOLDneg (tardio e precoce), e análise estrutural (VBM). Os resultados foram representados na forma de *glass view* (representação espacial transparente do córtex) e corregrado a *template* gerado com as imagens anatômicas dos pacientes. A identificação das estruturas anatômicas referentes aos achados funcionais foi feita através da correspondência entre as coordenadas do MNI dadas pelo SPM e as coordenadas Talairach, utilizando software TalairachClient.

4.1 Pacientes com sinais de Esclerose Hipocampal (ELT-EH)

4.1.1 Análise de EEG-RMf

A análise do BOLD positivo precoce (pico da HRF no mesmo instante que o atividade epileptiforme) para o grupo de pacientes com sinais de EH revelou área com máximo valor de T (máximo global) no giro temporal superior ipsilateral (esquerdo) como demonstrado pela figura **Fig. 9**.

9. Outras áreas com alterações significativas estão representadas na **Tabela 2**.

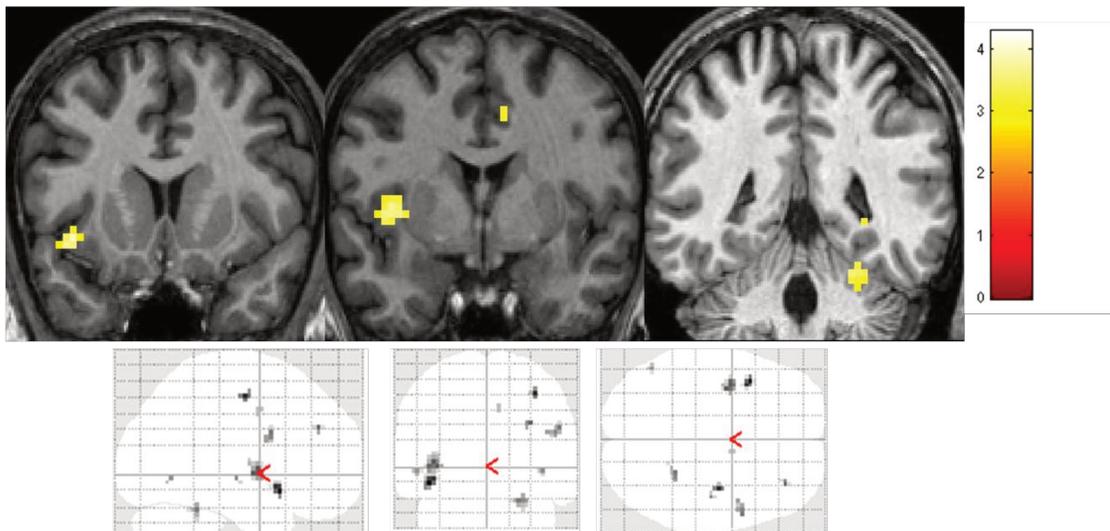


Fig. 9: Visão geral das ativações (Glass View) e corregristo à imagem anatômica de alta resolução dos resultados referentes ao BOLD positivo precoce do grupo de ELT-EH. Para este teste, foi utilizado limiar mínimo de T de 0.005, sendo apresentados apenas aglomerados (cluster) de no mínimo 5 voxels.

Para os mapas de BOLD negativo precoce, as áreas concordantes entre os sujeitos do grupo com sinais de EH revelaram resposta BOLD mais significativa (máxima global) no lobo parietal inferior contralateral (**Fig. 10**). Outras ativações estão descritas na **Tabela 2**. É possível

observar na **Fig. 10** (Glass View) que as áreas de BOLDneg precoce se superpõem as regiões compatíveis com DMN.

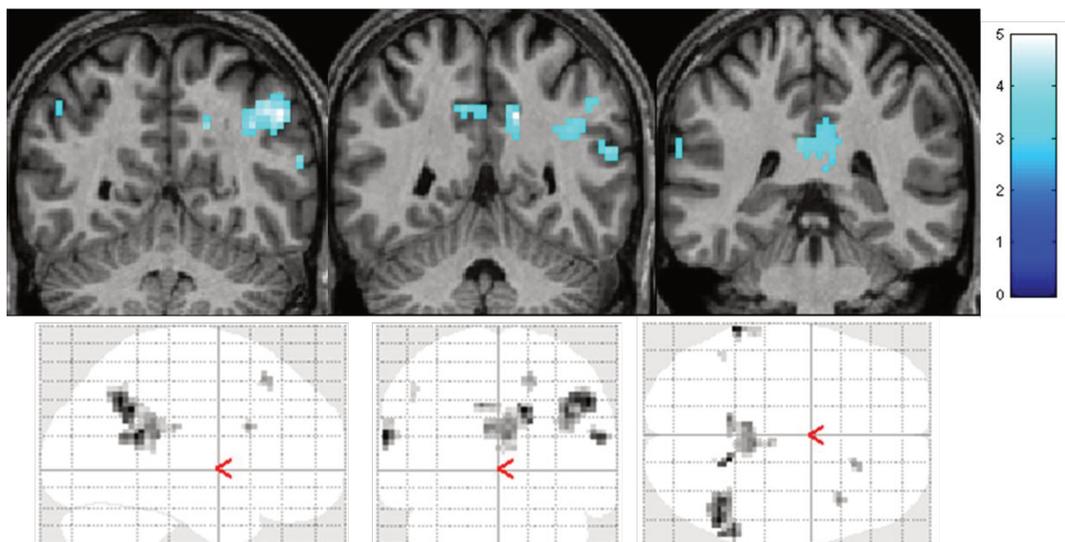


Fig. 10: Visão geral das desativações (Glass View) e corregristo à imagem anatômica de alta resolução dos resultados referentes ao BOLDneg precoce do grupo de ELT-EH. Para este teste, foi utilizado limiar mínimo de T de 0.005, sendo apresentados apenas clusters de no mínimo 5 voxels.

Tabela 2. Resposta BOLD Precoce - Grupo de Pacientes com EH

Área	BOLD	Lateralidade	Nº Voxels	Valor T	Coordenadas
Giro Temporal Superior	positivo	Esquerdo	19	4.27	-42, 14, -11
Ínsula	positivo	Esquerdo	33	3.69	-39, -1, 4
Giro Precentral	positivo	Direito	6	3.95	36, -10, 52
Giro frontal Médio	positivo	Direito	5	3.59	33, 41, 31
Giro Frontal Inferior	positivo	Direito	12	3.48	54, 8, 28
Cerebelo	positivo	Direito	12	3.48	24, -43, -23
Giro Temporal Superior	negativo	Esquerdo	26	4.76	-63, -46, 19
Precúneo	negativo	Esquerdo	13	3.90	-9, -49, 37
Cíngulo Posterior	negativo	Esquerdo	15	3.79	-6, -37, 25
Lobo Parietal Inferior	negativo	Esquerdo	5	3.04	-48, -55, 43
Lobo Parietal Inferior	negativo	Direito	56	4.97	51, -55, 40
Precúneo	negativo	Direito	12	4.92	15, -49, 34
Giro Temporal Superior	negativo	Direito	26	4.40	57, -46, 19
Giro frontal Médio	negativo	Direito	10	3.67	39, 17, 25
Giro Angular	negativo	Direito	49	3.58	39, -55, 34
Giro Temporal Superior	negativo	Direito	12	3.51	18, 26, 52
Cíngulo Posterior	negativo	Direito	36	3.27	6, -34, 19

A análise do BOLD tardio (pico da FRH 5 segundos após o início da atividade epileptiforme) para o grupo com sinais de EH teve máxima resposta (máximo global) no cíngulo

anterior bilateral como demonstrado pela **Fig. 11**. As demais regiões ativas estão descritas na **Tabela 3**.

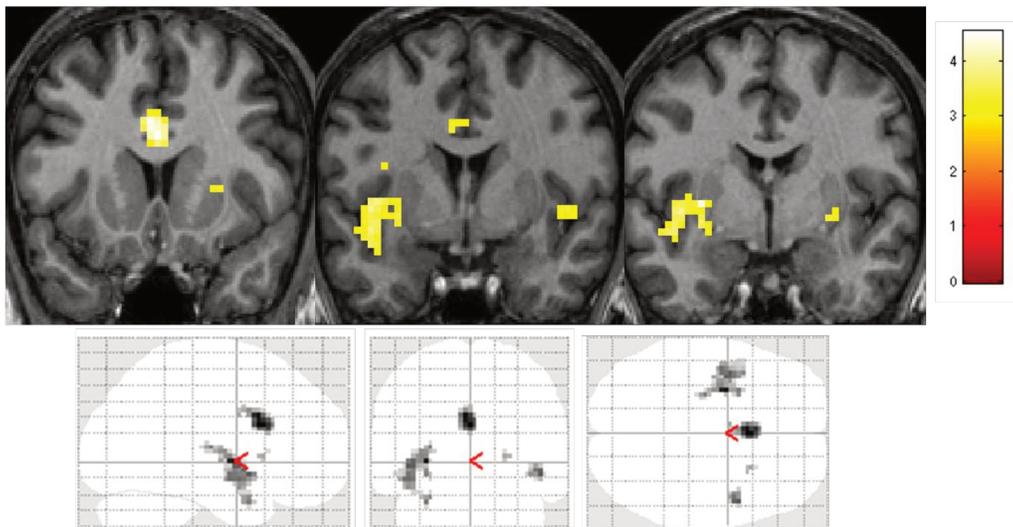


Fig. 11: Visão geral das ativações (Glass View) e correção à imagem anatômica de alta resolução dos resultados referentes ao BOLD positivo tardio do grupo de ELT-EH. Para este teste, foi utilizado limiar mínimo de T de 0.005, sendo apresentados apenas cluster de no mínimo 5 voxels.

O BOLD negativo tardio apresentou resposta mais significativa no cíngulo posterior ipsilateral como representa a **Fig. 12**. As demais regiões ativas estão descritas na **Tabela 3**.

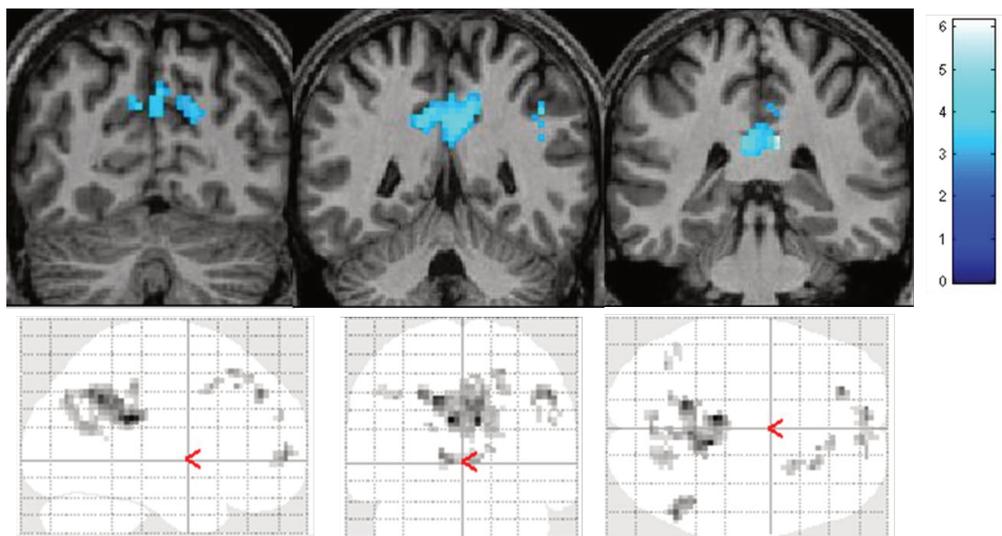


Fig. 12: Visão geral das ativações (Glass View) e correção à imagem anatômica de alta resolução dos resultados referentes ao BOLD negativo tardio do grupo de ELT-EH. Para este teste, foi utilizado limiar mínimo de T de 0.005, sendo apresentados apenas cluster de no mínimo 5 voxels.

Tabela 3. Resposta BOLD Tardio - Grupo de Pacientes com EH

Área	BOLD	Lateralidade	Nº Voxel	Valor T	Coordenadas
Putâmem	positivo	Esquerda	20	4.29	-30, -1, 1
Ínsula	positivo	Esquerda	60	3.81	-42, 2, -2
Giro Temporal Superior	positivo	Esquerda	21	3.72	-42, 2, -11
Giro Cingulado (ant./med.)	positivo	Esquerda	62	3.28	-5, 2, 31
Giro Cingulado (ant/mid)	positivo	Direita	13	4.54	0, 14, 25
Giro Temporal Superior	positivo	Direita	20	3.82	48, 8, -8
Putâmem	positivo	Direita	5	3.27	24, 14, 4
Cíngulo Posterior	negativo	Esquerda	31	6.15	-6, -34, 25
Precúneo	negativo	Esquerda	36	5.17	-15, -52, 37
Giro Frontal Superior	negativo	Esquerda	18	4.44	-24, 44, 40
Giro Frontal Médio	negativo	Esquerda	17	4.26	-12, 59, 4
Lobo Parietal Inferior	negativo	Esquerda	10	3.66	-39, -64, 37
Cúneo	negativo	Esquerda	7	3.67	-18, -61, 22
Giro Cingulado Posterior	negativo	Direita	32	5.54	9, -37, 25
Lobo Parietal Inferior	negativo	Direita	58	4.66	51, -58, 40
Giro Frontal Superior	negativo	Direita	12	3.90	24, 26, 52
Giro Frontal Médio	negativo	Direita	21	3.75	6, 56, 1
Giro Cingulado Posterior	negativo	Direita	21	3.71	6, -58, 19
Precúneo	negativo	Direita	49	3.66	15, -64, 22
Giro Temporal Superior	negativo	Direita	6	3.43	51, -55, 25

4.1.2 Análise estrutural – VBM

Os resultados da análise estrutural foram separados para cada grupo. Os pacientes do grupo com ELT-EH, assim como o esperado, tiveram máxima significância estatística associada à atrofia de substância cinzenta, no lobo hipocampo ipsilateral, como ilustra a **Fig. 13**.

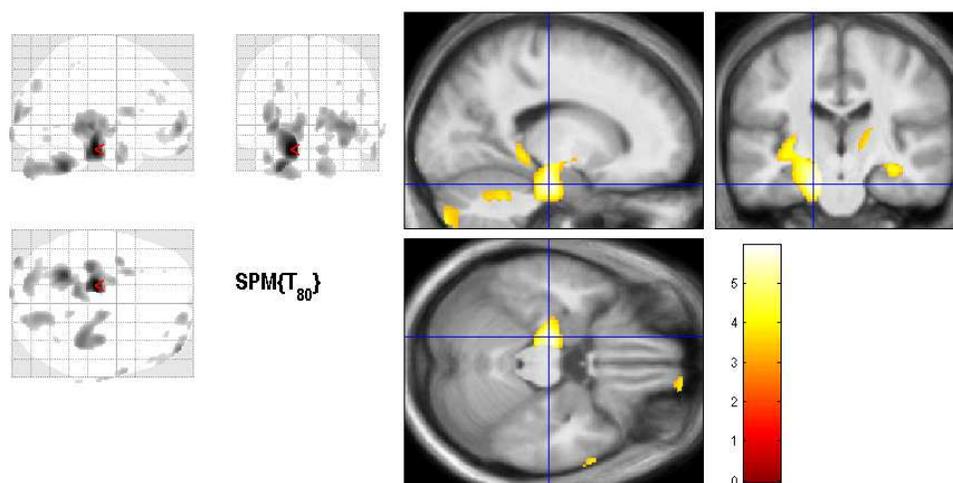


Fig. 13: Visão geral das ativações (Glass View) e correção à template anatômica de alta resolução dos resultados referentes à análise de VBM do grupo de ELT-EH. Para este teste,

foi utilizado limiar mínimo de T de 0.001, sendo apresentados apenas cluster de no mínimo 5 voxels.

As demais regiões com redução estatisticamente significativa de substância cinzenta encontrada com a técnica de VBM estão descritas na **Tabela 4**.

Tabela 4. Análise Estrutural ELT-EH

Área	Lateralidade	Nº Voxel	Valor T	Coordenadas
Giro Parahipocampal	Esquerda	810	5.95	-17, -21, -23
Cerebelo	Esquerda	938	5.13	-26, -51, -38
Giro Occipital Médio	Esquerda	226	4.24	-39, -96, 7
Caudado	Esquerda	877	4.55	-33, -25, -2
Tálamo/ Pulvinar	Esquerda	22	4.55	-7, -31, 1
Giro Temporal Médio	Esquerda	97	3.97	-39, 2, -30
Giro Lingual	Esquerda	119	3.93	-9, -104, -9
Claustro	Esquerda	119	3.83	-29, 9, 12
Precúneo	Esquerda	142	3.66	-29, -77, 36
Cúneo	Esquerda	5	3.27	-12, -99, 29
Giro Occipital Superior	Esquerda	8	3.26	-32, -92, 29
Hipocampo	Direita	1451	4.47	33, -33, -2
Giro frontal Médio	Direita	293	4.36	42, 59, -3
Giro Parahipocampal	Direita	124	4.25	33, -18, -15
Tálamo / Núcleo Ventral Lateral	Direita	363	4.25	10, -13, 3
Cerebelo	Direita	813	4.07	12, -74, -39
Giro Frontal Superior	Direita	82	3.86	12, 63, -23
Giro Occipital Médio	Direita	80	3.86	15, -87, 12
Polo Temporal	Direita	81	3.77	62, 6, -23
Giro Temporal Médio	Direita	25	3.58	69, -11, -9
Giro Temporal Superior	Direita	7	3.30	65, -1, 3
Giro Lingual	Direita	6	3.30	33, -59, -2

4.2 Pacientes com RM normal (ELT-NL)

4.2.1 Análise de EEG-RMf

A análise do BOLD positivo precoce para o grupo de pacientes ELT-NL revelou área com máximo valor de T (máximo global) na porção posterior do cíngulo e no giro frontal médio como demonstrado pela figura **Fig. 14**. Diferentemente do observado no grupo ELT-EH, o BOLDpos precoce nos pacientes ELT-NL foi observado de forma difusa. Outras áreas ativas estão representadas na **Tabela 5**.

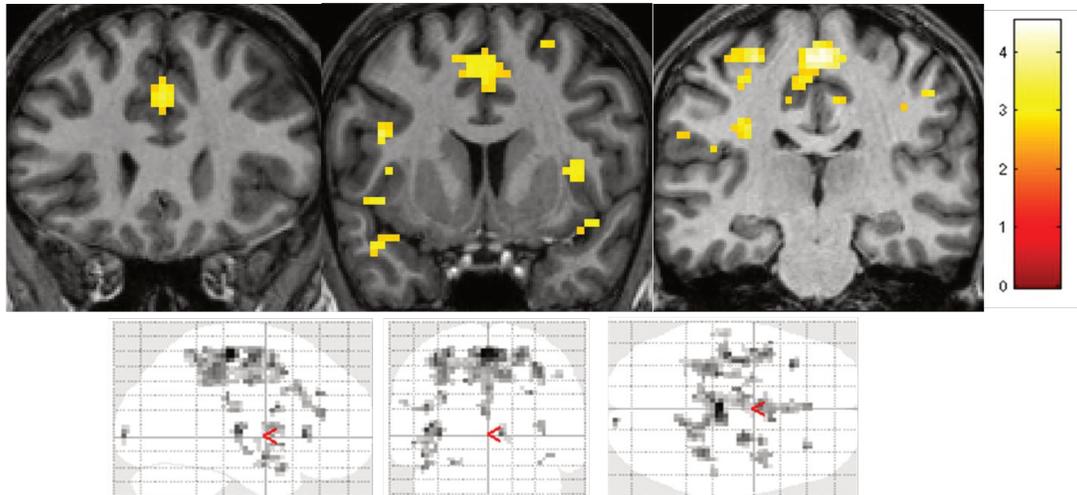


Fig. 14: Visão geral das ativações (Glass View) e corregristo à imagem anatômica de alta resolução dos resultados referentes ao BOLD positivo precoce do grupo de ELT-NL. Para este teste, foi utilizado limiar mínimo de T de 0.005, sendo apresentados apenas cluster de no mínimo 5 voxels.

Para os mapas de BOLD negativo precoce, as áreas concordantes entre os sujeitos do grupo ELT-NL revelaram resposta BOLD mais significativa (máxima global) no precúneo bilateral (Fig. 15). Outras alterações estão descritas na Tabela 5.

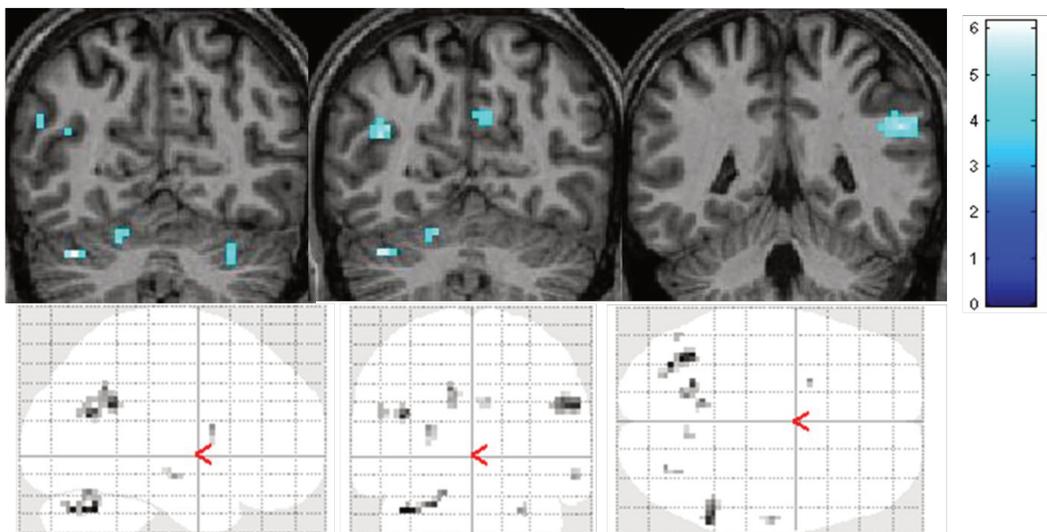


Fig. 15: Visão geral das ativações (Glass View) e corregristo à imagem anatômica de alta resolução dos resultados referentes ao BOLD negativo precoce do grupo de ELT-NL. Para este teste, foi utilizado limiar mínimo de T de 0.005, sendo apresentados apenas cluster de no mínimo 5 voxels.

Tabela 5. Resposta BOLD Precoce - Grupo de Pacientes NL

Área	BOLD	Lateralidade	Nº Voxels	Valor-T	Coordenadas
Giro frontal médio	Positivo	Esquerda	102	5.02	-3, -22, 58
Ínsula	Positivo	Esquerda	32	4.38	-42, -16, 4
Giro precentral	Positivo	Esquerda	71	4.31	-27, -25, 58
Giro frontal superior	Positivo	Esquerda	14	4.24	-33, 26, 1
Opérculo	Positivo	Esquerda	9	4.02	-42, 8, 22
Giro temporal superior	Positivo	Esquerda	27	3.98	-45, -1, -14
Giro cingulado médio	Positivo	Esquerda	20	3.81	0, 23, 34
Cíngulo anterior	Positivo	Esquerda	25	3.75	-3, 38, 19
Amígdala	Positivo	Esquerda	10	3.69	-24, -1, -20
Giro frontal médio	Positivo	Direita	53	4.16	21, -7, 58
Cúneo	Positivo	Direita	9	3.99	9, -94, 1
Giro frontal superior	Positivo	Direita	6	3.85	30, 35, 31
Ínsula	Positivo	Direita	20	3.53	39, 5, 1
Giro temporal superior	Positivo	Direita	9	3.40	42, 5, -14
Cerebelo	Negativo	Esquerda	17	4.62	-36, -64, -29
Giro temporal médio	Negativo	Esquerda	16	4.18	-39, -61, 22
Precúneo	Negativo	Esquerda	18	3.74	-12, -52, 37
Putâmem	Negativo	Esquerda	7	3.46	-24, 8, 16
Giro supramarginal	Negativo	Direita	31	4.20	57, -49, 28
Cerebelo	Negativo	Direita	8	3.43	27, -73, -29
Giro temporal médio	Negativo	Direita	7	3.37	57, -13, -11
Precúneo	Negativo	Direita	6	3.17	9, -61, 31

A análise do BOLD tardio para o grupo ELT-NL demonstrou máxima resposta (máximo global) no giro temporal superior (semelhante ao grupo ELT-EH) como demonstrado na **Fig. 16**. As demais regiões ativas estão descritas na **Tabela 6**.

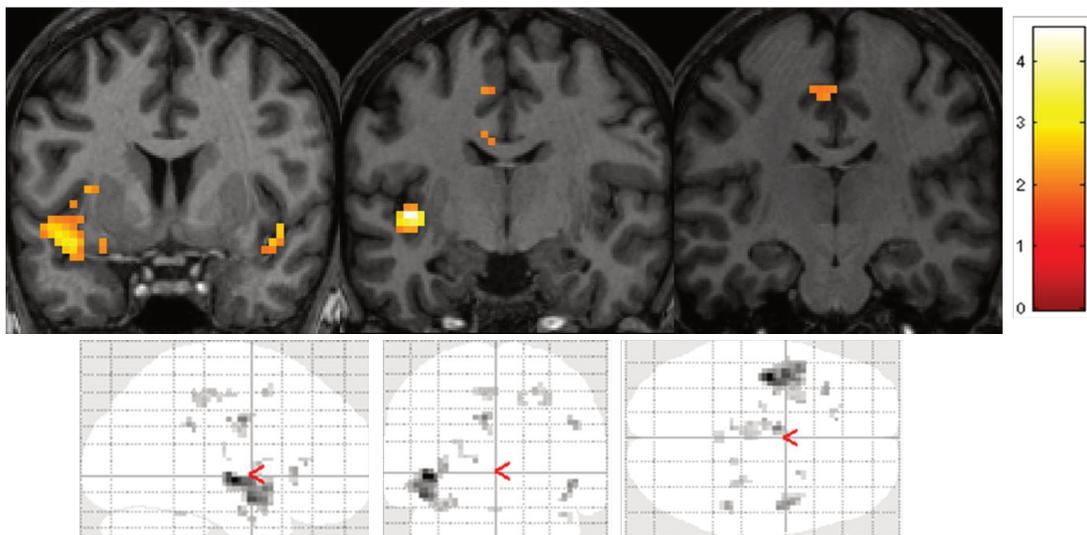


Fig. 16: Visão geral das ativações (Glass View) e correção à imagem anatômica de alta resolução dos resultados referentes ao BOLD positivo tardio do grupo de ELT-NL. Para este teste, foi utilizado limiar mínimo de T de 0.005, sendo apresentados apenas cluster de no mínimo 5 voxels.

Para os resultados de BOLD negativo tardio, as áreas concordantes entre os sujeitos do grupo ELT-NL revelaram resposta BOLD mais significativa (máxima global) no putâmem contralateral (Fig. 17). Outras alterações estão descritas na Tabela 6.

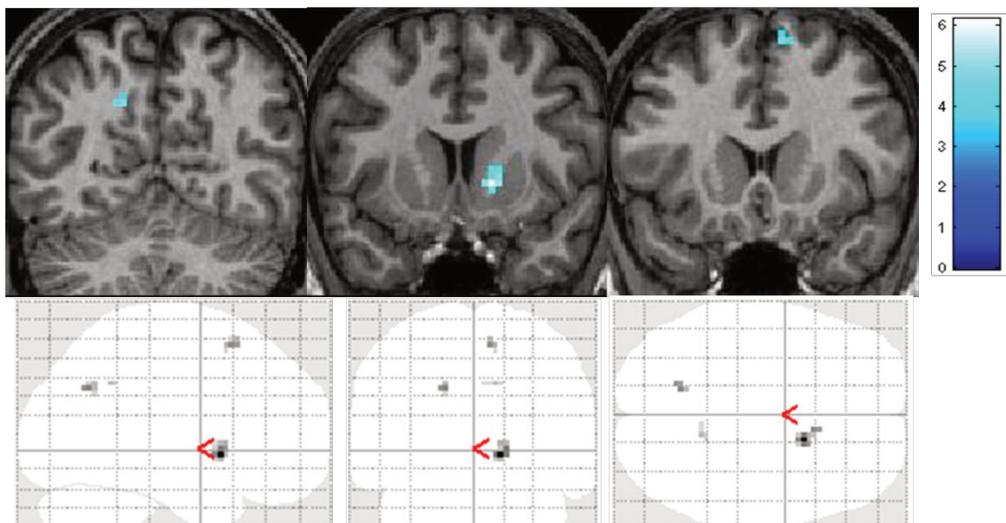


Fig. 17: Visão geral das ativações (Glass View) e correção à imagem anatômica de alta resolução dos resultados referentes ao BOLD negativo tardio do grupo de ELT-NL. Para este teste, foi utilizado limiar mínimo de T de 0.005, sendo apresentados apenas cluster de no mínimo 5 voxels.

Tabela 6. Resposta BOLD Tardio - Grupo de Pacientes NL

Área	BOLD	Lateralidade	Nº Voxels	Valor T	Coordenadas
Ínsula	Positivo	Esquerda	77	6.79	-42, -10, -2
Giro temporal superior	Positivo	Esquerda	60	5.38	-42, 2, -14
Giro cingulado médio	Positivo	Esquerda	26	4.59	-6, -4, 34
Giro frontal inferior	Positivo	Esquerda	11	3.88	-30, 26, 4
Giro parahipocampal	Positivo	Esquerda	7	3.80	-30, -7, -20
Lobo paracentral	Positivo	Esquerda	32	3.61	-6, -34, 49
Cerebelo	Positivo	Esquerda	6	3.25	0, -40, -23
Giro temporal médio	Positivo	Direita	5	3.44	42, 2, -26
Giro temporal superior	Positivo	Direita	23	4.27	45, 2, -8
Giro supramarginal	Positivo	Direita	10	3.90	48, -37, 31
Giro poscentral	Positivo	Direita	15	3.43	30, -28, 43
Precúneo	Negativo	Esquerda	7	3.52	-15, -61, 34
Putâmem	Negativo	Direita	15	4.49	15, 11, -2
Giro frontal superior	Negativo	Direita	7	3.45	9, 17, 58
Precúneo	Negativo	Direita	5	3.13	12, -49, 37

4.2.2 Análise Estrutural - VBM

A análise de VBM do grupo ELT-NL demonstrou máxima significância estatística associada à atrofia no lobo parietal inferior como demonstra a **Fig.18**. As demais áreas com redução estatisticamente significativa de substancia cinzenta encontrada com a técnica de VBM nos pacientes ELT-NL estão descritas na **Tabela 7**.

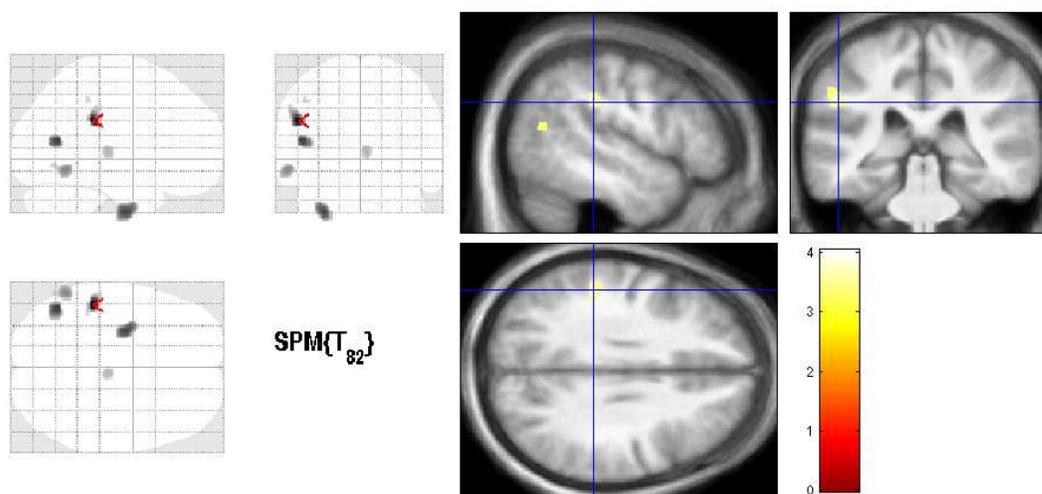


Fig. 18: Visão geral das ativações (Glass View) e correção à template anatômica de alta resolução dos resultados referentes à análise de VBM do grupo de ELT-NL. Para este teste, foi utilizado limiar mínimo de T de 0.001, sendo apresentados apenas cluster de no mínimo 5 voxels.

Tabela 7. Análise Estrutural ELT - NL

Área	Lateralidade	Nº Voxels	Valor-T	Coordenadas
Lobo parietal Inferior	Esquerda	178	4.04	-50, -33, 30
Giro Temporal Médio	Esquerda	184	3.77	-47, -63, 15
Giro Temporal Inferior	Esquerda	344	3.75	-29, -7, -42
Tálamo / Núcleo Dorsal Médio	Direita	97	3.35	5, -21, 7

5. Discussão

5.1 Dos Métodos

Para a análise dos dados funcionais e estruturais, o software SPM8 com o toolbox VBM8 permitiu não só obtenção de resultados, mas garante transparência em toda a metodologia aplicada pelo programa, uma vez que expõe abertamente todos os algoritmos com as ferramentas estatísticas e matemáticas empregadas. A interface do SPM8 baseada sobre a plataforma Matlab possibilita ainda a criação de novos programas que interajam computacionalmente, possibilitando organização, padronização e agilidade em todo o processo de correção e análise dos dados. O modelo de análise do SPM para experimentos evento-relacionados, como o apresentado na análise de primeiro nível deste estudo, mostra-se consistente. O MLG possibilita estruturação do paradigma de forma organizada, confiável e possibilita a consideração de diversos fatores que possivelmente influenciem no sistema, viabilizando um bom desenho experimental. Os softwares utilizados para registro e processamento dos dados de EEG, disponibilizados pela *Brain Products*, apesar de possuírem código fechado, possibilitam análise clara e metodologicamente bem fundamentada. A interface é otimizada e de simples utilização, viabilizando controle de qualidade na aquisição, processamento e análise dos traçados de EEG de forma rápida e com qualidade satisfatória.

Os parâmetros definidos para processamento e análise de dados funcionais e estruturais estabeleceram-se durante o período de aquisição de dados e foi replicado rigidamente para todos os casos. Apesar de otimizados para as características intrínsecas dos equipamentos de RM e EEG utilizados, todos os parâmetros definidos durante as análises estão de acordo com a bibliografia especializada e se mostraram ótimos na obtenção dos resultados [5, 27, 28].

5.2 Dos Resultados

Neste nosso estudo observamos que as redes neuronais (BOLDpos) relacionadas às DEIs diferem entre os grupos de pacientes com ELT-EH e ELT-NL e que as zonas de alterações hemodinâmicas não se sobrepõem às áreas de atrofia de substância cinzenta mais significativas.

Por outro lado, ambos os grupos de ELT apresentam possível supressão (BOLDneg) da atividade metabólica em áreas compatíveis com a DMN relacionados à atividade epileptiforme interictal.

O BOLD positivo, possivelmente com caráter localizatório, pode auxiliar a definir as regiões associadas diretamente à geração e propagação da atividade interictal, enquanto o BOLD negativo, de forma complementar, pode indicar regiões nas quais o estado funcional cortical basal é alterado em decorrência da atividade de regiões epileptogênicas e suas conexões.

O estudo da ELT é relevante por ser esta a epilepsia mais prevalente em adultos, além de ser frequentemente relacionada a crises refratárias às DAEs. Cerca de 60-70% dos casos de ELTM apresentam sinais de esclerose hipocampal nas imagens de RM, entretanto esse índice deixa margem para outro grande grupo de casos não lesionais [9, 42]. Um importante questionamento em aberto na literatura e ao qual este trabalho aborda é a possível diferença clínica e de evolução entre esses dois grupos de pacientes [43]. Há poucos estudos com avaliações quantitativas de imagens de RM de pacientes com ELT não lesional e seus resultados são distintos e não conclusivos [44, 45]. Caracterizar os subtipos de ELT poderia trazer benefícios ao entendimento destas patologias, melhor direcionar a atuação clínica e como consequência refletir positivamente na qualidade de vida dos pacientes.

5.2.1. BOLD Positivo

Os resultados obtidos através da análise do BOLD positivo tardio e precoce para os pacientes com ELT-EH mostraram-se semelhantes e bem localizados em regiões como cíngulo anterior e giro temporal superior, o que confere com achados anteriores. *Fahoum et al.*, em 2012, demonstraram rede neural associada à atividade interictal em pacientes com ELT (de diversas etiologias), semelhante a apresentada no presente estudo, com ligeiras diferenças, apresentando focos importantes mais difusos, como cerebelo e opérculo frontal e que podem estar associados à inhomogeneidade da amostra. *Kobayashi et al.*, em 2009 apresentaram resultados também semelhantes aos achados deste estudo. Esses trabalhos anteriores que analisaram o padrão de resposta hemodinâmica relacionados às DEIs em pacientes com ELT agruparam indivíduos com diversas etiologias (EH, tumores, displasia cortical, não lesionais), porém, sempre com uma

preponderância de pacientes com sinais de EH. De acordo com a semelhança entre os padrões de BOLDpos observado nestes estudos e o BOLDpos observado em nossos pacientes com ELT-EH, nós consideramos a hipótese de que, apesar da heterogeneidade de etiologias nestes grupos prévios, os resultados destes estudos devem refletir mais provavelmente as redes neuronais relacionadas às DEI de pacientes com EH. Estas bibliografias confirmam a importância do presente estudo na análise de amostras homogêneas, possibilitando caracterizar as redes neuronais associadas à atividade epileptiforme em pacientes com ELT com e sem sinais de EH [30, 33]. Em comparação aos estudos prévios de avaliação de grupos de ELT com EEG-RMf, nosso estudo reforça a participação de regiões temporais neocorticais (sobretudo o giro temporal superior) e ínsula ipsilaterais às descargas inter-ictais, além do cíngulo anterior, na rede neuronal relacionada às DEIs em pacientes com ELT e sinais de EH.

Em nosso estudo, diferentemente do publicado previamente, tivemos a oportunidade de avaliar separadamente pacientes com ELT criptogênica (RM normal; ELT-NL) e nesse grupo específico as alterações BOLD observadas foram distintas do que se encontrou no grupo ELT-EH. O BOLD positivo precoce nos pacientes com ELT-NL diferiram das ativações do BOLD tardio. O padrão do BOLD precoce apresentou respostas mais difusas que se estendem na porção medial do lobo frontal, além de cíngulo anterior e giro temporal superior. O BOLD tardio apresentou um padrão muito mais localizado sugerindo propagação focalizadora da atividade epileptiforme que coincide com lobo temporal ipsilateral. Estas diferenças nas redes associadas ao BOLD positivo no grupo de ELT-NL podem indicar que apesar destes indivíduos não apresentarem diferenças relevantes em relação a semiologia de crises e aos exames de EEG em relação ao grupo ELT-EH, os pacientes ELT-NL podem possuir mais complexa rede neuronal associada à epilepsia, como demonstrou *Barba*, em 2007 através de uso de EEG intracerebral [30, 46].

5.2.2. BOLD Negativo

O BOLD negativo tardio e precoce no grupo ELT-EH demonstraram respostas em áreas relacionadas à DMN, como precúneo bilateral e cíngulo posterior [29, 36]. A possível hipoatividade da DMN durante a atividade epileptiforme foi previamente demonstrada em epilepsias idiopática

generalizadas e também em ELT [37,38]. *Fahoum et al.* (2012) demonstraram resultados semelhantes, com desativação do DMN em resposta a DEIs em diferentes grupos de epilepsias focais (epilepsias quadrante temporal, frontal e posterior). Em nosso estudo, regiões semelhantes também foram encontradas no grupo ELT-NL [33,47]. Laufs (2007), demonstrou que áreas ativas durante tarefas específicas podem sofrer desativação durante DEIs e que a localização destas DEIs não interfere no padrão do BOLDneg associado. O estudo sugere que o BOLD negativo relacionado às DEIs são mais relacionados à DMN em pacientes de ELT do que em outros tipos de epilepsia, mas não sugere nenhum tipo de subclassificação das ELT como critério.

A DMN pode ser interpretada como uma rede conectada relacionada à atividade básica do cérebro, compreendendo como básica, as tarefas intrínsecas executadas naturalmente pelo córtex na ausência de estímulos ou tarefas específicas. As definições da DMN ainda estão sob investigação, assim como as regiões anatómicas envolvidas. Entretanto a literatura converge para algumas estruturas corticais que seriam os principais constituintes da DMN, seriam elas: córtex prefrontal medial, cíngulo posterior, lobo parietal inferior, córtex temporal lateral e hipocampo [48, 49].

Os resultados apresentados neste estudo e o de estudos anteriores em RMf demonstraram que a DMN é afetada não apenas por descargas epilépticas generalizadas, que podem ser acompanhadas de um quadro clínico e de consciência alterada, mas que também é afetada por descargas isoladas em epilepsias focais que normalmente não são acompanhadas por nenhuma anormalidade aparente. A DMN é muitas vezes relacionada ao pensamento instrospectivo, reflexão pessoal ou preparação para interações sociais futuras e a desativação desta região geralmente relacionada ao início de uma tarefa específica, também ocorre, como demonstrado mediante às atividades interictais [47, 48, 49].

No grupo ELT-NL, os mapas de BOLD negativo também incluem áreas da DMN embora esta correspondência não seja tão evidente como no grupo ELT-EH. Com os resultados atuais não podemos formular uma hipótese adequada que justifique a diferença entre os grupos, já que o número de espículas e o de indivíduos em cada grupo foram estatisticamente semelhantes, sendo

então necessários mais estudos para melhor entender essa diferença e as implicações reais de alterações da DMN em pacientes com epilepsias focais.

5.2.3. Redes Neurais Funcionais vs. Estruturais.

A análise estrutural por VBM do grupo de ELT-EH demonstrou atrofia de substancia cinzenta em regiões mediais e neocorticais dos lobos temporais bilaterais, bem como atrofias em áreas extra-temporais, como tálamos, em concordância com estudos anteriormente publicados [45, 50, 51]. Por outro lado, o grupo ELT-NL apresentou apenas atrofias sutis de substancia cinzenta e ainda sim mais evidente em regiões neocorticais do lobo temporal ipsilateral. Um estudo anterior de VBM não obteve sucesso na detecção de atrofia da substancia cinzenta em paciente de ELT-NL, enquanto outro demonstrou anormalidades nas áreas neocorticais temporais e parahipocampo ipsilateral [45, 52]. Estes resultados em conjunto salientam o fato de que a ELT-NL trata-se de grupo heterogêneo, com alterações estruturais sutis não tão evidentes como as observadas nos pacientes com EH.

Neste estudo, a análise de anormalidades estruturais realizada com a técnica de VBM não demonstrou redução significativa substancia cinzenta em áreas igualmente destacadas por mapas de BOLD positivo resultantes de exame de EEG-fMRI. Isso pode indicar que as estruturas envolvidas na rede interictal nos dois grupos de pacientes estudados não apresentam perda significativa de volume de substancia cinzenta. No entanto, estudos de VBM anteriores relataram anormalidades estruturais em as áreas correspondentes às encontradas nos mapas BOLD positivo observados pela análise de EEG-fMRI deste estudo [54]. Uma das hipóteses é que o número de indivíduos incluídos em cada um dos grupos foi demasiadamente pequeno para se detectar as anomalias estruturais sutis destas regiões. Por outro lado, o estudo foi capaz de demonstrar redução consistente de substancia cinzenta em outras importantes áreas em ambos os grupos. Sendo assim, ainda é possível que, mesmo que existam anomalias estruturais nas regiões relacionadas com as espículas geradoras dos mapas BOLD, estas regiões seriam estatisticamente menos significativas do que as áreas definidas pela análise de VBM do presente estudo como tálamo, núcleo caudado e regiões occipitais [53].

Em conclusão, o estudo foi bem sucedido em demonstrar que as estruturas cerebrais envolvidas na rede funcional relacionada à DEIs diferem entre grupos com ELT-EH e ELT-NL, além de apresentar a não coincidência entre as estruturas envolvidas nestas redes funcionais com as regiões com danos estruturais mais significativos detectados através da técnica de VBM. A importância destes achados estende-se além da simples definição da zona irritativa dentro os grupos, mas pode direcionar futuras investigações sobre as disfunções interictais em pacientes com ELT.

6. Conclusões

Os achados apresentados referentes ao BOLD positivo na análise de EEG-RMf, mostraram diferenças quanto às redes neuronais associadas DEIs nos grupo de ELT-EH e ELT-NL. Com a amostra utilizada neste trabalho, os mapas funcionais não foram coincidentes com áreas de atrofia determinadas pela análise de VBM.

O BOLD negativo relacionado às DEIs em áreas compatíveis com DMN mostrou que a atividade interictal pode modificar o padrão funcional intrínseco do cérebro. Por este contraste, não foi possível diferenciar os grupos de ELT, apesar da alteração da DMN ser mais evidente no grupo com EH.

O método mostrou-se viável e seguro de ser empregado na rotina clínica e o processamento vinculado à obtenção dos resultados, apresentou-se confiável e metodologicamente bem embasado.

A técnica de EEG-RMf assim como a técnica de VBM, mostraram-se promissoras como ferramenta capaz de fornecer informações adicionais sobre as redes neuronais em pacientes de ELT.

Perspectivas

Mediante aos resultados encontrados, e a todo os aprendizados obtidos durante a realização deste trabalho, algumas novas metas e perspectivas surgiram. Entre elas, a realização das seguintes análises:

- Avaliação dos mapas de BOLD ipsi e contra laterais à síndrome epilética separadamente. Subdividindo as análises de grupo com estes parâmetros.
- Avaliação de conectividade estrutural e funcional entre as regiões dos mapas de BOLD.
- Aprofundar a avaliação da relação entre BOLD e áreas de alteração estrutural.

6. Bibliografia

- [1] Pearce, J.M.S (2009). Marie-Jean-Pierre Flourens (1794-1867) and cortical localization. *Eur. Neurol.* (Switzerland) 61 (5): 311–4. doi:10.1159/000206858. PMID 19295220.
- [2] Berger, Hans (1929), "Über das Elektroenkephalogramm des Menschen", *Arch. Psychiatr.* **87**: 527–570 ;
- [3] Caton, Richard (1875), *British Medical Journal*
- [4] Damadian, R. et al. Tumor imaging in a live animal by focusing NMR (FONAR). *Physiol Chem Phys.* 1976;8(1):61-5.
- [5] Buxton, R.B.. Introduction to functional Magnetic Resonance Imaging: principles and techniques. New York, USA: Cambridge University Press. 2000. 523 p.
- [6] Guerreiro, C. A. M. et al. Epilepsia. 1.ed. São Paulo: EPM - Editora de Projetos Médicos Ltda, 2004. 142p.
- [7] Marchetti, R.L. et al. Transtornos mentais associados à epilepsia. *Rev. psiquiatr. clín.* 2005, vol.32, n.3, pp. 170-182. ISSN 0101-6083.
- [8] Scott, R.A. et al. The Treatment of Epilepsy in Developing Countries: Where do we go from Here? *Bull World Health Organ* 79(4):344-51, 2001.
- [9] Bruton, C. J. The neuropathology of temporal lobe epilepsy. New York:Oxford University Press, 1988.
- [10] Mesial Temporal Lobe Epilepsy with Hippocampal Sclerosis - Jerome Engel Jr. et al 14 MAY 2004 DOI: 10.1111/j.0013-9580.2004.09004.x
- [11] Hauser, W. A. The natural history of temporal lobe epilepsy. In: Lüders HO ed. *Epilepsy Surgery*. New York: Raven Press, 1992:133-141.
- [12] Cendes, F. Febrile seizures and mesial temporal sclerosis. *Curr Opin Neurol* 2004;17:161-164.
- [13] Blume, W.T. The progression of epilepsy. *Epilepsia.* 2006;47 Suppl 1:71-8.
- [14] Kobayashi, E. et al. Temporal and Extratemporal BOLD Responses to Temporal Lobe Interictal Spikes. *Epilepsia*, 47(2):343–354, 2006
- [15] Shmuel, A. et al. Sustained negative BOLD, blood flow and oxygen consumption response and its coupling to the positive response in the human brain. *Neuron* 2002;36:1195–1210.
- [16] Wiebe, S., Blume, W. T., Girvin, J. P., & Eliasziw, M. (2001). A randomized, controlled trial of surgery for temporal-lobe epilepsy. *New England Journal of Medicine*, 345(5), 311-318
- [17] Haacke, M.E. et al. *Magnetic Resonance Imaging: Physical Principles and Sequence Design*. 1ed. New York, USA. A John Wiley & Sons, INC., Publication, 1999. 914p.
- [18] Davis, K.D. et al. Event-related fMRI of pain: entering a new era in imaging pain. *Neuroreport*. 1998 Sep 14;9(13):3019-23.
- [19] Niedermeyer E, Silva FL (2005) *Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields*. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia
- [20] Caton, R. The Electric Currents of the Brain. *Br Med J* 2:278 1875.
- [21] Ives, J.R.. Monitoring the patient's EEG during echo planar MRI. *Electroencephalogr Clin. Neurophysiol.* 1993 Dec;87(6):417-20.

- [22] Hall, E.H. On a New Action of the Magnet on Electric Currents. American Journal of Mathematics vol 2, 1879, p.287-292 a.
- [23] Allen PJ, et al. Identification of EEG events in the MR scanner: the problem of pulse artifact and a method for its subtraction. *L. Neuroimage*. 1998 Oct;8(3):229-39.
- [24] Baumann, S.B. & Noll DC. A modified electrode cap for EEG recordings in MRI scanners. *Clin Neurophysiol*. 1999 Dec;110(12):2189-93.
- [25] Allen PJ, et al. A method for removing imaging artifact from continuous EEG recorded during functional MRI. *Neuroimage* 2000 Aug;12(2):230-9.
- [26] <http://www.fapesp.br/1896>
- [27] Logothetis, N.K. et al. Interpreting the BOLD Signal. *Annu Rev Physiol* 2004;66:735–769.
- [28] Patel, M.R. et al. Echo-planar functional MR imaging of epilepsy with concurrent EEG monitoring. *Am J Neuroradiol AJNR* 1999;20:1916–1919.
- [29] Bagshaw, A.P. et al. EEG-fIRM of focal epileptic spikes: analysis with multiple haemodynamic functions and comparison with gadolinium-enhanced MR angiograms. *Hum Brain Mapp* 2004;22:179–192.
- [30] Kobayashi, E. et al. Structures involved at the time of temporal lobe spikes revealed by interindividual group analysis of EEG/fMRI data. *Neurology* 2009;73:2023-2030.
- [31] Thornton, R. et al. EEG correlated functional MRI and postoperative outcome in focal epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2010;81:922-927 doi: 10.1136/jnnp.2009.196253
- [32] Laufs H, Hamandi K, Salek-Haddadi A, et al. Temporal Lobe Interictal Epileptic Discharges Affect Cerebral Activity in “Default Mode” Brain Regions. *Human Brain Mapping* 2007;28:1023–1032.
- [33] Fahoum, F. et al. Widespread epileptic networks in focal epilepsies-EEG-fMRI study. *Epilepsia* 2012;DOI: 10.1111/j.1528-1167.2012.03533.x.
- [34] Kobayashi, E. Negative BOLD responses to epileptic spikes. *Hum Brain Mapp*. 2006 Jun; 27(6):488-97.
- [35] Greicius MD, Krasnow B, Reiss AL, Menon V. Functional connectivity in the resting brain: a network analysis of the default mode hypothesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:253-258.
- [36] John Ashburner¹ & Karl J. Friston. Why Voxel-Based Morphometry Should Be Used
- [37] Wright, I.C. et al. A voxel-based method for the statistical analysis of gray and white matter density applied to schizophrenia. *Neuroimage*. 1995 Dec;2(4):244-52.]
- [38] Bonilha, et al (2004). Voxel-based morphometry reveals gray matter network atrophy in refractory medial temporal lobe epilepsy. *Arch. Neurol.* 61 (9), 1379—1384, doi:10.1001/archneur.61.9.1379.
- [39] <http://www.ilae.org/>
- [40] Friston, K.J. Characterizing evoked hemodynamics with fMRI. *Neuroimage*. 1995 Jun;2(2):157-65.
- [41] Ashburner, J. et al. Voxel-Based Morphometry—The Methods. *NeuroImage* 2000;11:805–821.

- [42] Gastaut H, Gastaut JL, Gonçalves e Silva GE, Fernandez Sanchez GR. Relative frequency of different types of epilepsy: a study employing the classification of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia* 1975;16:457-461.
- [43] Hauser WA. The natural history of temporal lobe epilepsy. In: Lüders HO ed. *Epilepsy Surgery*. New York: Raven Press, 1992:133-141.
- [44] Heuser, K. et al. Phenotypic characteristics of temporal lobe epilepsy: the impact of hippocampal sclerosis. *Acta Neurol Scand Suppl*. 2009;189:8-13.
- [45] Mueller, S.G, . et al. Voxel-based Optimized Morphometry (VBM) of Gray and White Matter in Temporal Lobe Epilepsy (TLE) with and without Mesial Temporal Sclerosis. *Epilepsia*, 2006;47:900-907.
- [46] Barba, C. et al. Ictal clinical and scalp-EEG findings differentiating temporal lobe epilepsies from temporal 'plus' epilepsies. *Brai*. 2007;130:1957-1967.
- [47] Raichle ME, et al. A default mode of brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:676-682.
- [48] Buckner, R.L., et al. The brain's default network: anatomy, function, and relevance to disease 2008 Mar;1124:1-38. doi: 10.1196/annals.1440.011.
- [49] Damien, A. Functional Brain Networks Develop from a “Local to Distributed” Organization. *PLoS Comput Biol*. 2009 May; 5(5): e1000381.
- [50] Coan, A.C., et al. Seizure frequency and lateralization affect progression of atrophy in temporal lobe epilepsy. *Neurology* 2009;73:834-842.
- [51] Riederer F, Lanzenberger R, Kaya M, et al. Network atrophy in temporal lobe epilepsy: a voxel-based morphometry study. *Neurology* 2008;71:419-425.
- [52] Riederer, F. et al. Network atrophy in temporal lobe epilepsy: a voxel-based morphometry study. *Neurology* 2008;71:419-425.
- [53] JianPeng, L.i. et al. A meta-analysis of voxel-based morphometry studies on unilateral refractory temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Research* (2012) 98, 97—103

Anexos

Anexo 1:



Universidade Estadual de Campinas

Departamento de Neurologia

FORMULÁRIO DE CONSENTIMENTO PARA PESQUISA MÉDICA,

Título do projeto: **Eletroencefalografia e Ressonância Magnética funcional**

Investigador principal: Dra. Ana Carolina Coan

Orientador: Dr. Fernando Cendes

OBJETIVO DA PESQUISA:

Eu _____ entendo que fui convidado (a) a participar em um projeto de pesquisa envolvendo pacientes com epilepsia. O objetivo geral do estudo é o de determinar a utilidade do uso conjunto dos exames de Eletroencefalografia e Ressonância Magnética, para identificar e quantificar alterações relacionadas às descargas neuronais. A identificação e quantificação dessas anormalidades no cérebro, pode eventualmente melhorar o diagnóstico e levar a um melhor tratamento dessa doença. As informações médicas a meu respeito que forem obtidas para esse estudo, poderão ser compartilhadas com outros pesquisadores que trabalham com epilepsia. Podendo assim ser utilizadas eventualmente para outros fins de pesquisa sobre as epilepsias. O sigilo será mantido em todos os estudos colaborativos através da utilização de um número de código para a identificação dos indivíduos participantes.

A ressonância magnética é uma técnica capaz de produzir imagens de alta qualidade e resolução (nitidez) anatômica, assim como informações sobre a bioquímica dos tecidos. A ressonância magnética produz imagens em cortes que são parecidos com as imagens produzidas pela tomografia computadorizada, porém com maior resolução (nitidez) e sem a exposição aos raios X.

A eletroencefalografia é uma técnica capaz de avaliar a atividade neuronal, através do registro da corrente elétrica cerebral por eletrodos colocados no couro cabeludo. Permite observar descargas de ondas anormais que ocorrem em indivíduos com epilepsia.

PROCEDIMENTO:

Eu entendo que se concordar em participar desse estudo, os pesquisadores participantes farão perguntas a respeito dos meus antecedentes médicos e de minha família. Eu serei submetido a um exame físico neurológico para estabelecer meu estado clínico. Hospitalização não será necessária.

Antes de entrar no aparelho de ressonância magnética, entendo que serei submetido à colocação de eletrodos no couro cabeludo, fixados com gel e faixa, da mesma forma como é realizado o exame de eletroencefalografia habitualmente. Esses eletrodos ficarão conectados a uma caixa (amplificador), que será apoiada em uma mesa, próxima a minha cabeça, durante o exame.

O procedimento de ressonância magnética é semelhante a uma tomografia. Eu fui informado que eu serei colocado em uma maca e serei movido lentamente para dentro do aparelho de ressonância magnética. Um alto falante dentro do campo magnético possibilita a minha constante comunicação com as pessoas responsáveis pelo exame. Durante todo o tempo o pessoal médico e paramédico pode me ver e ouvir, e eu posso ser removido(a) se for preciso. O procedimento pode durar entre 45 a 90 minutos. Durante esse tempo, eu irei ouvir ruídos, tipo marteladas, enquanto o aparelho faz as imagens do meu cérebro.

VANTAGENS:

Eu entendo que não obterei nenhuma vantagem direta com a minha participação nesse estudo e que o meu diagnóstico e o meu tratamento provavelmente não serão modificados. Contudo, os resultados desse estudo podem, a longo prazo, oferecer vantagens para os indivíduos com epilepsia, possibilitando um melhor diagnóstico e um tratamento mais adequado. Os resultados do meu exame de ressonância magnética e eletroencefalografia ficarão a disposição dos médicos responsáveis pelo meu tratamento, e poderão ser úteis no futuro.

FORMULÁRIO DE CONSENTIMENTO PARA PESQUISA MÉDICA,

Título do projeto: **Eletroencefalografia e Ressonância Magnética funcional**

Investigador principal: Dra. Ana Carolina Coan

Orientador: Dr. Fernando Cendes

RISCO E DESCONFORTO:

Os desconfortos relacionados a este exame são o inconveniente de sujar o cabelo com o gel dos eletrodos (que é facilmente removido após lavagem), e o ruído intermitente do aparelho de ressonância magnética. O pessoal técnico providenciará tapa-ouvidos para me deixar mais confortável.

Uma das principais vantagens da ressonância magnética é que esta não utiliza raios X ou outro tipo de radiação ionizante, ao contrário de outros tipos de exame radiológicos. As imagens são obtidas graças a um campo magnético (imã), um transmissor e receptor de ondas de rádio e um computador que é utilizado para obter as informações bioquímicas e imagens da anatomia interna. Não existem efeitos nocivos associados com a ressonância magnética ou com o registro do eletroencefalograma dentro das condições utilizadas atualmente.

REQUERIMENTOS

É **muito importante** informar aos médicos(as) e técnicos(as) caso eu tenha um **marca-passo cardíaco, um clipe de cirurgia para aneurisma cerebral ou qualquer outro objeto metálico em meu corpo**, que tenha sido implantado durante uma cirurgia ou alojado em meu corpo durante um acidente, pois estes podem parar de funcionar

ou causar acidentes devido ao forte campo magnético que funciona como um ímã muito forte. Eu também devo remover todos os objetos metálicos que estiverem comigo (relógio, canetas, brincos, colares, anéis, etc), pois estes também podem movimentar ou aquecer dentro do campo magnético.

SIGILO:

Eu entendo que todas as informações médicas decorrentes desse projeto de pesquisa farão parte do meu prontuário médico e serão submetidos aos regulamentos do HC- UNICAMP referentes ao sigilo da informação médica. Se os resultados ou informações fornecidas forem utilizados para fins de publicação científica, nenhum nome será utilizado.

FORNECIMENTO DE INFORMAÇÃO ADICIONAL:

Eu entendo que posso requisitar informações adicionais relativas ao estudo a qualquer momento. A Dra. Ana Carolina Coan, tel (19) 3521-9217, estará disponível para responder minhas questões e preocupações. Em caso de recurso, dúvidas ou reclamações contactar a secretaria da Comissão de Ética da Faculdade de Ciências Médicas- UNICAMP, tel. (19) 3521-7232.

RECUSA OU DESCONTINUAÇÃO DA PARTICIPAÇÃO:

Eu entendo que a minha participação é voluntária e que eu posso me recusar a participar ou retirar meu consentimento e interromper a minha participação no estudo a qualquer momento sem comprometer os cuidados médicos que recebo atualmente ou receberei no futuro no HC- UNICAMP. Eu reconheço também que a Dra. Ana Carolina Coan pode interromper a minha participação nesse estudo a qualquer momento que julgar apropriado.

FORMULÁRIO DE CONSENTIMENTO PARA PESQUISA MÉDICA,

Título do projeto: **Eletroencefalografia e Ressonância Magnética funcional**

Investigador principal: Dra. Ana Carolina Coan

Orientador: Dr. Fernando Cendes

Eu confirmo que o(a) Dr(a)._____me explicou o objetivo do estudo, os procedimentos aos quais serei submetido e os riscos, desconforto e possíveis vantagens advindas desse projeto de pesquisa. Eu li e compreendi esse formulário de consentimento e estou de pleno acordo em participar desse estudo.

Nome do participante ou responsável

Assinatura do participante ou responsável

data

Nome da testemunha

Assinatura da testemunha

data

RESPONSABILIDADE DO PESQUISADOR:

Eu expliquei a _____ o objetivo do estudo, os procedimentos requeridos e os possíveis riscos e vantagens que poderão advir do estudo, usando o melhor do meu conhecimento. Eu me comprometo a fornecer uma cópia desse formulário de consentimento ao participante ou responsável.

Nome do pesquisador ou associado

Assinatura do pesquisador ou associado

data

Anexo 2:

Universidade Estadual de Campinas Laboratório de Neuroimagem & Grupo de Neurofísica

NCA - Neuroimaging Computational Analysis

O NCA é um programa de licença livre, desenvolvido para padronizar e agilizar análises de ressonância magnética funcional (RMf), além de fornecer diversas ferramentas para corrigir erros, modificar imagens, organizar e documentar os métodos, parâmetros e análises realizadas. Como principal característica o NCA é capaz de realizar análises de RMf, utilizando as consagradas funções do SPM8 de forma extremamente rápida, consistente e livre de enganos ou vieses.

Segue a lista das funções implementadas e os respectivos tutoriais:

- Análises de EEG-RMf (paradigma evento-relacionado)
- Análises de ressonância funcional (paradigmas em blocos)
- Análises de VBM (Voxel Based Morphometry)
- Skull Strip (remove a calota craniana de uma imagem)
- Volumetria (mede o volume intracraniano de um indivíduo além de oferecer a razão entre as substâncias branca, cinzenta e liquor)
- Modifica o registro (header) de imagens de RM (útil em caso de aquisições abortadas)
- Intersecção entre mapas de ativação (possibilita quantizar coincidência entre mapas de ativações diferentes)
- Concatenação de Arquivos (possibilita unir dois arquivos de imagem em um - Útil em programas que só aceitam uma entrada)
- Plota o sinal de RM ao longo do tempo (dada coordenada do voxel)
- Corrige erros de reconstrução e aquisição de imagens evitando descartar exames.
- Possibilita renomear de forma inteligente diversos arquivos
- Possibilita realizar imagens de segundo nível (grupo) de forma inteligente, reconhecendo os mapas de contraste através do nome das condições desejadas

Testes estatísticos básicos implementados:

- Teste de qui-quadrado

- Teste-T pareado
- Correlação
- Comparação entre duas médias
- Desvio padrão
- ANOVA

Instalação

O NCA é um toolbox que roda sobre a plataforma Matlab (The MathWorks Inc. - <http://www.mathworks.com/products/matlab/>) e necessita como pré-requisito o SPM8 (Wellcome Trust Centre for Neuroimaging - <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm8/>) devidamente adicionado aos "**Paths**" do Matlab.

Instalando o SPM8:

Após o download do toolbox SPM8 você necessita adicionar o caminho onde se encontra a pasta baixada (no seu PC, Mac ou Linux) no Matlab, para que suas funcionalidades sejam reconhecidas pelo programa.

Para isso, com o Matlab aberto clique em "**File**" (barra de menus superior), "**Set Path**", "**Add with Subfolders**". Após isso, selecione a pasta do SPM8 devidamente descompactada. Clique em "**Save**" e pronto!

Windows PC:

Para Windows, o NCA possui um instalador automático. Basta executar o Arquivo **.exe** e seguir as instruções. Um ícone será criado na sua área de trabalho. Baixe a versão adequada para o seu sistema.

Mac e Linux:

A instalação deve ser feita adicionando a pasta do NCA ao Matlab da mesma forma como feito para o SPM8 (ver "**Instalando o SPM8**"). Baixe a versão adequada para o seu sistema.

Tutorial

1 - Uso das Planilhas que Acompanham o Programa

O programa contém duas planilhas organizadores no formato Microsoft Excel que são necessárias para as análises de EEG-fMRI e RMf.

Elas devem ser preenchidas previamente ao início das análises.

1.1 - Planilha de EEG-fMRI (EEG-fMRI_eventos.xls)

Preencher os dados requeridos na aba **INPUT**. Reproduza para o caso em questão como está por padrão na planilha, apenas substituindo os dados existentes para os novos dados:

Patient Numb. : Número arbitrário do caso.

Name: Nome do caso (paciente)

TR (s): Escrever o TR (Tempo de Repetição utilizado na aquisição funcional)

Structural Scan: Nome completo do arquivo da imagem estrutural do caso (Imagem anatômica de boa qualidade na qual os resultados serão '*plotados*')

Folder (markers): Caminho de diretório onde estão os arquivos exportados do programa de gravação de EEG.

Listar as sequencias funcionais (como no padrão da aba **INPUT**).

Listar os arquivos de .eeg respectivos à cada imagem funcional.

Listar os arquivos .txt exportados com as marcações encontradas no EEG.

Digite Ctrl+Shift+P para rodar a macro. (certifique-se que as macros estão habilitadas - normalmente aparece uma barra de notificação logo a baixo dos botões de ferramentas do excel)

Se tudo deu certo, observe que foi gerada uma aba para o respectivo caso. Esta é a planilha à qual deverá referir-se ao rodar os processamento no NCA.

OBS:

- Os campos "fMRI" e "EEG" devem ser preenchidos. Se não houver marker, "EEG marker" pode ficar em branco.
- Nunca altere a planilha criada pela *macro*, pois é um registro completo do experimento (todos os arquivos e marcações feitas).
- Se desejar editar os markers (p. ex., renomear, apagar [no caso em que o início do marker ocorre após o fim da aquisição], etc), copie a aba criada pela macro, renomeie para XXPy, onde XX é o número do paciente e y = a, b, c, ..., faça a edição e anote no campo "OBSERVAÇÕES:" o que foi feito.

1.2 - Planilha de fMRI (fMRI_ PARADIGM.xls)

Copie a aba "**Modelo**": clique com o botão direito no nome da aba, clique em "**Mover ou Copiar...**" selecione o nome da aba desejada ("**Modelo**") selecione a opção "**Criar uma cópia**" e clique em "**OK**"

Preencher os dados requeridos como o exemplo (aba "**Modelo**"). Reproduza para o caso em questão como está por padrão na planilha, apenas substituindo os dados existentes para os novos dados:

ID: Número de identificação do voluntário

Nome: Nome do Voluntário

TR (s): Escrever o TR (Tempo de Repetição utilizado na aquisição funcional)

Scan Strut: Nome completo do arquivo da imagem estrutural do caso (Imagem anatômica de boa qualidade na qual os resultados serão plotados)

Para cada Scan, copiar o nome do arquivo de aquisição funcional completo. Apague as estruturas caso tenha menos Scans do que o **Modelo**.

1 - Cada condição criada na coluna "**Descrição**" descreve sucintamente o paradigma realizado.

2 - Na coluna "**Início (s)**" preencha com os instantes em segundos nos quais, durante a aquisição funcional, foi iniciada a condição correspondente. Sempre em relação ao início na aquisição.

3 - Na coluna "**Duração (s)**" preencha a duração de cada condição iniciada no instante descrito na coluna "**Início (s)**".

Repita os passos 1, 2, e 3 para cada Aquisição funcional.

O nome dado a esta Aba (de um nome que refira ao caso) é o que terá que ser usado no NCA na hora de realizar os processamentos.

2 - Análise de EEG-fMRI

Caminho: <Analysis>< EEG-fMRI Analysis>

PREPROCESSING

1. <XLS file> Selecione a planilha "**EEG-fMRI_events.xls**" (acompanha o programa) devidamente preenchida (ver sessão "**Planilhas**").

2. <Worksheet> Escreva exatamente o nome da aba de Excel no caso em questão.

3. <Scans folder> Selecione a pasta (diretório) onde estão as imagens de RM a serem usada.

Com esses passos será possível iniciar o pré-processamento das imagens (botão <Run Preprocessing>)

STATISTICS

4. Masque a opção: "**Use resulting files from preprocessing**" se desejar continuar preenchendo os campos e rodar o pré-processamento e análise estatística sequencialmente.

5. <XLS file> Selecione a Planilha "**EEG-fMRI_events.xls**" (acompanha o programa) devidamente preenchida (ver sessão "**Planilhas**").

6. <Worksheet> Escreva exatamente o nome da aba de excel no caso em questão.

7. <Scans folder> Selecione a pasta (diretório) onde estão as imagens pós-processadas de RM a serem usadas.

8. <P value> De o limite superior do P estatístico a ser usado.

9. <Voxel Threshold> De o tamanho mínimo do cluster (em número de voxels) para ser considerado e apresentado nos resultados

10. <**Delay for HRF**> Possibilita adicionar ou diminuir os tempos de "Onset" das espículas encontradas no EEG e preenchidas na planilha. Verifica se os achados hemodinâmicos acontecem antes, simultaneamente ou depois dos instantes marcados.

11. <**FWE (Family-Wise Error)**> Possibilita usar a correção FWE que aumenta a exigência estatística dos resultados.

OBS: Caso tenha os arquivos pré-processados com os passos "**STATISTICS**" poderá rodar diretamente a análise estatística (botão <**Run Stat**>). para rodar todos os passos preencha os campos de "**Preprocessing**" e "**Statistics**" e clique em <**Run All**>.

3 - fMRI Analysis

Caminho: <**Analysis**>< **fMRI Analysis**>

PREPROCESSING

1. <**XLS file**> Selecione a planilha "**fMRI-PARADIGM.xls**" (acompanha o programa) devidamente preenchida (ver sessão "**Planilhas**").

2. <**Worksheet**> Escreva exatamente o nome da aba de Excel no caso em questão.

3. <**Scans folder**> Selecione a pasta (diretório) onde estão as imagens de RM a serem usadas.

Com esses passos será possível iniciar o pré-processamento das imagens (botão <**Run Preprocessing**>)

STATISTICS

4. Masque a opção: "**Use resulting files from preprocessing**" se desejar continuar preenchendo os campos e rodar o pré-processamento e análise estatística sequencialmente.

5. <**XLS file**> Selecione a Planilha "**fMRI-PARADIGM.xls**" (acompanha o programa) devidamente preenchida (ver sessão "**Planilhas**").

6. <**Worksheet**> Escreva exatamente o nome da aba de excel no caso em questão.

7. <**Scans folder**> Selecione a pasta (diretório) onde estão as imagens pós-processadas de RM a serem usadas.

8. <**P value**> De o limite superior do P estatístico a ser usado.

9. <**Voxel Threshold**> De o tamanho mínimo do cluster (em numero de voxels) para ser considerado e apresentado nos resultados

10. <**Delay for HRF**> Possibilita adicionar ou diminuir os tempos de "Onset" das espículas encontradas no EEG e preenchidas na planilha. verifica se os achados hemodinâmicos acontecem antes, simultaneamente ou depois dos instantes marcados.

11. <**FWE (Family-Wise Error)**> Possibilita usar a correção FWE que aumenta a exigência estatística dos resultados através da predição do percentual máxima de falsos positivos.

OBS: Caso tenha os arquivos pré-processados com os passos "**STATISTICS**" poderá rodar diretamente a análise estatística (botão <Run Stat>). Para rodar todos os passos, preencha os campos de "**Preprocessing**" e "**Statistics**" e clique em <Run All>.

4 - Tools (Ferramentas)

4.1 - Skull Strip

Esta ferramenta possibilita remover a calota craniana de imagens anatômicas. Há duas opções para isso: Uma mais rápida, caso o usuário já possua as imagens segmentadas (substância branca cinzenta e líquor) da imagem em questão. Ou uma opção completa na qual todo o processo de segmentação e remoção do osso é feito diretamente.

1. <Get the segmented images. (recommended)> Processo completo basta adicionar a imagem original sem nenhum pré-processamento prévio.

2. <I have the segmented images.> Utiliza as imagens segmentadas para remover o osso.

3. Threshold to Skull Strip: Indica o limiar de valor de cinza para as bordas. Usualmente os padrões estabelecidos funcionam, mas, se for verificado que sobrou osso ou removeu-se parte do córtex pode se alterar os limiares.

4.2 - Segment Images

Segmenta imagens em três tecidos (Subs. branca, Subs. Cinzenta e Líquor). Pode se optar por obter as imagens segmentadas normalizadas (no espaço padrão MNI) ou no espaço nativo.

1. <Enter Files> Adicione as imagens a serem segmentadas

2. <Choose the image voxel resolution> indique as dimensões da imagem (tamanho do voxel).

4.3 Image Volumetry

Esta ferramenta possibilita encontrar o volume intracraniano de imagens de duas formas:

A primeira encontra o volume intracraniano total. Necessita adicionar as imagens segmentadas do caso (Faça as imagens segmentadas no **Segment Images - 4.2**). Nesta opção ainda é possível encontrar a razão do volume intracraniano com uma das substâncias cerebrais (líquor, branca ou cinzenta).

A outra opção possibilita encontrar o volume de qualquer imagem adicionada como VOIs, ROIs ou estruturas segmentadas, sendo uma entrada (imagem) para cada caso.

IMPORTANTE: As imagens segmentadas **não** podem ser normalizadas, **devem** estar no espaço nativo, pois, no espaço padrão MNI, todos os crânios tendem a ter o mesmo volume (exatamente o que significa normalizar).

1. <**3 files per patient (segmented images)**> opção completa que exige a entrada das imagens segmentadas no espaço nativo. Nela será possível escolher uma das substâncias cerebrais para se fazer uma razão volumétrica < **Ratio between: Total Intracranial volume and:**>

Para esta opção é necessário que os arquivos tenham o mesmo nome para cada paciente alterando-se apenas os prefixos de cada imagem, sendo c1 para sub. cinzenta, c2 para substância branca e c3 para líquido. Por exemplo:

c1Campos.nii

c2Campos.nii

c3Campos.nii

Desta forma é possível adicionar imagens de diversos indivíduos simultaneamente (3 para cada). Os resultados apresentaram os resultados separadamente para cada indivíduo.

2. <**1 file per patient**> significa que o programa entenderá cada arquivo como um indivíduo e calculará o volume deste arquivo não importando ao que se refira a imagem.

3. <**Add Files**> Para ambas as opções pode-se adicionar vários arquivos. No caso **1.** é necessário 3 arquivos por indivíduo sem limites de indivíduos e no caso **2.** um arquivo por indivíduo sem importar quantos indivíduos serão computados.

4. <**Output Directory**> Indique a pasta onde quer que os resultados sejam salvos.

4.4 Change NifTI Header

Este programa altera as informações do header da imagem. Pode ser útil para alterar as informações de número de volumes de uma imagem que foi abortada por exemplo.

Aqui basta escrever o caminho do parâmetro que deseja alterar. Exemplos:

Para alterar o parâmetro "descrip":

N.descrip = "Novo texto de descrição" e clique Ok.

Para alterar os tamanhos das dimensões da imagem, como número de volumes, por exemplo:

N.dat.dim = [80 80 37 100] e clique Ok

Sempre que uma imagem é alterada, a original **não** é modificada. Cria-se um outro arquivo com o sufixo **_mod e** com as alterações feitas.

OBS: em uma matriz (de imagem) as dimensões desta matriz podem ser, por exemplo [80 80 37 100]. Isto representa uma matriz quadri-dimensional onde: 80 é a largura da imagem, em número de voxels, o segundo 80 é a altura da imagem em número de voxels, o 37 é o número de slices da imagem e o 100, a quarta dimensão, representa quantas vezes as estruturas primárias (80 80 37) se repetem, gerando uma imagem funcional (que se desloca no tempo) isto é o número de volumes de uma imagem funcional 4D.

4.5 Maps Intersection

Este programa intersecciona dois Blobs (mapas de ativação estatísticos) dando um percentual de intersecção entre eles. recomenda-se que os dois mapas tenham as mesmas características dimensionais como tamanho do voxel e número de slices. Basta adicionar o primeiro Blob em <**Add the first map**> e o segundo em <**Add the second map**> e clicar em <**Run**>.

OBS: Caso as imagens tenham resoluções diferentes, o programa irá fazer uma interpolação e os resultados serão aproximados à realidade.

4.6 Concatenate NIfTI files

Este programa transforma dois arquivos funcionais em um. Por exemplo, dois arquivos funcionais com 100 volumes podem ser concatenados gerando um terceiro arquivo com 200 volumes na ordem em que os arquivos foram adicionados. Esta ferramenta é útil em caso de uso de programas que aceitam apenas um arquivo como INPUT. Adicione dois arquivos de cada vez e dê um nome para o arquivo resultante. **Esteja atento que pode haver diferenças da amplitude base do sinal entre diferentes aquisições. Isso pode gerar um degrau na junção das séries temporais.**

4.7 Make a Contrast peak Map

Este programa usa dois mapas de contraste e cria um terceiro, com os maiores valores entre eles.

É especialmente importante para unificar dois mapas de contraste obtidos com diferentes parâmetros ou situações. O resultado será um mapa único de picos, com apenas os valores de T máximos entre os dois mapas originais e pode ser interpretado como a união dos mapas nos limiares estatísticos que serão utilizados.

Como o programa funciona?

Uma imagem é uma matriz de valores. Onde os valores são os tons de cinza ou códigos de cor. Imagine duas pequenas imagens representadas pelas matrizes A e B:

$$A = \begin{matrix} 1 & -3 & 7 & -5 \\ 0 & 4 & 3 & -1 \\ 1 & -4 & -1 & 0 \\ -3 & 6 & -3 & -4 \end{matrix} \quad B = \begin{matrix} -1 & 2 & -8 & 6 \\ -1 & -3 & -3 & 0 \\ 2 & 3 & 5 & -7 \\ -3 & 4 & 2 & -1 \end{matrix}$$

O resultado gerado por este programa após roda-lo para estas duas imagens, seria uma imagem com a seguinte matriz:

$$RES = \begin{matrix} 1 & -3 & -8 & 6 \\ -1 & 4 & 3 & -1 \\ 2 & -4 & 5 & -7 \\ -3 & 6 & -3 & -4 \end{matrix}$$

O programa reconhece os maiores valores absolutos (em módulo) entre cada matriz e o atribui à matriz resultante conservando o sinal original (positivo ou negativo).

Particularidade do programa:

-X e X = X positivo

4.8 Plot fMRI signal

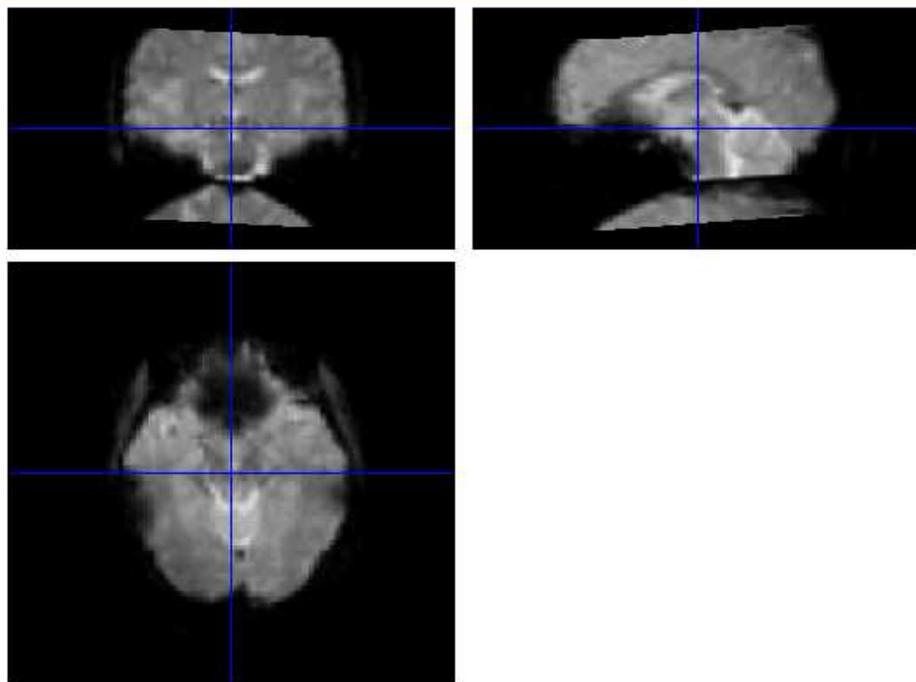
Este programa *plota* o sinal de ressonância magnética original de uma imagem, sem inferências de modelo ou pré-supostos. Útil para se verificar a semelhança entre o sinal real de um voxel de um cluster de ativação e o paradigma de blocos proposto. Torna fácil verificar se o experimento funcional realmente obteve uma variação BOLD significativa referente ao estímulo proposto.

1. < **Pick a 4D NifTI file**> Adicione uma imagem funcional 4D *.nii
2. < **TR (sec)**> : indique o TR (tempo de repetição) da aquisição.
3. Indique se sua imagem e a coordenada que você dará estão no MNI (Normalizada) ou no espaço nativo (Voxel Coordinate).
4. < **Set the Coordinate**> Digite a coordenada tridimensional do voxel em questão.

4.9 Aquisition Error Corrections

Esta ferramenta possui duas funções:

1 - Corrigir erro de reconstrução de uma imagem ou aquisição funcional que se repete em todos os volumes (fig 1). basta dizer quantos slices estão fora do lugar (na parte inferior da imagem. estes são os que serão invertidos).



2 - Remover volumes de uma aquisição funcional: do inicio da imagem (do 1º até o 15º por exemplo) basta dizer quantos (por exemplo: 15). Ou diga exatamente qual volume deseja remover

