

LEONARDO FATOR GOUVÊA BONILHA

Este exemplar corresponde à versão final da Tese de Doutorado apresentada ao Curso de Pós-Graduação Fisiopatologia Médica da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, para obtenção do título de Doutor em Fisiopatologia Médica, Área Neurociências

Campinas, 30 de abril de 2004.

Prof. Dr. Li Li Min
Orientador



***DANO NEURONAL EM PACIENTES COM EPILEPSIA
DO LOBO TEMPORAL MEDIAL REFRATÁRIA
A TRATAMENTO CLÍNICO
ESTUDO QUANTITATIVO POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA***

CAMPINAS

2004

LEONARDO FATOR GOUVÊA BONILHA

***DANO NEURONAL EM PACIENTES COM EPILEPSIA
DO LOBO TEMPORAL MEDIAL REFRATÁRIA
A TRATAMENTO CLÍNICO
ESTUDO QUANTITATIVO POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA***

*Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do título de
Doutor em Fisiopatologia Médica, área de
Neurologia.*

ORIENTADOR: DR. LI LI MIN

CO-ORIENTADOR: PROF.DR. FERNANDO CENDES

CAMPINAS

2004

INIDADE	BC
1ª CHAMADA	1/UNICAMP
	B641d
/	EX
TOMBO BC/	63724
PROC.	16 P.00086.05
C	☐
D	☒
PREÇO	11,00
DATA	13/05/05
Nº CFC	

Bibid 349198

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

B641d Bonilha, Leonardo Fator Gouvêa
 Dano neuronal em pacientes com epilepsia do lobo temporal medial
 refratária a tratamento clínico. Estudo quantitativo por Ressonância
 Magnética. / Leonardo Fator Gouvêa Bonilha. Campinas, SP : [s.n.],
 2004.

Orientadores : Li Li Min , Fernando Cendes
 Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade
 de Ciências Médicas.

1. Neurologia. 2. Sistema límbico. 3. Hipocampo. I. Li Li Min.
 II. Fernando Cendes. III. Universidade Estadual de Campinas.
 Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Banca examinadora de Dissertação de Doutorado

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Li Li Min

Membros:

1. Roberto Covolán

2. Marilisa Mantovani Guerreiro

3. Cláudio Campi de Castro

4 Antonio Carlos dos Santos

5 Li Li Min

Curso de pós-graduação em Fisiopatologia Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 30.04.2004

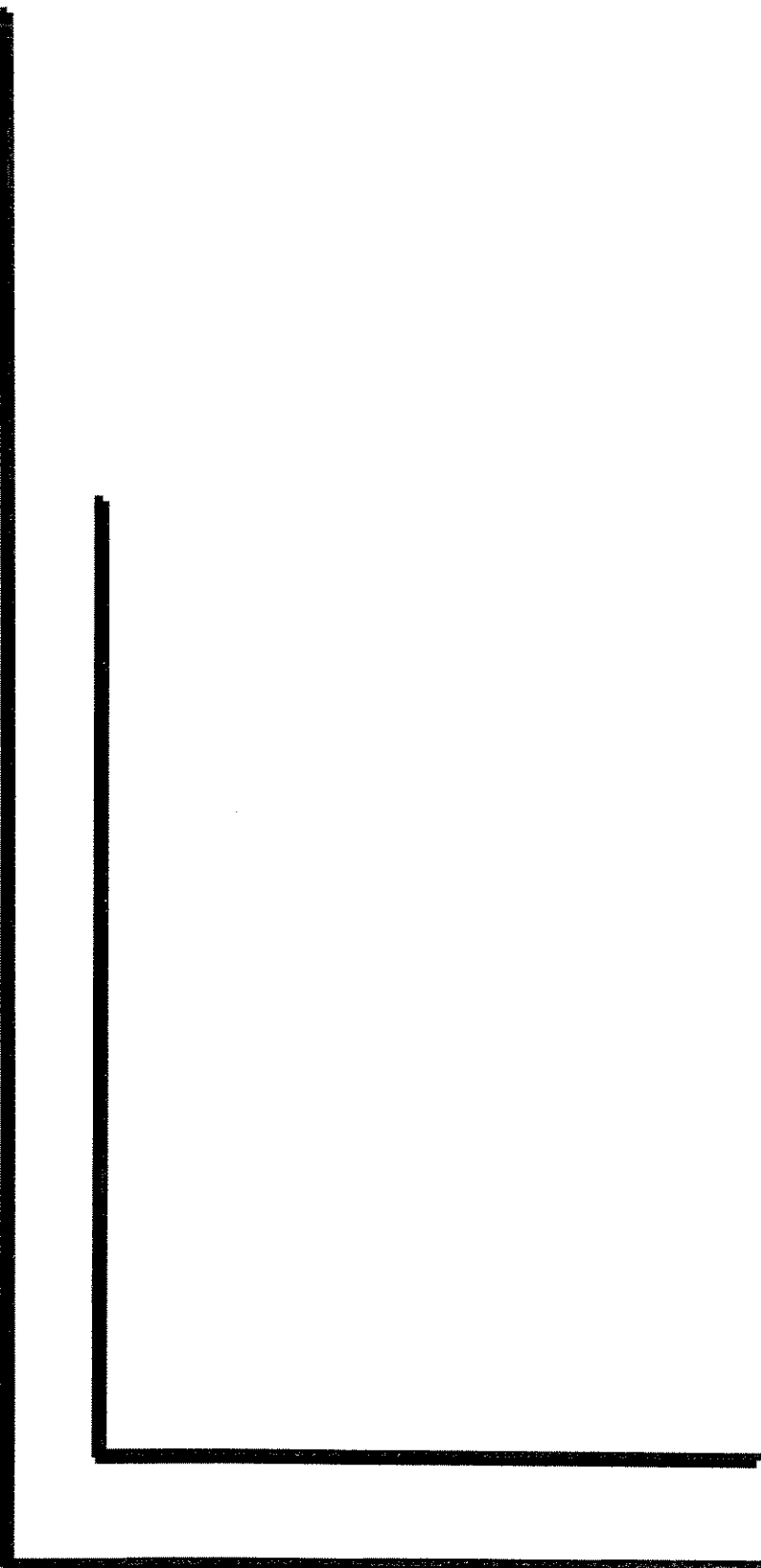
“Ninguém é igual a ninguém. Todo ser humano é um estranho ímpar”
Carlos Drummond de Andrade

	PÁG.
RESUMO	<i>xvii</i>
ABSTRACT	<i>xxi</i>
INTRODUÇÃO	25
Epilepsia de Lobo Temporal.....	27
Anatomia funcional do lobo temporal.....	31
Mecanismo e dano neuronal em pacientes com ELTM.....	32
Avaliação do dano neuronal por RM	34
Uso da RM para avaliação da extensão do dano neuronal em pacientes com ELTM.....	37
OBJETIVOS	39
MÉTODOS	43
Objetivo 1 - Definir protocolo para segmentação manual de estruturas da região medial do lobo temporal.....	45
Métodos.....	45
Sujeitos.....	45
Ética.....	45
Aquisição de imagem por RM.....	45
Pós-processamento de imagem.....	45
Análise Volumétrica.....	46
Confiabilidade.....	47
Análise estatística.....	47
Protocolo de segmentação.....	47
Resultados.....	61
Avaliação da confiabilidade.....	64
Efeito de gênero ou idade nos volumes corticais.....	67

Objetivo 2 – Definir a influência da qualidade da imagem de RM e do método na morfometria manual de estruturas da região medial do lobo temporal.....	71
Avaliação da influência da espessura do corte de RM e do método utilizado para morfometria do córtex entorrinal.....	71
Métodos.....	71
Sujeitos.....	71
Aquisição de imagem de RM.....	71
Análise volumétrica.....	72
Análise estatística.....	73
Resultados.....	74
Avaliação do efeito da visualização por vários planos ortogonais para definição de pontos de reparo anatômicos na quantificação do volume da amígdala.....	79
Métodos.....	79
Sujeitos.....	79
Ética.....	79
Aquisição de imagens de RM.....	79
Análise volumétrica.....	80
Segmentação de cortes coronais de 3mm de espessura.....	80
Segmentação tridimensional.....	81
Análise estatística.....	86
Resultados.....	86
Segmentação no plano coronal.....	86
Segmentação tridimensional.....	87
Objetivo 3- Definir protocolo para investigação automática do tipo voxel por voxel de concentração de substância cinzenta (CSC), otimizado para pacientes com epilepsia do lobo temporal.....	91
Métodos.....	91
Resultados.....	97

Objetivos 4- Definir a magnitude e a extensão do dano neuronal nas estruturas da região medial do lobo temporal de pacientes com ELTM refratários ao tratamento clínico.....	100
Métodos.....	100
Sujeitos.....	100
Aquisição de imagem de RM	100
Pós-processamento de imagens.....	101
Análise volumétrica.....	101
Análise estatística.....	101
Resultados.....	102
Controles.....	102
Pacientes com MTLE.....	102
Asimetria.....	108
Análise individual.....	110
Objetivo 5- Definir a influência da atrofia das estruturas mediais temporais nas manifestações clínicas dos pacientes com ELTM.....	114
Métodos.....	114
Sujeitos.....	114
Resultados.....	116
Objetivo 6- Definir a influência das diferentes estruturas da região medial do lobo temporal de pacientes com ELTM no desempenho em teste neuropsicológico.....	119
Métodos.....	119
Sujeitos.....	119
Aquisição de RM.....	119
Avaliação Neuropsicológica.....	120
Análise estatística.....	120
Resultados.....	121
Objetivo 7- Avaliar a presença e extensão do dano neuronal através da redução da CSC em todo o cérebro de indivíduos com ELTM.....	125
Métodos.....	125

Sujeitos.....	126
Processamento de dados.....	126
Análise Estatística.....	127
Resultados.....	128
DISCUSSÃO.....	137
Definir um protocolo anatômico para ser usado para quantificação volumétrica por RM da região medial do lobo temporal.....	139
Efeito de gênero e idade nos volumes avaliados.....	140
Assimetria hemisférica.....	141
Avaliar a influência da espessura da imagem e do método na mensuração do córtex entorrinal.....	142
Definir a influência da certificação de pontos de reparo anatômicos pela visualização de diferentes planos ortogonais na mensuração da amígdala.....	147
Definir protocolo para investigação automática do tipo voxel por voxel de concentração de substância cinzenta (CSC), otimizado para pacientes com epilepsia do lobo temporal.....	150
Definir a extensão e magnitude do dano neuronal na região medial do lobo temporal de pacientes com ELTM.....	150
Distribuição do dano neuronal.....	153
Definir a influência da atrofia de diferentes estruturas mediais temporais nas características clínicas de pacientes com ELTM.....	153
Definir a influência da atrofia de diferentes estruturas mediais temporais em pacientes com ELTM no desempenho em diferentes testes neuropsicológicos.....	154
Definir a presença e extensão de dano neuronal através da diferença da CSC em indivíduos com ELTM comparados com indivíduos normais.....	156
CONCLUSÕES.....	161
Aspectos técnicos.....	163
Aspectos biológicos.....	163
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	165

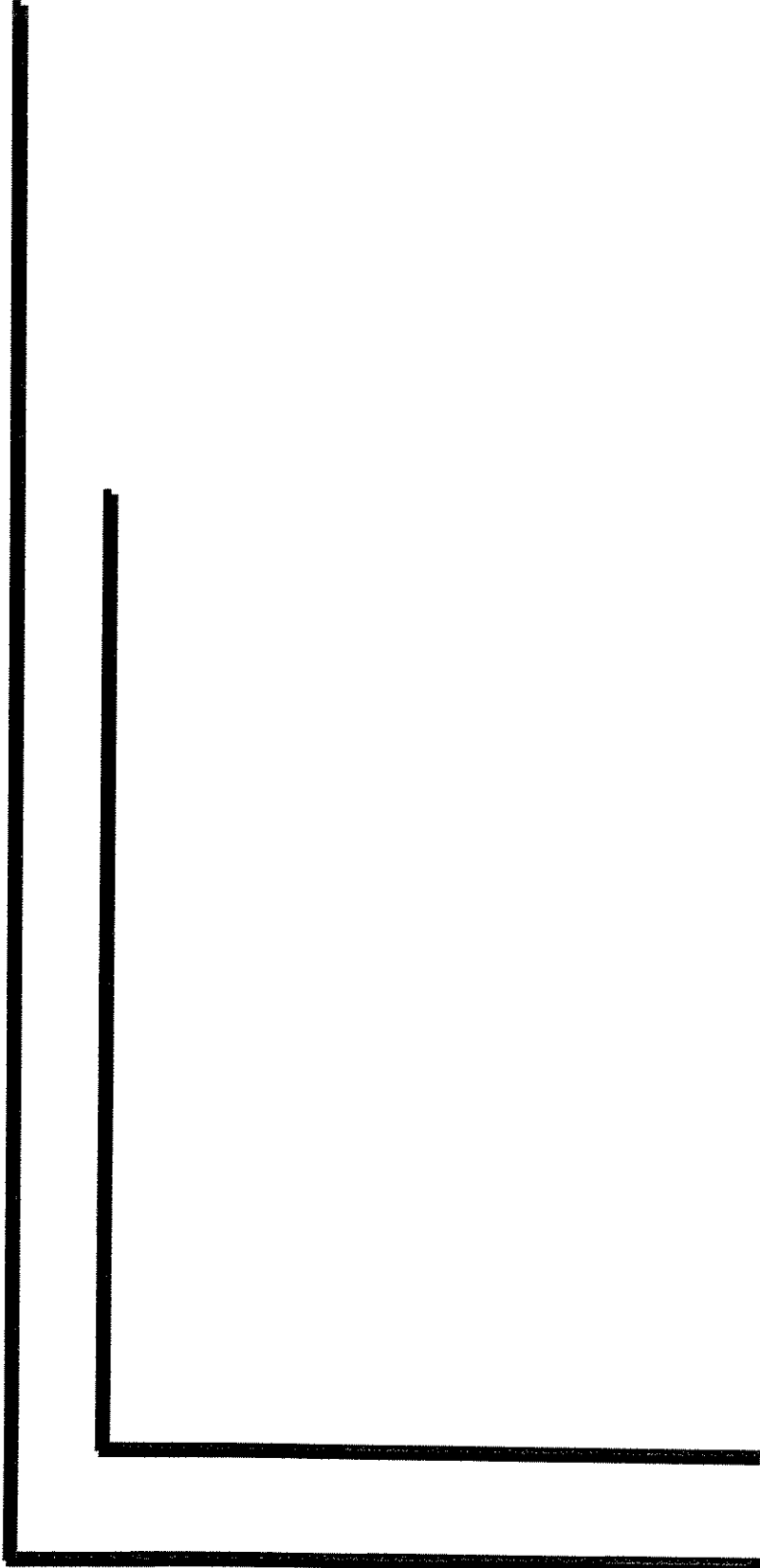


RESUMO

A esclerose hipocampal (EH) é a alteração histológica mais comum em pacientes com epilepsia do lobo temporal medial (ELTM). A Ressonância Magnética (RM) de crânio possibilita a detecção in vivo de sinais associados à EH, permitindo que pacientes com ELTM refratária à medicação sejam submetidos à ressecção cirúrgica do hipocampo para tratamento de crises epiléticas. As causas de refratariedade à medicação e ao tratamento cirúrgico ainda são desconhecidas, porém supõe-se que um dos motivos seja a presença de lesão neuronal acometendo outras áreas cerebrais além do hipocampo. O uso da morfometria por RM permite avaliação do dano neuronal tanto no hipocampo como em outras estruturas cerebrais através da avaliação e quantificação da atrofia presente nestas estruturas. Para avaliação pormenorizada das estruturas cerebrais foi realizada a implementação e validação de um protocolo anatômico para mensuração da região mesial do lobo temporal, com uso de RM tridimensional de alta definição. Foi também definido um protocolo para volumetria automatizada baseada em voxel de todo o cérebro. Foi observado que o dano neuronal em pacientes com ELTM se estende além do hipocampo e acomete regiões que se conectam funcionalmente e anatomicamente ao hipocampo. Tal achado sugere que exista lesão abrangendo uma rede neuronal, o que pode ser responsável em conjunto pelas manifestações clínicas observadas nesses pacientes.

ABSTRACT

Hippocampal sclerosis (HS) is the most common histological finding in patients with medial temporal lobe epilepsy (MTLE). Magnetic resonance imaging (MRI) permits in vivo detection of signs that are associated to HS, permitting the surgical treatment for these patients. The causes of medical and surgical refractoriness observed in patients with MTLE are still unknown. One possible explanation is the fact that the neuronal loss encountered in these patients spans over other brain areas beyond the hippocampus. The use of morphometric quantification of brain structures through MRI is a powerful tool to investigate the neuronal loss in the hippocampus and in other areas of the brain. In order to assess the neuronal damage in brain structures of patients with MTLE, we developed a protocol for manual MRI morphometry of the medial temporal lobe structures. We also developed an automatic protocol to assess the concentration of gray matter in the whole brain of these patients through the use of Voxel Based Morphometry. We observed that patients with MTLE exhibit neuronal loss that is not restricted to the hippocampus, but affects different areas throughout the brain that are functionally and anatomically connected to the hippocampus. These findings suggest that a lesion of a network of neural structures may be responsible for the clinical symptomatology exhibited by patients with MTLE.



INTRODUÇÃO

Epilepsia de Lobo Temporal

Epilepsia é a condição neurológica grave mais comum, afetando aproximadamente 1 % da população mundial¹.

Na cidade de São José do Rio Preto estima-se uma prevalência de cerca de 18,6 pessoas com epilepsia para cada 1000 habitantes². Se essa proporção for constante, 3 milhões de pessoas no Brasil apresentam alguma forma de epilepsia.

O impacto sócio-econômico da epilepsia no Brasil ainda é desconhecido, mas em virtude do grande número de pessoas com a doença, estudos que contribuam para o entendimento biológico da epilepsia, melhorem seu diagnóstico e seu tratamento são de grande importância para redução do sofrimento de milhões de pacientes e diminuição de gastos indiretos e diretos dos cofres públicos.

A Epilepsia de Lobo Temporal (ELT) é uma das formas mais comuns de epilepsia. Cerca de 40 % dos indivíduos portadores de epilepsia são portadores de alguma forma de ELT³. Dentre as formas de ELT uma, no entanto, se destaca pela frequência, pelos mecanismos patológicos subjacentes e pela responsividade ao tratamento: trata-se da ELT com origem nas estruturas mediais do lobo temporal, ou Epilepsia Medial do Lobo Temporal (ELTM)^{4;5}.

Os achados anátomo-patológicos mais comum nos indivíduos com ELTM são a atrofia e perda neuronal na região medial do lobo temporal⁶. Essas características são mais comuns nos indivíduos com ELTM não controlada ou refratária à medicação.

Em 1890 Sommer ⁷ descreveu a presença de perda neuronal no hipocampo de pacientes com epilepsia. Anos mais tarde, Babb e Brown et al. ^{7;8} definiram que a perda neuronal abrange todas as regiões do hipocampo, com preservação relativa da região CA2. A presença de perda neuronal em mais de 30% associada a gliose constitui a esclerose medial temporal (EMT), que é o correlato estrutural da origem de crises epiléticas no lobo temporal e da atividade elétrica epileptiforme da região medial do lobo temporal. Juntas, a EMT e as crises epiléticas provenientes da região medial do lobo temporal definem a ELTM ⁹.

As epilepsias parciais se manifestam pela presença de crises epiléticas do tipo parciais com ou sem generalização secundária. O tratamento das epilepsias parciais, inclusive da ELTM, se baseia fundamentalmente no uso a longo-prazo de drogas anti-epiléticas (DAE), de preferência de um tipo por vez, com o intuito de controlar de forma segura as crises epiléticas com um nível aceitável de efeitos adversos¹⁰.

Dentre as DAE, algumas são mais eficazes no tratamento da ELTM por reduzirem ou eliminarem crises parciais em mais de 50% dos pacientes com ELTM. As drogas aprovadas para o tratamento da ELTM são, dentre as DAE de primeira linha, o Fenobarbital, a Fenitoína, a Carbamazepina, o Ácido Valpróico e a Primidona. Dentre as drogas de segunda linha a Gabapentina, a Lamotrigina, o Topiramato, a Tiagabina e o Felbamato, e dentre as drogas de terceira linha a Oxcarbazepina, a Zonisamida e o Levetiracetam¹¹.

Se o uso de uma das DAE não for eficaz quanto ao controle de crises, uma segunda DAE pode ser tentada ou adicionada. No entanto, a chance de uma nova droga conferir liberdade de crises a um paciente que não obteve bom resultado com uma DAE é cerca de apenas 20%¹². Em outras palavras, a resposta a uma primeira DAE é um forte preditor da resposta ao tratamento por outras DAE^{12;13}.

Não se sabe ao certo quantos indivíduos com ELTM são refratários ao tratamento medicamentoso. As crises podem desaparecer ou não com o uso de DAE, porém a definição de ausência de resposta ao tratamento medicamentoso depende de um julgamento subjetivo. A presença de crises eventuais pode não ser intolerável a certos indivíduos, ao passo que uma única crise pode ser catastrófica para outros. Por esse motivo, a confirmação de refratariedade ao tratamento precisa ser julgada de forma individual, sobretudo quando se considera o tratamento cirúrgico como alternativa terapêutica⁶. De forma geral, consideram-se portadores de ELTM refratária aqueles indivíduos com ELTM que não apresentaram controle adequado de crises epiléticas com o uso de duas ou mais DAE tradicionalmente usadas no tratamento de ELTM, e que possuam a vida profundamente prejudicada pela presença de crises.

Embora exista controvérsia sobre o assunto, alguns autores acreditam que o número de pacientes com ELTM que de fato obtêm controle de crises com o uso adequado de DAE não ultrapassa os 40%, e na prática varia entre 25% a 40%^{6;14;15}

Ainda não está claro porque alguns indivíduos com ELTM se tornam refratários ao tratamento cirúrgico. Algumas variáveis clínicas têm, entretanto, sido incriminadas como potenciais preditoras de mau prognóstico. Dentre elas, destacam-se idade precoce de início de crises, história de crises febris e história de status epilepticus¹⁵⁻¹⁷.

Para os pacientes refratários, a cirurgia pode ser considerada uma alternativa segura de tratamento. O tratamento cirúrgico tem por premissa a retirada da região cerebral necessária e suficiente para geração e manutenção de crises^{3;6}. Para os pacientes com ELTM isso implica na região estruturalmente comprometida onde haja evidência de atividade eletrofisiológica anormal³. Para os pacientes com ELTM, isso implica no hipocampo e na região temporal anterior⁹.

A remoção do hipocampo e da região anterior do lobo temporal são formas bem estabelecidas de tratamento de pacientes com ELTM resistentes ao uso de DAE^{18;19}. Mais de 80% desses pacientes se tornam livre de crises ou quase livres de crises depois da cirurgia. Nesses pacientes a esclerose medial temporal é o achado mais comum²⁰⁻²².

Como a presença de esclerose medial temporal se correlaciona com o prognóstico da cirurgia para ELTM²³⁻²⁸, a detecção in vivo da esclerose medial temporal perfaz grande parte da investigação pré-operatória destes pacientes.

A avaliação pré-cirúrgica implica no estabelecimento e na localização do lobo temporal acometido. Além do exame físico e da história clínica, a combinação de exames complementares fornece informações valiosas que autorizam a realização do procedimento ablativo. Estes exames são fundamentalmente o registro eletroencefalográfico interictal e ictal, a ressonância magnética (RM), a Tomografia por emissão de pósitron único (SPECT), e a avaliação neuropsicológica.

A RM é, dentre os exames pré-operatórios, um dos que fornece mais informações acerca da etiologia das diferentes formas de epilepsia, sobretudo sobre a ELTM⁶. O grau de atrofia hipocampal vista à RM correlaciona-se com a severidade dos achados histopatológicos²⁹⁻³¹ e com o resultado da cirurgia²³⁻²⁸.

A presença de atrofia hipocampal unilateral ou marcadamente assimétrica, determinada pela RM, indica bom prognóstico cirúrgico²³⁻²⁵. A atrofia hipocampal associada ou não com sinal de T2 hiperintenso é a característica mais importante de esclerose medial temporal e pode ser aferida de forma confiável por análise visual cuidadosa e por medidas volumétricas computadorizadas^{19;23;24;30}.

No entanto, ainda não está claro porque alguns pacientes não conseguem atingir bom resultado cirúrgico²⁶ e vários estudos têm procurado definir quais variáveis clínicas poderiam prever o resultado cirúrgico. As variáveis que independentemente puderam prever o resultado cirúrgico em pacientes com ELTM são: a.) a presença de atrofia hipocampal³² (sobretudo se associada a localização concordante por EEG); b.) hipometabolismo temporal ao PET³³; c) lateralização de memória³⁴; e d) ausência de crises generalizadas ou crises imediatamente após a cirurgia³⁵.

Embora o hipocampo seja a estrutura mais intensamente acometida nos pacientes com ELTM, acredita-se que geração e manutenção de crises não se restrinja apenas ao hipocampo³⁶. Ao contrário, uma ou algumas redes neurais podem estar envolvidas com os fenômenos que geram a sintomatologia da ELTM. Essas redes neurais são constituídas pelas conexões anatômicas e funcionais do hipocampo que se mostram intensamente ativadas pelos estudos neurofisiológicos ou de SPECT durante as crises desses pacientes³⁶. As estruturas mais densamente conectadas ao hipocampo, tal como o córtex entorrinal, podem inclusive ser responsáveis pela geração de crises e a incompleta retirada do giro parahipocampal pode ser a causa de insucesso da cirurgia para tratamento de ELTM³⁷.

Para a compreensão da fisiopatologia da ELTM, portanto, é necessária a compreensão de quais estruturas cerebrais estão acometidas. Em outras palavras é necessário o estudo das redes neurais envolvidas na geração, transmissão e manutenção das crises epilépticas. Logo, faz-se necessário o estudo da anatomia do lobo temporal e de suas conexões.

Anatomia funcional do lobo temporal

A amígdala e o hipocampo, em conjunto com as estruturas corticais adjacentes tais como os córtices entorrinal, perirrinal, têmporo-polar e parahipocampal, constituem a porção medial do lobo temporal. Essas estruturas funcionam em conserto através de um grande e intricado número de interconexões^{30;38} e realizam um importante papel ao realizarem tarefas complexas do comportamento tal como o processamento das memórias declaradas e representativas^{21;39-41}.

O hipocampo e a amígdala constituem o centro do sistema límbico. O hipocampo, devido às suas numerosas conexões é considerado o centro para as funções da memória e aprendizado^{39;42-45}.

Em primatas, as conexões hipocampais envolvem principalmente o isocórtex localizado nos lobos frontal, parietal e temporal. Essas conexões são mediadas em ambas direções pelo córtex entorrinal, e na direção eferente pelo complexo subicular. Projeções corticais aferentes ao córtex entorrinal provêm áreas multimodais corticais associativas, particularmente dos córtices perirrinal e parahipocampal, que estão intimamente associados ao córtex entorrinal tanto funcionalmente quanto anatomicamente³⁹.

Lesões realizadas estereotaticamente à amígdala, ao hipocampo e aos córtices anatomicamente relacionados adjacentes têm demonstrado que o sistema de memória temporal é estabelecido sobre uma intrcada rede conectando o hipocampo, o córtex perirrinal, o entorrinal e o córtex parahipocampal⁴⁶⁻⁴⁸. Esses achados confirmam observações clínicas pregressas de déficit de memória em pacientes vítimas de lesões da porção medial do lobo temporal⁴³, e refinam as definições dos componentes anatômicos e conexões do lobo temporal de primatas^{49;50}. A função precisa, no entanto, de cada um destes componentes na função cognitiva normal, ou sua relevância em condições patológicas ainda está por ser determinada.⁴²

Estudos realizados em humanos e primatas não-humanos com amnésia definiram os componentes funcionais e anatômicos do processamento de memória declarada na porção medial do lobo temporal (LTM)^{39;51;52}. O LTM tem conexões recíprocas com

amplas áreas isocorticais associativas e outras estruturas subcorticais e é essencial para o estabelecimento de memória declarada a longo prazo de conhecimentos gerais (memória semântica) ou eventos (memória episódica)⁵². Os componentes do sistema de memória do LTM são o hipocampo, a amígdala, que em conjunto constituem o centro do sistema límbico, e córtex anatomicamente adjacente, i.e., os córtices entorrinal, perirrinal, parahipocampal e têmporo-polar. A informação atinge o hipocampo através do córtex entorrinal, que representa a principal conexão aferente ao hipocampo³⁹, enquanto a projeção eferente é mediada pelo complexo subicular⁵¹.

O córtex entorrinal, por sua vez, recebe suas informações provenientes de áreas multimodais associativas, particularmente dos córtices perirrinal e têmporo-polar, que estão reciprocamente conectados a áreas isocorticais associativas no restante do cérebro^{39;40;53}.

Por fim, a amígdala é responsável por definir a intensidade de respostas emotivas e os alvos para os quais as emoções são direcionadas. As amígdalas são também responsáveis por arquitetar alterações comportamentais e viscerais em resposta a estímulos com conteúdo emocional. Elas ainda desempenham papel importante em respostas autonômicas, comportamento emocional, ingestão de alimentos, excitação sexual, e atividade motora⁵⁴. Estudos por imagem têm demonstrado o papel da amígdala no reconhecimento afetivo envolvendo memória^{55;56}, condicionamento de medo⁵⁷, expressões faciais^{58;59} e estímulos auditivos^{55;60}. Todas essas funções são consideradas conseqüentes à ação da amígdala em formar memória a longo prazo associada a eventos desencadeadores de emoção^{55;56}.

Mecanismo e dano neuronal em pacientes com ELTM

Em pacientes com ELTM, o mecanismo de dano neuronal que envolve algumas regiões cerebrais, dentre as quais o hipocampo, não é de todo claro. Possivelmente não existe apenas um único fator responsável pela lesão neuronal, mas vários, dentre os quais destacam-se excitotoxicidade^{61;62}, lesões vasculares, predisposição genética e reação inflamatória^{3;6}.

Estudos usando volumetria e espectroscopia de prótons por ressonância magnética demonstram que o dano neuronal ocorre ao longo do tempo, possivelmente em decorrência de crises generalizadas tônico-clônicas⁶³. Porém ainda não está claro se o dano hipocampal está presente desde o início da vida do indivíduo com ELTM, se acentua durante a vida ou surge com o tempo⁶⁴. Na realidade, ainda é controverso se as crises epiléticas são causa ou consequência da esclerose hipocampal^{63;64}.

Estudos com modelos experimentais demonstraram que as descargas elétricas deflagradas após crises convulsivas induzidas química ou eletricamente podem produzir dano hipocampal muito semelhante à esclerose hipocampal⁶⁵.

Interessantemente, estudo recente demonstrou que alterações hipocampais podem estar presentes em familiares assintomáticos de pacientes com epilepsia do lobo temporal familiar, o que sugere que as alterações hipocampais estão presentes antes do início das crises⁶⁶. Nesse grupo de indivíduos, o grau de atrofia hipocampal também estava associado ao estado de controle das crises, ie., pacientes com epilepsia refratária tinham hipocampus mais atroficos. Estes achados podem pertencer somente ao sub-grupo de epilepsia do lobo temporal familiar, e outros mecanismos podem ser responsáveis pelo dano hipocampal e sua progressão em outros pacientes com ELTM. No entanto, essas observações indicam que pacientes com ELTM apresentam dano neuronal que, intensificado ou não pelo progredir da vida, se associa com a gravidade da doença quer como causa ou consequência das crises epiléticas.

A compreensão dos mecanismos responsáveis pela origem e perpetuação do dano neuronal em pacientes com ELTM tem especial importância quanto a perspectivas futuras de tratamento. Ainda não é claro, no entanto, qual a extensão do dano neuronal em pacientes com ELTM, sobretudo nas regiões além do hipocampo.

Estudos neurofisiológicos realizados em pacientes com ELT mostraram que existe uma grande rede neural envolvida na geração e manutenção de crises epiléticas³⁶. Ainda, o início das crises epiléticas em pacientes com ELT pode em alguns casos ocorrer em outras regiões além do hipocampo pertencentes à rede neural do sistema límbico³⁶. Posto que a rede neural que envolve o hipocampo compreende quase todo o sistema

límbico, há provavelmente perda neuronal em todas as áreas que participam da rede neural, inclusive aquelas fora do lobo temporal.

Dados adicionais sobre a magnitude do dano neuronal em pacientes com epilepsia provêm de estudos realizados com pacientes submetidos a cirurgia. O tratamento cirúrgico nos pacientes com ELTM envolve a remoção das estruturas mediais do lobo temporal, sobretudo do hipocampo. No entanto, ainda não estão definidas quais as estruturas da porção mesial do lobo temporal devem ser ressecadas ou qual a extensão da ressecção que deve ser realizada. Os resultados cirúrgicos são de modo geral similares para diferentes tipos de procedimento (amigdaló-hipocampectomia seletiva versus lobectomia temporal anterior mais ressecção da amígdala e hipocampo²⁵, ou retirada seletiva da amígdala⁶⁷, ou somente do hipocampo⁶⁸). Uma possível razão para o resultado similar para procedimentos diferentes é a secção das vias condutoras das crises, prevenindo que a atividade elétrica epileptogênica se propague para regiões sintomatogênicas do cérebro. Em pacientes com ELT e atrofia hipocampal bilateral, a espectroscopia de prótons por ressonância magnética (RM) pode fornecer informações sobre a disfunção neuronal mais ampla e sobre o prognóstico cirúrgico⁶⁹. Da mesma forma alterações de substâncias cinzenta mais difusas avaliadas por parcelamento de imagens volumétricas de RM cerebral em fatias se associam a piores resultados cirúrgicos⁷⁰. As alterações estruturais ou metabólicas detectadas por técnicas de RM quantitativa demonstram uma possível explicação para o insucesso naqueles pacientes com atrofia unilateral.

Sob esta perspectiva, a busca de fatores prognósticos mais precisos são importantes na orientação de pacientes quanto à indicação de cirurgia. A RM tem mostrado de valor preditivo superior a outras variáveis como clínica ou eletrofisiológica^{71;72} e associada com outras técnicas de pós-processamento pode incrementar ainda mais o seu poder prognóstico.

Avaliação do dano neuronal por RM

A possibilidade de se realizarem estudos quantitativos através de RM permite a avaliação *in vivo* da anatomia cerebral. A análise de estruturas cerebrais em indivíduos sãos e sua comparação com indivíduos doentes fornece uma grande quantidade de informações e

permite a compreensão de alguns aspectos da fisiopatologia de determinadas doenças⁷³⁻⁷⁶.

Fundamentalmente, a quantificação volumétrica por RM da amígdala e do hipocampo tem sido usada com sucesso para a determinação de dano tissular em pacientes com ELTM⁷⁷. As outras regiões do lobo temporal, no entanto, têm sido avaliadas de forma mais esparsa, e os protocolos de delineação anatômica para uso na volumetria dessas regiões ainda não são completamente definidos ou esparsos^{78;79}. A segmentação das estruturas mediais temporais, sobretudo das estruturas corticais, confere algumas dificuldades em virtude da definição precisa dos limites anatômicos dentro do lobo temporal. Esse problema pode em parte ser solucionado pelo uso de imagens de RM de alta resolução, submetidas a análise de pós-processamento com possibilidade de visão multiplanar dos planos ortogonais⁷⁴.

Condições patológicas acometendo a região medial do lobo temporal podem levar a alterações volumétricas dessa região, vistas à RM. Pacientes com doença de Alzheimer e demência fronto temporal têm volumes significativamente menores do córtex entorrinal e do hipocampo^{76;80-82}. Em pacientes com ELTM, há certamente redução significativa do volume dos hipocampus e dos córtex entorrinal ipsilateral, ao passo que as regiões adjacentes possivelmente também se encontram atrofiadas^{79;83}.

A redução de volume das estruturas mediais temporais, condicionadas por dano neuronal, dificulta ainda mais avaliação destas estruturas, uma vez que seu tamanho, em indivíduos normais, já é diminuto. O córtex entorrinal é talvez um dos melhores exemplos. Em indivíduos normais, seu tamanho é cerca de 1 a 2cm³, enquanto esse volume se reduz significativamente em indivíduos com ELTM.^{37;79;84-86} O pequeno tamanho do córtex entorrinal, associado ao fato de que seus limites não correspondem a pontos de reparo na superfície cerebral fazem com que a análise morfométrico se torne particularmente difícil. O mesmo se aplica às estruturas corticais adjacentes, com características anatômicas análogas, i.e., tamanho reduzido e ausência de pontos de reparo. Por esse motivo, imagens de RM com adequada resolução antômica e um protocolo de segmentação são de grande importância para que o estudo volumétrico da região temporal se realize de maneira confiável e reproduzível.

Ainda, fatores diretamente envolvidos com a qualidade da imagem tais como a espessura do corte, orientação do corte e pós processamento da imagem de RM podem desempenhar um papel importante no processo de segmentação⁸⁷. Um bom exemplo é a amígdala. A avaliação in vivo do volume da amígdala com o uso de RM tem demonstrado alterações em alguns subtipos de doenças neurológicas. A redução do volume da amígdala é capaz de lateralizar pacientes com ELTM^{88;89}, e tem sido descrita em depressão recorrente, transtorno obsessivo-compulsivo⁹⁰, doença de Alzheimer⁹¹ e em sujeitos do sexo masculino com esquizofrenia⁹². Contrariamente, pacientes com autismo⁹³, transtorno afetivo bipolar e pacientes do sexo feminino com esquizofrenia mostram aumento do volume da amígdala⁹². Porém, uma característica marcante dos estudos que se propuseram a avaliar o volume da amígdala é a ampla variação dos valores dos volumes encontrados. Os estudos já citaram volumes entre 1 e quase 4 cm³ em indivíduos normais^{74;94}. Outra característica marcante é o número de discrepâncias envolvendo os pontos de reparo anatômico para os limites da amígdala adotados nos diferentes protocolos de segmentação manual por RM. É presumível que a avaliação volumétrica de amígdala, devido ao seu pequeno tamanho, possa ser prejudicada pelo uso de imagens de baixa resolução por cortes grossos, ou por orientação desfavorável do corte. Ainda, a substância cinzenta que compõe a amígdala se funde com a substância cinzenta do corpo estriado, conferindo um desafio adicional à segmentação acurada. É possível inclusive que alguns estudos volumétricos da amígdala tenham superestimado seu volume⁹⁵, uma vez que se sabe por estudos post-mortem que o tamanho médio da amígdala é de 1.1 a 1.6 cm³⁶⁰.

Uma estratégia para avaliação adequada de todos os limites anatômicos da amígdala consiste na constante referência a vários planos de corte, simultaneamente, de forma certificar que todos os limites estejam sendo obedecidos⁷⁴. Não se sabe ainda se existe diferença significativa entre esse método e o que é usado rotineiramente, baseado apenas nos cortes coronais.

Uma das restrições quando se consideram os estudos morfométricos é a dificuldade de se estudarem amplas áreas cerebrais de forma detalhada. Pela necessidade de se aferir com rigor o volume da estruturas cerebral, os estudos raramente se detêm em mais

que duas ou três estruturas, devido à dificuldade técnica de segmentação manual de cada estrutura.

Uma outra forma para avaliação de diferenças morfométricas entre indivíduos ou grupos de indivíduos é a morfometria baseada em voxels (MBV)⁹⁶⁻⁹⁸. A MBV compreende a determinação da concentração espacial de substância branca, cinzenta ou líquido. Para a realização da estimativa da concentração de diferentes porções cerebrais, a MBV utiliza imagens previamente corrigidas quanto à variabilidade individual de tamanho cerebral pela normalização de cada imagem de RM para um formato definido no Atlas de Talairach e Tournoux⁹⁹. Estudos com MBV em ELTM demonstraram que existe lesão neuronal que se estende além do lobo temporal^{100;101}. No entanto, poucos estudos ainda foram direcionados ao problema e há uma série de questões que podem ser elucidadas com investigação de ELTM por MBV. Fundamentalmente, a MBV pode ser utilizada para avaliar se a extensão de dano neuronal através da comparação da concentração da substância cinzenta (CSC) em pacientes com ELTM, variando de acordo com tempo diferente de sintomas, ou com características eletroencefalográficas diferentes como alterações interictais bilaterais. Ainda, a MBV pode ser utilizada para investigação de eventual diferença de CSC em pacientes com ELTM refratária à medicação que não obtêm controle adequado de crises após cirurgia.

Uso da RM para avaliação da extensão do dano neuronal em pacientes com ELTM

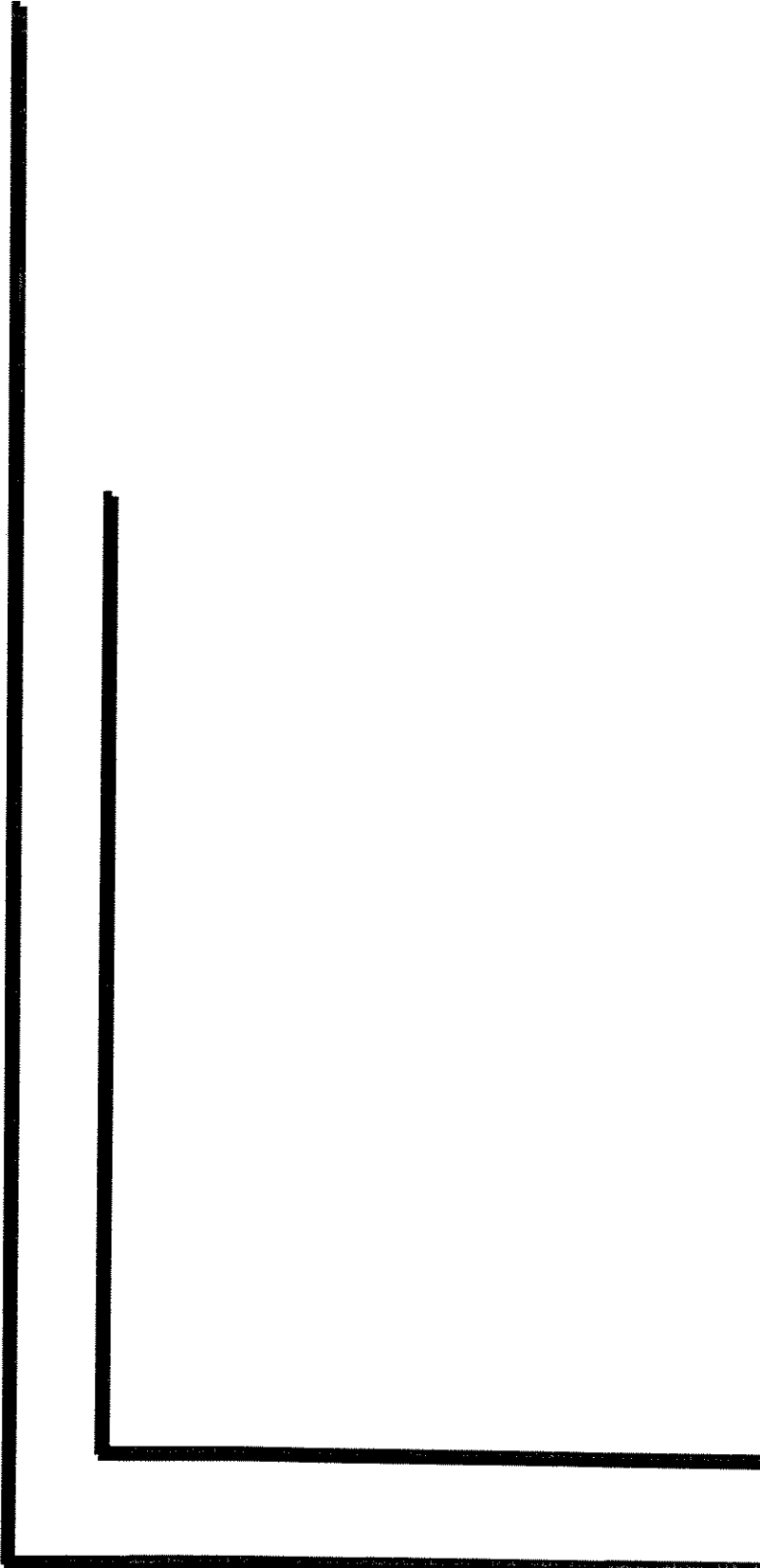
Estudos neurofisiológicos realizados em pacientes com ELTM mostraram que existe uma grande rede neural envolvida na geração e manutenção de crises epiléticas¹⁰². Além disso, o início das crises epiléticas em pacientes com ELTM pode ocorrer em diversas estruturas do sistema límbico (amígdala, hipocampo, córtex entorrinal), fato observado nos estudos eletrofisiológicos invasivos^{102;103}. Estudo de espectroscopia de prótons por RM multivoxel mostra que pacientes com epilepsia do lobo temporal têm redução da concentração de N-acetil-aspartato, marcador de integridade neuronal, além do lobo temporal envolvendo regiões extra-hipocámpais em 50% dos casos¹⁰⁴. Da mesma maneira, os estudos em pacientes com ELTM usando SPECT mostram alterações que vão

além das regiões temporais¹⁰⁵. Estes achados, junto com a explicação da secção das vias de propagação para os achados similares dos resultados cirúrgicos nos diferentes tipos de procedimento, levantam a hipótese de que geração das crises em ELTM pode iniciar em qualquer parte dentro de um circuito integrado³⁶ que abrange diferentes estruturas além do hipocampo. A hipótese de que existe uma rede neural envolvendo estruturas dentro e fora dos lobos temporais para geração e manutenção de crises é de certa forma uma explicação bastante plausível. Porém requer mais evidências, pois as existentes (EEG, espectroscopia e SPECT) têm uma resolução espacial limitada e não permitem a inferências sobre o grau de envolvimento das diversas estruturas nesta rede. A metodologia para investigar esta hipótese deve contemplar técnicas que têm boa resolução espacial com ampla cobertura anatômica.

A avaliação do dano tissular em pacientes com ELTM pode ser realizada através da avaliação morfométrica por RM, conforme demonstrado em estudos prévios^{31;37;79;83-85;106;107}. A realização da investigação do dano tissular por RM quantitativa requer basicamente dois passos. Em primeiro lugar são necessárias ferramentas técnicas que permitam a avaliação pormenorizada das estruturas cerebrais a serem investigadas. Essas ferramentas precisam ser implementadas e avaliadas quanto à sua confiabilidade. Só então pode ser realizado o segundo passo: a avaliação quantitativa das diferentes estruturas cerebrais em pacientes com ELTM e a comparação desses valores com aqueles obtidos em indivíduos sem doenças neurológicas.

Esses dois passos, a saber: o desenvolvimento e validação de novas ferramentas técnicas e a investigação biológica pelo uso dessas ferramentas, são necessários para que as conclusões dos estudos que se propõem a avaliar o dano neuronal em pacientes com ELTM possam ser confiáveis e espelhem os mecanismos subjacentes à doença.

Nesta tese, serão então perseguidos dois grandes objetivos: o desenvolvimento e a implementação de novas técnicas de investigação morfométrica por RM, e a quantificação do dano neuronal em pacientes com ELTM pelo uso dessas ferramentas.



OBJETIVOS

Com o intuito de avaliar quantitativamente através do uso de RM a presença de dano neuronal em pacientes com ELTM, os objetivos do presente estudo são divididos em dois grupos. No primeiro grupo encontram-se os objetivos referentes à investigação, definição e implementação de técnica para morfometria por RM da região medial do lobo temporal. No segundo grupo encontram-se os objetivos referentes à avaliação da relevância biológica e fisiopatológica das possíveis alterações de volume das estruturas mediais do lobo temporal.

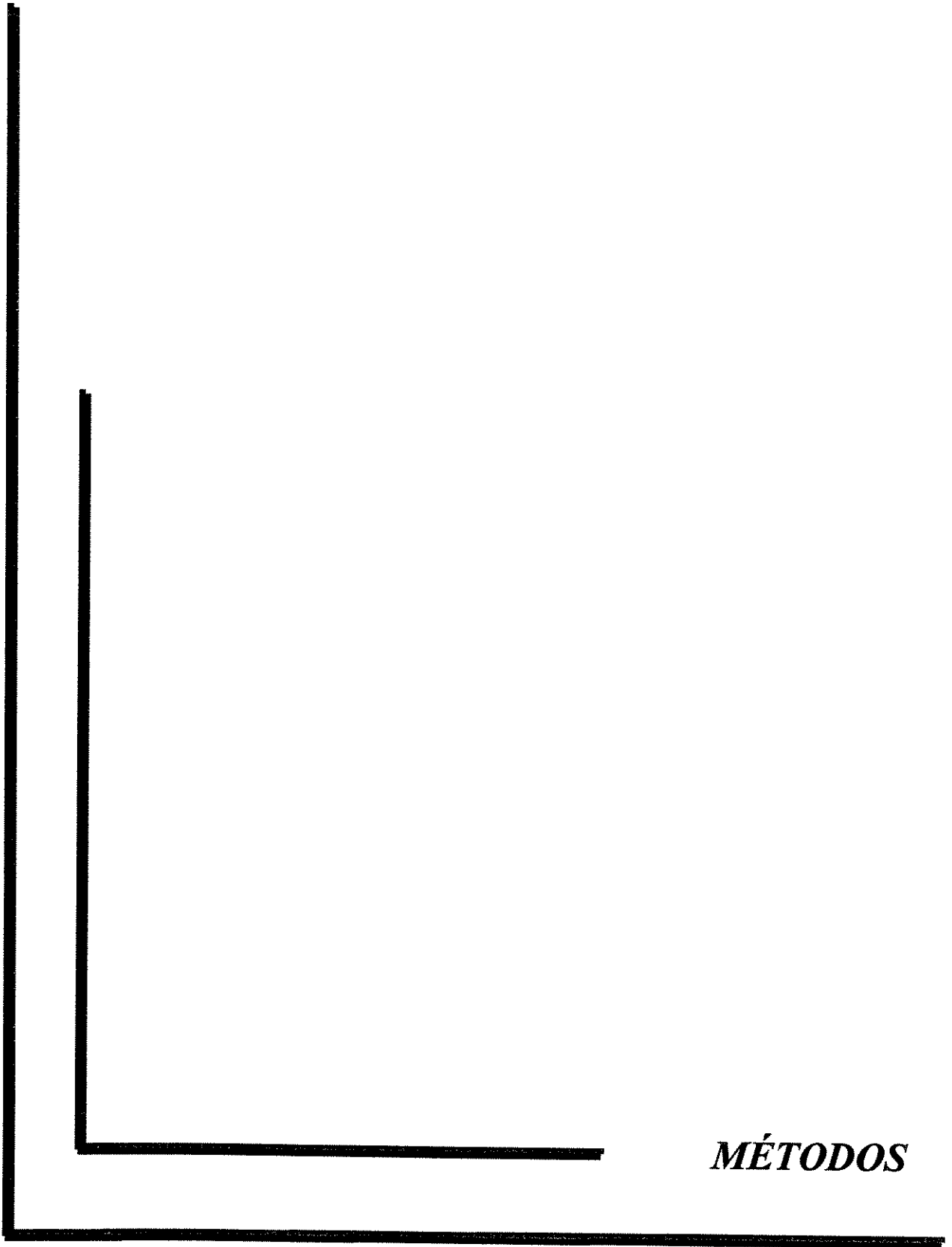
Dessa maneira, os objetivos técnicos são:

1. Definir um protocolo anatômico para quantificação volumétrica manual por RM da região medial do lobo temporal. Esse protocolo tem por objetivo ser acurado e reproduzível na avaliação quantitativa do: a) hipocampo, b) córtex entorrinal, c) córtex perirrinal, d) córtex parahipocampal, e) córtex têmporo-polar, f) amígdala. Para tanto, o protocolo deve ser definido para uso em aquisições de RM em cortes finos, com avaliação simultânea dos planos coronal, sagital e axial.
2. Definir quais as influências da qualidade da imagem de RM, e do método de volumetria na mensuração de estruturas mediais do lobo temporal.
3. Definir protocolo para investigação automática do tipo voxel por voxel de concentração de substância cinzenta (CSC), otimizado para pacientes com epilepsia do lobo temporal.

Os objetivos biológicos são:

4. Definir a magnitude e extensão do dano neuronal nas estruturas da região medial do lobo temporal em pacientes com ELTM refratários ao tratamento clínico.
5. Definir a influência da atrofia das diferentes estruturas mediais do lobo temporal sobre as manifestações clínicas dos pacientes com ELTM refratários ao tratamento clínico.

6. Definir a influência da atrofia das diferentes estruturas mediais do lobo temporal sobre as manifestações neuropsicológicas dos pacientes com ELTM refratários ao tratamento clínico.
7. Definir a presença e extensão do dano neuronal através da redução de CSC em todo o cérebro de pacientes com ELTM pelo uso de MBV.



Em virtude de cada objetivo contar com métodos específicos para sua realização, bem como resultados referentes a esses métodos, cada conjunto de métodos e resultados está discriminado em cada objetivo.

Objetivo 1 - Definir protocolo para segmentação manual de estruturas da região medial do lobo temporal

Métodos

Sujeitos

Nós estudamos 30 indivíduos saudáveis (19 mulheres), com idade média de 33 anos (abrangendo de 22 a 55 anos). Todos estavam em boas condições de saúde e não tinham história médica pregressa, inclusive de problemas neurológicos ou psiquiátricos.

Ética

Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de ética de nossa instituição.

Aquisição de imagem por RM

Nós usamos imagens ponderadas em T1 com voxel isotrópico de 1mm obtidas usando aquisição tipo gradiente-eco tridimensional, com excitação de volume sagital (TR=22ms, TE=9ms, matrix=256x220, field of view (FOV) = 25x25cm, fatias sagitais de 1mm). Todas as imagens foram obtidas por um scanner com campo magnético de 2 Tesla (Elscent Prestige®)

Pós-processamento de imagem

Todas as imagens foram transferidas para uma estação de trabalho Silicon Graphics O₂ (Mountain View, CA). Algoritmos diferentes do Centro de Imagem Cerebral McConnell do Instituto Neurológico de Montreal foram usados para preparar o volume de RM para análise quantitativa e qualitativa. Em primeiro lugar, as imagens foram convertidas do formato Dicom para o formato Minc. Em segundo lugar, as imagens foram registradas automaticamente no espaço estereotático¹⁰⁸ de forma a ajustar as diferenças no volume cerebral e orientação espacial,

e minimizar a variabilidade na orientação das fatias⁹⁹. Essa transformação maximiza a correlação entre a imagem individual de RM e uma imagem alvo constituída pela média de um pouco mais de 300 cérebros já registrados nas coordenadas estereotáticas¹⁰⁸. Nove parâmetros de transformação foram utilizados, incluindo as diferenças na posição cerebral (três translações e três rotações) e tamanho cerebral (escala anisotrópica nos três principais eixos). A matrix de transformação é aplicada às coordenadas individuais de forma a obter o registro das imagens no espaço estereotático. Esse processo normaliza as diferenças no volume intracraniano total. Em terceiro lugar, as imagens foram submetidas à correção de não-uniformidade do campo magnético pelo uso do programa N3¹⁰⁹.

Análise Volumétrica

A segmentação foi realizada de forma manual pelo uso do pacote interativo Display (David McDonald) desenvolvido no Centro de Imagem Cerebral McConnell do Instituto Neurológico de Montreal. A delineação de limites anatômicos é facilitada pelo ajuste de contraste e pela possibilidade de navegação através dos voxels isotrópicos de 1mm em diferentes orientações com a mesma resolução. Os volumes das estruturas marcadas são automaticamente calculados pelo programa. Apesar da possibilidade de quantificação semi-automática das estruturas, nós preferimos usar a delineação manual de forma a aumentar a acurácia da edição das imagens.

Os volumes foram determinados por dois observadores. Todos os volumes foram determinados pelo autor dessa tese, enquanto a colega Dra. Eliane Kobayashi mediu os volumes de 5 indivíduos para fins de avaliação de confiabilidade do método. Todos os pontos de reparo anatômicos foram baseados em trabalhos publicados previamente que estudaram as características histológicas e anatômicas da região medial e anterior do lobo temporal. Embora a maioria desses estudos^{79;83;85;86} tenham apresentado completa descrição de todos os pontos de reparo anatômicos, apenas alguns realizaram a análise por método tridimensional. Desta maneira nós intencionamos definir um protocolo que pudesse ser seguido através da referência rápida aos planos axial, coronal e sagital (Table 1) de forma a definir precisamente a localização de pontos de reparo anatômicos que de outra maneira seriam dificilmente ou de forma inacurada delineados em análises morfométricas realizadas em planos únicos^{42;86;110}.

Confiabilidade

A confiabilidade intraobservador foi avaliada pela seleção ao acaso de cinco sujeitos e pela segmentação ao acaso de todas as estruturas por duas vezes consecutivas. A confiabilidade entre observadores foi avaliada pela comparação dos volumes de todas as estruturas de cinco sujeitos escolhidos ao acaso avaliados por dois observadores (L.B. e E.K.) que desconheciam os resultados obtidos por um ou por outro. Foi utilizado o coeficiente de repitabilidade adotado pela Instituição de Parâmetros Britânica¹¹¹ calculado pelo desvio padrão das diferenças, para avaliar a confiabilidade intraobservador e entre observadores. A diferença média é assumida como zero e o coeficiente é calculado pela adição do quadrado da diferença entre as duas medidas. O resultado é a raiz quadrada da soma dos quadrados das diferenças dividida por n (ou seja, o número de indivíduos). De forma a concluir que não há diferença significativa entre as medidas, espera-se que 95% das diferenças sejam menos que dois desvios padrão do valor de cada estrutura.

Análise estatística

Os dados foram avaliados usando o programa Systat para Windows (versão 9.0). Foram descritos o valor mínimo, o valor máximo, a média e o desvio padrão referentes aos volumes das estruturas avaliadas. Utilizou-se o teste t de estudante para calcular a diferença média de idade agrupada por gênero. A análise de variância multivariada (MANOVA) foi usada para comparação dos volumes agrupados por gênero. Foi aplicado o teste t de estudante para avaliar a diferença média lado-a-lado de cada estrutura. Utilizou-se ainda regressão linear para avaliação de correlação entre idade e volume das estruturas. O nível de significância estatística foi definido em $p < 0.05$.

Protocolo de segmentação

Os limites anatômicos utilizados para segmentação estão descritos na tabela 1. O plano coronal foi o ponto de partida para a segmentação de todas as estruturas exceto a amígdala, uma vez que a maioria dos pontos de reparo pode ser definida nesse plano. Dúvidas referentes à autenticidade do ponto de reparo visualizado foram resolvidas pela avaliação concomitante dos outros dois planos. Por fim, para a definição de algumas estruturas específicas encontra-se grande

dificuldade com o uso apenas do plano coronal. Nesses casos os planos axial ou sagital são usados como ponto de partida.

Os passos envolvidos no processo de segmentação envolvendo os pontos de reparo discriminados na tabela 1 e as peculiaridades referentes a cada estrutura são discutidos abaixo.

	do sulco colateral ou borda medial do sulco temporal inferior se o sulco colateral não estiver presente.	parahipocampal. No corte 2mm posterior ao fechamento do sulco lateral a margem superior é o ponto localizado na metade da superfície do giro parahipocampal. No cortes caudais: metade do banco superior do sulco colateral. Nos cortes 3mm and 4mm caudais ao fechamento do giro, a margem superior é definida onde a substância cinzenta forma um contínuo com o feixe angular.				
Córtex entorrinal	Inicia 3 mm posterior ao fechamento do sulco lateral.	Transição entre substâncias branca e cinzenta. A margem infero-lateral é definida como a metade do banco superior do sulco colateral.	Superfície pial.	Localizado no ponto mais medial do giro parahipocampal ou no fundo do sulco semianular, ou no ponto correspondente à metade da superfície pial entre a fenda uncal e o sulco entorrinal. Em cortes caudais a fissura hipocampal é	Localizada na metade do banco superior do sulco colateral.	Termina 2mm posterior ao fechamento do giro intrafimbrio.

	definida como a borda superior, ou, em sua ausência, a linha que forma um contínuo com a substância branca do feixe angular.					
Córtex para	No corte 5mm	Ver margem	Superfície pial.	Localizado no ponto em que	Localizado no banco	Termina no mesmo
Hipocampal	posterior ao fechamento do giro intralímbico.	superior.		uma linha arbitrária subjacendo o subículo e o parasubículo se estende medialmente para tocar a superfície pial. Nos cortes posteriores localiza-se no limite inferior do banco inferior da fissura calcarina.	inferior do sulco colateral.	corte contendo a porção mais posterior do hipocampo.
Amígdala	No corte em que se observa o fechamento do sulco lateral.	Porção lateral (pixels dispostos lateralmente) do semicírculo desenhado no plano axial.	Localizado uma coluna de pixels lateral à superfície pial inferior ao sulco semianular. Em cortes caudais à fissura hipocampal, localiza-se na superfície pial e no limite caudal	Definido pela linha entre o sulco endorrinal e o fundo da porção inferior do sulco circular da ínsula.	Definido pela linha entre o fundo do sulco semianular (ou o ponto correspondente à metade da superfície pial entre a fenda uncal e o sulco endorrinal) e o corno inferior do ventrículo	Termina no ponto em que a substância cinzenta surge superior ao alveus e lateral à cabeça do hipocampo.

	localiza-se na				lateral, ou definido
	protuberância medial				pela intersecção da
	da cabeça do				superfície pial pela
	hipocampo.				linha que forma um
					contínuo com a
					substância branca do
					feixe angular.
Hipocampo	Definido pelo	Localizado duas	Localizado na	Linha horizontal definida	Infero-medial: linha
	alveus ou pelo	colunas de pixels	intersecção da	pela borda superior e lateral	formada pela transição
	cornio temporal	medial ao limite	superfície pial com a	da cisterna quadrigeminal.	substância branca e
	do ventrículo	lateral da substância	linha que forma um		cinzenta. Infero-
	lateral ou os	cinzenta da porção	contínuo com a		lateral: linha orientada
	limites postero-	medial do ventrículo	substância branca do		em 45° da parte mais
	inferiores da	lateral. O limite	feixe angular.		inferior do corpo
	amígdala.	infero-lateral é			hipocampal (da
		definido por uma	Nos cortes mais		substância cinzenta
		linha que forma um	caudais é definido por		subjacendo o pré-
		contínuo com a	uma linha vertical		subículo e o subículo).
		substância branca.	line do limite medial		
			do ventrículo lateral.		

* O giro transverso de Schwalbe é definido como o giro lateral ao sulco têmporo-polar.

** O fechamento do sulco lateral é definido pela junção inequívoca dos lobos temporal e frontal.

*** O giro intralímbico é definido no plano sagital pelo primeiro corte caudal ao extremo posterior do limbo de Giacomini.

Observações:

1. O sulco colateral, a fissura calcarina e o alveus são definidos nos cortes sagitais.
2. Cada corte corresponde a 1mm.
3. Ver figura abaixo para glossário de estruturas do sulco.

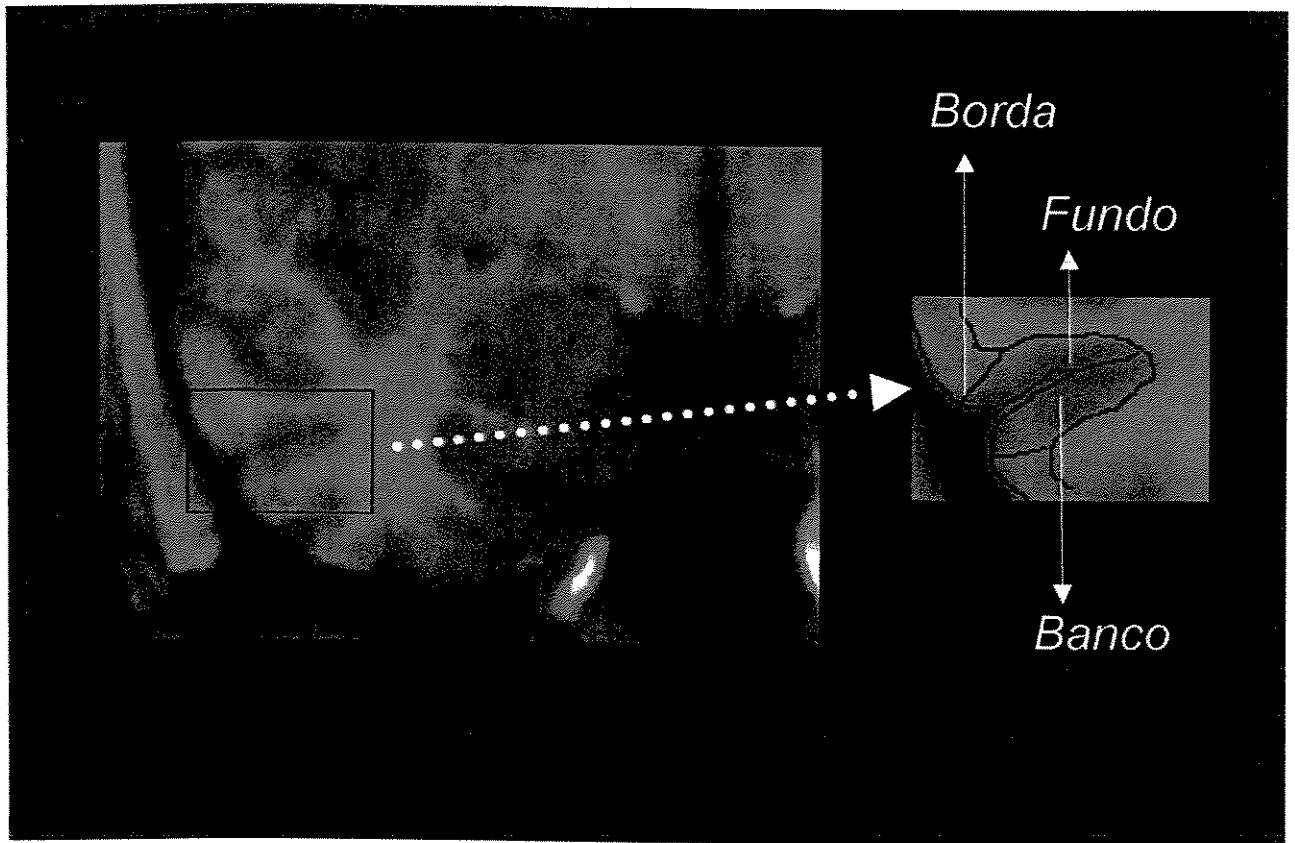


Figura 1-Glossário de estruturas do sulco

1. Córtex têmporo-polar (Figura 2 – A,B,C) – a segmentação do córtex têmporo-polar segue orientação rostro-caudal. No pólo rostral do lobo temporal, todo o córtex pertence ao córtex têmporo-polar até que o sulco têmporo-polar apareça definindo o giro transversal de Schwalbe, que é lateral ao sulco têmporo-polar (Figura 1B). O banco lateral do giro transversal de Schwalbe define os limites superior e lateral do córtex têmporo-polar. Quando há dois giros laterais ao sulco têmporo-polar, o banco lateral do giro mais lateral é definido como a borda lateral do córtex têmporo-polar. O limite inferior é definido como a borda medial do sulco temporal inferior (Figura 1B) ou do sulco temporal superior, se o sulco temporal inferior não estiver presente. O córtex lateral aos pontos de reparo citados tem arquitetura de isocórtex e não pertence ao córtex têmporo-polar. Um aumento de espessura e uma invaginação do córtex são percebidos na porção medial do córtex têmporo-polar em cortes mais caudais. Nesse ponto não se vê claramente um sulco, que seria correspondente ao sulco colateral, que é geralmente visível em plano coronal adjacente ao plano de fechamento do sulco lateral. Por razões de consistência, esse espessamento cortical não foi considerado como sendo o sulco colateral, cujo aparecimento ocorreu na maioria dos casos em cortes 1 a 2mm anteriormente ao fechamento do sulco lateral. Dessa maneira, o limite anterior do córtex perirrinal foi definido no plano coronal 2 mm anterior ao fechamento do sulco lateral, e o limite caudal do córtex têmporo-polar foi definido no plano 3mm anterior ao fechamento do sulco lateral.

2. Córtex entorrinal (Figura 2 – D,E,F)- a segmentação do córtex entorrinal segue orientação rostro-caudal. O limite superior do córtex entorrinal é o sulco semianular em cortes mais rostrais (Figura 2E). Em planos caudais onde a fissura hipocampal é visível, o limite superior é definido como o ponto mais medial da parte inferior da fissura hipocampal. O limite inferior é definido como o ponto médio do banco medial do sulco colateral. O limite medial é a superfície pial, enquanto o limite lateral é a substância branca do feixe angular. O limite caudal do córtex entorrinal é o plano 2mm caudal ao fechamento do giro intralímbico.

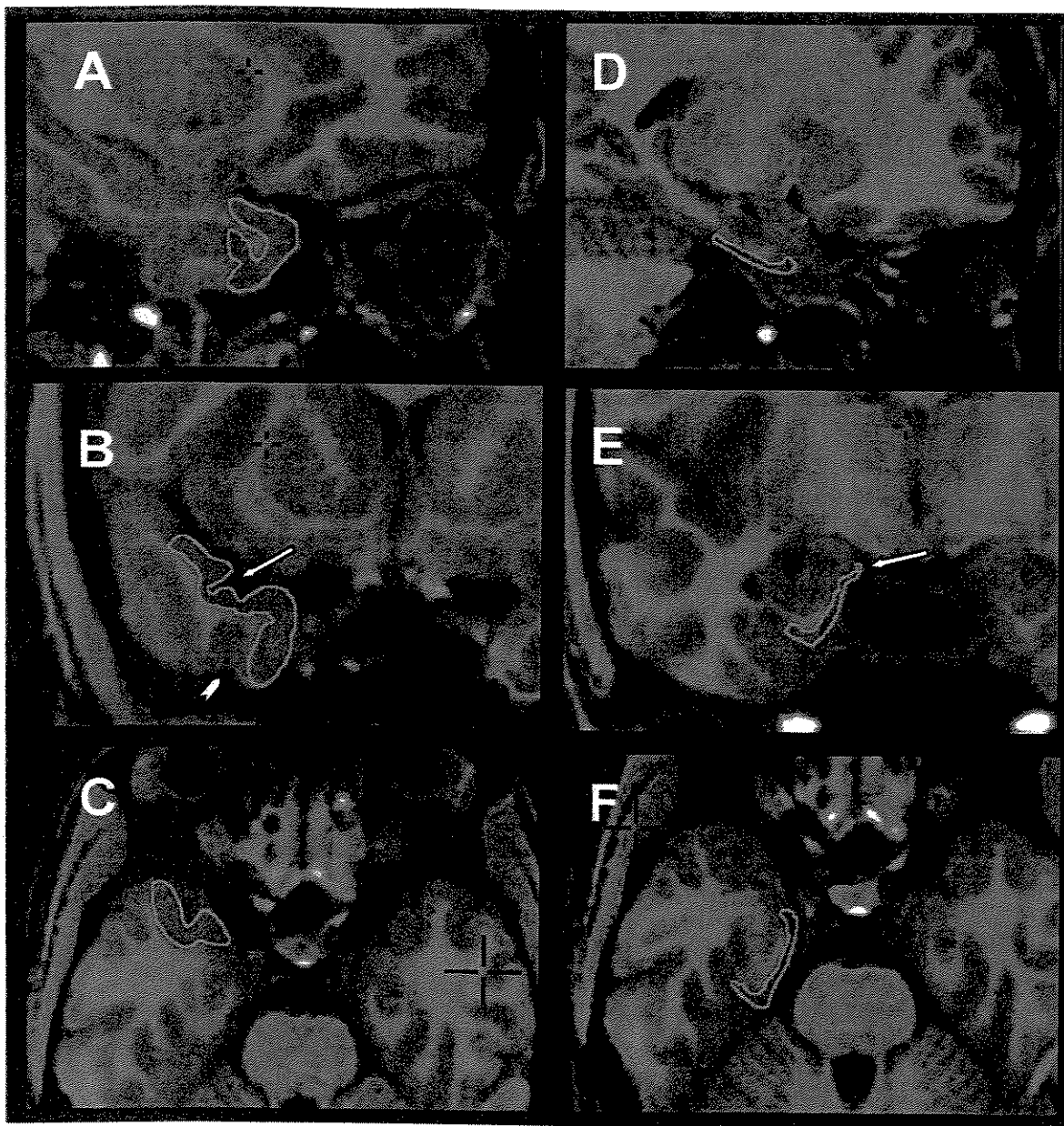


Figura 2- Composto de imagens de RM mostrando o córtex têmporo-polar (A – plano sagital, B – plano coronal e C – plano axial) e o córtex entorrinal (D – plano sagital, E – plano coronal e F – plano axial). As margens anatômicas estão delineadas por desenho das bordas. Em B, a seta indica o sulco têmporo-polar e a cabeça de seta indica o sulco temporal inferior. Em D, a seta indica o sulco semianular.

3. Córtex perirrinal (Figura 3 - A,B,C,D,E) – A segmentação do córtex perirrinal segue orientação rostro-caudal. O limite rostral do córtex perirrinal é o plano 2mm anterior ao fechamento do sulco lateral. Nos dois planos mais rostrais, o córtex perirrinal tem as mesmas bordas que o córtex têmporo-polar, i.e., o banco lateral do giro transversal de Schwalbe e a borda medial do sulco temporal inferior (que usualmente corresponde ao giro fusiforme, lateral ao sulco colateral). No plano em que o fechamento do sulco lateral é visível e no plano imediatamente caudal, o limite superior do córtex perirrinal é o ponto mais medial do giro parahipocampal, e o limite inferior é definido na borda lateral do sulco colateral (Figura 2A). A profundidade do sulco colateral pode ser usada para definir os limites dos córtices perirrinal e entorrinal⁸⁶. No entanto, optou-se por não adotar a profundidade do sulco colateral como variável para alterar os pontos de reparo pois há grande variação da profundidade do sulco colateral de um corte para outro. Utilizaram-se então os pontos de reparo definidos para o sulco colateral com profundidade de tamanho mais frequente⁸⁶. No plano 2mm caudal ao fechamento do sulco lateral, o limite superior do córtex perirrinal é uma linha com 45° de angulação conectando o ponto médio do aspecto medial do giro parahipocampal, enquanto o limite inferior é a borda lateral do sulco colateral (Figura 2B). Nos planos caudais seguintes, o limite inferior é definido como a borda lateral do sulco colateral até o limite caudal, enquanto o limite superior é definido como o ponto médio do banco medial do sulco colateral até o plano 2mm caudal ao fechamento do giro intralímbico (Figura 2C). Nos planos 3mm and 4mm caudais ao fechamento do giro intralímbico, o limite superior é definido onde a substância cinzenta forma um contínuo com o feixe angular subjacente, i.e., o ponto mais medial da parte inferior da fissura hipocampal. O fechamento do giro intralímbico é definido no plano sagital. O limite caudal do córtex perirrinal é o plano 4mm posterior ao fechamento do giro intralímbico (Figura 3D).

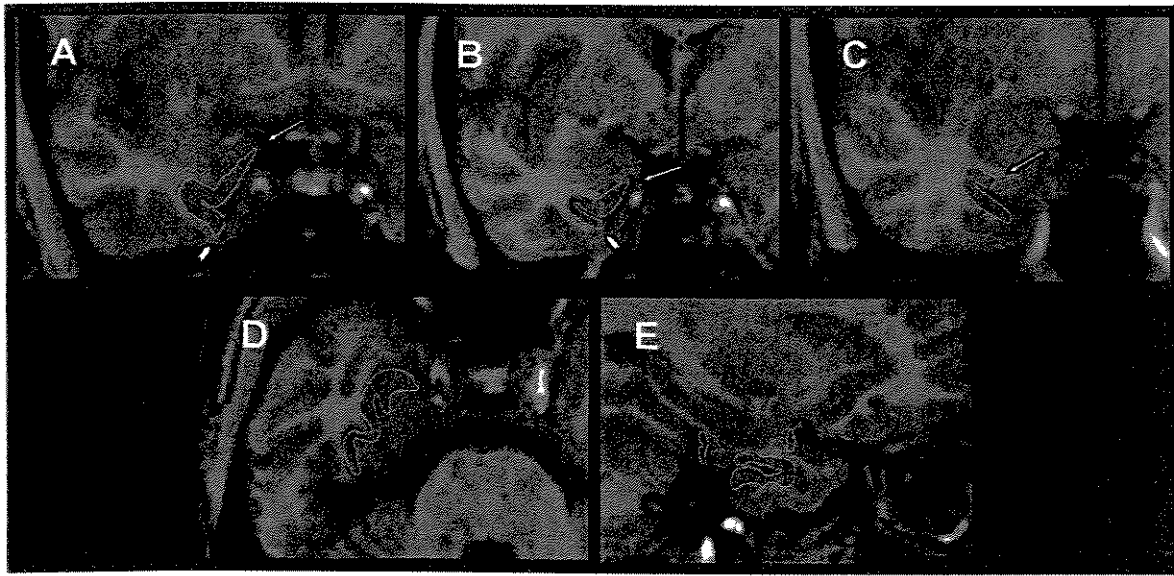


Figura 3- Composto de imagens de RM mostrando o córtex perirrinal (A, B e C: plano coronal; D: plano axial; E: plano sagital). A, B e C mostram diferentes pontos de reparo anatômicos do córtex perirrinal na sequência rostro-caudal (A, B e C respectivamente). As margens anatômicas estão delineadas por desenho das bordas. Em A, a seta indica o ponto mais medial do giro parahipocampal, e a cabeça de seta indica a borda medial do sulco temporal inferior. Em B, a seta indica o ponto mais medial do giro parahipocampal. Em C, a seta indica a metade do banco superior do sulco colateral.

4. Córtex parahipocampal (Figura 4- A,B,C) – a segmentação do córtex parahipocampal segue orientação rostro-caudal. O limite lateral do córtex para-hipocampal é a borda do banco lateral do sulco colateral, e o limite medial é o ponto mais medial da parte inferior da fissura hipocampal. Nos planos mais caudais, onde o sulco calcarino é presente, o limite medial é definido como o ponto mais superior, sem envolver o banco inferior do sulco calcarino (Figura 3B). O sulco calcarino e seu limite rostral são definidos pelos cortes sagitais. O limite caudal do córtex parahipocampal é a seção mais caudal contendo o hipocampo, i.e., o limite caudal do hipocampo.

5. Hipocampo (Figura 4- D,E,F) – cabeça do hipocampo: os limites anterior e súpero-lateral no limite rostral do hipocampo são difíceis de definir. Nessa região, a substância cinzenta da cabeça hipocampal se funde com a substância cinzenta da amígdala. O recesso uncal do ventrículo lateral e o alveus são utilizados para distinção entre a cabeça hipocampal e outras estruturas. Há uma grande dificuldade para segmentar essa região com base apenas no plano coronal. A referência constante a todos os plano é possivelmente a melhor estratégia para delineação das margens. A cabeça do hipocampo foi definida como continuando uma coluna adicional de pixels anteriormente ao alveus. A definição dessa margem é mais facilmente realizada com a visualização do plano sagital e com a definição das margens posteriores da amígdala no plano axial (ver secção referente a amígdala abaixo). A margem inferior da cabeça do hipocampo é definida como a transição entre as substância branca e cinzenta que subjaz o subículo ou uma linha com ângulo de 45° que se estende da parte mais inferior do hipocampo à cisterna quadrigeminal. Eventualmente, uma linha de substância branca separando o subículo e o córtex entorrinal é vista, e serve como limite. O limite lateral da cabeça do hipocampo é o ventrículo lateral. Corpo do hipocampo – as margens inferior e lateral do corpo hipocampal são definidas da mesma maneira que para a cabeça hipocampal. A margem superior inclui a fimbria e a primeira coluna de pixels imediatamente superior à fimbria. Cauda do hipocampo – o hipocampo se inicia em seu limite caudal como massa ovóide de substância cinzenta localizada inferior e medialmente ao ventrículo lateral. Nessa região, onde se observa a fimbria do fórnix, duas colunas de pixels são excluídas lateralmente por representarem o plexo coróide do ventrículo lateral. De forma a não incluir o giro de Andreas-Retzius na segmentação, nós

aplicamos uma linha vertical conectando o ponto medial do ventrículo e o giro parahipocampal, servindo como borda medial. Ainda, para prevenir a inclusão do giro faciolar na segmentação, nós definimos a margem superior como uma linha horizontal conectando a parte mais lateral da cisterna quadrigeminal ao ventrículo lateral. As margens ínfero-laterais da cauda hipocampal são facilmente definidas pois correspondem à transição com a substância branca. Uma coluna de pixels é excluída da borda ínfero-lateral para excluir o núcleo caudado e o plexo coróide do ventrículo lateral.

6. Amígdala (Figura 4– G,H,I) – para a segmentação da amígdala usa-se referência constante aos planos coronal, sagital e axial. A forma mais simples de se definirem os limites pósterio-inferior consiste na visualização no plano axial do alveus e do ventrículo lateral, sob grande magnificação da imagem (Figura 3I). Quando há dificuldade para definir o alveus, pode-se utilizar a região da cabeça do hipocampo demonstrada no plano sagital. Uma coluna de pixels é adicionada na região do alveus. Após a definição das margens pósterio-inferiores, os limites anteriores por um semi-círculo desenhado anteriormente a origem de seu raio definido no ponto médio da linha desenhada sobre o alveus. Atenção especial foi devotada à não inclusão do córtex entorrinal na região da amígdala. Dessa maneira, evitou-se a inclusão das colunas de pixels localizadas anteriormente ou medialmente, ou o córtex entorrinal foi segmentado antes da amígdala e já estava demarcado na segmentação da amígdala. Após a definição das margens no plano axial, uma análise completa no sentido rostro-caudal foi realizada no plano coronal, com atenção particular ao limite superior da amígdala, definido por uma linha horizontal conectando a parte mais lateral da cisterna quadrigeminal ao fundo do sulco circular da insula, ao limite inferior, definido como a transição entre substância branca e cinzenta. Por fim, o surgimento do limite rostral do hipocampo na região ínfero-lateral à amígdala também foi usado como referência.

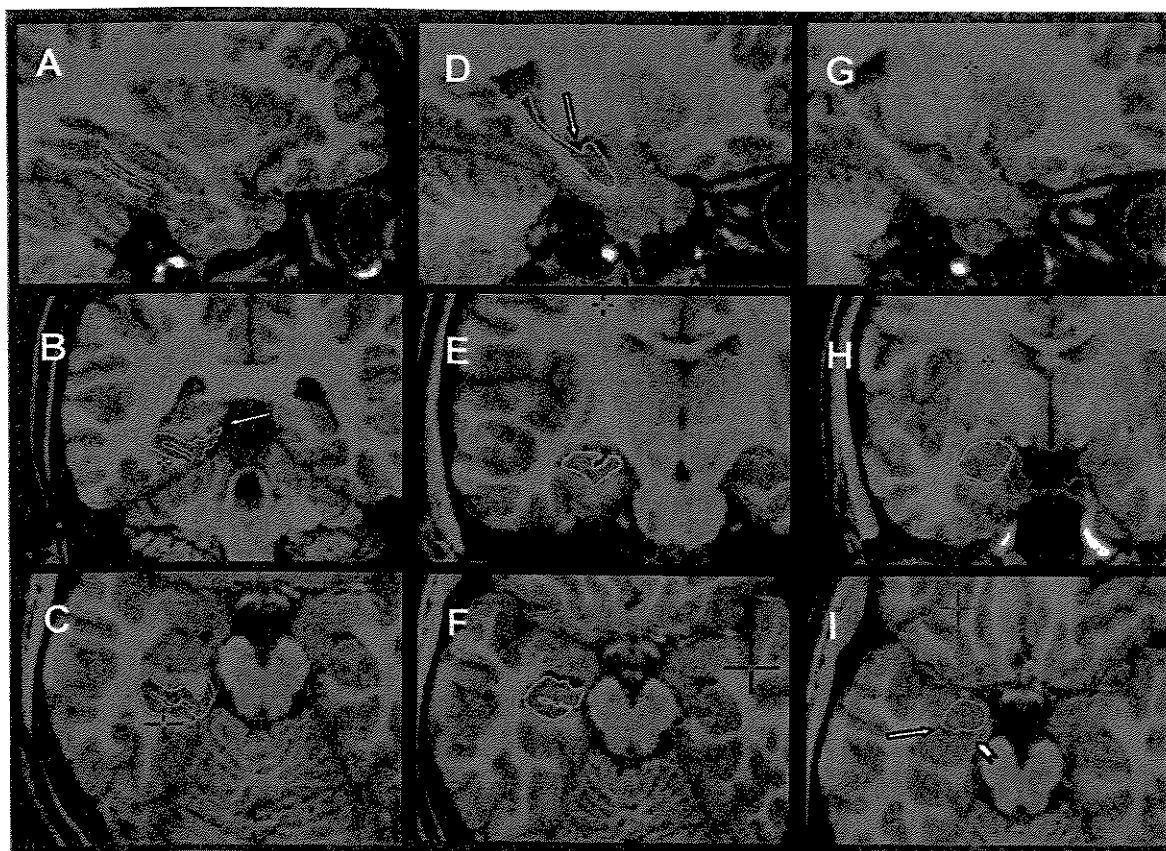


Figura 4- Composto de imagens de RM demonstrando o córtex parahipocampal (A – plano sagital, B – plano coronal e C – plano axial), o hipocampo (D – plano sagital, E – plano coronal e F – plano axial) e a amígdala (G – plano sagital, H – plano coronal e I – plano axial). Em B, a seta indica o limite inferior do banco inferior da fissura calcarina. Em D, a seta indica o fechamento do giro intralímbico. Em I, a seta indica o corno temporal do ventrículo lateral, e a cabeça de seta indica o alveus.

Resultados

Foram estudados 30 indivíduos (19 do sexo feminino) com idade média de 33,5 anos ($\pm 10,25$ anos) abrangendo de 21 a 55 anos.

Os valores máximos, mínimos, a média e o desvio padrão relativos aos volumes de cada estrutura analisada estão demonstrados na tabela 2.

Tabela 2- Volumes máximos, mínimos, média e desvio padrão dos volumes das estruturas mediais do lobo temporal (em mm³)

Todos os sujeitos	Córtex perirrinal esquerdo	Córtex perirrinal direito	Córtex têmporo-polar esquerdo	Córtex têmporo-polar direito	Córtex entorrinal esquerdo	Córtex entorrinal direito	Córtex parahipocampal esquerdo	Córtex parahipocampal direito	Hipocampo esquerdo	Hipocampo direito	Amígdala esquerda	Amígdala direita
Máximo	3063	2860	4032	4078	1660	1897	2586	2273	3949	3999	1946	2175
Mínimo	1315	1395	1987	1981	703	711	1227	1146	2458	2369	1108	1112
Média	2256.14	2198.76	3234.93	3133	1107.79	1143.55	1620.62	1536.52	3238.79	3222.31	1544.31	1503
Desvio padrão	394.24	438.547	468.591	590.297	266.301	310.233	313.981	303.279	382.2	345.835	247.066	263.292
Homens												
Máximo	2881	2922	4032	3962	1564	1897	2250	2469	1946	1846	3949	3729
Mínimo	2029	1953	2785	2202	858	819	1280	1146	1046	1010	2594	2710
Média	2410.27	2333.73	3324.82	3168.73	1165.73	1218.64	1588.55	1505.73	1629.64	1578.64	3089.09	3099.55
Desvio padrão	337.774	321.088	382.784	562.715	221.01	292.646	316.93	377.748	281.025	272.644	356.592	290.435

	Mulheres											
Máximo	3063	2860	3942	4282	1660	1752	2590	2572	1919	2175	3901	3999
Mínimo	1315	1395	1987	1981	703	711	1227	1195	1108	1112	2458	2369
Média	2203.61	2151.33	3196.78	3136.67	1103.56	1132.28	1728.89	1651.67	1509.11	1471.28	3330.17	3315.83
Desvio padrão	412.688	473.568	513.577	632.085	292.117	324.74	410.305	404.901	225.773	251.849	377.256	386.579

Métodos

Avaliação da confiabilidade

Os resultados dos cálculos relativos à avaliação de confiabilidade estão mostrados na tabela 3. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os resultados das mensurações realizadas por um observador ou entre dois observadores, uma vez que todas as diferenças entre as duas mensurações equivaleram a menos que dois desvios padrão das diferenças de cada estrutura.

Tabela 3- Valores da avaliação de confiabilidade (em mm³):

Estruturas	Córtex peririnal esquerdo	Córtex peririnal direito	Córtex entorrinal esquerdo	Córtex entorrinal direito	Córtex têmporo- polar esquerdo	Córtex têmporo- polar direito	Córtex parahipocampal esquerdo	Córtex parahipocampal direito	Hipocampo esquerdo	Hipocampo direito	Amígdala esquerda	Amígdala direita
Primeira medida n=5												
Média	2402.6	2408	1181	1278.2	3202.4	3194.2	1824.4	1849.2	2981.6	2967.2	1628.6	1708
Desvio padrão	219	304	163	221	157	411	374	479	289	161	200	306
Intra-observador												
Média	2359.4	2277	1113.4	1221.8	3242.4	3203.4	1598.21	1526.06	3061	3117.2	1524.8	1545
Desvio padrão	143	201	159	145	210	305	793	774	279	114	195	286
Desvio padrão das diferenças●	206	211	117	151	127	205	299	230	179	125	183	269
Coefficiente de repetibilidade■	412	422	234	302	254	410	598	460	358	250	366	538

Métodos

Entre observadores												
Média	2572	2511.6	1184	1132.4	3157.4	2931.4	1398	1582.2	3376	3434.2	1485	1459.4
Desvio padrão	238	292	196	185	280	416	247	305	364	362	49	234
Desvio padrão das diferenças●	186	286	241	135	200	152	227	190	151	199	243	120
Coefficiente de repetibilidade■	372	572	482	270	400	304	454	380	302	398	486	240

● Desvio padrão das diferenças: A diferença média é assumida como zero e calcula-se o desvio padrão das diferenças ao somarem-se o quadrado das diferenças entre as duas mensurações. O resultado é então dividido pelo número de mensurações repetidas e obtém-se a raiz quadrada desse valor¹¹¹.

■ Coeficiente de repetibilidade: O coeficiente é duas vezes o desvio padrão das diferenças. De forma a concluir que não há diferença significativa entre as mensurações, espera-se que 95% sejam equivalentes a menos que dois desvios padrão da medida das estruturas.¹¹¹.

Efeito de gênero ou idade nos volumes corticais

O teste t de estudante não mostrou diferença na média das idades quando os sujeitos forma agrupados por gênero $t(28)=0.151$, $p=0.881$.

Córtex têmporo-polar: o teste multivariado (MANOVA) não mostrou diferença no volume agrupado por gênero: têmporo-polar córtex direito $\lambda(28)=0.02$, $p=0.889$; têmporo-polar córtex esquerdo $\lambda(28)=0.648$, $p=0.428$. A análise por regressão linear não mostrou associação significativa com idade, direito e esquerdo, respectivamente, $p=0.976$; $p=0.956$. O teste t com ajuste de Bonferroni não mostrou diferença no volume do córtex têmporopolar agrupado por lado, $t(58)=-0.638$, $p=0.526$. Córtex perrrinal: MANOVA não mostrou diferença no volume do lado direito ou esquerdo agrupados por gênero, respectivamente $\lambda(28)=1.676$, $p=0.206$; $\lambda(28)=2.362$, $p=0.136$. Regressão linear não mostrou associação significativa com idade, lados direito e esquerdo, respectivamente, $p=0.952$; $p=0.211$. Tese t com ajuste de Bonferroni não mostrou diferença no volume do córtex perirrinal agrupado por lado, $t(58)=-0.631$, $p=0.531$. Córtex entorrinal: MANOVA, lados direito e esquerdo agrupados por gênero: $\lambda(28)=0.735$, $p=0.398$; $\lambda(28)=0.576$, $p=0.454$. Regressão linear não mostrou associação com idade, lados direito e esquerdo, respectivamente, $p=0.056$; $p=0.083$. Teste t com ajuste de Bonferroni não mostrou diferença no volume do córtex entorrinal agrupado por lado $t(58)=-0.617$, $p=0.503$. Córtex parahipocampal: MANOVA, lados direito e esquerdo agrupados por gênero: $\lambda(28)=0.904$, $p=0.35$; $\lambda(28)=0.867$, $p=0.360$. Regressão linear não mostrou associação significativa com idade, lados direito e esquerdo, respectivamente, $p=0.775$; $p=0.671$. Teste t com ajuste de Bonferroni não mostrou diferença no volume do córtex entorrinal agrupado por lado $t(58)=-0.789$, $p=0.433$. Amígdala: MANOVA, lados direito e esquerdo agrupados por gênero: $\lambda(28)=1.429$, $p=0.242$; $\lambda(28)=1.764$, $p=0.195$. Regressão linear não mostrou associação significativa com idade, lados direito e esquerdo, respectivamente, $p=0.370$; $p=0.172$. Teste t com ajuste de Bonferroni não mostrou diferença no volume do córtex parahipocampal agrupado por lado $t(58)=-0.723$, $p=0.472$. Hipocampo: MANOVA, lados direito e esquerdo agrupados por gênero: $\lambda(28)=3.009$, $p=0.094$; $\lambda(28)=3.541$, $p=0.070$. Regressão linear não mostrou associação significativa com idade, lados direito e esquerdo, respectivamente, $p=0.370$; $p=0.736$. Teste t com ajuste de

Bonferroni não mostrou diferença no volume do córtex parahipocampal agrupado por lado $t(58)=-0.124$, $p=0.902$.

O intervalo de confiança de 95% foi calculado para cada uma das estruturas avaliada, e os limites de confiança (mínimo e máximo, respectivamente) são: 1. córtex perrinal esquerdo ($2128-2410 \text{ mm}^3$), 2. córtex perirrinal direito ($2047-2355 \text{ mm}^3$), 3. córtex entorrinal esquerdo ($1022-1212 \text{ mm}^3$), 4. córtex entorrinal direito ($1043-1265 \text{ mm}^3$), 5. córtex têmporo-polar esquerdo ($3070-3400 \text{ mm}^3$), 6. córtex têmporo-polar direito ($2939-3359 \text{ mm}^3$), 7. córtex parahipocampal esquerdo ($1239-1505 \text{ mm}^3$), 8. córtex paraipocampal direito ($1455-1733 \text{ mm}^3$), 9. amígdala esquerda ($1464-1640 \text{ mm}^3$), 10. amígdala direita ($1412-1596 \text{ mm}^3$), 11. hipocampo esquerdo ($3118-3396 \text{ mm}^3$), 12. hipocampo direito ($3115-3375 \text{ mm}^3$). O intervalo de confiança de estudos prévios^{81;83;84;86;112} são mostrados na tabela 4 para comparação.

Tabela 4- Valores do volumes obtidos por segmentação manual por outros autores, com protocolos anatômicos similares. Média $\pm$ Desvio Padrão, (intervalo de confiança: mínimo - máximo limites de confiança), em mm³.

Estruturas	Córtex entorrinal	Córtex entorrinal	Córtex perirrinal	Córtex perirrinal	Córtex temporo-polar	Córtex parahipocampal	Córtex parahipocampal
	Direito	esquerdo	direito	esquerdo	polar direito	esquerdo	direito
Insausti et al ⁸⁶ *							esquerdo
Sujeitos controles novos (21 a 43 anos) n=20							
Todos	1694 $\pm$ 300£ (1563-1825)	1510 $\pm$ 271£ (1391-1627)	2577 $\pm$ 865 £ (2198-2956)	2585 $\pm$ 696£ (2280-2890)	3228 $\pm$ 703 (2920-3536)	3421 $\pm$ 722 (3105-3737)	
Mulheres	1669 $\pm$ 273£	1551 $\pm$ 172£	2534 $\pm$ 816£	2616 $\pm$ 645£	3359 $\pm$ 549	3364 $\pm$ 437	
Homens	1719 $\pm$ 337£	1471 $\pm$ 349£	2620 $\pm$ 955£	2620 $\pm$ 955£	3097 $\pm$ 839	3479 $\pm$ 950	
Sujeitos controles mais velhos (64 a 79 anos) n=32							
Todos	1802 $\pm$ 323£ (1696-1920)	1581 $\pm$ 391£ (1446-1716)	2461 $\pm$ 531£ (2277-2645)	2254 $\pm$ 651£ (2028-2479)	2788 $\pm$ 542£ (2600-2976)	2894 $\pm$ 600£ (2686-3102)	
Mulheres	1844 $\pm$ 281£	1536 $\pm$ 282£	2513 $\pm$ 605£	2594 $\pm$ 751£	2784 $\pm$ 599£	2812 $\pm$ 549£	
Homens	1734 $\pm$ 386£	1654 $\pm$ 532£	2374 $\pm$ 386£	2486 $\pm$ 462£	2793 $\pm$ 458£	3030 $\pm$ 681£	
Juñta et al ⁸⁷ ¶							
Sujeitos controles n=20	1400 $\pm$ 101£ (1356-1444)	1411 $\pm$ 115£ (1361-1461)	2299 $\pm$ 469£ (2093-2505)	2350 $\pm$ 546£ (2111-2589)	2597 $\pm$ 395£ (2423-2770)	2681 $\pm$ 389£ (2511-2851)	
Bernasconi et al ⁸⁸ £							
Sujeitos controles n=20	1370 $\pm$ 170 (1295-1445)	1305 $\pm$ 138 (1245-1365)	2771 $\pm$ 486 (2558-2984)	2900 $\pm$ 554 (2657-2143)	2234 $\pm$ 404 (2057-2411)	2499 $\pm$ 583 (2243-2754)	

Juottonen et al ³¹ §			
Sujeitos controles n=31	1461 ± 231 (1380-1542)	1281 ± 251 (1192-1369)	
Mulheres	1511 ± 232	1259 ± 229	
Homens	1371 ± 209	1323 ± 294	

* Imagens de RM ponderadas em T1 adquiridas com cortes de 1.5 to 1.8mm obtidos perpendiculares ao longo eixo do hipocampo.

‡ Imagens de RM ponderadas em T1 reconstruídas em cortes contíguos de 2mm de espessura perpendicularmente à linha que conecta as comissuras anteriores e posterior no plano sagital.

£ Imagens de RM ponderadas em T1 adquiridas com cortes de 1mm

§ Imagens de RM ponderadas em T1 adquiridas com cortes de 1.5 to 1.8mm obtidos perpendiculares ao plano que une as comissuras anterior e posterior no plano sagital. Essas imagens coronais anguladas foram então reconstruídas em cortes contíguos de 2mm de espessura.

A definição do protocolo morfométrico permitiu observar que estruturas pequenas como o córtex entorrinal necessitam de grande rigor para a correta delimitação e quantificação. Pequenas alterações referentes à qualidade das imagens ou às ferramentas utilizadas podem portanto ser responsáveis por gerar alterações significativas. Esta hipótese é testada no próximo objetivo.

Objetivo 2 – Definir a influência da qualidade da imagem de RM e do método na morfometria manual de estruturas da região medial do lobo temporal.

Avaliação da influência da espessura do corte de RM e do método utilizado para morfometria do córtex entorrinal.

Métodos

Sujeitos

Foram estudados 16 indivíduos saudáveis (13 mulheres) com idade média de 31 anos (abrangendo de 21 a 53 anos). Nenhum dos indivíduos apresentava história médica pregressa, inclusive sem história de problemas neurológicos e psiquiátricos.

O estudo foi aprovado pelo comitê de ética da nossa instituição.

Aquisição de imagem de RM

Todos os participantes foram escaneados em aparelho de RM de 2 Tesla (Elsint Prestige®). A análise volumétrica pelo método pixel por pixel foi realizada em imagens ponderadas em T1 com aquisição de voxel isotrópico de 1mm usando sequência tridimensional gradiente-eco com excitação do volume sagital (TR=18 ms, TE=10 ms, flip angle=30°, FOV = 256 x 204). A análise volumétrica pelo método de delimitação de bordas foi realizada em imagens ponderadas em T1 tipo “Inversion Recovery” (IR) com cortes de 3mm (TR=2.700 ms, TE=14 ms, TI=840 ms, flip angle=200°, matrix=130 x 256, FOV=16 x 18 cm) adquiridas perpendicularmente ao longo eixo do hipocampo.

A análise volumétrica tipo pixel por pixel foi realizada através da segmentação manual do córtex entorrinal em imagens convertidas para o formato MINC, com o uso do programa Display (David McDonald) desenvolvido no Centro de Imagem Cerebral McConnell do Instituto Neurológico de Montreal. Através desse programa o volume da região de interesse (ROI) é calculado pela soma de área dos pixels manualmente escolhidos em cada corte, multiplicados pelo número de cortes contendo a ROI. Por esse método, a definição da ROI é realizada ao se selecionarem os pixels mais externos com o mesmo nível de cinza que circundam contêm o mesmo nível de cinza da ROI, e subseqüentemente pela seleção dos pixels contidos no interior dessa área.

O método de delineação de bordas foi realizado utilizando-se o programa NIH (“National Institutes of Health”) através do desenho manual da linha que envolve a ROI, e o software calcula a área da área envolvida e multiplica a área pelo número de cortes para obter o volume da ROI.

Foi comparado o efeito na análise volumétrica da espessura do corte através do uso de volumes medidos pelo método pixel por pixel em imagens volumétricas submetidas à reconstrução em cortes de 1 mm, 2mm e 3 mm de espessura perpendiculares ao longo eixo do hipocampo. Foi então realizada a comparação dos métodos delineação de bordas e pixel por pixel com imagens que foram obtidas no mesmo período de tempo. O método pixel por pixel foi realizado pelo uso do software Display com imagens que foram submetidas à reconstrução em cortes de 1,2 e 3 mm, e o método de delineação de bordas foi avaliado pelo programa NIH com imagens nativas, conforme descrito acima.

Análise volumétrica

Foi utilizado um protocolo anatômico para a definição dos pontos de reparo anatômicos utilizados para a segmentação. Esse protocolo foi descrito no objetivo 1, e foi baseado em descrições prévias de anatomia e estrutura do lobo temporal⁷⁴ e do córtex entorrinal⁸⁶. Todas as mensurações foram realizadas pelo mesmo investigador (o autor desta tese). O conhecimento a priori da espessura dos cortes das imagens durante a segmentação foi impossível de ser evitado, uma vez que o número de cortes contendo o córtex entorrinal no

sentido rostro-caudal era notoriamente diferente entre imagens com cortes de espessuras diferentes. O investigador, no entanto, era inconsciente do resultado de cada mensuração até que todas as mensurações tivessem sido feitas. A descrição sumarizada do processo de segmentação.

Protocolo anatômico- O córtex entorrinal surge 2 a 3mm caudal à junção dos lobos temporal e frontal⁷⁹. Com imagens reformatadas em 1mm de espessura de corte, à distância à junção dos lobos frontal e temporal foi contada pelo número de cortes. Nas imagens reformatadas de 2 e 3mm de espessura, e para imagens nativas coronais com 3mm, o limite rostral do córtex entorrinal foi definido no primeiro corte caudal à junção dos lobos temporais e frontais. O limite lateral foi definido pela transição de substâncias branca e cinzenta, enquanto o limite medial foi definido como a superfície pial. O limite superior foi definido como o ponto mais medial do giro parahipocampal ou o fundo do sulco semianular. Em cortes caudais, a fissura hipocampal é definida como a borda superior, ou, na sua ausência, define-se o limite superior a linha que forma um contínuo com a substância cinzenta do feixe angular. O limite inferior foi definido no ponto médio do banco superior do sulco colateral. O limite caudal do córtex entorrinal foi definido como o corte 2mm caudal ao fechamento do giro intralímbico⁸⁶, que foi definido no plano sagital. Se a visualização do fechamento do giro intralímbico fosse difícil de ser realizada no método por delimitação de bordas, a borda caudal do córtex entorrinal era definida no corte contendo a junção entre o corpo e a cauda do hipocampo e o limite caudal do corpo geniculado lateral¹¹³.

Após a segmentação, foi realizada a re-avaliação da região marcada em todos os planos, com o intuito de confirmar a correta definição dos limites pelos pontos de reparo anatômicos.

Análise estatística

Foram descritas a média, o desvio padrão, os valores máximos e mínimos dos volumes obtidos. Os valores foram avaliados para distribuição normal através do teste Os valores dos volumes foram avaliados quanto à normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov.

A avaliação de confiabilidade da mensuração foi realizada pela mensuração em dois momentos diferentes do córtex entorrinal em imagens com cortes de 1mm espessura de quatro indivíduos selecionados aleatoriamente. Nós usamos o teste t pareado, coeficiente de correlação intra-classe e o coeficiente de reprodutibilidade para avaliar a confiabilidade da mensuração¹¹¹.

ANOVA com teste de comparação post-hoc tipo Tukey com o hemisfério (lado direito ou esquerdo) e gênero definidos como variáveis independentes e a idade definida como covariável, foi utilizado para a avaliação dos efeitos putativos de hemisfério e idade nos valores de volumes obtidos. ANOVA com teste de comparação post-hoc tipo Tukey foi também utilizado para avaliar a diferença entre as mensurações obtidas com imagens reformadas com diferentes espessuras de corte. Regressão simples foi utilizada para comparação dos volumes obtidos com imagens reformatadas com diferentes espessuras de corte.

O teste t pareado foi utilizado para a comparação do método de delineação de bordas e o método pixel por pixel. O nível de significância estatística foi definido como $p < 0.05$ e a análise estatística foi realizada com o programa Systat 9.0.

Resultados

Análise tipo pixel por pixel

A análise utilizando imagens com 1mm de espessura mostrou volumes $\pm$ desvio padrão (DP) de $895\text{mm}^3 \pm 143\text{mm}^3$ (amplitude de 703mm^3 a 1098mm^3) para o córtex entorrinal esquerdo e $968\text{mm}^3 \pm 186\text{mm}^3$ (amplitude de 673mm^3 a 1317mm^3) para o córtex entorrinal direito. A análise realizada com imagens com espessura de corte de 2mm mostrou volume $\pm$ DP de $1299\text{mm}^3 \pm 182\text{mm}^3$ (amplitude de 943mm^3 a 1686mm^3) para o córtex entorrinal esquerdo e $1317\text{mm}^3 \pm 151\text{mm}^3$ (1105mm^3 to 1592mm^3) para o córtex entorrinal direito. A análise realizada com imagens com 3mm de espessura mostrou volume $\pm$ DP de $1609\text{mm}^3 \pm 187\text{mm}^3$ (amplitude de 1259mm^3 a 1896mm^3) para o córtex entorrinal esquerdo e $1722\text{mm}^3 \pm 179\text{mm}^3$ (1463mm^3 a 2016mm^3) para o córtex entorrinal direito. Todos os volumes obtidos seguiram distribuição normal de acordo com o teste Kolmogorov-Smirnov test ($p > 0.05$). Os fatores hemisfério e

gênero, com idade definida como covariável não influenciaram o volume do córtex entorrinal ($F[1,123]=0.008$, $p=0.929$).

A avaliação de confiabilidade não mostrou diferença entre as mensurações dos mesmos indivíduos realizadas com um período de intervalo de tempo ($p=0.85$). O coeficiente de correlação intra-classe foi $r=0.923$, e todas as diferenças entre as duas mensurações foram menor que dois desvios padrões.

ANOVA dentro dos sujeitos revelou diferença entre os volumes obtidos pela análise realizada com cortes de espessura de 1mm, 2mm e 3mm ($F[2,30]=141.326$, $p<0.001$). A comparação post-hoc tipo Tukey revelou diferença entre todos os grupos ($p<0.001$) (Figura 5). A correlação obtida entre as mensurações foi: Matrix de correlação Pearson = 0.353; cortes de 2 e 3mm – Pearson = 0.405; cortes de 1 e 3mm – Pearson = 0.566. Regressão simples realizada com os dados da segmentação de cortes de 1mm de espessura definida como variável independente e de cortes de 2 e 3mm definidas como variáveis dependentes demonstrou $R^2 = 0.339$, com $p<0.05$.

ANOVA

$F(2,30)=141,33; p<0.001$

Tukey: 3mm > 2mm > 1mm

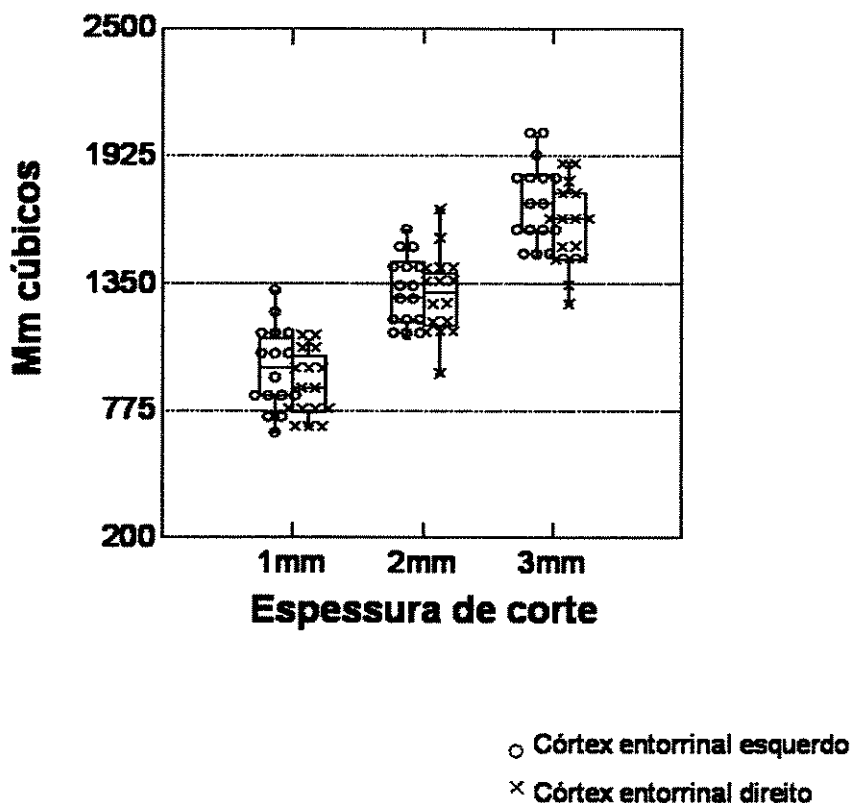


Figura 5- Gráfico tipo Box e Whiskers da média dos volumes obtidos pela análise de diferentes espessuras de cortes (1, 2 e 3 mm – volumes obtidos pela análise de cada uma dessas espessuras).

O método de delimitação de bordas realizado em cortes de 3mm mostrou volume $\pm$ DO de $1905\text{mm}^3 \pm 264 \text{ mm}^3$ (amplitude de 1602mm^3 a 2439mm^3) para o córtex entorrinal direito e $1903\text{mm}^3 \pm 226 \text{ mm}^3$ (1530mm^3 a 2339mm^3) para o córtex entorrinal esquerdo. Os volumes obtidos seguiram distribuição normal segundo o teste de Kolmogorov-Smirnov ($p>0.05$).

O teste t pareado mostrou diferença estatisticamente significativa entre os métodos de delimitação de bordas e o método pixel por pixel para o córtex entorrinal esquerdo $t(15)=4.990$, $p<0.001$ e para o córtex entorrinal direito $t(15)=2.684$, $p<0.05$ (Figura 6).

Teste t pareado

Córtex entorrinal esquerdo
 $T(15)=4,99; p<0.001$

Córtex entorrinal direito
 $T(15)=2,68; p<0.05$

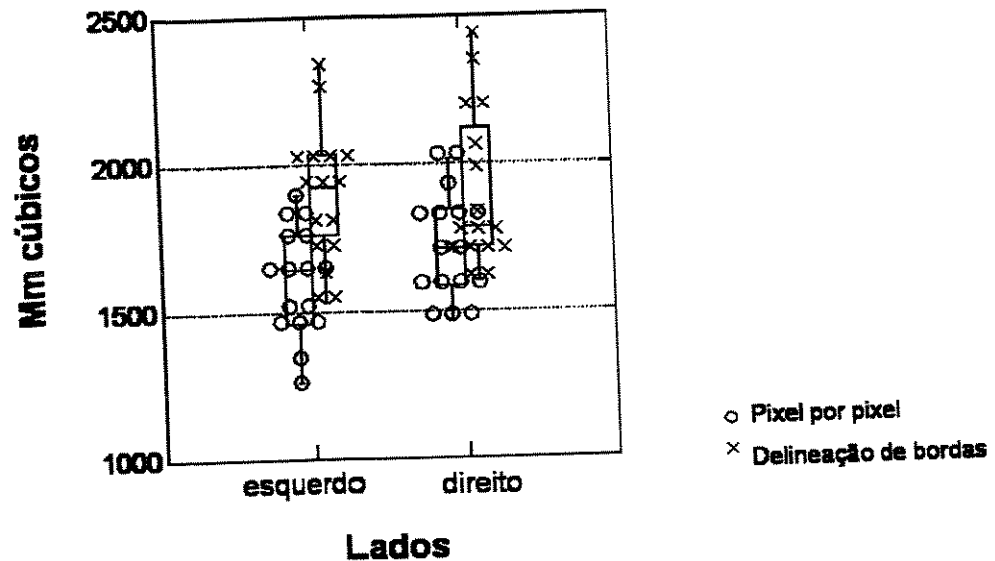


Figura 6- Gráfico tipo Box e Whiskers mostra a distribuição dos volumes dos córtices entorrinal direito e esquerdo medidos pelo método pixel por pixel e por delineação de bordas.

O efeito do volume parcial não afeta a morfometria de estruturas cerebrais com maior volume como o hipocampo⁸⁷ ou a amígdala^{114;115}. No entanto, outros fatores podem influenciar a acurácia da volumetria de estruturas cerebrais como por exemplo a capacidade de definição precisa de estruturas anatômicas que servem como pontos de reparo à morfometria. Em estruturas cuja definição de bordas é difícil, como a amígdala, esta variável pode gerar diferença significativa. Essa hipótese é testada a seguir.

Avaliação do efeito da visualização por vários planos ortogonais para definição de pontos de reparo anatômicos na quantificação do volume da amígdala.

Métodos

Sujeitos

Foram estudados 15 indivíduos saudáveis (13 mulheres), sem história médica pregressa, sem história de eventos neurológicos ou psiquiátricos.

Foram também estudados 15 pacientes com ELTM refratária a tratamento medicamentoso (9 mulheres), sem co-morbidades. Todos os pacientes apresentavam atrofia hipocampal unilateral e tinham registro eletroencefalográfico do início de crises do mesmo lado da atrofia.

Ética

O estudo foi aprovado pelo comitê de ética de nossa instituição.

Aquisição de imagens de RM

Os participantes foram submetidos a protocolo diagnóstico padrão¹¹⁶, que inclui aquisições tipo volumétrica ponderada em T1, e coronal tipo IR ponderada em T1, que foram utilizadas neste estudo.

As imagens coronais foram adquiridas perpendiculares ao longo eixo do hipocampo, definido por imagens sagitais (ponderadas em T1, tipo IR, cortes de 3 mm de espessura, flip angle = 200°, TR = 2,800 ms, TE = 14 ms, tempo de inversão = 840 ms, matrix = 130 x 256, FOV = 16 x 18 cm).

As imagens volumétricas ponderadas em T1 com voxel isotrópico de 1 mm foram obtidas utilizando aquisição tridimensional gradiente-eco, com excitação de volume sagital (TR=18, TE =10, flip angle =30°, FOV = 256 x 204, cortes sagitais de 1mm). Essas imagens foram submetidas a pós-processamento: em primeiro lugar, as imagens foram transformadas para formato Minc, em segundo lugar as imagens foram submetidas à transformação linear estereotáxica para o espaço padrão⁹⁹ e em terceiro lugar as imagens foram submetidas a correções de inhomogeneidade do espaço estereotáxico utilizando o software N3¹⁰⁹.

Análise volumétrica

Os pontos de reparo anatômicos utilizados para segmentação foram aqueles definidos pelo protocolo (tabela1 – objetivo1) e foram idênticos para a segmentação das imagens volumétricas com 1mm de espessura de corte ou para segmentação de imagens coronais com 3mm de espessura de corte. Os passos utilizados em cada uma das formas de segmentação são descritos a seguir.

Segmentação de cortes coronais de 3mm de espessura:

Foi utilizado o programa NIH, que permite a visualização e magnificação da imagem, com a possibilidade da delimitação de regiões de interesse. A análise quantitativa foi realizada em imagens de RM ponderadas em T1, tipo IR, com cortes de 3mm de espessura.

Um outro observador determinou os volumes desse protocolo, através de referência a pontos de reparo anatômicos definidos no protocolo (objetivo 1) e em estudos prévios¹¹⁰ (figura 7A).

O limite rostral da amígdala foi definido no corte mais rostral contendo o tronco do lobo temporal. O limite inferior foi definido pela substância branca do feixe angular em cortes mais rostrais. Em cortes mais caudais foi definido pela presença do hipocampo, que surge como massa de substância cinzenta inferior e lateral à amígdala. O alveus ou o recesso uncal do ventrículo lateral foram utilizados para separação da amígdala da cabeça do hipocampo. O limite lateral foi considerado a transição entre a substância branca do lobo temporal e substância

cinzenta da amígdala; o limite medial foi definido como a superfície pial superiormente ao giro semianular e o feixe angular inferiormente ao giro angular. O limite superior foi definido como uma linha arbitrária da cisterna quadrigeminal ao limite inferior do sulco circular da insula.

Os volumes obtidos foram corrigidos pelo volume intracraniano total⁶⁶.

Segmentação tridimensional:

Foi utilizado o programa Display (David McDonald) desenvolvido no Centro de Imagem Cerebral McConnell do Instituto Neurológico de Montreal. Os volumes foram determinados por um observador (Leonardo Bonilha) com referência ao protocolo desenvolvido no objetivo 1, e métodos previamente descritos para segmentação tridimensional da amígdala⁷⁴, bem como estudos de função e anatomia do lobo temporal⁴² (Figura 7B).

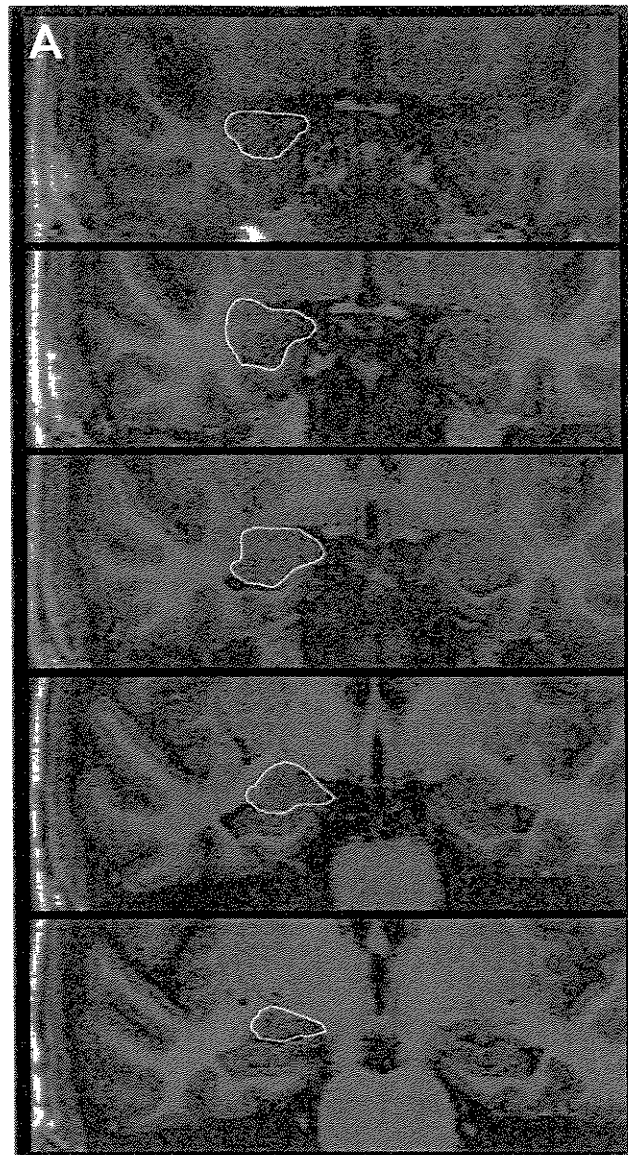
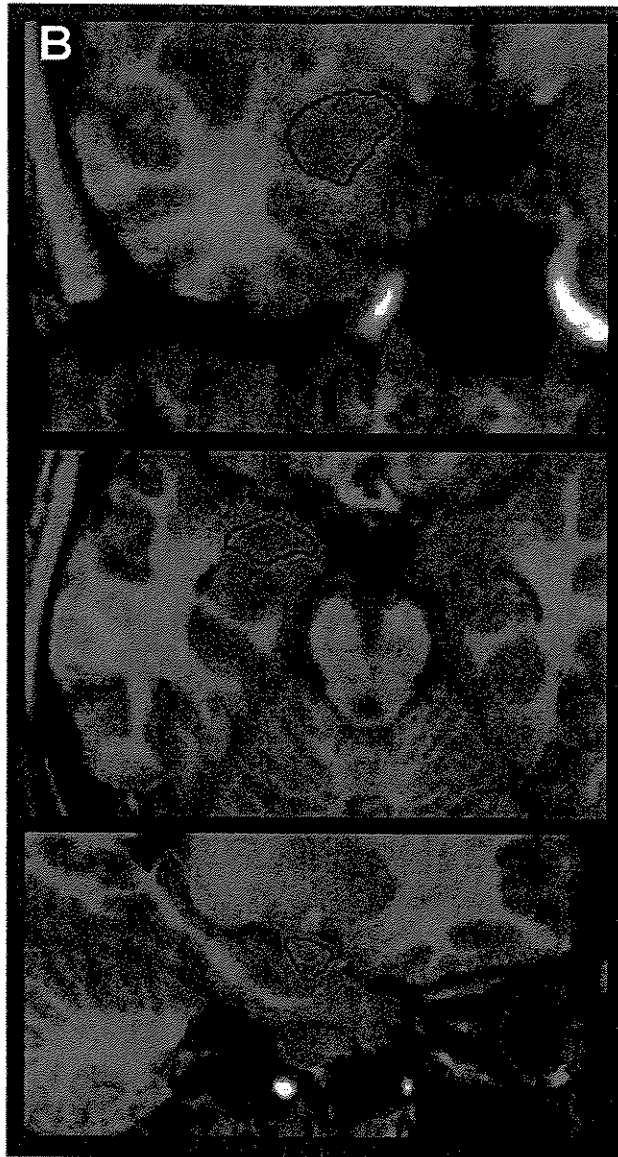


Figura 7A- A amígdala do hemisfério direito é delineada em imagens T1-IR com 3mm de espessura, em sua extensão rostro caudal. B) A amígdala do hemisfério direito é delineada em imagens T1 de 1mm de espessura respectivamente nos planos coronal, axial e sagital.



Diferentemente da segmentação realizada no plano coronal, o plano axial foi a base para a segmentação tridimensional da amígdala. Os planos sagitais e coronais foram usados como constante referência, mas a forma mais fácil de se visualizarem os limites postero-inferiores da amígdala foi a definição do alveus e do ventrículo lateral no plano axial. Quando havia dificuldade para definir o alveus, para definição do limite inferior foi utilizada a cabeça do hipocampo através de cortes sagitais. Uma coluna de pixels foi adicionada ao hipocampo na região do alveus. Após a definição dos limites posterior-inferiores, o limite anterior foi definido por um semi-círculo desenhado com sua origem definida no ponto médio da linha desenhada como limite posterior.

Cuidado especial foi tomado para não se inserir o córtex entorrinal na região definida como amígdala, e isso foi feito através da exclusão das colunas de pixels mais anteriores e mediais à amígdala, ou segmentando o córtex entorrinal concomitantemente. Finalmente, após a segmentação no plano axial, foi realizada revisão com visualização dos três planos ortogonais de toda a região definida como amígdala com atenção particular ao limite superior definido como linha horizontal passando pela porção mais lateral da cisterna quadrigeminal.

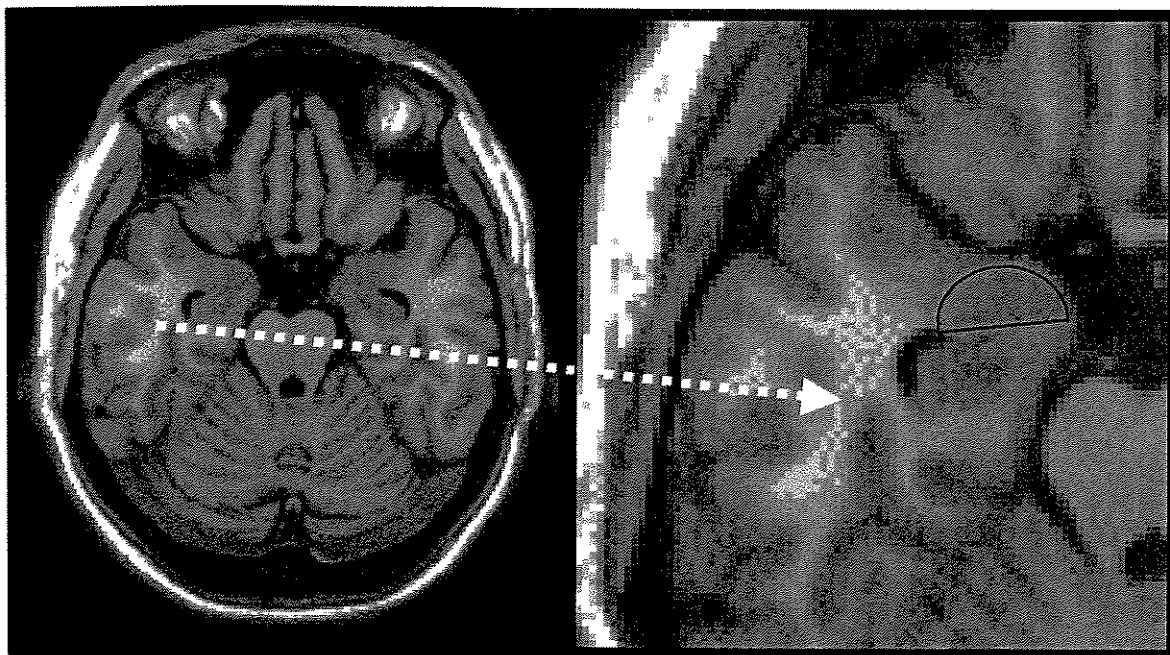


Figura 8- Delineação do limite anterior da amígdala. A figura à esquerda mostra um corte axial no nível da amígdala de uma imagem de RM ponderada em T1, e a figura da direita demonstra magnificação da região anterior do lobo temporal. A delineação da amígdala é demonstrada em preto.

Análise estatística

Foram descritas a média e os desvios padrões dos volumes das estruturas analisadas. Esses valores foram separados em um grupo de controles e um grupo de pacientes com ELTM. O grupo de pacientes foi dividido de acordo com o lado da atrofia hipocampal. Os dados foram avaliados quanto à normalidade da distribuição pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Para comparação entre as duas diferentes formas de análise foi utilizado teste t pareado. Foi ainda realizada ANOVA para avaliação de diferenças putativas entre o volume da amígdala esquerda e direita entre controles e pacientes com ELTM com atrofia hipocampal à direita e à esquerda. O nível de significância estatística foi definido em $p < 0.05$.

Resultados

Foram avaliados 15 pacientes (6 homens) com ELTM refratária a tratamento clínico e 15 indivíduos normais (2 homens). Todos os pacientes com ELTM apresentavam atrofia hipocampal unilateral e lateralização de crises por registro eletroencefalográfico ictal concordante com o lado da atrofia hipocampal. Nove pacientes apresentavam ELTM à esquerda e seis à direita. Os volumes obtidos pela segmentação do plano coronal e pela segmentação do tridimensional seguiram distribuição normal segundo o teste de Kolmogorov-Smirnov ($p > 0.05$)

Segmentação no plano coronal

O volume médio e o DP da amígdala direita dos controles foi $1742 \pm 151 \text{ mm}^3$, e o volume médio e o DP da amígdala esquerda foi $1703 \pm 146 \text{ mm}^3$. Entre os pacientes com MTLE à direita, a amígdala mediu $=1875 \pm 323 \text{ mm}^3$; a amígdala esquerda $=1829 \pm 245 \text{ mm}^3$; e para os pacientes com ELTM à esquerda: amígdala direita $=1842 \pm 225 \text{ mm}^3$; amígdala esquerda $=1733 \pm 258 \text{ mm}^3$. O teste t dependente realizado com os dados da segmentação coronal não mostrou assimetria entre os controles $t(14)=1.316$, $p > 0,05$, pacientes with ELTM à esquerda $t(8)=1.244$, $p > 0,05$ e pacientes com ELTM à direita TLE $t(5)=0.768$, $p > 0,05$. ANOVA não mostrou diferença significativa entre os volumes da amígdala dos controles e dos pacientes, com poder $> 95\%$ (Figura 9A). O índice de assimetria ($= [100 \cdot (R-L)] / [(R+L)/2]$) não foi diferente entre pacientes e controles, com poder $> 95\%$.

Segmentação tridimensional

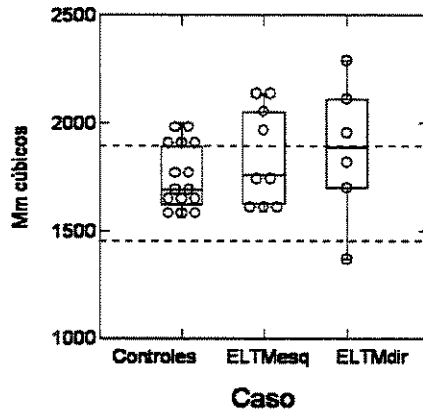
O volume médio e o DP da amígdala esquerda dos indivíduos controles foi $1459 \pm 229 \text{ mm}^3$, e da amígdala direita foi $1413 \pm 199 \text{ mm}^3$. Dentre os pacientes com ELTM à direita, o volume médio da amígdala esquerda foi $1410 \pm 167 \text{ mm}^3$; da amígdala direita foi $1473 \pm 189 \text{ mm}^3$; e dentre os pacientes com ELTM à esquerda foi: amígdala esquerda $1422 \pm 141 \text{ mm}^3$; amígdala direita $1349 \pm 188 \text{ mm}^3$. O teste t pareado realizado com os valores da segmentação tridimensional não revelou assimetria entre os controles $t(14)=1.731$, $p>0,05$, pacientes em ELTM à esquerda $t(8)=0.839$, $p>0,05$ e pacientes com ELTM à direita $t(5)= -0.584$, $p>0,05$. ANOVA não mostrou diferença estatisticamente significativa do volume da amígdala entre controles pacientes com ELTM com poder $>95\%$ (figura 9B). O índice de assimetria também não foi diferente entre pacientes e controles, com poder $>95\%$.

A

Amígdala direita (3mm)

$F=0.979$, $p>0.05$.

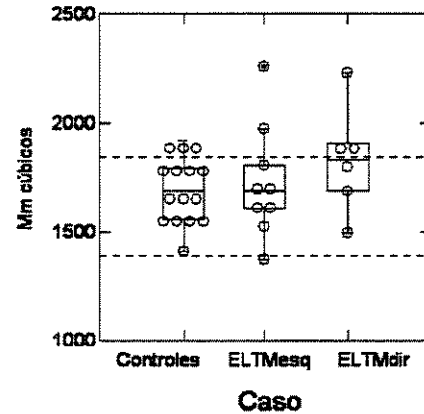
Tukey: Controles = ELTMesq = ELTMdir



Amígdala esquerda (3mm)

$F=0.981$, $p>0.05$.

Tukey: Controles = ELTMesq = ELTMdir

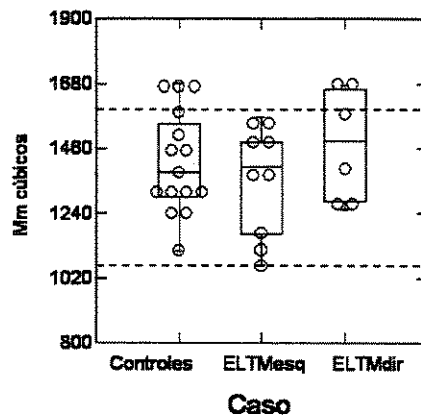


B

Amígdala direita (1mm)

$F=0.862$, $p>0.05$.

Tukey: Controles = ELTMesq = ELTMdir



Amígdala esquerda (1mm)

$F=0.463$, $p>0.05$.

Tukey: Controles = ELTMesq = ELTMdir

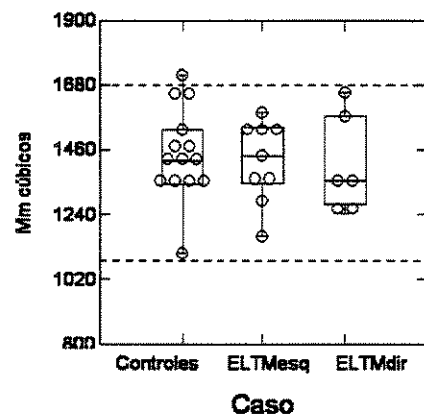


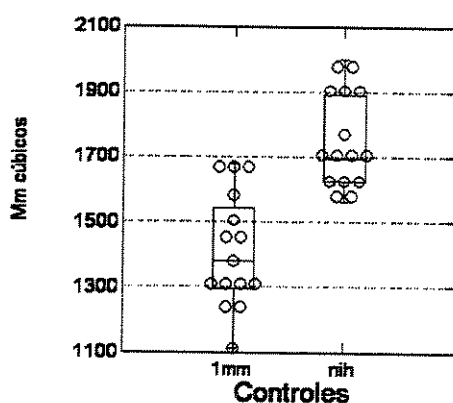
Figura 9- Gráfico tipo Box e Whiskers mostra a distribuição dos volumes da amígdala entre pacientes com ELTM e controles.

O teste t dependente demonstrou diferença entre os volumes obtidos pelas mensurações baseadas nos cortes coronais e os volumes obtidos pela mensuração baseada na visualização tridimensional (controles: amígdala direita $t(14)=6.832$, $p<0.001$, amígdala esquerda $t(14)=4.814$, $p<0.001$; ELTM direita: amígdala direita $t(5)=2.668$, $p<0.05$, amígdala esquerda $t(5)=3.328$, $p<0.05$; ELTM esquerda: amígdala direita $t(8)=5.756$, $p<0.001$, amígdala esquerda $t(8)=2.956$, $p<0.05$) (Figura 10).

A

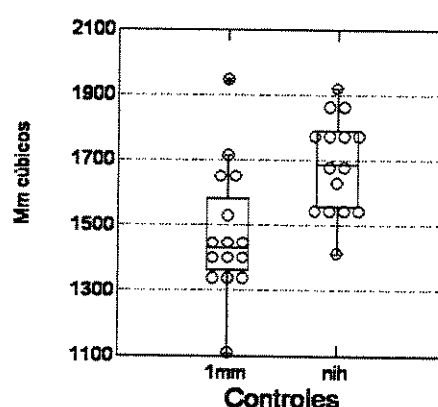
Amígdala direita

$t(14)=6.832$, $p<0.001$



Amígdala esquerda

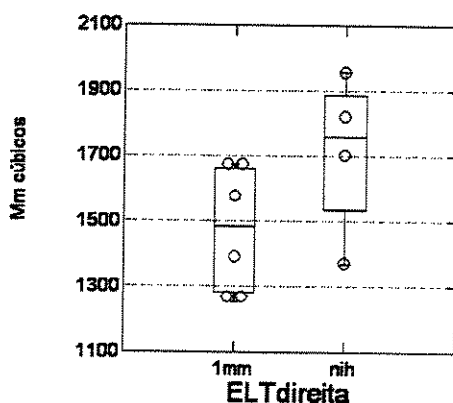
$t(14)=4.814$, $p<0.001$



B

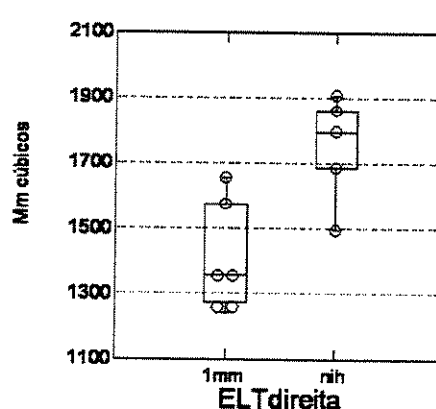
Amígdala direita

$t(5)=2.668$, $p<0.05$



Amígdala esquerda

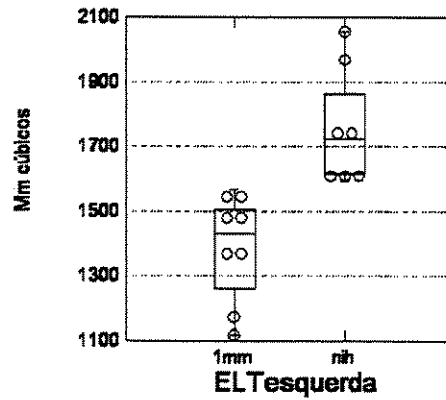
$t(5)=3.328$, $p<0.05$



C

Amígdala direita

$t(8)=5.756, p<0.001$



Amígdala esquerda

$t(8)=2.956, p<0.05$

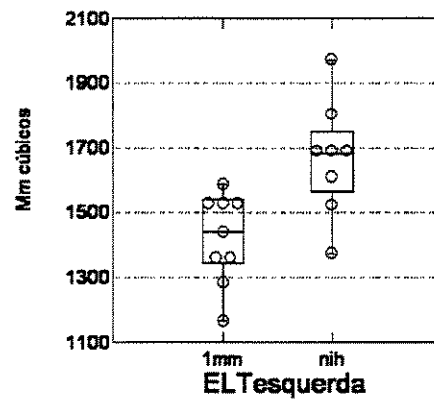


Figura 10

A morfometria manual quando realizada com estrita aderência aos critérios anatômicos gera resultados confiáveis. A desvantagem da morfometria convencional, entretanto, reside no grande tempo gasto para avaliação de pequenas estruturas dentro do cérebro, e na incapacidade de se avaliarem concomitantemente diferentes regiões cerebrais. Com finalidade de implementar uma ferramenta que permita a avaliação automatizada de diferentes áreas cerebrais em conjunto tem-se o objetivo a seguir.

Objetivo 3- Definir protocolo para investigação automática do tipo voxel por voxel de concentração de substância cinzenta (CSC), otimizado para pacientes com epilepsia do lobo temporal.

Métodos

O protocolo para a avaliação da CSC por MBV é descrito passo a passo a seguir. Um dos passos do protocolo consiste na normalização das imagens de RM para o espaço estereotáxico. Foram utilizadas para a definição dos passos duas imagens de RM: uma imagem de RM de um paciente com ELTM e uma imagem de RM de um indivíduo normal. Em virtude da suposta diferença espacial de CSC da imagem do paciente com ELTM, as imagens foram submetidas a todos os passos do processamento descritos abaixo e subseqüentemente checadas quanto à disposição anatômica do resultado da CSC.

Foram utilizadas apenas imagens tipo ponderadas em T1 com voxel isotrópico de 1mm obtidas usando aquisição tipo gradiente-eco tridimensional, com excitação de volume sagital (TR=22ms, TE=9ms, matrix=256x220, field of view (FOV) = 25x25cm, fatias sagitais de 1mm). Todas as imagens foram obtidas por um scanner com campo magnético de 2 Tesla (Elscint Prestige®).

As imagens foram submetidas inicialmente à transformação do formato bidimensional Dicom para o formato Analyze, utilizando o programa MRIcro (Chris Rorden, www.mricro.com)¹¹⁷ (Figura 11).

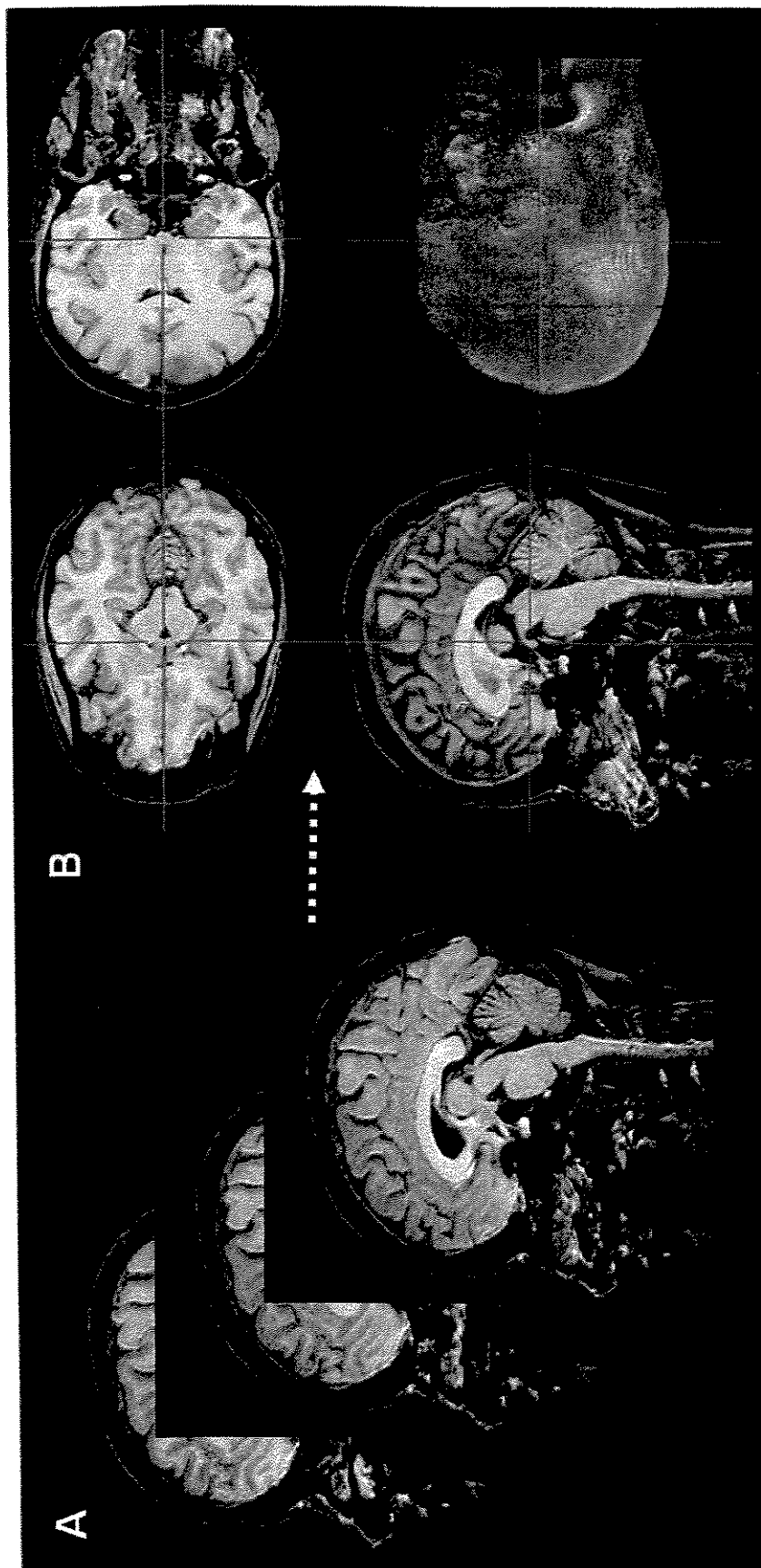


Figura 11- As imagens bidimensionais no plano sagital tipo Dicom (A) são transformadas no formato tridimensional Analyze (B)

Subseqüentemente as imagens foram submetidas à correção do plano ortogonal para permitir normalização para o espaço padrão (Figura 12).

De forma a facilitar o processo de normalização das imagens para o espaço padrão, a comissura anterior (CA) foi localizada e suas coordenadas foram definidas como “origem”, i.e., 0x0x0mm, para posterior processamento (Figura 12)

As imagens no formato Analyze, corrigidas para o plano ortogonal e com a origem definida na CA foram então submetidas à redução do conteúdo extracerebral da imagem. Isso foi feito através da retirada da porção referente ao pescoço e face nas imagens.

Uma vez realizados todos esses ajustes as imagens estavam prontas para transformação para o espaço padrão, ou normalização, que é realizada para correção da variabilidade individual de tamanho cerebral. Cada imagem é normalizada para um formato definido no Atlas de Talairach e Tournoux^{98;99}. Este processo inclui a estimativa de 12 parâmetros ótimos para transformação linear e função base 7x8x7 para transformação não-linear. Em outras palavras, as imagens são rodadas e modificadas em tamanho para que estejam no final do processo no mesmo espaço estereotático (Figura 13).

A normalização das imagens foi realizada pelo software SPM99 (Wellcome Department of Cognitive Neurology, www.fil.ion.ucl.ac.uk)⁹⁸ através de rotinas padrões presentes no programa.

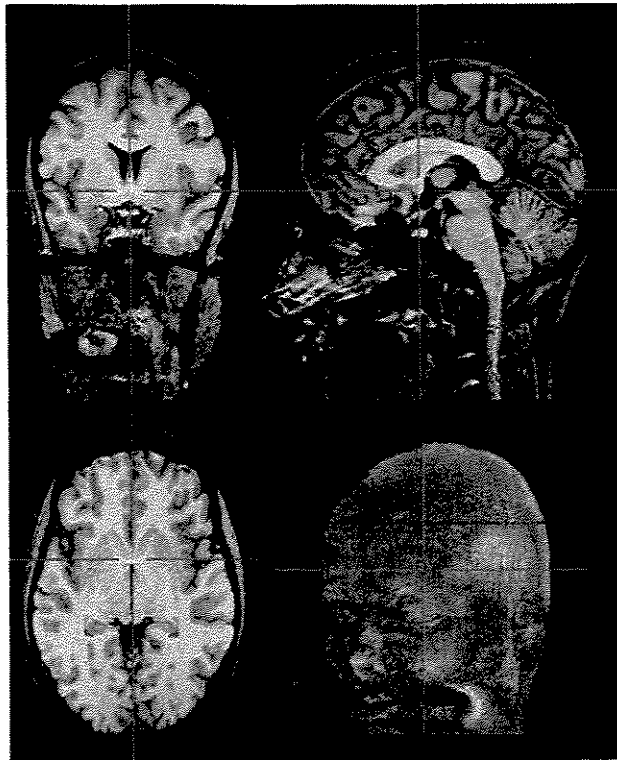


Figura12- A imagem em formato Analyze é corrigida para os planos ortogonais e a CA (ponto de cruzamento das linhas vermelhas) é definida como origem da imagem

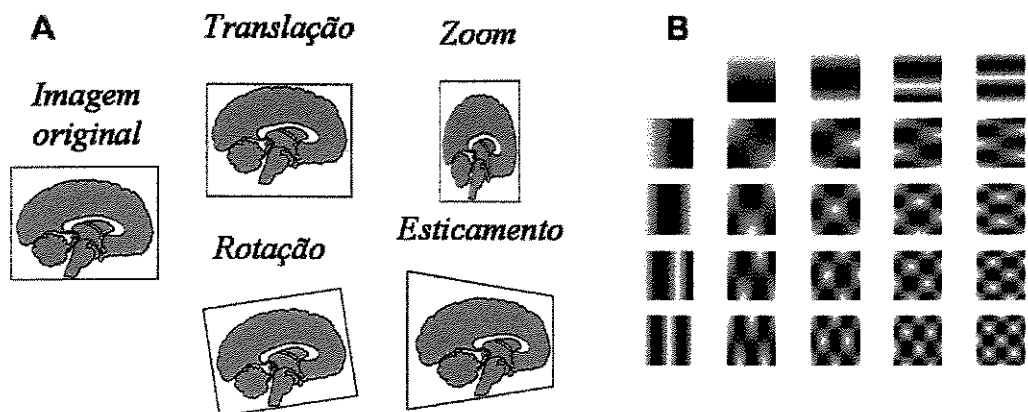


Figura13- A imagem no formato Analyze é submetida à transformação linear e não linear para ser registrada no espaço estereotáxico padrão. Em A observam-se as transformações lineares a que a imagem é submetida e em B observam-se exemplos de possíveis gradientes não lineares que podem ser aplicados à imagem para transformação (cortesia Dr Chis Rorden, Escola de Psicologia, Universidade de Nottingham).

Após a normalização as imagens foram submetidas à segmentação da substância cinzenta usando rotinas do programa SPM99 que estimam a probabilidade de cada voxel ser substância cinzenta. Com o processo de segmentação é possível utilizarem-se apenas as regiões correspondentes à substância cinzenta para análise subsequente (Figura 14). Uma preocupação com a normalização convencional é o fato de que o processo de normalização pode alargar regiões atrofiadas quando da comparação das imagens dos pacientes com o espaço estereotáxico (uma vez que o padrão utilizado na normalização é baseado em imagens de pessoas neurologicamente saudáveis). Good et al.¹¹⁸ propuseram uma técnica para modulação da concentração estimada de tecido em imagens segmentadas baseada na deformação encontrada durante a normalização. Essa técnica preserva a quantidade de tecido, por exemplo substância cinzenta, enquanto promove bom alinhamento espacial entre pacientes e controles. As imagens foram submetidas então à normalização com e sem modulação para posterior comparação.

O resultado da segmentação são imagens contendo apenas substância cinzenta. Essas imagens são então submetidas à suavização com cerne gaussiano isotrópico de 10mm de forma a reduzir a variabilidade interindividual de localização de sulcos e giros (Figura 15).

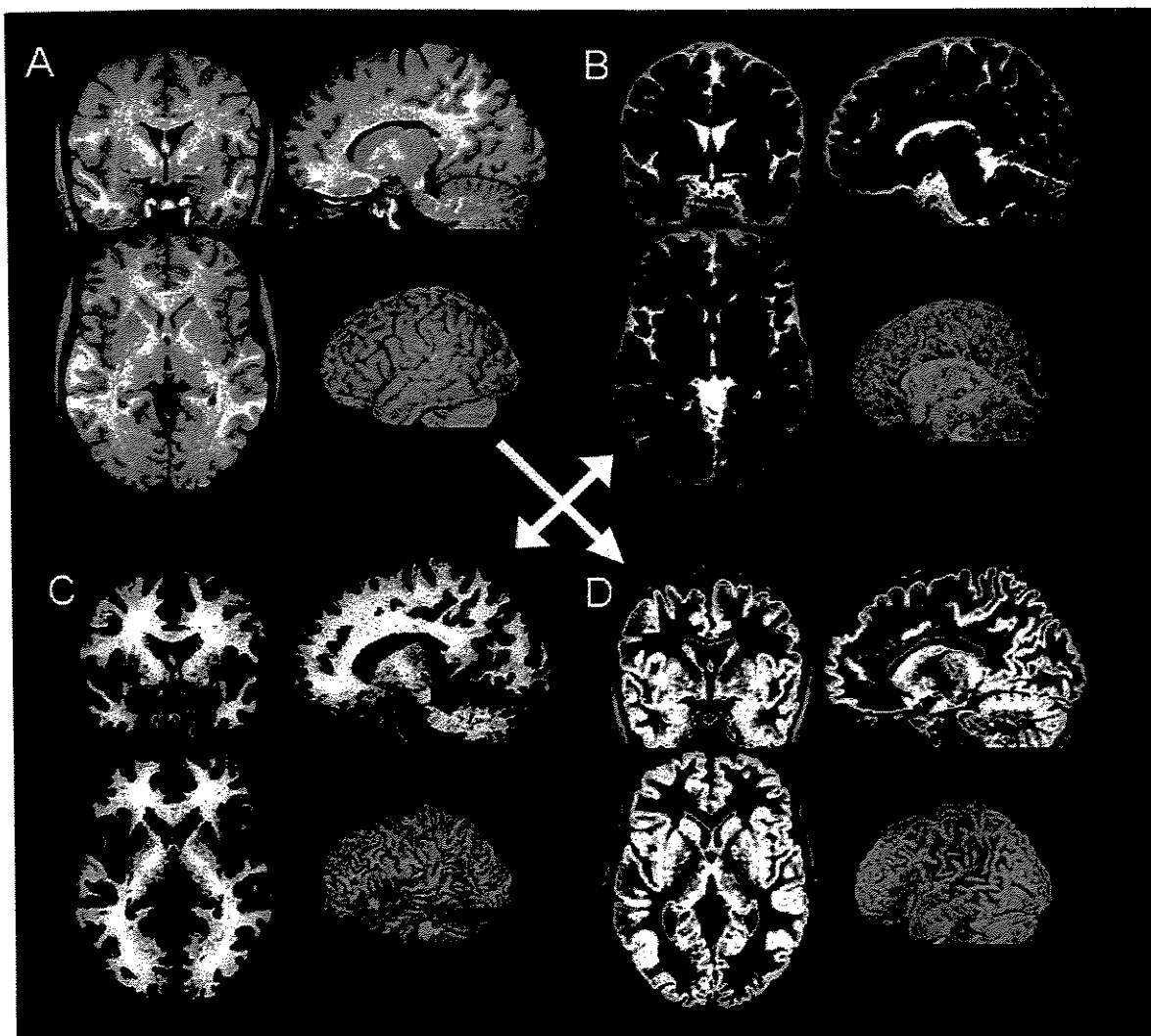


Figura 14- As imagens normalizadas (A) são submetidas à segmentação em líquido(B), substância branca (C), substância cinzenta (D). Em cada quadrante vêem-se: imagem superior esquerda – corte coronal, imagem superior direita – corte sagital, imagem inferior esquerda – corte axial, imagem inferior direita – renderização tridimensional da imagem com o crânio extraído.

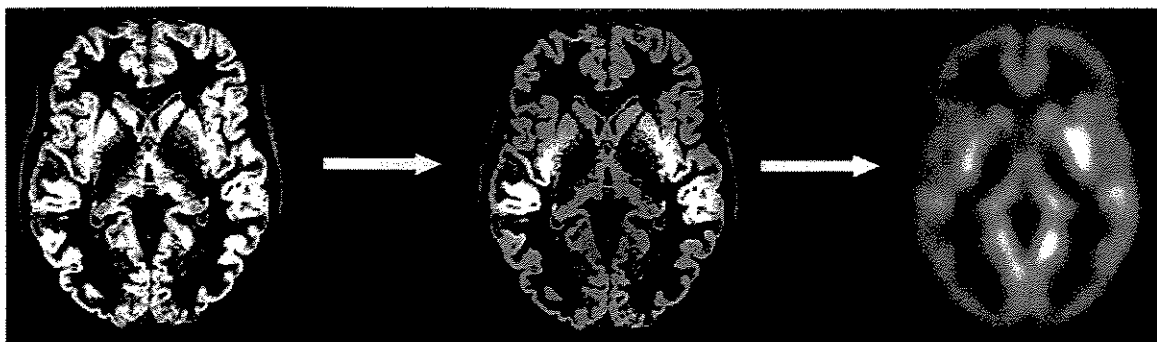


Figura 15- Imagem correspondente à substância cinzenta é submetida à modulação e subsequente suavização com cerne gaussiano isotrópico de 10mm.

Resultados

Embora as imagens dos controles não tivessem apresentado diferenças visuais na localização da substância cinzenta, as imagens de pacientes com ELTM normalizadas sem o passo definido como modulação apresentaram deformidade de substância cinzenta.

Na imagem do indivíduo normal, não foi possível definir diferença visual entre as segmentações com ou sem a modulação (Figura 16).

Na imagem do paciente com ELTM e atrofia hipocampal à esquerda, observou-se diferença qualitativa entre a imagem normalizada segmentada com modulação comparada à imagem normalizada segmentada sem a modulação. A imagem fruto da modulação preservou visualmente a quantidade de substância cinzenta sobretudo da porção medial do lobo temporal (Figura 17).

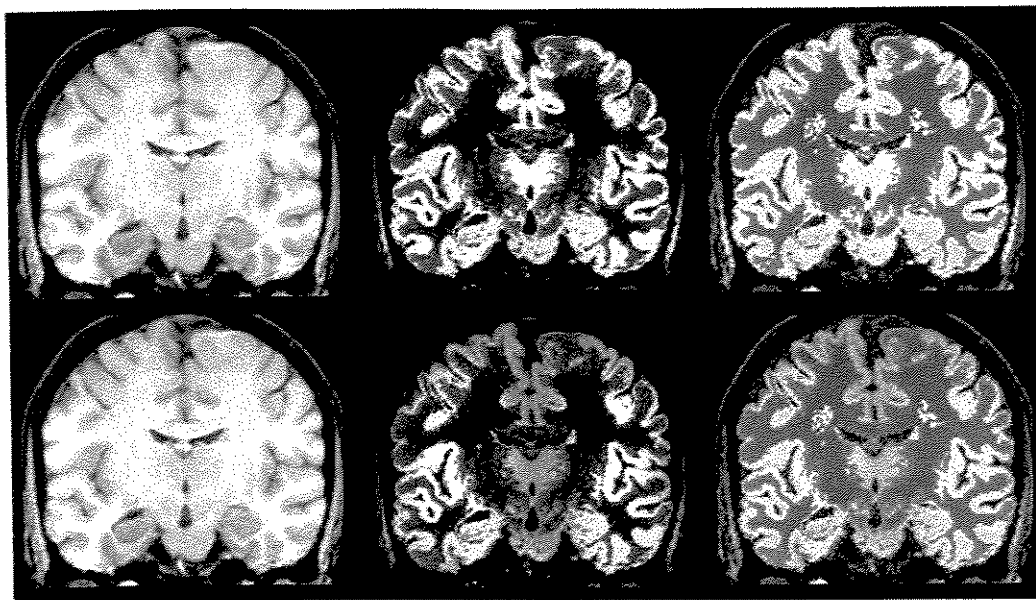


Figura 16- Nesta figura observam-se imagens de um indivíduo normal. A coluna da esquerda representa imagem ponderada em T1, enquanto a coluna do centro representada apenas o relativo ao segmentado de substância cinzenta. Na coluna da direita observa-se fusão das duas imagens. Na linha superior, a imagem do segmentado de substância cinzenta não foi submetida à modulação. Na linha inferior a imagem correspondente ao segmentado foi modulada. Observa-se que não há diferença qualitativa entre as imagens fundidas quanto à deformação da substância cinzenta.

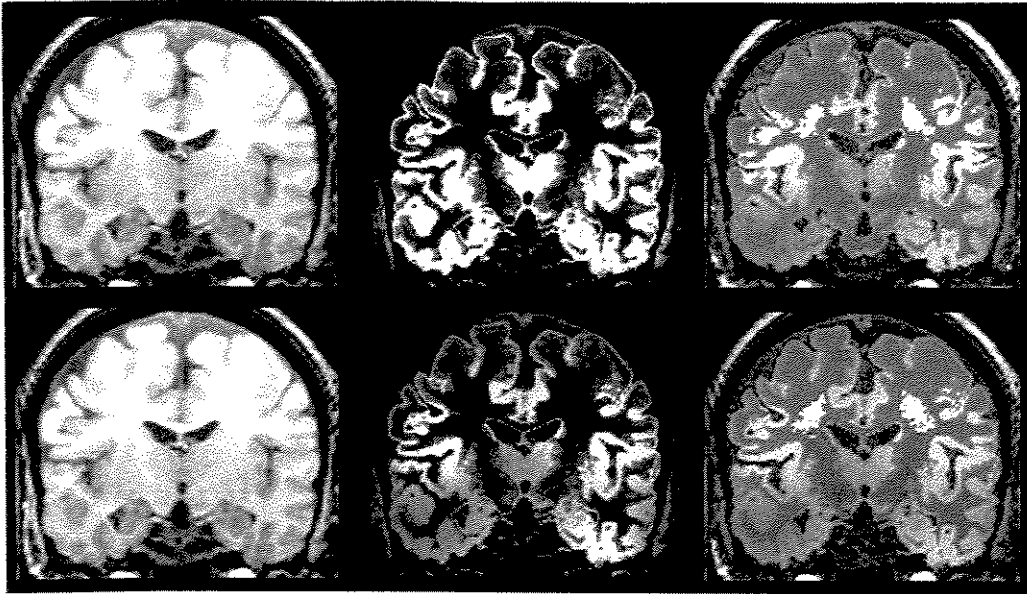


Figura 17- Nesta figura observam-se imagens de um indivíduo com atrofia hipocampal à esquerda (imagens em convenção neurológica, i.e., o hemisfério esquerdo corresponde ao lado esquerdo da imagem.). A coluna da esquerda representa imagem ponderada em T1, enquanto a coluna do centro representada apenas o relativo ao segmentado de substância cinzenta. Na coluna da direita observa-se fusão das duas imagens. Na linha superior, a imagem do segmentado de substância cinzenta não foi submetida à modulação. Na linha inferior a imagem correspondente ao segmentado foi modulada. Observa-se que na fusão da imagem modulada a quantidade e a localização de substância cinzenta, sobretudo na região medial de lobo temporal e no hipocampo esquerdos (do lado esquerdo da figura), são qualitativamente melhor preservadas.

Com os três objetivos expostos até aqui se completa o passo de desenvolvimento e implementação de ferramentas para o estudo do dano cerebral. Nos objetivos a seguir será pesquisado o dano neuronal em pacientes com ELTM através do uso das ferramentas até aqui descritas. Inicialmente, objetiva-se avaliar a extensão do dano neuronal na região medial do lobo temporal através de morfometria convencional, como exposto a seguir.

Objetivos 4- Definir a magnitude e a extensão do dano neuronal nas estruturas da região medial do lobo temporal de pacientes com ELTM refratários ao tratamento clínico.

Métodos

Sujeitos

Foram estudados 32 sujeitos adultos normais (12 homens) sem história médica pregressa. Todos esses indivíduos foram recrutados na comunidade local e foram voluntários para este estudo. Nós também estudamos 48 pacientes com ELTM crônica refratária. Todos os pacientes foram encaminhados do ambulatório de epilepsia do HC-Unicamp, onde eles foram diagnosticados segundo análise clínica detalhada. A definição da síndrome clínica foi realizada de acordo com os critérios a Liga Internacional contra Epilepsia - ILAE¹¹⁹. As crises foram lateralizadas de acordo com a história médica, com exame neurológico detalhado, eletroencefalograma interictal e vídeo-eletroencefalograma prolongado registrando início das crises. Todos os pacientes apresentavam atrofia hipocampal unilateral à análise visual de rotina da imagem de RM do protocolo diagnóstico⁶⁶. Todos os pacientes apresentavam ELTM refratária a tratamento a tratamento medicamentoso. Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética de nossa instituição.

Aquisição de imagem de RM

Foram adquiridas imagens de RM utilizando-se protocolo padronizado⁶⁶. Neste estudo utilizaram-se imagens ponderadas em T1 com voxels isotrópicos de 1mm. foram adquiridas em scanner Elscint Prestige de 2 Tesla, utilizando seqüência tipo gradiente eco (TR=22ms, TE=9ms, flip angle=35° matrix=256x220, field of view = 25x22cm, cortes sagitais de 1mm).

Pós-processamento de imagens

As imagens foram transferidas para estação de trabalho tipo Silicon Graphics O₂ (Mountain View, Califórnia, EUA). As imagens foram inicialmente convertidas para o formato minc, corrigidas para não-homogeneidade de campo magnético utilizando o programa N3¹⁰⁹ e foram submetidas a transformação linear estereotóxica para o espaço padrão⁹⁹.

Análise volumétrica

Foi realizada segmentação manual utilizando-se o software Display (David McDonald) desenvolvido no Centro de Imagem Cerebral do Instituto Neurológico de Montreal. O software permite a delineação de estruturas de interesse e automaticamente calcula o volume da região delineada.

Os volumes foram determinados por um observador (Leonardo Bonilha). A delineação manual das estruturas de interesse foi realizada de acordo com os estudos previamente publicados sobre anatomia do lobo temporal^{74;79;83;86;106} e seguindo o protocolo definido no objetivo 1.

Nós avaliamos os volumes do córtex têmporo-polar (TPC), do córtex perirrinal (PRC), do córtex entorrinal (ERC), do córtex parahipocampal (PHC), do hipocampo (HIP) e da amígdala (AMY). A segmentação foi realizada por análise conjunta dos três planos ortogonais.

Análise estatística

Os dados foram avaliados utilizando-se o programa Systat (9.0) para Windows. As diferenças entre os grupos para idade foram avaliadas utilizando-se ANOVA, e a distribuição de gênero foi avaliada utilizando-se o teste de Qui-quadrado. Diferenças entre os volumes entre os indivíduos controles foram avaliadas com ANOVA multivariada (MANOVA) com dois fatores dentro-do-sujeito (lado: esquerda e direita; e estruturas: TPC, PRC, ERC, PHC, HIP, AMY). O valor da medida do volume de cada indivíduo foi padronizado de acordo com os volumes do grupo controle através da transformação na pontuação Z (Z score), i.e., o número de desvios padrões distantes da média dos controles. Para cada indivíduo a assimetria dos volumes foi

calculada de acordo com o índice de simetria $(E-D)/[(E+D)/2]$. As diferenças entre os grupos de volume foram avaliadas com MANOVA com um fator de agrupamento entre-sujeitos (grupos: controles, ELTM-esquerda, ELTM-direita) e um fator de agrupamento dentro-do-sujeito (estruturas): TPC direito, TPC esquerdo, PRC direito, PRC esquerdo, ERC direito, ERC esquerdo, PHC direito, PHC esquerdo, HIP direito, HIP esquerdo, AMY direita, AMY esquerda). A MANOVA foi seguida por comparação pelo teste post-hoc de Tukey. ANOVA de uma via foi utilizada para comparar as diferenças entre as pontuações Z de estruturas diferentes. Diferenças entre grupos foram avaliadas com MANOVA com um fator de agrupamento entre sujeitos (grupos: controles, ELTM-esquerda, ELTM-direita) e um fator de agrupamento dentro-do-sujeito (estruturas: TPC, PRC, ERC, PHC, HIP, AMY). O nível de significância estatístico foi definido como $p < 0.05$. Nós consideramos o volume da estrutura como anormalmente reduzido se sua pontuação Z fosse menor do que dois DP.

Resultados

Vinte e quatro pacientes apresentaram atrofia hipocampal à direita e ELTM à direita, e vinte e quatro apresentaram atrofia hipocampal e ELTM à esquerda. Não houve diferença estatisticamente significativa de distribuição de idade ($F[72,2]=2,06$, $p > 0.05$) ou gênero (Pearson Qui-quadrado=0,009, $p > 0,05$) entre os controles e os pacientes com ELTM.

Controles

Os volumes das estruturas dos controles são mostrados na tabela 5. Não houve diferença significativa entre os lados direito e esquerdo em nenhuma das estruturas avaliadas (PRC: $\lambda[62,1]=0.56$, $p=0.46$; TPC: $\lambda[62,1]=0.61$, $p=0.44$; ERC: $\lambda[62,1]=0.4$, $p=0.53$; PHC: $\lambda[62,1]=0.83$, $p=0.37$; AMY: $\lambda[62,1]=0.67$, $p=0.42$; HIP: $\lambda(58,1)=0.008$, $p=0.93$).

Pacientes com MTLE

Os volumes das estruturas estudadas estão mostrados na tabela 5. MANOVA com comparação post-hoc entre pacientes e controles mostrou diferença significativa entre os volumes das seguintes estruturas: HIPD, HIPE, AMYD, AMYE, ERCD, ERCE, PRCD, PRCE, PHCD,

TPCE (Figura 18). Em relação aos controles, os pacientes com ELTM à esquerda apresentaram redução significativa nos volumes das estruturas: HIPD, HIPE, ERCE, PRCE, AMYE, TPCE; enquanto os pacientes com ELTM à direita apresentaram redução significativa nos volumes das estruturas: HIPD, AMYD, ERCD, PRCD, PHCD.

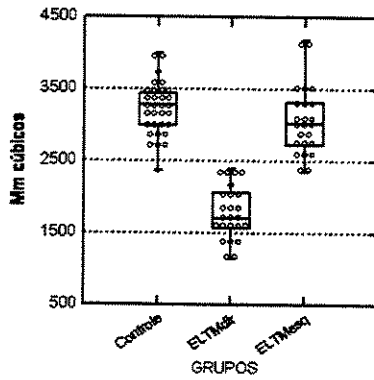
Tabela 5- Volumes das estruturas da região medial temporal

Grupo	Estrutura	PRCE	PRCD	TPCE	TPCD	ERCE	ERCD	PHCE	PHCD	AMEE	AMVD	HIPE	HIPD
MTLE	Mínimo	1225	1656	2189	1550	627	828	1185	1246	936	1249	1155	2355
Esquerda	Máximo	2182	2712	4032	4308	1159	1405	2517	2539	1873	1925	2666	4182
	Média	1751	2085	3053	3410	846	1179	1567	1671	1372	1587	1796	3062
	Dp	247	316	424	541	133	168	317	328	240	186	384	464
MTLE	Mínimo	1527	1177	2492	1439	745	584	1201	896	1239	890	2308	1137
Direita	Máximo	2670	2856	4330	4040	1550	1149	2419	1808	1933	2065	3558	2392
	Média	2149	1809	3456	3059	1141	877	1683	1380	1497	1374	2941	1786
	Dp	344	374	551	662	167	146	300	237	167	266	304	365
Controles	Mínimo	1315	1395	1987	1981	703	711	1227	1146	1046	1010	2458	2369
	Máximo	3063	2922	4032	4282	1660	1897	2590	2572	1946	2175	3949	3999
	Média	2261	2186	3247	3147	1106	1106	1676	1591	1545	1495	3244	3236
	Dp	385	424	448	567	262	262	365	376	241	254	393	359

Hipocampo direito

$\lambda[77,2]=103,2; p<0,001$

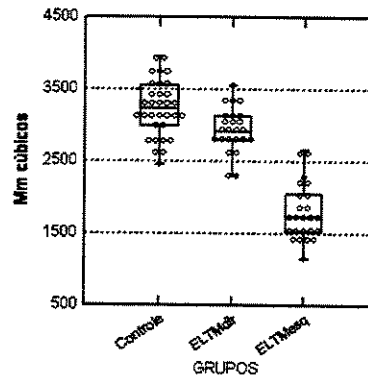
Tukey: *ELTM dir*<*Controle*=*ELTM esq*



Hipocampo esquerdo

$\lambda[77,2]=113,98; p<0,001$

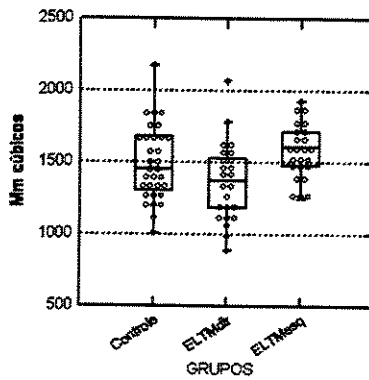
Tukey: *ELTM esq*<*ELTM dir*<*Controle*



Amígdala Direita

$\lambda[77,2]=7,7; p<0,05$

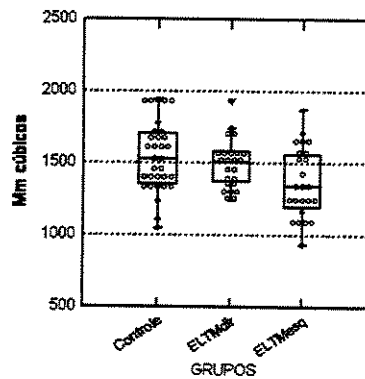
Tukey: *ELTM dir*<*ELTM esq*=*Controle*



Amígdala Esquerda

$\lambda[77,2]=3,58; p<0,05$

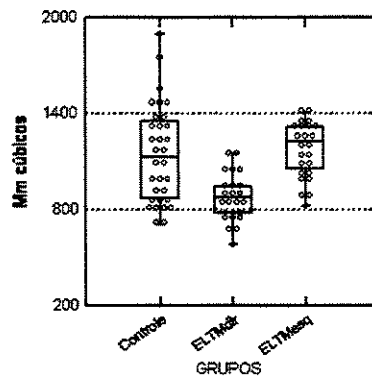
Tukey: *ELTM esq*<*Controle*=*ELTM dir*



Córtex entorrinal direito

$\lambda[77,2]=13,28; p<0,01$

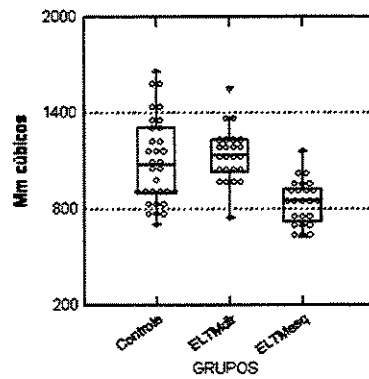
Tukey: *ELTM dir*<*ELTM esq*=Controle



Córtex entorrinal esquerdo

$\lambda[77,2]=15,69; p<0,001$

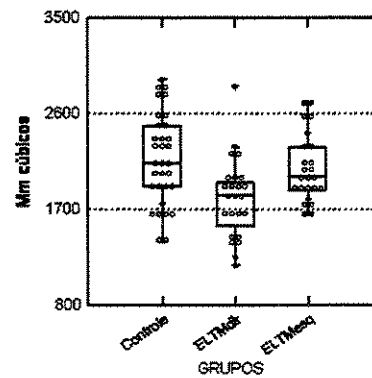
Tukey: *ELTM esq*<*ELTM dir*=Controle



Córtex perirrinal direito

$\lambda[77,2]=6,99; p<0,01$

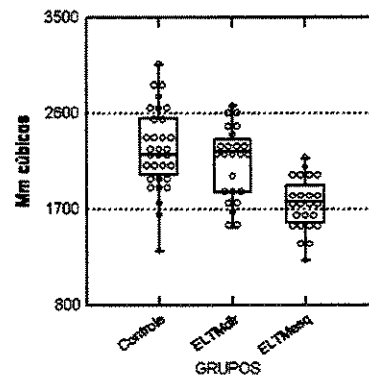
Tukey: *ELTM dir*<*ELTM esq*=Controle



Córtex perirrinal esquerdo

$\lambda[77,2]=16,62; p<0,001$

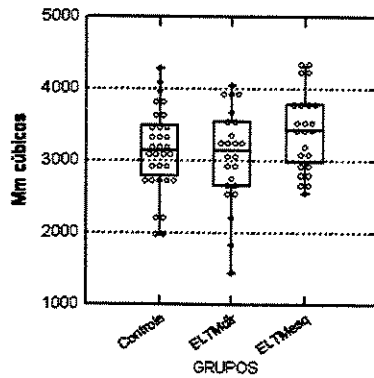
Tukey: *ELTM esq*<*ELTM dir*=Controle



Córtex têmporopolar direito

$$\lambda[77,2]=2,33; p>0,05$$

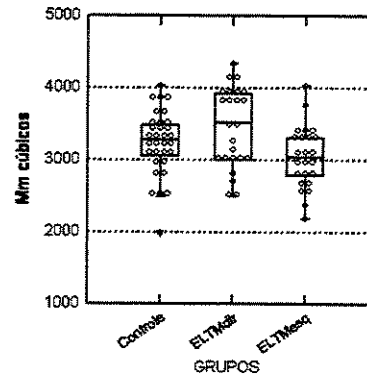
Tukey: ELTM esq=ELTM dir=Controle



Córtex têmporopolar esquerdo

$$\lambda[77,2]=4,33; p<0,05$$

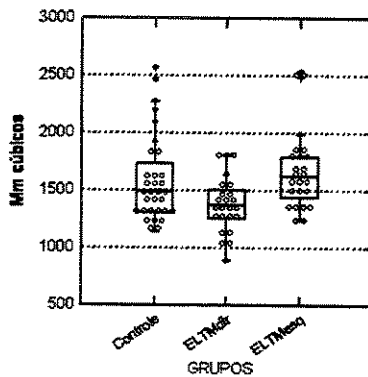
Tukey: ELTM esq<ELTM dir=Controle



Córtex parahipocampal direito

$$\lambda[77,2]=5,16; p<0,05$$

Tukey: ELTM dir<ELTM esq=Controle



Córtex parahipocampal esquerdo

$$\lambda[77,2]=0,97; p>0,05$$

Tukey: ELTM esq=ELTM dir=Controle

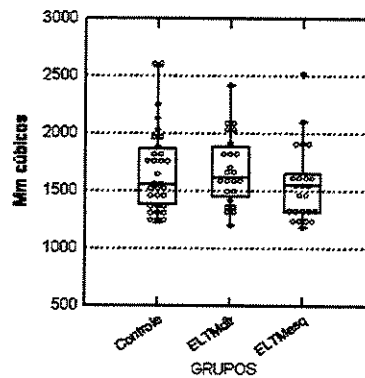


Figura 18- Gráficos tipo “box e whiskers”mostrando a distribuição dos volumes da região medial temporal agrupados entre controles e pacientes com ELTM.

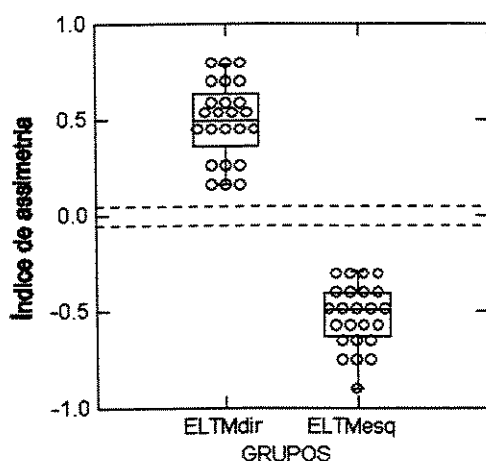
Assimetria

MANOVA revelou diferença significativa entre os grupos de controles e pacientes nos índices de assimetria obtidos para cada estrutura (Figura 19). Houve assimetria em todas as estruturas analisadas e os pacientes com ELTM à esquerda apresentaram redução no índice de assimetria para todas as estruturas, ao passo que os pacientes com ELTM à direita apresentaram aumento do índice de assimetria nas seguintes estruturas: HIP, ERC, PRC, PHC.

Assimetria hipocampo

$$\lambda[77,2]=316,62; p<0,001$$

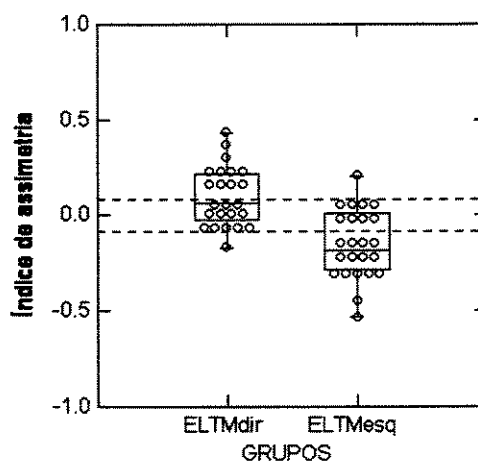
Tukey: ELTMesq<Controle<ELTMdir



Assimetria amígdala

$$\lambda[77,2]=20,67; p<0,001$$

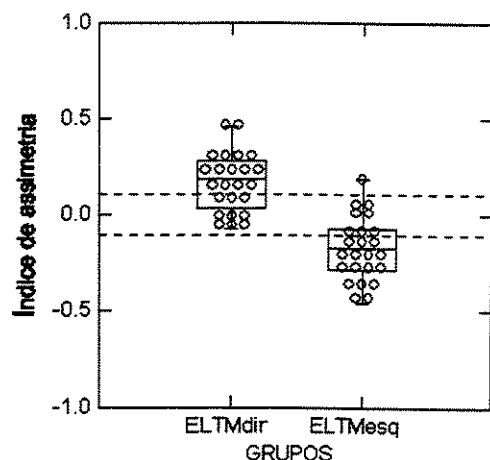
Tukey: ELTMesq<Controle=ELTMdir



Assimetria córtex perirrinal

$\lambda[77,2]=39,75; p<0,001$

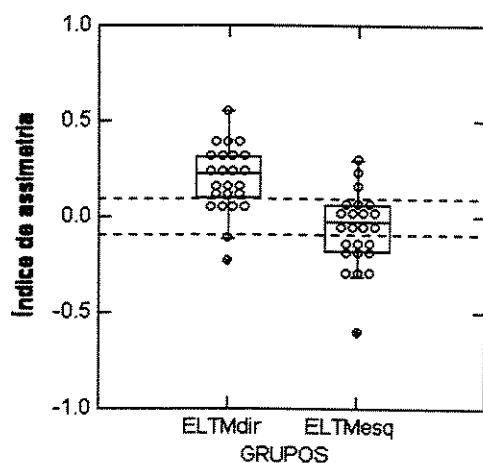
Tukey: ELTMesq<Controle<ELTMdir



Assimetria córtex parahipocampal

$\lambda[77,2]=17,36; p<0,01$

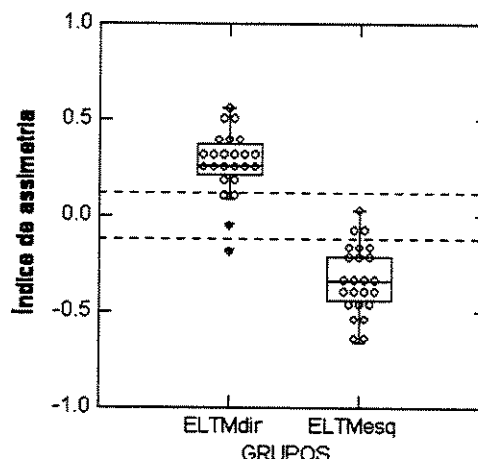
Tukey: ELTMesq<Controle<ELTMdir



Assimetria córtex entorrinal

$\lambda[77,2]=92,44; p<0,001$

Tukey: ELTMesq<Controle<ELTMdir



Assimetria córtex têmporopolar

$\lambda[77,2]=12,8; p<0,001$

Tukey: ELTMesq<Controle=ELTMdir

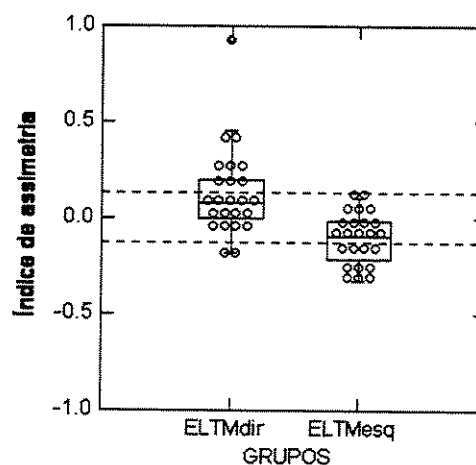


Figura 19- Gráficos tipo “box e whiskers” mostrando a distribuição dos índices de assimetria das estruturas da região medial temporal agrupados entre pacientes com ELTM. direita e esquerda. Os valores de 1 desvio padrão do índice de assimetria dos indivíduos controles são mostrados como linhas tracejadas horizontais.

Análise individual

A análise individual através da pontuação Z mostrou diferença graduação de atrofia entre as estruturas da região medial do lobo temporal em pacientes com ELTM à esquerda e à direita (Figuras 20 e 21). Em ambos os grupos de pacientes, os córtices entorrinal e perirrinal estavam mais atrofiados que as demais estruturas, porém menos atrofiados que o hipocampo. A tabulação das estruturas contralaterais ao hipocampo atrófico demonstraram discreta diferença entre as pontuações Z.

ELTM esquerda

ANOVA $F(23,5)=53,9$

$p<0.001$

Tukey: $HIPE<PRCE=ERCE<TPCE=AMYE=PHCE$

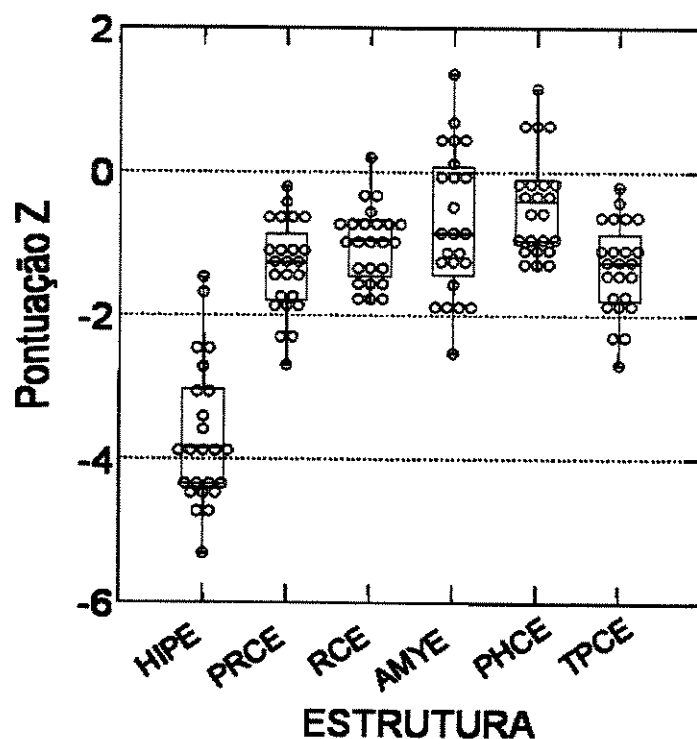


Figura 20- Gráfico tipo “box e whiskers” mostrando a distribuição das pontuações Z das estruturas da região medial temporal isilaterais ao lado da atrofia hipocampal e ELTM, em pacientes com ELTM à esquerda.

ELTM direita

ANOVA $F(23,5)=60,36$

$p<0.001$

Tukey: $HIPD < PRCD = ERCD < TPCD = AMYD = PHCD$

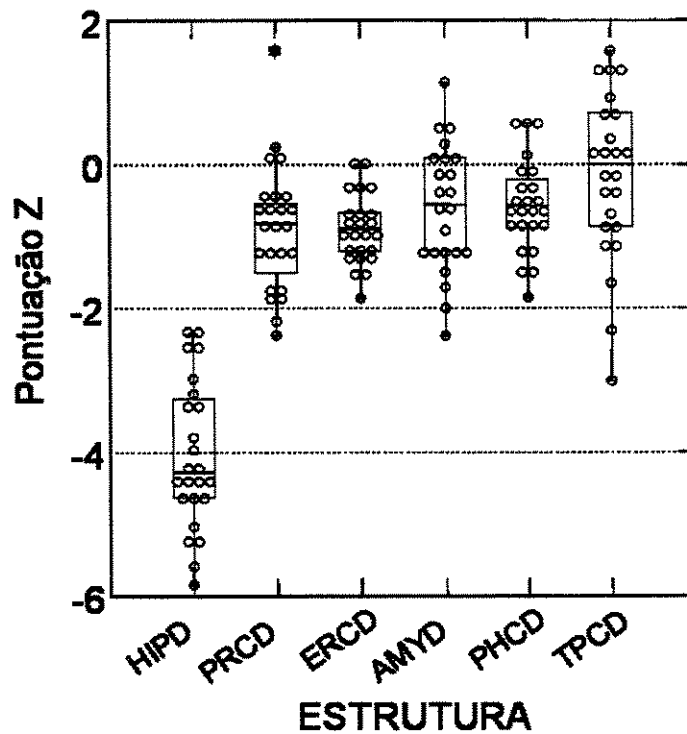


Figura 21- Gráfico tipo “box e whiskers”mostrando a distribuição das pontuações Z das estruturas da região medial temporal isilaterais ao lado da atrofia hipocampal e ELTM, em pacientes com ELTM à direita.

ELTM direita e esquerda

ANOVA F (47,11)=4,43

p<0.001

Tukey:HIPD<AMYD: HIPE<ERCD e E=AMYD

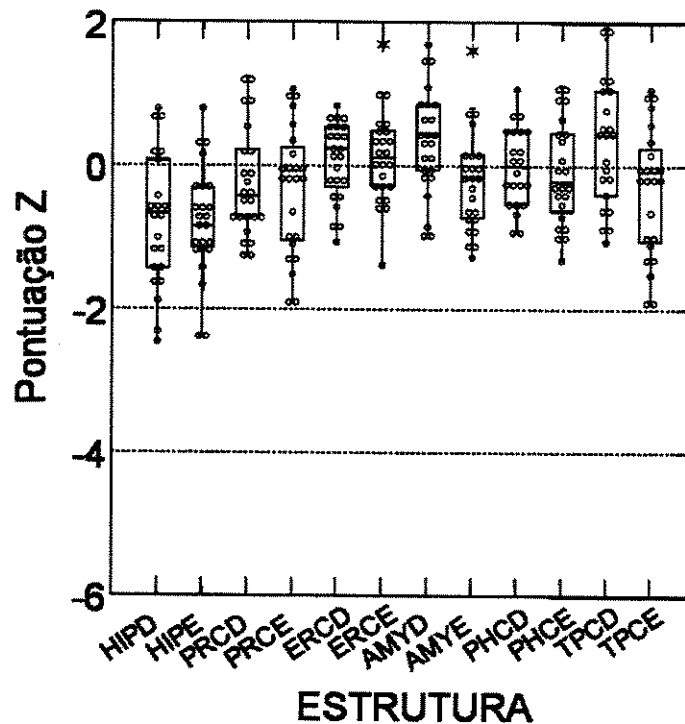


Figura 22- Gráfico tipo “box e whiskers”mostrando a distribuição das pontuações Z das estruturas da região medial temporal contralaterais ao lado da atrofia hipocampal e ELTM.

Uma vez definidas quais as estruturas da porção medial do lobo temporal que apresentam redução de volume em pacientes com ELTM, surge a dúvida se a atrofia dessas estruturas influi na sintomatologia desses pacientes. Esta questão é abordada no objetivo a seguir.

Objetivo 5- Definir a influência da atrofia das estruturas mediais temporais nas manifestações clínicas dos pacientes com ELTM.

Métodos

Sujeitos

Dentre os pacientes com ELTM, foram selecionados 40 indivíduos submetidos à cirurgia para tratamento de ELTM. Desses pacientes foram obtidas as informações clínicas, as quais foram comparadas com os volumes das estruturas da região medial do lobo temporal.

Dos indivíduos com ELTM, foram tabulados então:

- 1.) Idade: definida como a idade em que o indivíduo realizou a RM;
- 2.) Idade de início de crises;
- 3.) Tempo de sintomas: calculado pela subtração da idade no momento em que o indivíduo realizou a RM e a idade de início de crises;
- 4.) Frequência de crises parciais complexas;
- 5.) Frequência de convulsões;
- 6.) Presença e qualidade das crises parciais simples (CPS)/ auras: as CPS foram agrupadas de acordo com a descrição do paciente e foram analisadas desta maneira. Posteriormente, as CPS foram agrupadas segundo sua qualidade (como psíquicas, autonômicas, motoras, etc...) e novamente analisadas;
- 7.) Presença de antecedentes mórbidos não-neurológicos;

- 8.) Presença de fatores de risco para epilepsia, ou seja: a) história familiar; b) história de traumatismo crânio encefálico, c) história de meningite ou meningo-encefalite, d) presença de neurocisticercose á investigação por imagem, tomografia computadorizada ou RM.
- 9.) Presença de alterações epileptiformes (ondas agudas ou espículas) no EEG ictais, bilateralmente.
- 10.) Resultado do tratamento cirúrgico. Foram realizadas análises com os pacientes agrupados de acordo com resultado cirúrgico definido pela escala de Engel^{4,5}. Os dados foram ainda analisados com os pacientes agrupados como tendo obtido resultado cirúrgico favorável (classes 1 e 2 de Engel) e não favorável (classes 3 e 4)

Os pacientes foram submetidos à segmentação das estruturas da região medial do lobo temporal de acordo o protocolo definido no objetivo 1.

Os resultados foram analisados com o objetivo de avaliar correlação entre variáveis contínuas como idade ou tempo de crises com o volume das estruturas, ou buscando diferença na frequência de distribuição de pacientes de acordo com os dados clínicos e volumes das estruturas mediais temporais. Para análise de correlação utilizamos o coeficiente de correlação Pearson e para avaliação de distribuição de frequência utilizamos o teste de qui-quadrado. Para cálculo do poder estatístico utilizamos programa on-line de cálculo <http://calculators.stat.ucla.edu/powercalc/> , que é uma versão baseada no programa completo STPLAN por Barry Brown et al. que está disponível no arquivo: <ftp://odin.mdacc.tmc.edu/pub/source/dstplan-4.2.tar.gz>

Resultados

Foram estudados 39 pacientes com ELTM com atrofia hipocamapal à análise visual de RM. Todos os pacientes apresentavam ELTM unilateral, confirmada por registro ictal, e ipsilateral ao lado da atrofia hipocampal.

Os dados clínicos dos pacientes avaliados podem ser observados na tabela 6.

Tabela 6- Sumário das variáveis clínicas investigadas em pacientes com ELTM.

Idade	Idade de Início de crises	Tempo de sintomas	Frequência de crises	Frequência de convulsões
Média 34,64	Média 5,77	Média 28.74	Média 12,76	31% dos
Desvio Padrão 9,25	Desvio padrão 4,85	Desvio padrão 9,96	Desvio padrão 14.37	pacientes: 1 ou mais CTCG no último ano
Auras	Antecedentes mórbidos	EEG epileptiforme interictal	Fatores de risco	
90% dos pacientes com auras frequentes	5% dos pacientes: hipertensão arterial sistêmica	Com alterações bilaterais: 20%	49% com fatores de risco	
		Com alterações unilaterais: 80%	51% sem fatores de risco	

As variáveis clínicas qualitativas, i.e., tipos de auras e formas de fatores de risco, estão discriminadas abaixo, na tabela 7.

Tabela 7- Auras e fatores de risco discriminados segundo tipo e frequência.

tipos de auras	fatores de risco
51% mal estar epigástrico	35% antecedentes familiares
15% medo	nenhum paciente com traumatismo craniano
10% angústia	2,5% meningite ou meningoencefalite
10% perplexidade	13% crises febris
2,5% déjà vu	
5% frio	
7,7% mal estar inespecífico	
2,5% arrepio	

Não foi observada associação significativa entre os valores das estruturas mediais do lobo temporal e variáveis clínicas qualitativas (presença de auras, tipos de auras, história de hipertensão arterial, história de fatores de risco, tipos de fatores de risco, presença de alterações epileptiformes interictais bilaterais ao EEG, e resultado cirúrgico) (Qui-quadrado, $p > 0.05$) (poder = 0.92). Também não foi observada associação significativa entre as variáveis clínicas quantitativas ($p > 0.05$) (poder = 0.96).

Não se observaram correlações significativas entre as estruturas mediais do lobo temporal e variáveis clínicas quantitativas (idade, idade de início de crises e tempo de sintomas). A matrix de correlação dessas variáveis pode ser vista na tabela 8.

Tabela 8- A) Matrix de correlação tipo Pearson, entre as estruturas mediais do lobo temporal e as variáveis clínicas quantitativas.

A) Matrix de correlação Pearson					
	AMYD	AMYE	ERCD	ERCE	Freq.
AMYD	1				
AMYE	0.208	1			
ERCD	0.638	0.047	1		
ERCE	-0.11	0.346	-0.274	1	
frequência crises	-0.064	-0.246	0.138	-0.133	1
HIPD	0.495	-0.087	0.739	-0.578	0.152
HIPE	-0.447	0.301	-0.64	0.642	-0.067
Idade	0.269	0.067	0.335	-0.026	-0.075
Idade início crises	0.082	-0.098	0.006	-0.14	0.216
PHCD	0.354	-0.139	0.526	-0.113	0.008
PHCE	0.048	0.071	0.017	0.477	-0.071
PRCD	0.498	0.243	0.673	-0.074	-0.024
PRCE	-0.032	0.437	-0.109	0.777	-0.045
Tempo_sintomas	0.215	0.099	0.307	0.043	-0.17
TPCD	0.296	0.12	0.396	-0.13	0.005
TPCE	-0.109	0.279	-0.093	0.372	-0.061

	HIPD	HIPE	IDADE	Idade início crises	PHCD
HIPD	1				
HIPE	-0.632	1			
IDADE	0.29	-0.265	1		
Idade início crises	0.056	-0.074	0.097	1	
PHCD	0.557	-0.373	0.263	-0.023	1
PHCE	0.01	0.386	0.024	-0.098	0.391
PRCD	0.524	-0.18	0.169	0.042	0.342
PRCE	-0.42	0.592	-0.185	0.035	-0.217
Tempo_sintomas	0.244	-0.21	0.882	-0.383	0.259
TPCD	0.415	-0.002	0.069	0.197	0.317
TPCE	-0.28	0.448	-0.347	0.063	-0.057

	PHCE	PRCD	PRCE	TEMPO_SINT	TPCD
PHCE	1				
PRCD	0.2	1			
PRCE	0.295	0.269	1		
Tempo_sintomas	0.071	0.132	-0.189	1	
TPCD	0.189	0.566	0.019	-0.025	1
TPCE	0.23	0.18	0.45	-0.357	0.497

TPCE	
TPCE	1

A atrofia do hipocampo dos pacientes com ELTM se correlaciona com os déficits de memória apresentados por esses pacientes^{43;44;120}. Embora ainda não esteja claro se o acometimento do hipocampo direito se associe a problemas de memória¹²¹, a associação entre a atrofia do hipocampo esquerdo e déficits de memória verbal está bem definida^{44;122}. O hipocampo é a estrutura central do sistema hipocampal de memória¹²³, do qual ainda participam o giro parahipocampal e o neocórtex cerebral. Existe evidência de que o giro parahipocampal tem funções individuais e independentes na formação de memória^{123;124}. Se a atrofia das estruturas da região medial do lobo temporal se associa com os déficits de memória apresentados por esses pacientes é discutido no objetivo a seguir.

Objetivo 6- Definir a influência das diferentes estruturas da região medial do lobo temporal de pacientes com ELTM no desempenho em teste neuropsicológico.

Métodos

Sujeitos

Foram estudados 39 pacientes consecutivos com ELTM. Todos os pacientes provieram da clínica de epilepsia do HC-Unicamp, onde foram diagnosticados baseados em avaliação neurológica detalhada. A determinação da síndrome epilética foi baseada nos critérios sugeridos pela ILAE¹¹⁹. As crises epiléticas foram lateralizadas de acordo com a história médica, um exame neurológico abrangente, e monitorização prolongada de EEG ictal e interictal. Todos os pacientes apresentavam ELTM refratária ao tratamento clínico, com início unilateral de crises e AH unilateral à análise visual de rotina do protocolo diagnóstico de RM⁶⁶. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética de nossa instituição.

Além dos pacientes com ELTM, foram submetidos à RM 32 indivíduos normais (21 mulheres) recrutados na comunidade local, como grupo controle.

Aquisição de RM

Nós adquirimos RM utilizando um protocolo padrão⁶⁶ e usamos imagens ponderadas em T1 com voxels isotrópicos de 1mm, adquiridos em um scanner comercial (Elscent Prestige) de 2 Tesla utilizando seqüência spoiled gradient-echo (TR=22ms, TE=9ms, flip angle=35° matrix=256x220, field of view = 25x22cm, cortes sagitais de 1mm).

As imagens foram transferida para uma estação de trabalho Silicon Graphics O₂ workstation (Mountain View, CA) e foram submetidas a conversão para o formato MINC (<http://www.bic.mni.mcgill.ca/software/minc/minc.html>), correção para não-homogeneidade de campo magnético usando o programa N3 (<http://www.bic.mni.mcgill.ca/software/minc/minc.html>)¹⁰⁹ e transformação estereotática linear para o espaço padrão⁹⁹.

Realizou-se então a segmentação manual das estruturas de interesse usando o programa DISPLAY (<http://www.bic.mni.mcgill.ca/software/Display/Display.html>) de acordo com o protocolo definido no objetivo #1.

Avaliação Neuropsicológica

A avaliação neuropsicológica incluiu os seguintes testes: Wechsler Memory Scale – Revised (WMS-R) para investigar memória; sub-testes de vocabulário e desenho em blocos do teste Wechsler Adult Intelligence Scale – Revised (WAIS-R) para estimar o QI; teste de discriminação auditiva teste de linguagem dicótica para determinar o hemisfério dominante para linguagem e para lateralizar memória verbal e visual. De forma a controlar outras funções cognitivas que poderiam influenciar os testes de memória, foram empregados os testes de percepção de formas e cores, linguagem (Teste de Fluência Verbal – categoria animais e o teste de nomeação de Boston/ BNT), atenção (Strub and Black Vigilance Test), e funções executivas (Trail Making Test / TMT and Wisconsin Card Sorting Test / WCST)¹²⁵.

Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando o programa Systat (9.0) para Windows. As diferenças para idade determinadas por análise de variância de uma via (ANOVA), e a distribuição de gênero pelo teste de Chi-quadrado. Diferenças de volumes entre os controles foram avaliadas com análise multivariada (MANOVA) com dois fatores dentro dos sujeitos (lado: esquerda, direita; e estruturas: TPC, PRC, ERC, PHC, HIP, AMY). As diferenças de grupo foram avaliadas com MANOVA com fator de agrupamento entre-sujeitos (grupos: controles, ELTM-esquerda, ELTM-direita) e um fator de agrupamento dentro os sujeitos (estruturas: TPC

direita, TPC esquerda, PRC direita, PRC esquerda, ERC direita, ERC esquerda, PHC, direita, PHC esquerda, HIP direita, HIP esquerda, AMY direita, AMY esquerda). O teste de MANOVA foi seguido pelo exame de comparação Tukey HSD post-hoc, de forma a determinar as estruturas com redução de volume em pacientes com ELTM, comparada a controles normais.

Foi utilizado o teste de qui-quadrado para comparar os dados de desempenho neuropsicológicos classificados em grupos qualitativos como dominância manual (direita e esquerda), dominância hemisférica para linguagem (direita, esquerda, bilateral). Foi utilizada a análise de correlação para avaliação dos volumes das estruturas mediais temporais e sua relação com pontuações nos testes neuropsicológicos.

O nível de significância estatístico foi definido em $p < 0.05$.

Resultados

Foram estudados 39 pacientes com MTLE (24 mulheres) com idade média de 35 anos (de 17 a 54 anos), média educacional de 6 anos (de 1 a 16 anos), e média estimada de QI de 89 (de 73 a 115). Trinta e sete pacientes eram dextros (95%), e vinte e oito (72%) tinham dominância à esquerda para linguagem. A performance média nos testes neuropsicológicos foi: -3.73 DP (de: -12.47/+2.79) no BNT; 13 palavras (6-25) no teste de fluência verbal; 0.39 erros (0-2) no teste de vigilância; 62 segundos (19-197) no TMTA; e 146 segundos (49-281) no TMTB. No WCST, trinta e oito (97%) pacientes exibiram amplitude normal de performance e apenas um apresentou déficit de performance. Finalmente, no WMS-R, vinte e quatro (62%) pacientes tiveram déficits de memória.

Dezenove pacientes com ELTM apresentaram AH à direita, e vinte AH à esquerda. Não foi observada correlação entre as estruturas da região medial do lobo temporal nos pacientes com ELTM à esquerda ou à direita.

Análise multivariada (MANOVA) com comparação post-hoc de Tukey entre pacientes e controles mostraram uma redução significativa dos volumes das seguintes estruturas: PRC direito ($\lambda(69,2)=9.7, p<0.05$), ERC direito ($\lambda(69,2)=13, p<0.05$), PHC direito

($\lambda(69,2)=5.7, p<0.05$), e HIP direito ($\lambda(69,2)=201.3, p<0.05$) em pacientes com ELTM direita, e nos pacientes com ELTM esquerda redução significativa nos volumes das seguintes estruturas: PRC esquerdo ($\lambda(69,2)=31, p<0.05$), TPC esquerdo ($\lambda(69,2)=4.5, p<0.05$), ERC esquerdo ($\lambda(69,2)=18.8, p<0.05$), AMY esquerdo ($\lambda(69,2)=7.6, p<0.05$), HIP esquerdo ($\lambda(69,2)=275.5, p<0.05$) in patients with left MTLE. Os resultados da análise de correlação dos valores morfométricos e a avaliação neuropsicológica estão mostrados na tabela 8B, abaixo.

Tabela 8B- A tabela mostra os valores de correlação entre os testes neuropsicológicos mais representativos (primeira coluna) e as estruturas do lobo temporal (primeira linha). O coeficiente de correlação de Pearson é mostrado sob as probabilidades de Bonferroni (em itálico). As correlações significativas estão realçadas em negrito.

Teste	Estrutura													
	L-PRC	R-PRC	L-TPC	R-TPC	L-ERC	R-ERC	L-PHC	R-PHC	L-AMY	R-AMY	L-HIP	R-HIP		
Boston naming test	0.337	-0.203	0.045	-0.073	0.165	-0.192	-0.115	-0.264	0.142	-0.033	0.354	-0.253		
	0.038	0.221	0.79	0.664	0.322	0.248	0.49	0.109	0.395	0.844	0.029	0.126		
QI	0.121	0.132	-0.026	0.056	-0.064	0.171	0.028	-0.122	0.122	0.14	-0.002	0.035		
	0.463	0.424	0.877	0.737	0.698	0.297	0.864	0.461	0.459	0.394	0.989	0.834		
Avocação tardia	0.125	-0.234	0.143	-0.028	0.097	-0.278	0.021	-0.057	0.031	-0.257	0.316	-0.242		
	0.447	0.152	0.386	0.865	0.559	0.087	0.897	0.729	0.852	0.114	0.05	0.137		
Trial making test	-0.045	0.315	-0.041	0.142	-0.012	0.122	0.111	0.353	-0.064	0.056	-0.255	0.197		
	0.787	0.054	0.808	0.394	0.941	0.464	0.506	0.029	0.704	0.738	0.123	0.235		
Fluência Verbal	0.312	-0.653	0.022	-0.44	0.505	-0.547	-0.085	-0.339	0.106	-0.263	0.518	-0.573		
	0.181	0.002	0.925	0.052	0.023	0.013	0.721	0.143	0.658	0.263	0.019	0.008		
Vigilância	0.067	-0.102	0.156	0.274	0.202	0.052	0.099	0.328	-0.263	-0.141	-0.115	-0.04		
	0.683	0.536	0.341	0.092	0.217	0.752	0.549	0.042	0.106	0.392	0.486	0.81		
WMS-R Memória Geral	0.11	-0.374	0.119	-0.109	0.133	-0.282	-0.11	-0.109	0.089	-0.191	0.311	-0.327		
	0.505	0.019	0.471	0.478	0.419	0.082	0.506	0.507	0.59	0.244	0.054	0.042		
WMS-R Memória Verbal	0.058	-0.45	0.127	-0.109	0.149	-0.351	-0.131	-0.094	0.024	-0.251	0.338	-0.394		
	0.726	0.004	0.44	0.508	0.366	0.028	0.428	0.567	0.886	0.123	0.035	0.013		
WMS-R Memória Visual	0.234	0.005	0.119	-0.178	0.131	-0.061	0.1	-0.127	0.202	-0.023	0.19	-0.12		
	0.152	0.975	0.471	0.279	0.425	0.713	0.544	0.441	0.216	0.889	0.247	0.468		

Foi observada correlação positiva entre o hipocampo esquerdo e memória verbal, fluência verbal e BNT; córtex perirrinal esquerdo e BNT; córtex entorrinal esquerdo e fluência verbal; e córtex parahipocampal direito e teste de vigilância. Por outro lado, foi verificada correlação negativa entre o hipocampo direito e o córtex perirrinal direito e memória geral, memória verbal e teste de fluência verbal. Não observamos associação entre as variáveis quantitativas e os volumes mediais temporais (Pearson Chi-square=39.0, $p>0.05$).

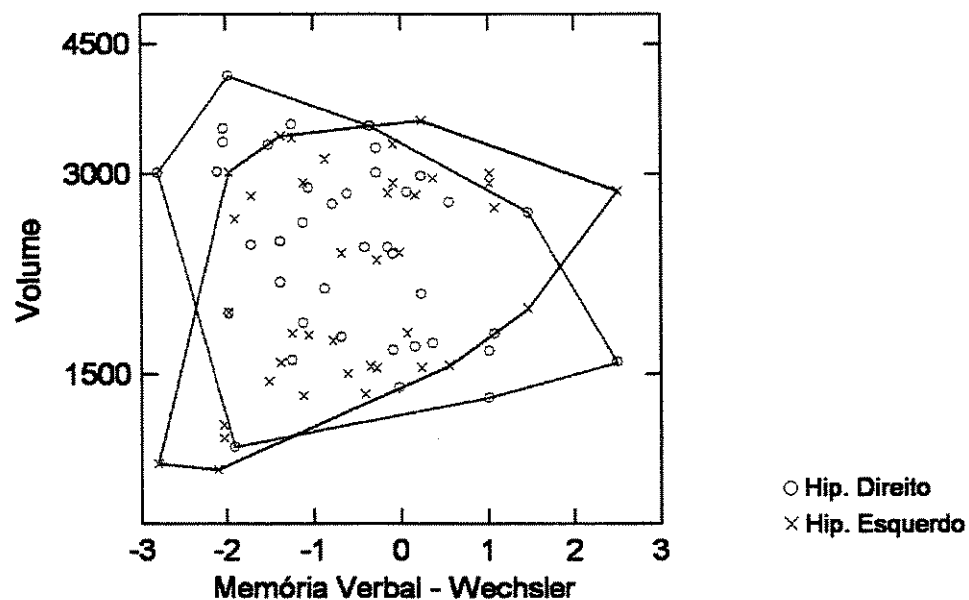


Figura 25- Gráfico de distribuição de pontos com linha convexa circundando os pontos, mostrando a distribuição de volume dos hipocampus direito e esquerdo em relação ao teste de memória verbal de Wechsler.

Como demonstrado por morfometria convencional, existe redução de volume das estruturas mediais temporais além do hipocampo. As estruturas atrofiadas são aquelas que se relacionam anatômica e funcionalmente com o hipocampo corroborando a hipótese de que existe uma rede neuronal que gera e mantém as crises epiléticas, e que está sujeita a lesão. Como as estruturas que pertencem à rede não se restringem à porção medial do lobo temporal, mas envolvem as estruturas do sistema límbico, faz-se necessária a avaliação de todo o cérebro. Essa questão é abordada no objetivo a seguir.

Objetivo 7- Avaliar a presença e extensão do dano neuronal através da redução da CSC em todo o cérebro de indivíduos com ELTM.

Métodos

Sujeitos

Foram estudados 49 indivíduos normais provenientes da comunidade local (17 homens) com idade média de 34 anos (DP = 11), abrangendo de 19 a 60 anos. Foram ainda estudados 43 pacientes consecutivos com ELTM. Vinte e dois pacientes tinham ELTM à esquerda (8 homens) com idade média de 38 anos (DP = 8), entre 18 e 54 anos; e 21 pacientes tinham ELTM à direita (7 homens) com idade média de 32 anos (DP = 8), entre 17 e 55 anos.

Todos os pacientes do estudo provieram da clínica de epilepsia do Hospital das Clínicas da Unicamp, onde foram diagnosticados de acordo com a história clínica e exame físico. A investigação complementar envolveu eletroencefalogramas (EEG) interictais, tomografia computadorizada e exames de RM. A determinação do tipo de síndrome epilética foi baseada nos critérios da ILAE¹²⁶. As crises foram lateralizadas de acordo com a história clínica, com exame neurológico detalhado, EEG interictais e vídeo-EEG com registro do início de crises. Todos os pacientes apresentavam atrofia hipocampal associadas com outros sinais de esclerose hipocampal à análise visual do protocolo diagnóstico de RM¹²⁷. Todos os pacientes eram refratários ao tratamento clínico com drogas antiepiléticas, apresentavam início de crises e atrofia hipocampal unilaterais.

Aquisição de imagens de RM

Foram adquiridas imagens de RM utilizando-se um protocolo “standard”, com coleta de imagens T1 com voxel isotrópico de 1 mm ou com voxels de 1.5x0.97x0.97 mm. Todas as imagens foram adquiridas no mesmo aparelho Elscint Prestige de 2 Tesla utilizando seqüência tipo graadiente-eco (TR=22ms, TE=9ms, flip angle=35°, matrix=256x220).

Processamento de dados

As imagens em formato DICOM foram transformadas para o formato ANALYZE utilizando-se o programa de computador MRIcro (Chris Rorden, www.mricro.com)¹¹⁷. A análise de MBV foi realizada utilizando-se o programa SPM99 (Wellcome Department of Cognitive Neurology, www.fil.ion.ucl.ac.uk)⁹⁸. A rotina normalização do programa SPM99 foi utilizada para a adequação do tamanho e forma do cérebro de cada indivíduo ao modelo ‘T1.img’ fornecido pelo SPM99. A estimativa dos parâmetros para normalização foi realizada através do protocolo padrão do programa SPM99 (usando 12 parâmetros lineares e 7x8x7 funções de base não lineares, com o uso de máscara cerebral para certeza de que o ajuste foi baseado no formato do cérebro e não do escalpe). As imagens normalizadas espacialmente foram re-fatiadas em voxels isotrópicos de 1,5mm. Em seguida, as imagens foram submetidas à segmentação de substância cinzenta usando as rotinas do programa SPM99, que estimam a concentração de substância cinzenta para cada voxel. De forma a evitar que o processo de normalização aumentasse artificialmente áreas cerebrais atrofiadas ao ajustar as imagens da pacientes ao espaço estereotáxico, utilizamos a modulação da concentração estimada de tecido. Tal método foi proposto por Good et al¹¹⁸ e, baseado na deformação especial encontrada durante o processo de normalização, permite que as imagens seja, transformadas adequadamente para o espaço padrão e tenham suas concentrações de tecido (ou seja, substância cinzenta) preservadas. Por fim, as imagens foram submetidas a suavização por um Cerne Gaussiano Isotrópico de 10mm de forma e minimizar a variação inter-individual de sulcos e giros. A suavização cria imagens que são mais bem distribuídas segundo a variação normal e permita a análise baseada em voxels. As imagens resultantes foram comparadas usando-se o teste t de forma a procurar diferenças na CSC entre indivíduos controles e pacientes com ELTM. Os contrastes foram definidos de forma a estimar a probabilidade de cada voxel ser substância cinzenta.

Análise Estatística

As diferenças de idade entre os grupos foram avaliadas usando-se ANOVA, e a distribuição de gênero foi avaliada com o teste de Qui-quadrado.

As imagens normalizadas, segmentadas, moduladas e suavizadas foram analisadas usando-se o programa SPM99. Foram conduzidas duas análises sobre concentração de substância cinzenta: uma comparando os pacientes com ELTM à esquerda com controles e a segunda comparando os pacientes com ELTM à direita com os controles. Os parâmetros para as duas análises foram idênticos e foram utilizados usando-se o teste t para duas amostras. A análise incluiu escalamento para a média, e mascaramento proporcional para limiar (definido em 0.8) e máscara implícita. O resultado da análise é um mapa paramétrico de estatística t ($SPM_{(t)}$), e o SPM_t é corrigido para distribuição normal ($SPM_{(z)}$). Foi usado inicialmente um limiar estatístico mais conservador de $p < 0.05$ ($T = 4.55$) corrigido para múltiplas comparações com um limiar estendido de conjuntos (“clusters”) de pelo menos 32 voxels contíguos (limiar combinado de $P < 0.027$ corrigidos para o volume inteiro). Utilizando esse critério conservador, foram observadas diferenças de CSC em regiões cerebrais tais como o hipocampo e regiões adjacentes na comparação de pacientes com ELTM à esquerda e controles. Nesse limiar, foram observadas diferenças de CSC entre pacientes com ELTM à direita controles apenas na cabeça do hipocampo direito e no cerebelo. Baseado na presença de atrofia hipocampal observada durante análise visual dos exames de RM, a priori os pacientes com ELTM à direita apresentam padrão de atrofia similar àquele dos pacientes com ELTM à esquerda. No entanto, a diferença observada de intensidade de alterações de CSC pode decorrer de pequena amostra de pacientes e de limiar restrigente. Por isso, foi conduzido um teste estatístico com limiar ligeiramente mais liberal com os pacientes com ELTM à direita, examinando clusters com mais de 32 voxels que excediam $p < 0.001$ não corrigido $T = 3.21$). Essa análise de fato revelou atrofia de hipocampo direito associada à atrofia de outras regiões de forma amplamente simétrica ao resultado obtido com a análise com os pacientes com ELTM à esquerda. Logo, os resultados a seguir são baseados nos critérios expostos acima.

Resultados

Não houve diferença significativa de distribuição de idade ($F[2,89]=1.6$, $P>0.05$) ou gênero (Pearson's Qui-quadrado = 0,02, $P>0,05$) entre os controles e os pacientes.

Os valores de estatística t ($SPM_{(t)}$) e ($SPM_{(z)}$) estão mostrados na tabela 9, revelando as regiões de redução de CSC nos pacientes com ELTM comparados com controles. Não se observaram regiões de excesso de CSC em pacientes com ELTM, mesmo quando da análise liberal sem extensão de agrupamento ou com limiar não corrigido $P<0.05$. O mapa paramétrico de estatística t ($SPM_{(t)}$) aplicado em um molde normalizado de RM T1 é mostrado nas figuras 26, 27, 28 e 29.

Foi observado que existe redução significativa de CSC em pacientes com ELTM refratária a tratamento clínico. A redução de CSC afeta o hipocampo ipsilateral ao início das crises e outras regiões além da região medial do lobo temporal. Ao mesmo tempo, não foi observado aumento de CSC em pacientes com ELTM.

Em pacientes com ELTM à direita, observou-se que a redução de CSC afetou o hipocampo direito e o giro parahipocampal direito, ambos os hemisférios cerebelares, o tálamo bilateralmente, o núcleo caudado à direita, o giro temporal superior à direita, o giro angular à direita, o mesencéfalo dorsal e região parieto-occipital à direita (Figuras 1). Em pacientes com ELTM à esquerda foi observada redução de CSC no hipocampo esquerdo e giro parahipocampal esquerdo, na insula à esquerda, no tálamo esquerdo, no giro parietal superior esquerdo, no caudado direito, no mesencéfalo dorsal, nas regiões parieto-occipitais bilateralmente e no cerebelo bilateralmente.

Tabela 9- Os resultados da análise por VBM

MTLE à esquerda – redução de CSC
p<0.05 corrigida para o volume inteiro
Tamanho do agrupamento “cluster” = 0

Resumo do volume (valores de p corrigidos para o volume inteiro)										
Local	Nível do Voxel			Nível do Cluster			Coordenada			
	voxel	Voxel	voxel	voxel	voxel	cluster	equivk	p(corr)	cluster	x,y,z
	T	equivZ	p(ficor)	p(corr)						
Hipocampo esquerdo	5.51	-5	0.000	0.002		2314	0			-32 -15 -18
Ínsula esquerda	5.66	-5.11	0.000	0.001		2314	0			-41 3 -5
Cerebelo direito	6.15	-5.47	0.000	0.000		3748	0			42 -80 -39
Tálamo esquerdo	5.34	-4.87	0.000	0.004		339	0.003			-12 -14 17
Caudado direito	4.61	-4.29	0.000	0.043		1	0.041			14 12 15
Mesencéfalo dorsal	4.66	-4.33	0.000	0.031		32	0.028			0 -29 -14
Região parieto-occipital à direita	5.42	-4.93	0.000	0.009		497	0.023			50 -75 32
Região parieto-occipital à esquerda	5.27	-4.81	0.000	0.005		228	0.005			-48 -65 30
Giro temporal superior esquerdo	4.96	-4.57	0.000	0.014		2314	0			-53 9 -20
Cerebelo esquerdo	6.18	-5.49	0.000	0.000		2458	0			-15 -84 -41
Giro parahipocampal esquerdo	4.59	-4.35	0.000	0.034		39	0.025			-42 -24 -27

MTLE à direita – redução de CSC

***p* < 0.001**

Tamanho do agrupamento “cluster” 32

Resumo do volume (valores de p corrigidos para o volume inteiro)												
Local	Nível do Voxel				Nível do Cluster				Coordenada			
	voxel	voxel	voxel	voxel	voxel	voxel	voxel	voxel	cluster	cluster	cluster	cluster
	T	equivZ	p(fcor)	p(corr)	equivk	p(cor)	x,y,z					
Hipocampo direito	4.74	-4.39	0.000	0.030	10475	0	21 -20 -22					
Parahipocampo direito	5.64	-5.09	0.000	0.002	10475	0	48 -71 -39					
Cerebelo direito	3.74	-3.55	0.000	0.448	10475	0	-23 -11 -42					
Cerebelo esquerdo	4.11	-3.87	0.000	0.194	2492	0.007	-14 -17 9					
Tálamo esquerdo	3.74	-3.95	0.000	0.282	2492	0.003	14 -11 12					
Tálamo direito	4.57	-4.25	0.000	0.052	93	0.691	14 14 15					
Caudado direito	3.58	-3.51	0.000	0.499	342	0.385	24 59 0					
Região pré-frontal direita	3.29	-3.16	0.001	0.842	392	0.344	47 0 -21					
Giro temporal superior direito	3.42	-3.27	0.001	0.741	341	0.386	51 -53 21					
Giro angular direito	3.71	-3.53	0.000	0.478	2492	0.007	5 -35 -11					
Mesencéfalo dorsal	4.12	-3.88	0.000	0.189	245	0.483	53 -50 38					
Região parieto occipital esquerda												

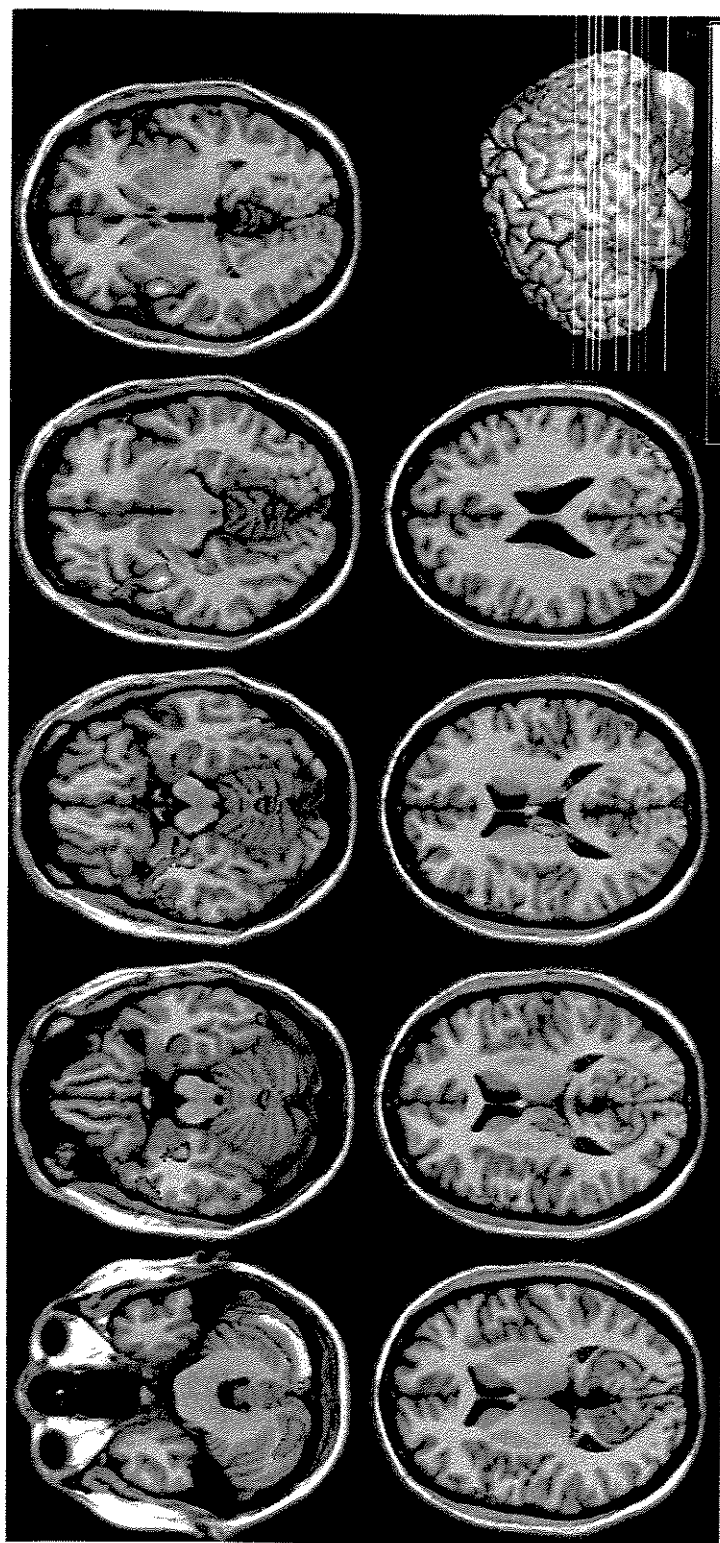


Figura 26

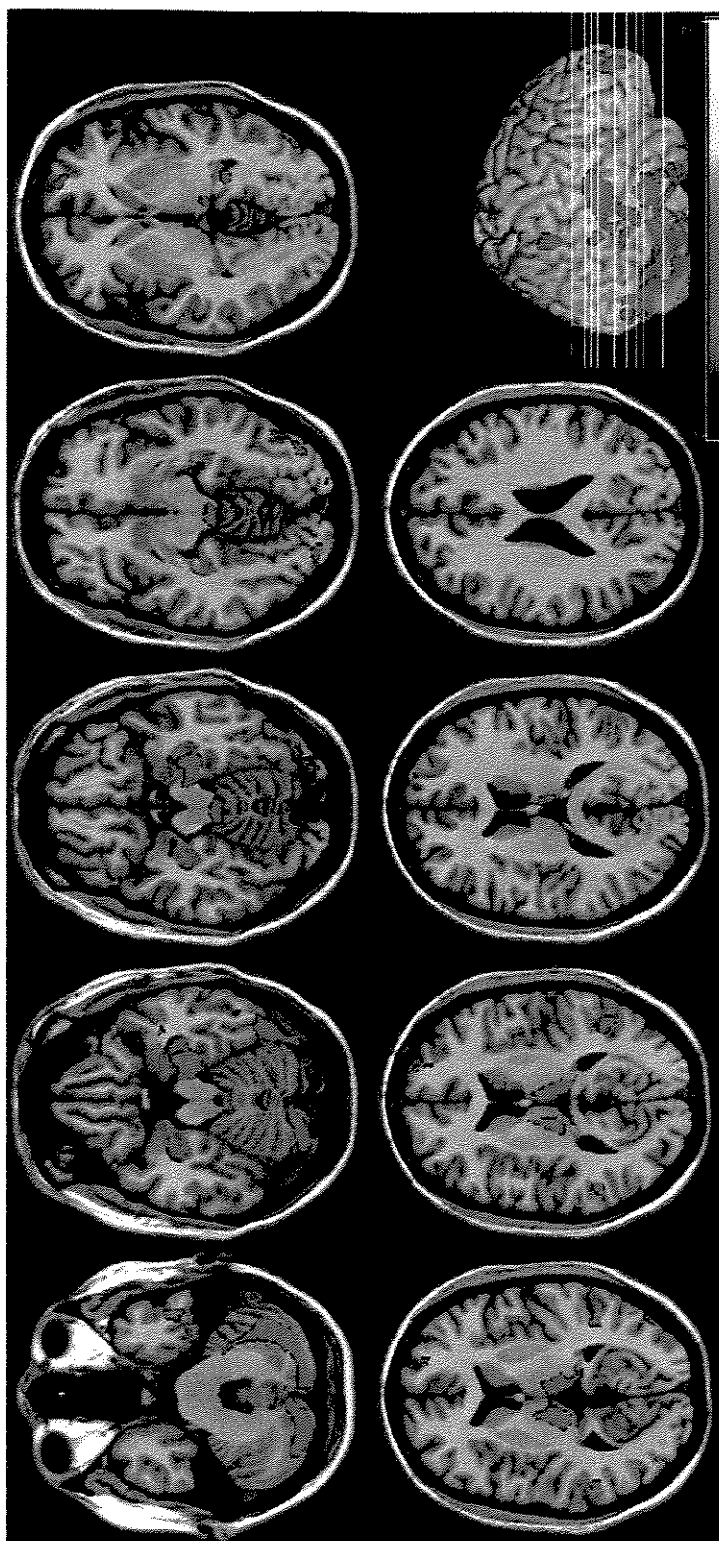


Figura 27

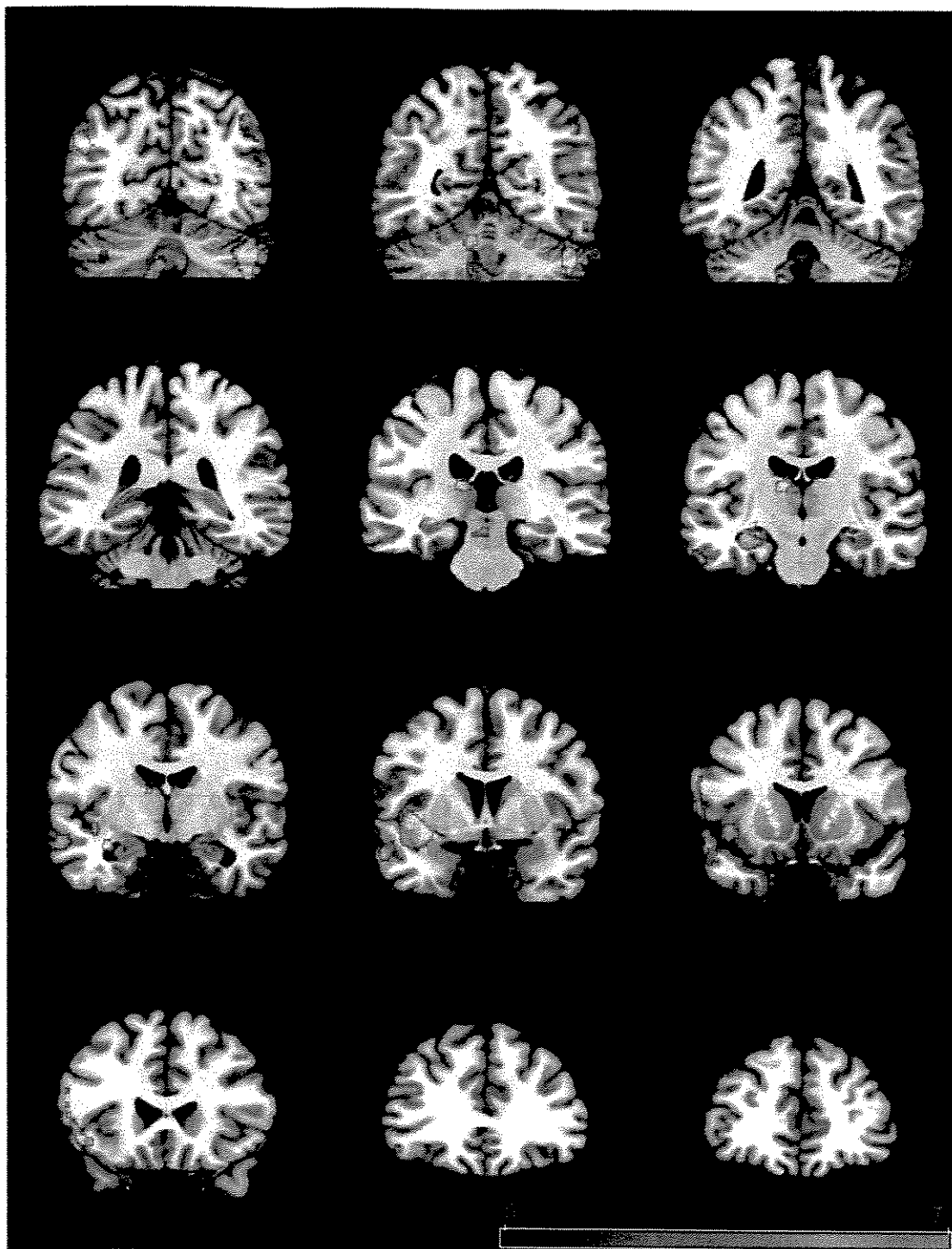


Figura 28

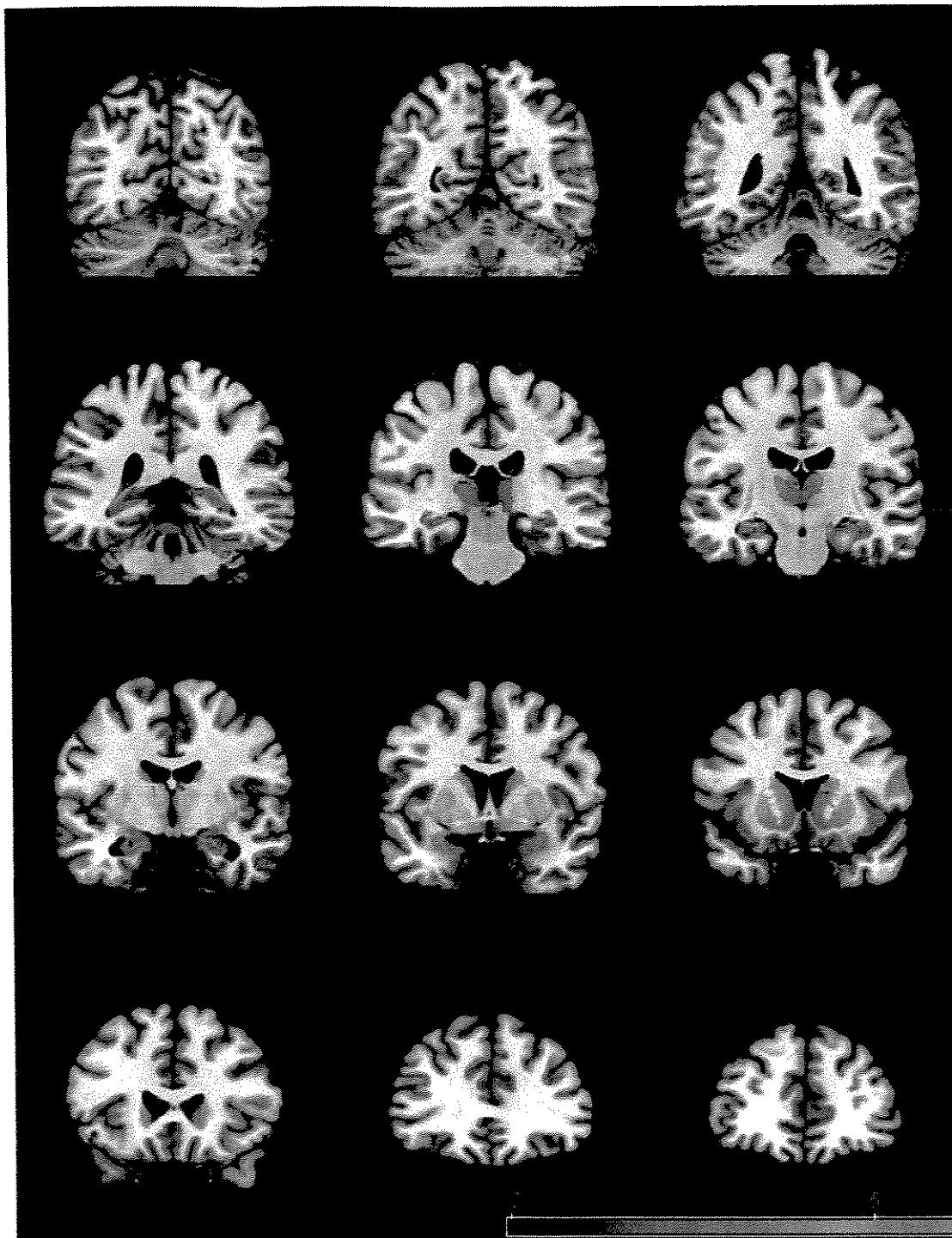


Figura 29

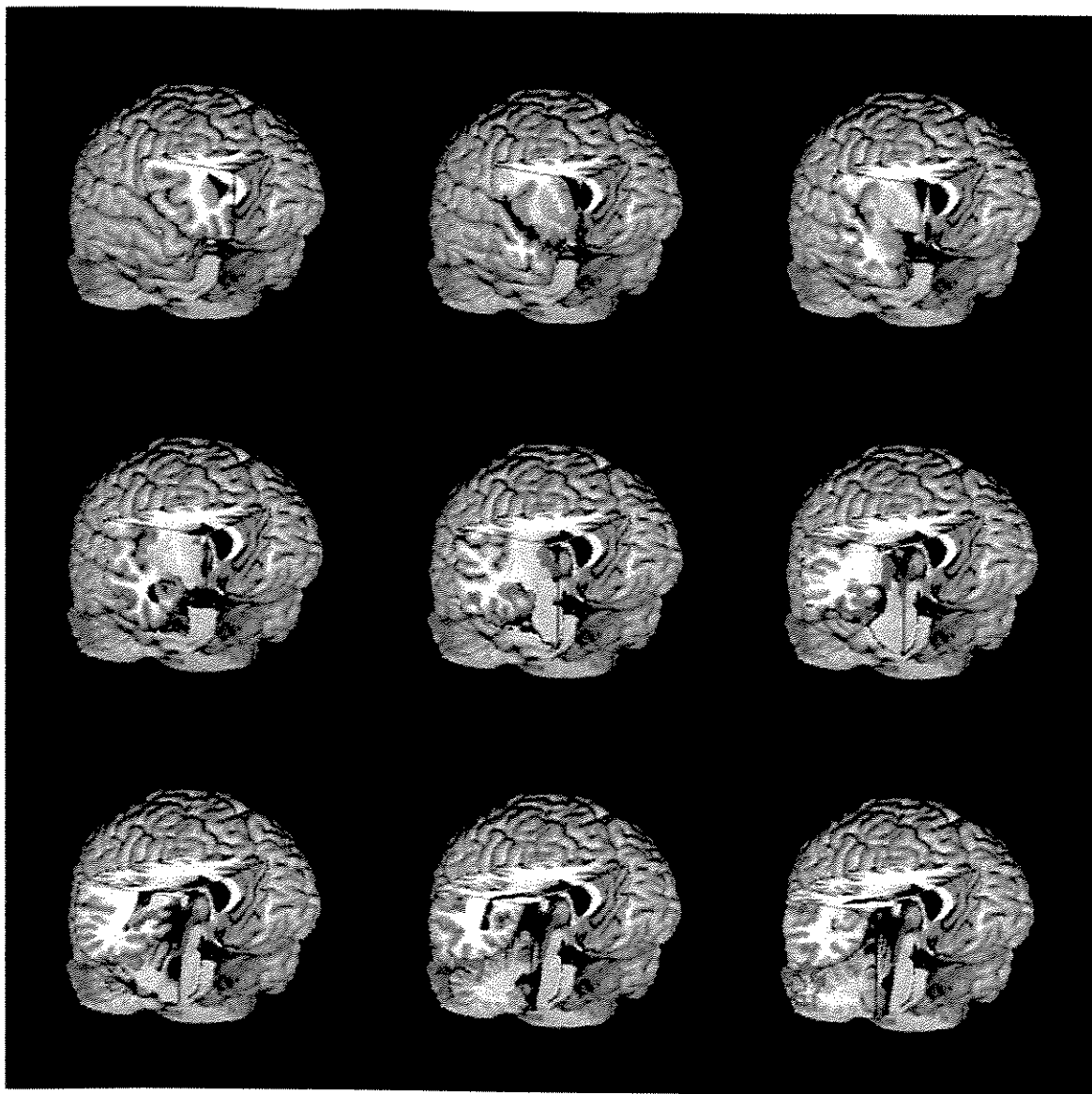


Figura 30

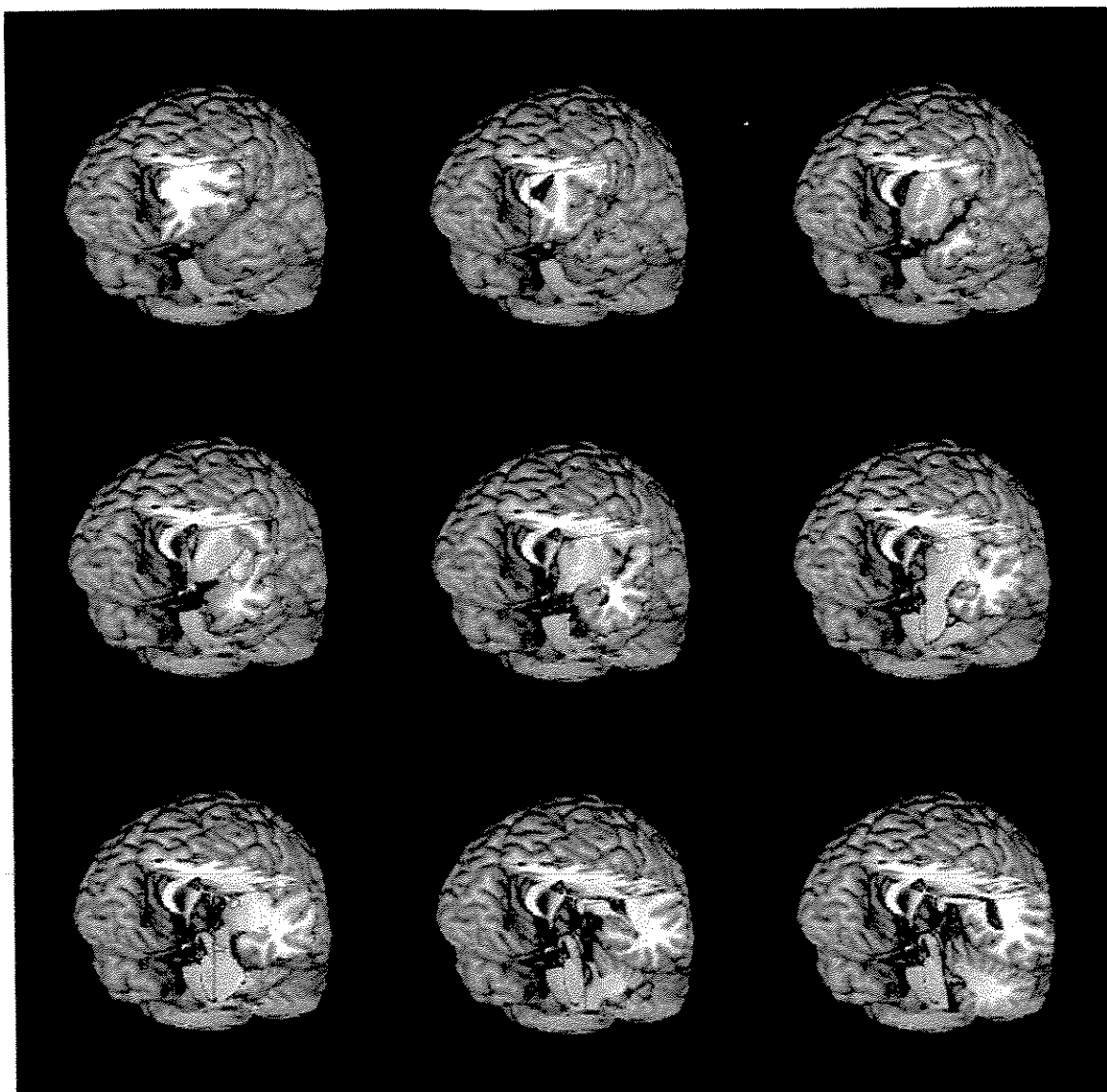
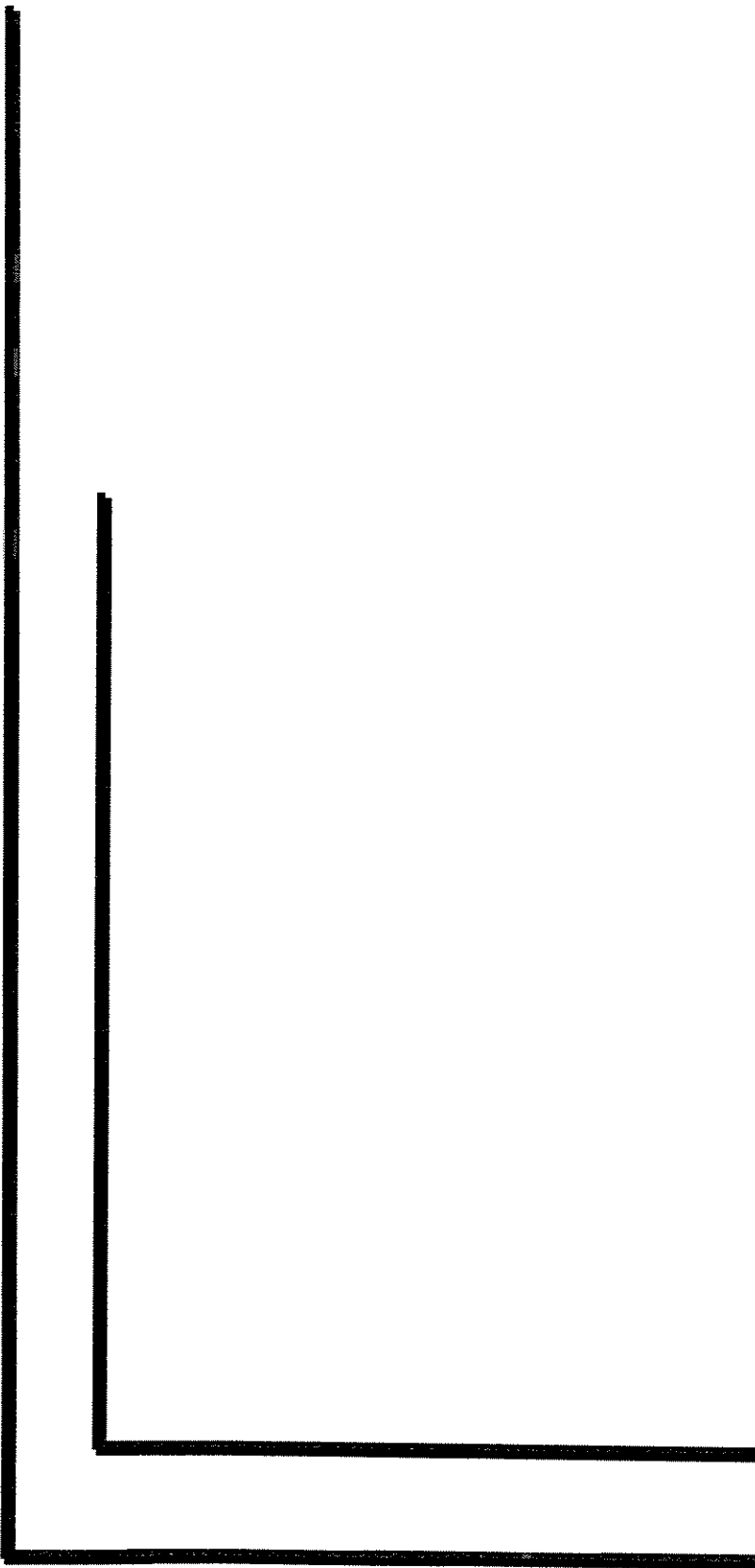


Figura 31



DISCUSSÃO

A seguir, as discussões a seguir estão fragmentadas nas considerações acerca de cada um dos objetivos:

Definir um protocolo anatômico para ser usado para quantificação volumétrica por RM da região medial do lobo temporal.

Nós desenvolvemos um protocolo para segmentação de estruturas mediais temporais com o uso de RM e programa de navegação multiplanar. A criação desse protocolo foi determinada pela necessidade de uma ferramenta para aumentar a acuracidade da avaliação volumétrica das estruturas mediais temporais. Como muitas das ferramentas atuais que são usadas para analisar os volumes cerebrais utilizam imagens espessas em apenas uma orientação de corte, a avaliação de estruturas pequenas do lobo temporal pode ser prejudicada. Ainda, as estruturas corticais do lobo temporal têm usualmente limites que não correspondem aos acidentes anatômicos, ou quando o fazem, envolvem sulcos ou giros muito sutis que são difíceis de serem definidos em apenas um plano ortogonal ou em imagens de baixa resolução.

Algumas doenças prevalentes como esquizofrenia, autismo, doença da Alzheimer e fundamentalmente, ELTM, envolvem o lobo temporal na sua porção medial. A lesão ao hipocampo e à amígdala nesses pacientes têm sido extensamente estudada. No entanto, o grau de comprometimento das estruturas corticais adjacentes ainda não é completamente entendido, como ainda não está determinada a contribuição destas áreas à fisiopatologia e sintomatologia dessas doenças. Portanto, existe interesse na criação de uma ferramenta mais poderosa para a avaliação do volume dessa região.

Com a criação do protocolo, observou-se que a definição dos limites anatômicos foi mais facilmente realizada quando foi possível visualizar a estrutura de interesse conjuntamente em diferentes planos ortogonais. Adicionalmente, foi possível a definição de acidentes anatômicos que não estavam presentes em todos os planos. Os pontos de reparo observados em diferentes planos foram usados concomitantemente para a segmentação e isso permitiu a confirmação em diferentes orientações dos pontos de reparo, incrementando a confiabilidade da mensuração.

Uma desvantagem da avaliação cuidadosa em vários planos foi o tempo devotado para cada segmentação. Em média, a segmentação de cada indivíduo (seis estruturas de cada lado, doze estruturas no total) consumia cerca de quatro horas. No entanto, o treino pelo uso freqüente do protocolo deve reduzir substancialmente o tempo gasto.

Outro aspecto que contribuiu para aumentar a acurácia da avaliação das imagens foi o processamento pós-aquisição a que as imagens foram submetidas antes da análise visual. As imagens foram corrigidas para não-homogeneidade do campo magnético utilizando o programa N3¹⁰⁹, o que provocava melhora significativa na qualidade da imagem. Algumas imagens antes da correção pelo N3 apresentavam definição anatômica ruim e se tornaram facilmente segmentáveis após a correção pelo N3.

Outro passo no processamento pós-aquisição que contribuiu para a análise foi a transformação linear estereotática. A transformação linear foi importante por remover a influência do volume do cérebro como um todo sobre as estruturas cerebrais. Os volumes obtidos, refletiram então o tamanho e a magnitude de cada estrutura comparada a outras regiões cerebrais. O uso de imagens transformadas para o espaço estereotático pode minimizar discrepâncias entre diferentes estudos e permitir a comparação de conclusões sobre os efeitos da ELTM, outras doenças e processos fisiológicos normais, como envelhecimento, sobre estruturas cerebrais.

O processamento pós-aquisição não permite a comparação direta entre os volumes obtidos por este protocolo com os volumes obtidos por outros estudos já que alguns desses avaliaram quantitativamente imagens cruas ou submetidas a diferentes processos de normalização. Em comparação com outros estudos, os achados principais são agrupados na tabela. 4.

Efeito de gênero e idade nos volumes avaliados

Não foi observada diferença na distribuição de idade ou sexo entre os indivíduos estudados, assim como não foi observada correlação linear dos volumes com a idade. Alguns estudos prévios demonstraram diminuição nos volumes temporais associada

com a idade^{128;129}. Esta diminuição pode relacionada a metodologias diferentes⁸⁶ uma vez que estes estudos avaliaram a substância cinzenta como um todo ou giros em particular, com substâncias branca e cinzenta sem distinção¹²⁹. Insausti et al⁸⁶ observaram decréscimo relacionado com a idade apenas no córtex têmporo-polar. No entanto, de acordo com o mesmo autor^{86;130} há uma grande variabilidade inter-individual no padrão de sulcos e giros que são usados como pontos de reparo para os limites do córtex têmporo-polar. Isso faz com que a avaliação volumétrica do córtex têmporo-polar seja difícil e suscetível a variabilidade biológica.

No presente estudo, não foi observada diferença nos volumes devido a idade ou gênero devido a distribuição e tamanho da amostra, ou devido ao fato de que as imagens foram transformadas linearmente para o espaço estereotáxico. Estudos adicionais podem ajudar a esclarecer esse assunto e determinar se há de fato redução do volume do lobo temporal associada com a idade.

Assimetria hemisférica

Os volumes dos córtices entorrinal, perenal, têmporo-polar, e parahipocampal, e os volumes do hipocampo e da amígdala não foram afetados por idade. O córtex entorrinal direito foi descrito como significativamente maior em indivíduos normais que o esquerdo⁸⁶, mas isso não foi confirmado por outros estudos^{79;81;85}. Ainda, no presente estudo não se observou assimetria significativa envolvendo a amígdala ou o lobo temporal anterior (córtices entorrinal e perirrinal associados), embora alguns autores descreveram a amígdala direita como sendo maior^{131;132} e a região anterior do lobo temporal esquerdo como maior que o esquerdo⁸⁶ ou vice-versa^{133;134}. Atualmente, não há dados conclusivos sobre a existência de assimetria em indivíduos normais. Provavelmente, a inclusão de variáveis sócio-demográficas em estudos futuros podem contribuir para esclarecer o grau e os padrões de assimetria que podem ser considerados normais para certas sub-populações¹³⁵.

Com a definição deste protocolo, apresenta-se uma nova ferramenta que pode ser utilizada para análise volumétrica do lobo temporal. Este método incrementa a acurácia e a confiabilidade da quantificação por RM de estruturas cerebrais pelo uso de imagens de RM de alta resolução e pela possibilidade de se definirem em três diferentes planos

ortogonais os acidentes anatômicos que servem de parâmetro para os limites destas estruturas. O uso da quantificação das estruturas mediais do lobo temporal por RM de alta resolução pode ajudar a definir o papel e o envolvimento dessa região em diferentes tipos de processos fisiológicos tais como o envelhecimento, e diferentes doenças neurológicas, sobretudo a ELTM.

Avaliar a influência da espessura da imagem e do método na mensuração do córtex entorrinal.

Um grande número de variáveis pode afetar os resultados de estudos volumétricos. A visualização correta dos acidentes anatômicos é crucial para delimitação da região de interesse^{95;114;115}. Por outro lado o volume parcial gerado pelo uso de cortes espessos de RM pode prejudicar a avaliação da variabilidade rostro-caudal de estruturas cerebrais. Isso pode ser particularmente importante em estruturas pequenas⁸⁷ e o uso de métodos diferentes de mensuração pode afetar os resultados de maneira geral.

Essas variáveis podem não influenciar a quantificação de estruturas grandes tais como o hipocampo⁸⁷, o corpo caloso ou o volume geral do cérebro¹³⁶. No entanto sua influência sobre pequenas estruturas pode ser motivo de preocupação.

A análise quantitativa de imagens de RM prove informação sobre a fisiopatologia da doença estudada tal como a observação de redução de volume do hipocampo em pacientes com esclerose hipocampal^{31;137} e doença de Alzheimer⁸⁷.

Estudos volumétricos do córtex entorrinal têm sido utilizados para investigar pacientes com diferentes doenças neurológicas. Mensurações realizadas com o mesmo protocolo mostraram que o volume do córtex entorrinal está diminuído em pacientes com ELTM^{37;79;83;85}, doença de Alzheimer⁷⁶ e demência frontotemporal⁸².

A análise volumétrica do cérebro é um método que consome tempo. O fator que primariamente afeta o tempo devotado para a análise volumétrica é o número de cortes estudado. Por esse motivo, a análise quantitativa realizada com menor número de cortes e imagens mais grossa é eventualmente utilizada para abreviar o tempo da segmentação manual. Devido ao efeito do volume parcial do processo de RM⁸⁷, a imagem processada

durante a aquisição reflete uma média contida dentro da espessura do corte. Logo, a avaliação realizada em imagens espessas, embora mais rápida, podem sub-avaliar estruturas anatômicas sutis ou acidentes de superfície e gerar resultados não precisos.

Atualmente, ainda não foi demonstrado viés na volumetria do hipocampo por conta do uso de cortes espessos, mas o uso de cortes finos é sugerido para pequenas estruturas tais como o córtex entorrinal⁸⁷. Quando o pesquisador não está acostumado com a segmentação do lobo temporal, ou quando a imagem de RM tem alterações devido a artefatos de técnica ou doença cerebral, o uso de imagens espessas pode aumentar falsas estimativas.⁸⁷

Isso é particularmente aplicável ao córtex entorrinal. A análise morfométrica do córtex entorrinal depende da visualização precisa de pontos anatômicos muito sutis tais como o sulco semianular, a fissura hipocampal e as bordas do sulco colateral. Ainda, há uma considerável variação do tamanho do córtex entorrinal entre cortes adjacentes na direção rostro-caudal⁸⁶. Diferente do hipocampo devido ao seu pequeno tamanho e variabilidade anatômica, a subestimativa da variabilidade rostro-caudal e do efeito do volume parcial podem causar superestimativa do volume do córtex entorrinal.

No presente trabalho demonstrou-se que a análise quantitativa do córtex entorrinal realizada com diferentes espessuras de cortes gera resultados diferentes. Demonstrou-se ainda que os volumes obtidos mostram correlação positiva com a espessura do corte. Isso provavelmente se deve a dois fatores: primeiro- cortes espessos diminuem a resolução da imagem e a possibilidade de visualização correta de pontos anatômicos sutis. De fato, a aplicação de um protocolo anatômico a cortes espessos é realizável e os limites anatômicos podem ser vistos, mas como os cortes representam regiões um pouco distantes entre si, variações na localização dos pontos de reparo contidas dentro do corte podem ser negligenciadas; segundo- volume parcial cria uma média das estruturas contidas dentro do corte e cria um volume artificial, gerando superestimação de volume (figura 32) e esse efeito pode ser mais intenso na região anterior do hipocampo onde a variabilidade anatômica entre cortes contíguos é mais intensa.

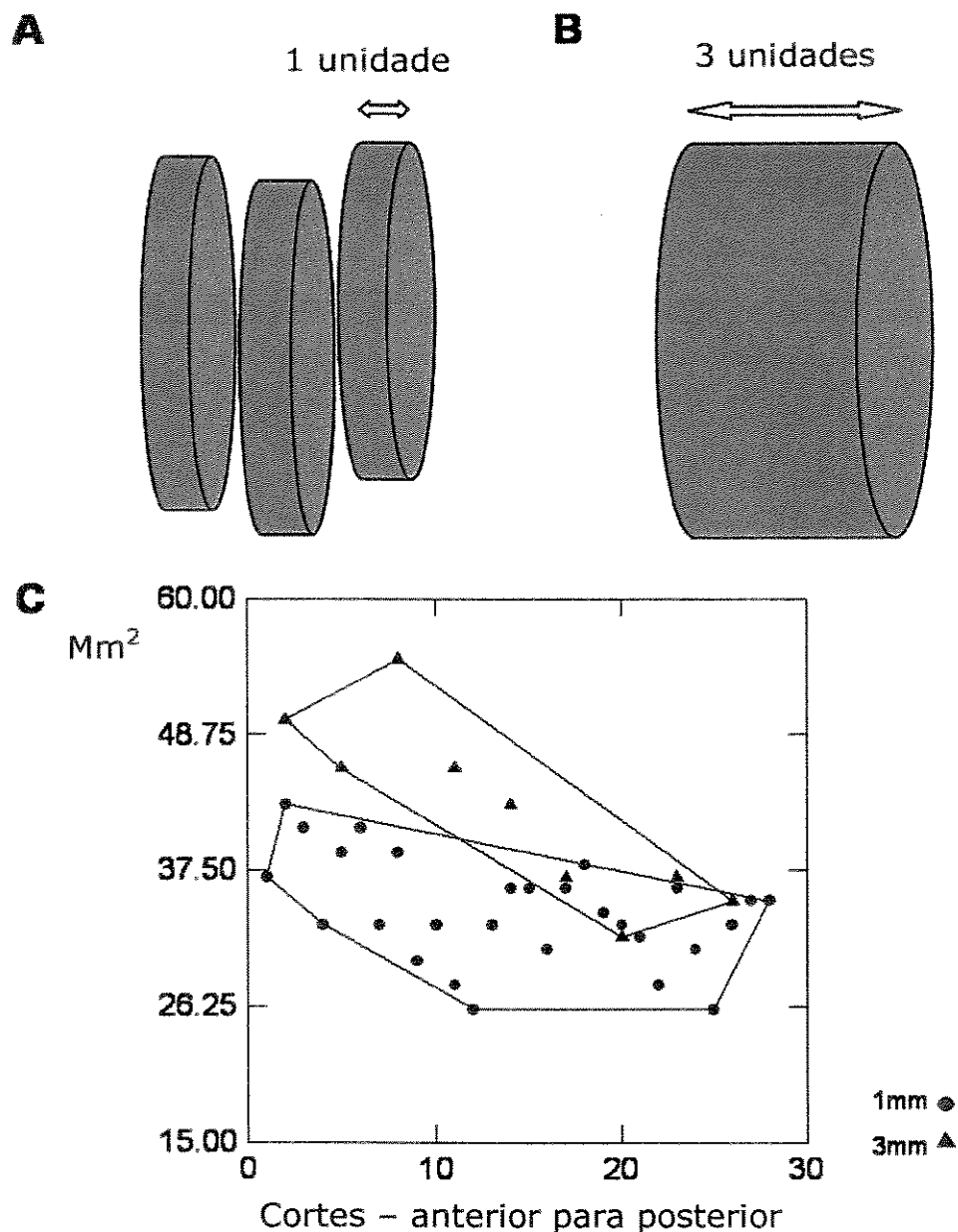


Figura 32- A) Uma estrutura hipotética é representada por três cortes sequenciais com espessura de uma unidade. Assumindo que a área da estrutura medida nos cortes da direita para a esquerda é respectivamente 0.8; 0.8 e 0.7 unidades², o volume calculado da estrutura é $(0.8 \times 1) + (0.8 \times 1) + (0.7 \times 1) = 2.3 \text{ unidades}^3$. B) A mesma estrutura é representada com corte de 3 unidades. O efeito do volume parcial causa uma superestimativa das bordas da estrutura pois representa uma soma das bordas contidas dentro da fatia. Assumindo que a área medida seja de 1 unidade², o volume calculado da estrutura é então $3 \times 1 = 3 \text{ unidades}^3$. C) O gráfico demonstra um exemplo real do esquema representado em A e B em um sujeito randômico. O gráfico demonstra que há diferença consistente nas áreas de cada corte medidas em 1mm versus 3mm; uma moldura convexa envolvendo os pontos ressalta diferença.

A espessura do manto cortical é particularmente diferente de um corte para outro. Em cortes de 1mm, com visualização precisa da transição substância cinzenta substância branca, há uma considerável extensão do córtex que não corresponde a mais do que uma coluna de pixels.

O uso de cortes espessos causa significativa superestimativa do volume do córtex entorrinal. Na prática cotidiana neuroradiológica isso pode ser de pequena significância, no entanto este pormenor técnico pode significativamente influenciar conclusões tiradas de estudos volumétrico do córtex entorrinal. O uso de imagens espessas para a avaliação quantitativa do córtex entorrinal e provavelmente de pequenas estruturas cerebrais gera resultados imprecisos e pode impedir a detecção de alterações sutis condicionadas por doenças neurológicas. É possível que estudos prévios envolvendo o córtex entorrinal tenham sido influenciados em suas conclusões pela espessura do corte utilizado.

Basicamente, há duas formas pelas quais os programas de computador são projetados para segmentação manual não automática: i) o pesquisador desenha uma linha definindo as bordas de uma determinada região e o programa realiza o cálculo adicionando à região os pixels sobre os quais a linha foi feita; ii) o pesquisador desenha as bordas de uma determinada região ao marcar os pixels com o mesmo tom de cinza da estrutura e que são mais periféricos, e o programa calcula a soma dos pixels marcados e dos pixels que são circundados pelos pixels marcados.

No método de delimitação de bordas, o pesquisador define onde uma linha que demarca estrutura mais provavelmente está⁷⁴, e isso pode ocorrer sobre pixels de intensidade de cinza que poderiam não ser incluídos na região de interesse se o pesquisador tivesse a oportunidade de escolher os pixels mais periféricos que contêm a mesma intensidade de cinza (Figura 33). O cálculo realizado com a inclusão de pixels adicionais aumenta o volume observado e isso pode ser relevante quando a estrutura estudada é pequena tal como o córtex entorrinal.

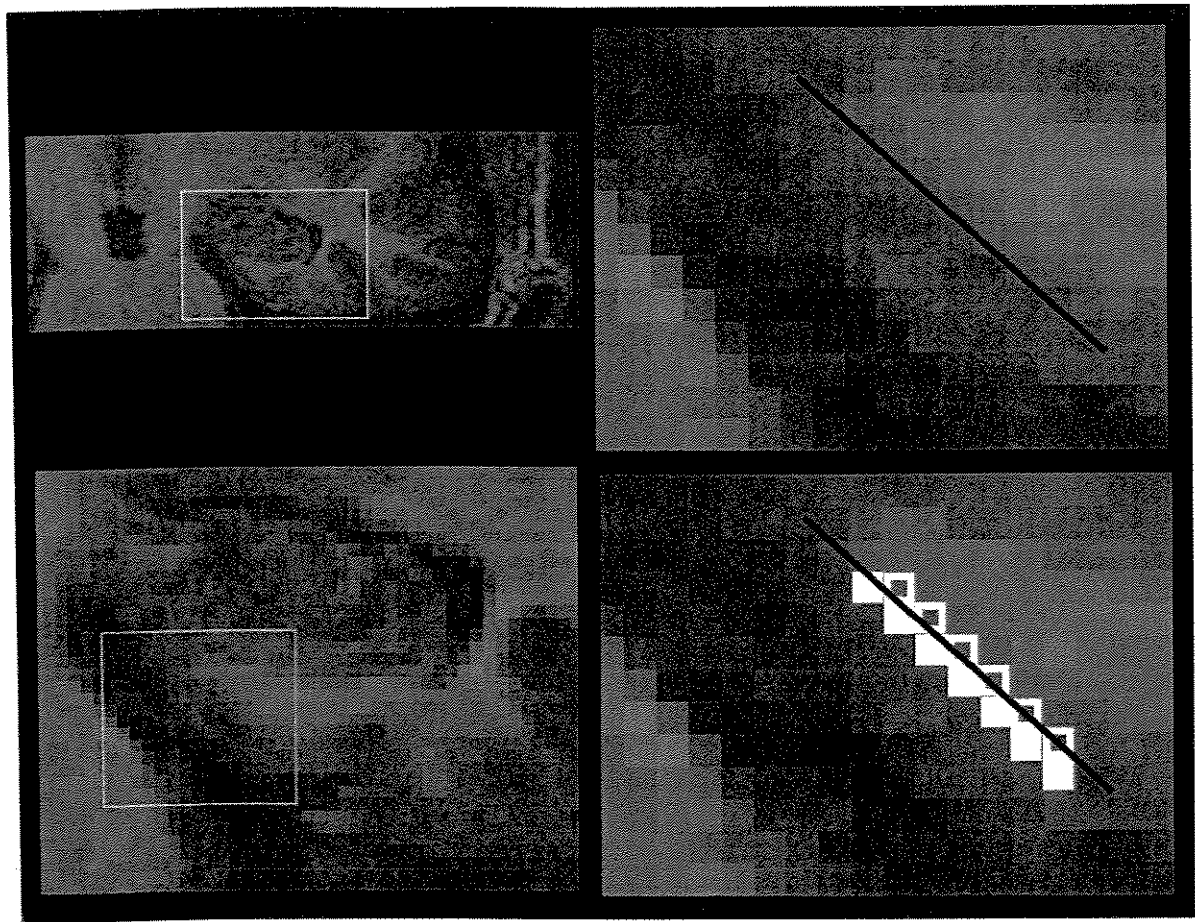


Figura 33- Figura composta por imagens de RM mostrando magnificação da região medial do lobo temporal em cortes coronais. A margem entre as substância branca e cinzenta (linha preta) quando definida pelo método de delineação de bordas, incluiria os pixels brancos e os pixels emoldurados em branco no cálculo da região de interesse. Por outro lado, a definição da borda pelo método de avaliação pixel por pixel incluiria apenas os pixels marcados, i. e., os pixels brancos.

Demonstra-se então que o uso do método pixel por pixel para quantificação do córtex entorrinal gera volumes menores que pelo método de delimitação de bordas. Os resultados obtidos pelo método pixel são mais próximos que aqueles obtidos por estudos pregressos^{79;81;83;85;86;138}.

O conhecimento de que diferentes resultados podem advir de diferentes métodos de quantificação do córtex entorrinal deve guiar a escolha do método antes do início do estudo, para que conclusões biológicas possam ser tiradas dos resultados obtidos.

Definir a influência da certificação de pontos de reparo anatômicos pela visualização de diferentes planos ortogonais na mensuração da amígdala.

Compararam-se os resultados da segmentação manual da amígdala realizada através da visualização tridimensional de imagens de RM ponderadas em T1 e através da visualização de cortes coronais de imagens de RM tipo IR de 3m. Nós observamos que há uma diferença significativa dos volumes obtidos por estes dois métodos de análise.

A análise volumétrica da amígdala não é uma tarefa fácil. É difícil separar os núcleos amigdalóides da substância cinzenta adjacente, particularmente excluir os córtices entorrinal e perirrinal e a cabeça do hipocampo da região de interesse⁷⁴.

A maioria dos estudos volumétricos da amígdala foi realizada em cortes coronais de RM. De forma a superar as dificuldades de distinção dos limites anatômicos indistintos da amígdala, alguns protocolos de segmentação foram desenvolvidos para aumentar a precisão da segmentação. Esses protocolos buscavam sobretudo estabelecer limites confiáveis para impedir a inclusão de algumas estruturas na região definida como amígdala. Tais estruturas são a formação hipocampal, os córtices entorrinal e perirrinal, a cauda do núcleo caudado e o claustrum.

Os métodos utilizados para definição de margens anatômicas da amígdala no plano coronal podem ser enumerados e resumidos como segue⁹⁵: primeiro – realização da delimitação manual da amígdala em um número pré-determinado de cortes, de forma a excluir a cabeça do hipocampo; segundo – definição das margens da amígdala baseando-se nos pontos de reparo da região medial do lobo temporal ou pontos de reparo extra-

temporal; terceiro – análise concomitante de imagens digitais reformatadas em diferentes planos ortogonais para constante referência dos marcos anatômicos.

Estudos quantitativos da amígdala por RM têm demonstrado valores discrepantes. É possível que estudos realizados com imagens de RM apenas no plano coronal possam superestimar o volume da amígdala. Estudos histológicos post-mortem demonstraram que o volume da amígdala é cerca de 1.1 a 1.6 cm³, após correção por encolhimento relativo à fixação do material¹³⁹⁻¹⁴¹, mas diferentes análises volumétricas por RM demonstraram valores entre 1 até perto de 4 cm³ ^{74;95;142}.

A precisão da avaliação volumétrica da amígdala por RM é influenciada por alguns fatores. Em primeiro lugar, a possibilidade de se definirem inequivocadamente os pontos de reparo anatômicos; em segundo lugar: o efeito de volume parcial gerado por imagens de RM espessas; e em terceiro lugar: o processamento de imagens para o espaço estereotático.

Inicialmente, os estudos volumétricos da amígdala utilizavam apenas o plano coronal para segmentação, e protocolos bem determinados foram definidos para uso em cortes coronais¹¹⁰. No entanto, com o desenvolvimento de novas técnicas de pós-processamento de imagens e com a possibilidade de uso de novos e mais sofisticados programas de computador, é possível a visualização muito mais detalhada de imagens do cérebro. Neste sentido, a definição das margens da amígdala é muito mais seguramente determinada quando da visualização concomitante de imagens de RM em diferentes planos ortogonais, permitindo a confirmação por imagens diferentes da localização de pontos de reparo. Por exemplo, o uso de imagens reformatadas no plano axial permite que a separação da amígdala e do hipocampo possa ser realizada de forma mais confiável pela observação do alveus e do ventrículo lateral⁷⁴, o que é mais incerto em cortes coronais. Ainda, a análise no plano coronal previne a superestimativa das porções anterior e medial da amígdala por permitir melhor ângulo de observação dos córtices do giro parahipocampal⁷⁴.

A análise utilizando imagens em diferentes planos coronais é realizada com imagens reformatadas para o espaço estereotático. Esse pode ser um fator adicional para incrementar a diferença dos valores observados entre os diferentes métodos, pois o cálculo

manual para a correção para o volume intracraniano pode gerar pequenas deformações, posto que o volume intracraniano é calculado também de forma manual. Os volumes observados pela análise das imagens reformatadas são mais próximos aos volumes descritos pelos estudos histológicos pós-morte que são utilizados como o parâmetro mais fidedigno para comparação dos valores quantificados por RM⁹⁵.

Os volumes menores obtidos com a análise com diferentes planos ortogonais podem ser reflexo de definição mais precisa da transição entre o hipocampo e a amígdala, e a exclusão da região medial que pertence ao córtex parahipocampal. Por outro lado, o limite superior da amígdala utilizado à segmentação pelos dois métodos é uma linha arbitrária definida no plano coronal que conecta a cisterna quadrigeminal ao limite inferior do sulco circular da insula. Essa linha previne a inclusão dos núcleos da base nas regiões de interesse mas pode subestimar o volume amigdaliano por condicionar a inclusão incompleta do núcleo corticomedial da amígdala. No entanto, este parâmetro é comum aos dois métodos e não pode ser responsável à diferença encontrada. De acordo com resultados similares obtidos por estudos histológicos, a definição do limite superior desta forma é uma estratégia justificável pelo benefício em não se incluírem regiões do diencéfalo na região de interesse e a eventual exclusão de pequena parte do núcleo corticomedial é possivelmente inexpressiva.

Uma vez que os volumes obtidos pela análise tridimensional são diferentes que os volumes obtidos pela análise de planos coronais, o método de análise pode ter influenciado estudos prévios que intencionaram procurar por alterações volumétricas da amígdala associadas a condições clínicas. Alterações do volume da amígdala podem ter sido interpretadas de forma sub-ótima devido à imperfeita definição de seus limites anatômicos.

A análise com avaliação concomitante dos três planos ortogonais mostrou resultados mais próximos aos resultados histológicos, e sua realização é baseada em completa avaliação da região medial do lobo temporal pela possibilidade de referência constante aos diferentes planos e ângulos de visão. Portanto, a segmentação da amígdala pelo uso de referência constante a três planos ortogonais de vê gerar resultados mais fidedignos e pode incrementar a qualidade de estudos futuros sobre o volume da amígdala.

Definir protocolo para investigação automática do tipo voxel por voxel de concentração de substância cinzenta (CSC), otimizado para pacientes com epilepsia do lobo temporal.

A detecção de alterações na CSC na região hipocampal é prejudicada pela ausência de bordas macroscópicas bem delimitadas entre as substância branca e cinzenta no lobo temporal^{96;143} e estudos prévios podem ter falhado em encontrar alterações na região hipocampal de pacientes com ELTM por esse motivo. Porém a melhora do processo de normalização e segmentação pode aumentar a sensibilidade de estudos baseado em voxels VBM⁹⁶.

Um problema com estudos convencionais tipo voxel por voxel é o fato de que a normalização pode artificialmente expandir regiões cerebrais atrofiadas quando os cérebros são confrontados (uma vez que o molde provém de cérebros de indivíduos normais). Este problema pode ser solucionado através da modulação da concentração estimada de tecido durante a segmentação baseada na deformação espacial encontrada durante a normalização¹¹⁸. Essa técnica preserva a quantidade de tecido, embora mantenha um bom alinhamento da imagem normalizada. Por esse motivo, implementamos o protocolo de análise de CSC utilizando este código de modulação¹¹⁸. Finalmente, as imagens foram transformadas com cerne gaussiano de 10 mm para criar uma distribuição normalizada e permitir a análise baseada em voxel. O cerne de 10 mm aplicado ao fatiamento fino de 1,5mm permite que se procure por agrupamentos de voxels contíguos, sem restringir a estatística.

Definir a extensão e magnitude do dano neuronal na região medial do lobo temporal de pacientes com ELTM.

A análise volumétrica da amígdala e do hipocampo tem sido utilizada com sucesso para determinar dano tecidual em pacientes com ELTM³¹. Atualmente, poucos estudos examinaram outras estruturas do lobo temporal, particularmente as estruturas corticais da região medial temporal do lobo temporal. Como existe uma grande e complexa rede de conexões envolvendo as estruturas mediais temporais; é possível que o dano

neuronal se estenda além do hipocampo e da amígdala nesta região⁸³, contribuindo para sintomatologia dos pacientes com ELTM.

Ainda não é estabelecida qual a extensão do dano da região mesial temporal em pacientes com ELTM. Jutila e colaboradores⁸³ observaram dano em subpopulações de pacientes com ELTM unilaterais, i.e., pacientes com atrofia hipocampal à direita têm redução de volume dos córtices entorrinal e têmporo-polar ipsilaterais, e pacientes com atrofia à esquerda têm redução de volume com córtex entorrinal esquerdo. Salmenpera e colaboradores¹⁰⁷ observaram que em pacientes com ELTM, o volume médio do córtex entorrinal ipsilateral ao lado de origem das crises não era diferente volume médio do córtex entorrinal de controles. No entanto, eles observaram que o volume entorrinal se correlacionava com o volume hipocampal e que pacientes com ELTM à direita apresentavam em 19% de redução do córtex entorrinal ipsilateral. Em seu estudo, Salmenpera e colaboradores observaram que o volume do córtex entorrinal se correlacionava com a duração da epilepsia. Eles também observaram que após o estado de mal epilético nenhum dos pacientes desenvolveu redução significativa no hipocampo e amígdala, ou nos córtices entorrinal e perirrinal no período de um ano de acompanhamento¹⁰⁶. Por outro lado, Bernasconi e colaboradores⁸⁴ observaram redução de volume do córtex entorrinal ipsilateral ao início de crises em todos os pacientes com ELTM estudados, redução do córtex perirrinal em 33% dos pacientes e redução contralateral redução do córtex entorrinal em 50% dos pacientes. O mesmo grupo também observou redução bilateral do córtex entorrinal em pacientes com ELTM, sendo atrofia mais pronunciada no lado ipsilateral ao lado de início de crises⁷⁹, e observaram que era possível lateralizar o início de crises em pacientes com volumes hipocampais normais baseado na redução do volume do córtex entorrinal⁸⁵. Eles ainda observaram que em um grupo de 25 pacientes com ELTM refratária a medicação os córtices entorrinal e perirrinal eram menores do que em controles, sendo o córtex entorrinal mais intensamente reduzido que o córtex perirrinal³⁷.

No estudo conduzido para esta tese, foram avaliadas as regiões mediais dos lobos temporais de pacientes com ELTM crônica e refratária unilateral, documentada por vídeo EEG e que apresentavam atrofia hipocampal unilateral. Foi demonstrado que

pacientes com ELTM mostraram redução significativa dos volumes das estruturas corticais temporais mais próximas do hipocampo, i.e., os córtices entorrinal e perirrinal. Outras estruturas como os córtices parahipocampal e têmporo-polar são menos afetadas. Houve diferença significativa entre os índices de assimetria entre todas as estruturas mediais temporais nos pacientes com ELTM à direita comparados com controles, enquanto pacientes com ELTM à esquerda exibiram diferença no índice de assimetria do hipocampo, do córtex entorrinal e do córtex perirrinal.

Não foi observada correlação significativa entre as estruturas analisadas, e nós também não observamos diferença significativa entre o grau de dano do córtex entorrinal e do córtex perirrinal. Essas observações podem ser decorrentes do fato de que foram estudados pacientes consecutivos com ELTM refratária, e embora achados similares tenham sido descritos para redução de volume medial temporal, as discrepâncias podem se dever ao número de pacientes estudado. No entanto, uma vez que existe uma grande rede envolvida na geração e propagação de crises epiléticas em pacientes com ELTM, é possível que a ELTM seja um grupo heterogêneo composto por diferentes padrões de atrofia além do hipocampo de acordo com as regiões da rede mais intensamente ativadas.

Em conclusão, observou-se que as regiões mais proximamente associadas ao hipocampo são danificadas quando o hipocampo está atrófico. Ainda, observou-se que pacientes com ELTM mostram aumento dos índices de assimetria das estruturas mediais temporais. Este trabalho fornece evidência adicional das alterações morfométricas do lobo temporal em pacientes com ELTM. Algumas questões relacionadas ao padrão de alterações volumétricas do lobo temporal medial requerem estudos adicionais. Por exemplo, qual o papel das estruturas corticais temporais na sintomatologia da ELTM, ou quais fatores clínicos podem influenciar a presença e a extensão de dano na região medial do lobo temporal. No entanto, a observação e quantificação de dano que se estende além do hipocampo podem ser úteis para a lateralização de crises em pacientes com ELTM e pode providenciar dicas para a investigação adicional do papel das estruturas medias temporais na fisiopatologia da ELTM.

Distribuição do dano neuronal.

Foi observado que existe um gradiente de dano das estruturas médias do lobo temporal. No grupo estudado, onde todos os pacientes apresentavam atrofia hipocampal, o máximo grau de atrofia foi observado no hipocampo. As estruturas mais próximas e mais intensamente conectadas com o hipocampo, os córtices entorrinal e perirrinal, apresentavam intensa atrofia, menor de que a do hipocampo, porém maior que o restante do lobo temporal. As demais estruturas corticais demonstraram redução porém de forma menos intensa e de forma não significativa. Pode ser observado no entanto que quase todas as estruturas do lobo temporal apresentam assimetria significativa em pacientes com ELTM, mostrando comprometimento difuso.

Até o momento, poucos estudos demonstraram de forma consistente, dano simétrico à região medial temporal com gradiente de intensidade^{37;79;83-85;106;107}. Vários fatores podem contribuir à ausência de observação do grau de atrofia em pacientes com ELTM. Sobretudo, como a região medial do lobo temporal apresenta difícil visualização e individualização de pontos de reparo anatômicos, o método de análise e visualização bem como um protocolo anatômico pode ser relevantes. Ainda, é possível que a ELTM seja uma doença heterogênea e que vários padrões de atrofia possam ser observados de acordo com a rota preferencial de difusão elétrica da crise epilética³⁶.

Por fim, pelo fato de se observarem locais no lobo temporal danificados em pacientes com ELTM, surge a dúvida de que outras regiões cerebrais, sobretudo as pertencentes ao sistema límbico possam estar também atrofiadas nestes pacientes.

Definir a influência da atrofia de diferentes estruturas mediais temporais nas características clínicas de pacientes com ELTM

Não foram observadas associações significativas entre as variáveis clínicas e os volumes das estruturas mediais temporais. Não se observou correlação entre os volumes e as variáveis contínuas, nem associação significativa da frequência dos volumes com a distribuição das variáveis qualitativas.

Tal resultado pode ser decorrente de três fatos. Em primeiro lugar o poder da análise estatística em detectar anormalidades significativas. O valor do poder estatístico para o número de sujeitos na amostra e da diferença esperada foi calculado e se mostrou maior que 90%. No entanto uma amostra maior poderia mostrar associações não observadas pelas análises.

Em segundo lugar, o método de quantificação pode não ser sutil o suficiente para produzir valores que reflitam variações diminutas que se associem de forma significativa com as variáveis clínicas. Em outras palavras, é possível que haja variação das estruturas além da atrofia “mais grosseira” que tenha significado clínico. A avaliação manual do volume de estruturas intracranianas, embora seja um método extremamente eficaz para detectar anormalidades tem a limitação de se restringir às limitações do método manual. O uso de formas automatizadas de quantificação tais como a MBV podem ser uma das soluções para os estudos que no futuro investiguem essas alterações.

Em terceiro lugar, a hipótese nula pode de fato ser verdade. Apenas com refinamentos na forma de investigação esta pergunta pode ser respondida.

Definir a influência da atrofia de diferentes estruturas mediais temporais em pacientes com ELTM no desempenho em diferentes testes neuropsicológicos

Foram estudados pacientes com ELTM refratária associada à AH. A maioria dos pacientes exibiu não apenas déficits de memória (WMS-R) mas também déficits de linguagem (BNT e teste de fluência verbal), enquanto exibiram boa performance em testes de atenção e concentração, flexibilidade mental e funções executiva.

De acordo com estudos mais recentes no campo da cirurgia, verificamos que existe uma correlação positiva entre o grau de atrofia hipocampal e o déficit de memória verbal detectada nestes pacientes, mas não entre atrofia do hipocampo direito e déficit de memória visual. A ausência de associação entre o volume do hipocampo direito e déficits de memória visual pode ser explicado por (1) os testes de memória visual não são robustos o suficiente para identificar disfunção do hipocampo não dominante, (2) a memória visual pode ter uma representação mais difusa e bilateral no cérebro, ou (3) a combinação dessas

duas hipóteses. Nós observamos correlação positiva entre o volume do hipocampo esquerdo e o grau de comprometimento no teste de nomeação por confronto visual (BNT) e a produção espontânea de palavras (teste de fluência verbal).

Os pacientes com ELTM refratária não exibem apenas redução do volume do hipocampo, mas também de estruturas corticais que estão densamente conectadas com ele¹⁴⁴. Ainda não está claro como o dano às estruturas mediais temporais afeta a sintomatologia de pacientes com ELTM, assim como também não está claro se estas estruturas se danificam independentemente ou pertencem a uma rede de estruturas que se danifica em conjunto. O sistema de memória hipocampal é composto não apenas do hipocampo, mas também da região parahipocampal e o neocórtex cerebral³⁹. Enquanto o hipocampo desempenha um papel importante nos processos localizados entre a formação inicial de memória e sua deposição final no cérebro¹²³, o córtex parahipocampal é envolvido na intersecção de percepção e memória, e medeia a persistência da representação cortical da memória¹²³. No entanto, o papel do córtex parahipocampal nos déficits de memória apresentados pelos pacientes com ELTM não está claro.

Observamos que os volumes das estruturas do giro parahipocampal se correlacionaram com a performance nos testes de linguagem mas não memória. Observamos correlação positiva entre o volume do córtex perirrinal esquerdo e a performance no teste de nomeação por confronto visual, e entre o volume do córtex entorrinal esquerdo e performance no teste de produção espontânea de palavras. Esses achados refletem uma contribuição do córtex parahipocampal em habilidades de linguagem, devido à interação próxima com estruturas neocorticais especializadas para o processamento de linguagem¹⁴⁵.

Os testes para avaliação de memória foram aplicados com uma bateria de testes neuropsicológicos pré-operatórios convencionais, que provavelmente não é robusta para discriminar entre os tipos de memória associados a diferentes regiões da porção medial do lobo temporal, exceto o hipocampo.

No entanto, pode ser verificado que os volumes do hipocampo direito, do córtex entorrinal direito e do córtex perirrinal direito se correlacionaram negativamente com a performance nos testes de memória verbal (WSM-R e teste de fluência verbal). Ainda, os volumes do hipocampo direito e do córtex perirrinal direito também se correlacionaram de forma negativa com a performance nos testes de memória geral (WSM-R). Esses achados podem refletir um efeito compensador de estruturas do lado esquerdo em pacientes com ELTM à direita.

Definir a presença e extensão de dano neuronal através da diferença da CSC em indivíduos com ELTM comparados com indivíduos normais.

Foi realizada a análise morfométrica por MBV e observou-se redução na CSC. Os achados foram no entanto, discretamente diferentes daqueles observados por estudos pregressos baseados em voxel.

Keller e colaboradores^{100;101} observaram que pacientes com ELTM apresentam alterações significativas de CSC, que podem ser tanto aumento quanto diminuição de CSC em regiões específicas. Eles identificaram que o hipocampo, mas não a amígdala, apresentava redução significativa de CSC, em comparação com controles^{100;101}. A redução da CSC no hipocampo não era dependente do tempo de crises. Outras regiões também apresentaram redução de CSC, tais como o córtex pré-frontal dorsal do hemisfério direito¹⁰¹, o tálamo bilateralmente, as regiões pré-frontais e o cerebelo¹⁰⁰. A redução da CSC nessas regiões, no entanto, não estavam associadas com a duração da epilepsia. Eles também observaram que pacientes com ELTM apresentam aumento significativo de CSC nas regiões parahipocampal, pericalosa e cerebellar¹⁰¹, o que foi interpretado como reflexo da atrofia da substância branca ou deslocamento estrutural devido à expansão de líquido.

Os achados de Keller e colaboradores^{100;101} não foi similar com um estudo de MBV por Woermann e colaboradores¹⁴³, que estudaram dez pacientes com ELTM à esquerda e esclerose hipocampal e dez pacientes com ELTM sem. Woermann e colaboradores observaram apenas decréscimo da CSC em um pequeno número de pacientes quando da comparação de cada indivíduo com o grupo de controles. Eles não observaram redução de CSC ao comparar o grupo de pacientes com ELTM e o grupo de controles, mas

acharam excesso de CSC no grupo de pacientes com ELTM sem AH na porção interna da região temporoposterior. No entanto, o pequeno número de pacientes examinado neste estudo¹⁴³ pode indicar que este resultado seja decorrente de pequeno poder estatístico.

A detecção de alterações na CSC na região do hipocampo é prejudicada pela ausência de margens macroscópicas bem demarcadas entre as substância branca e cinzenta no lobo temporal^{96;143}. Com as técnicas de modulação da CSC, e subsequente melhora nos passos de segmentação e normalização, aumenta-se a sensibilidade da análise de MBV⁹⁶. Esses incrementos na qualidade da técnica, em conjunto com o uso de uma amostra maior, permitiram a detecção de alterações na região medial temporal de pacientes com doença de Alzheimer¹⁴⁶ e em sujeitos normais submetidos a tarefas repetitivas¹⁴⁷. Isto pode explicar a discrepância entre os estudos com MBV em ELTM^{100;101;143}. A normalização é um passo necessário mas potencialmente complicador na análise de MBV. A normalização é requerida para que a mesma região cerebral possa ser comparada entre indivíduos. No entanto, a normalização pode efetivamente reduzir as anormalidades estruturais que serão investigadas por MBV. Por exemplo, a normalização pode fazer “crescer” uma região atrofiada, propiciando melhor alinhamento especial entre indivíduos, mas conseqüentemente gerando menos diferença entre a CSC entre indivíduos e controles. Todos os estudos prévios com ELTM incluíram funções não-lineares durante a normalização^{100;100;101;143}. As funções não-lineares aumentam grandemente a adequação da normalização, mas podem também causar distorções dramáticas ao tecido anormal¹¹⁸. Ainda, em um estudos prévios, o mascaramento cerebral não foi utilizado. Sem o mascaramento cerebral, a normalização de imagens de RM pode ser influenciada por tecido do escalpe ao contrário de tecido cerebral, alinhando-se o formato da cabeça a não do cérebro. Embora a ausência de mascaramento pudesse reduzir as distorções espaciais descritas acima, certamente iria reduzir a acurácia da normalização, levando a decréscimo de poder estatístico.

No estudo apresentado nesta tese, utilizou-se uma forma otimizada de MBV, onde o volume de substância cinzenta é modulado de acordo com a deformação aplicada durante a normalização¹¹⁸. Esta técnica permite a aplicação de normalização acurada e minimiza o perigo de distorção de regiões atrofiadas ou hipertrofiadas. Em resumo, a

diferença de processamento especial pode ter sido responsável pelas discrepâncias observadas em estudos pregressos. O estudo desta tese usa uma forma otimizada de MBV que pode suplantar as limitações que podem ter influenciado os estudos prévios.

Nós observamos simétrica redução de CSC em pacientes com ELTM à direita e à esquerda, envolvendo áreas cerebrais que são densamente conectadas ao hipocampo.

Em pacientes com ELTM, há uma grande associação entre a lateralização de crises baseada em registro de crises por EEG de escalpe e a semiologia das crises. A análise de crises por EEG é uma forma não invasiva de avaliação pré-cirúrgica de pacientes com ELTM¹⁴⁸, no entanto, a lateralização clínica baseada em EEG interictais deve ser vista com cautela pois só pode ser realizada em pacientes com espículas unitemporais¹⁴⁹. Nos trabalhos de Keller e colaboradores^{100;101} os pacientes foram lateralizados segundo o EEG pré-operatório, sem menção de registro ictal. Isto pode explicar porque pode haver diferenças de CSC em regiões e na direção contrária ao que se previria. Keller e colaboradores^{100;101} cita excesso de CSC no giro parahipocampal ipsilateral ao lado de início de crises, ao contrário do que se esperaria, de acordo trabalhos volumétricos por RM pregressos^{37;79;83-85;106;107}.

No presente trabalho, foi aplicada a modulação como um passo adicional na normalização especial das RM dos cérebros. Isto pode explicar porque algumas regiões anatômicas diferentes demonstraram alterações de CSC, particularmente no diencéfalo. Nós observamos diferenças na CSC na região medial do tálamo e em áreas do estriado em pacientes com ELTM¹⁵⁰. Nós também observamos atrofia isocortical temporal ipsilateral à AH, de acordo com resultados pregressos¹⁵¹.

Nós observamos decremento na CSC no cerebelo de pacientes com ELTM. O cerebelo e o mesencéfalo são estruturas menos confiáveis para análise por MBV porque são menos ajustáveis durante o processo de normalização, mas isso leva a maior variação nos dados e portanto menos poder estatístico. No entanto, observou-se que havia redução na CSC do cerebelo bilateralmente no grupo de pacientes com ELTM à direita e à esquerda. Isto está de acordo com estudos que demonstraram que existe redução simétrica de volume em pacientes com ELTM^{152;153}. A causa da redução cerebelar de volume não é clara, mas o

efeito a longo prazo de crises recorrentes^{153;154}, a toxicidade de drogas anti-epiléticas^{155;156}, e o fenômeno de diáquise¹⁵⁷ podem ser responsáveis.

O padrão de atrofia que subjaz o dano neuronal em pacientes com ELTM ainda é especulativo. Uma explicação possível é que a CSC e portanto o dano neuronal siga o mesmo caminho observado em estudos neurofisiológicos como a rota mesolímbica de propagação de crises³⁶. Spencer reviu o assunto propondo uma base formada por rede neurais para geração e manutenção de crises^{36;102}, descrevendo possíveis rotas para disseminação de crises formadas por estruturas corticais e subcorticais anatomicamente conectadas^{36;102}. De acordo com essa teoria, a hiper-excitabilidade associada às crises reverbera em toda rede³⁶. Se de fato a ELTM é uma expressão de disfunção de redes neurais, é esperado observar-se atrofia envolvendo as estruturas da rede. Em pacientes com ELTM as redes envolvidas na geração e manutenção de crises podem ser agrupadas de acordo com os dados clínicos, eletrofisiológicos, e por tomografia computadorizada por emissão de pósitrons(SPECT) em três grupos: a rede médio tampo límbica, a rede médio occipital e lateral temporale a rede superior parietal medial frontal³⁶. Nós não observamos um padrão de atrofia que precisamente se encaixasse em uma dessas redes. Pelo contrário, observamos atrofia em regiões que pertencem a diferentes rotas, em sua maioria pertencentes à rede médio tampo límbica³⁶. As regiões inferiores dos lobos frontais e o cíngulo foram as únicas áreas da rede médio tampo límbica que não estavam atrofiadas³⁶. Por outro lado, Keller e colaboradores^{100;101} observaram redução de CSC na região do cíngulo, mas esta diferença não foi observada no presente estudo por não ter sobrevivido à modulação ou pelo tamanho da amostra.

Não foi observada redução de CSC em todas as áreas descritas por Spencer como pertencentes à redes envolvidas na ELTM³⁶ possivelmente porque existem diferentes suscetibilidades das regiões cerebrais à excitotoxicidade das crises epiléticas. Ainda, a presença de regiões com redução de CSC pertencentes à redes diferentes pode indicar que provavelmente não apenas uma rede pode estar envolvida na geração e manutenção de crises.

Os estudos volumétricos da região medial do lobo temporal demonstraram que a esclerose hipocampal se associa a redução de volume do hipocampo à RM^{31;137;158;159}. De forma bem sucedida, a volumetria é usada para avaliar in vivo a possível presença de esclerose hipocampal. Em virtude da grande quantidade de conexões do hipocampo^{39;51}, e da possibilidade do dano neuronal em pacientes com ELTM não se restringir ao hipocampo, estudos morfométricos demonstraram que existe redução de volume em outras regiões do lobo temporal e fora do lobo temporal. De forma isolada, diferentes estudos demonstraram que em pacientes com ELTM apresentam redução do volume do córtex entorrinal^{37;79;84;85}, do córtex perirrinal^{37;83}, da amígdala⁸⁸, do tálamo^{75;150} e do estriado¹⁵⁰. Cada um desses estudos avaliou de forma isolada uma ou outra estrutura, uma vez que a volumetria convencional é muito trabalhosa e não permite uma abordagem mais ampla ou “em varredura” do cérebro. Da mesma forma, poucos estudos avaliaram o gradiente de atrofia entre diferentes estruturas, por se aterem a um pequeno número de regiões.

No trabalho apresentado nesta tese demonstrou-se que de fato estas são as regiões que se encontram atrofiadas em pacientes com ELTM, com um gradiente de atrofia que é decrescente à medida que a estrutura se distancia do hipocampo.

Interessantemente, confirmamos com a análise de MBV, que permite uma abordagem mais ampla do cérebro sem o risco de perder sensibilidade, que são exatamente estas estruturas que se apresentam atrofiadas, com o mesmo gradiente observado pela morfometria convencional.

Desta forma conclui-se tanto por estudo por morfometria convencional tanto quanto por análise voxel a voxel que existe uma grande quantidade de atrofia e possivelmente dano neuronal que se estende além do hipocampo e do lobo temporal em pacientes com ELTM.

CONCLUSÕES

Aspectos técnicos:

A morfometria por RM permite a investigação do dano neuronal em pacientes com ELTM. O uso de um protocolo usando cortes finos de RM com visualização tridimensional e com a descrição dos pontos de reparo permite a delineação acurada e a mensuração de estruturas da região mesial do lobo temporal. A morfometria manual por RM da região medial do lobo temporal sofre entretanto influência da qualidade da imagem de RM e do método. O uso de cortes grossos causa a superestimação do volume do córtex entorrinal, e o método utilizado, ou seja, a forma de delineação das estruturas, altera o volume obtido. Da mesma maneira, a definição de pontos de reparo anatômicos em mais de um plano ortogonal gera diferentes resultados na morfometria da amígdala, em comparação com a morfometria realizada em apenas um plano.

A avaliação morfométrica convencional é uma ferramenta confiável porém restrita à investigação de pequenas regiões do cérebro. A normalização para o espaço estereotáxico e a segmentação automática de substância cinzenta permite a avaliação da probabilidade de uma região em um grupo de pacientes ser substância cinzenta em comparação com outro grupo. Em outras palavras permite a avaliação da redução da concentração da substância cinzenta ou atrofia em pacientes com ELTM pela MBV. Com a possibilidade de modular a normalização da imagem cerebral pela tensão aplicada durante a deformação espacial, é possível preservar a relação da concentração de substância cinzenta durante a normalização. Dessa maneira a imagem normalizada não se deforma e não perde a informação relativa a possíveis atrofias de estruturas. Com isso a MBV se torna uma ferramenta confiável e otimizada para a avaliação de dano neuronal em paciente com ELTM.

Aspectos biológicos

A presença de atrofia detectável por RM em pacientes com ELTM não se restringe ao hipocampo. Pelo contrário, não apenas as estruturas da região medial do lobo temporal, mas outras estruturas e regiões cerebrais apresentam redução significativa de volume nesses pacientes. Em comum, as estruturas que apresentam redução de volume têm o fato de serem de alguma forma conectadas ao hipocampo ou pertencerem ao sistema

límbico. Por esse motivo e corroborado por estudos eletrofisiológicos que comprovam que várias estruturas cerebrais agem em conjunto na geração e manutenção de crises epiléticas nesse pacientes, surge a teoria de que existe uma rede de estruturas cerebrais que é responsável pela fisiopatologia da ELTM.

Dentro do lobo temporal, as estruturas que se conectam mais densamente ao hipocampo, os córtices entorrinal e perirrinal, são as estruturas que apresentam atrofia em maior intensidade, sugerindo que o mecanismo de dano neuronal possa ser transmitido através das conexões com o hipocampo, conforme a distribuição da atividade epileptiforme.

Essas conclusões abrem a perspectiva de uma série de novas hipóteses. Quais dessas estruturas são de fato cruciais para a fisiopatologia da doença, ou toda a rede é igualmente responsável? Em consequência, será o grau de acometimento da “rede” em pacientes com controle adequado de crises análogo ao dos pacientes refratários? O acometimento de várias estruturas cerebrais é a de fato o condicionador de refratariedade, ou consequência do mau controle de crises? A chave do tratamento dos pacientes com ELTM reside portanto na interrupção da rede de estruturas danificadas e integradas na manutenção de crises?

Com os dados obtidos nesse estudo pode-se concluir que em pacientes com ELTM refratária, a presença de crises não se deve apenas a uma lesão “estanque” que atua como zona epileptogênia. Ao contrário, a fisiopatologia da doença se associa a uma rede de estruturas cerebrais mantida por conexões anatômicas. O papel desempenhado por cada uma dessas estruturas isoladamente, e o papel da intensidade de acometimento da rede, na sintomatologia desses pacientes ainda não são conhecidos e são os próximos passos no estudo da fisiopatologia da doença. Essas estruturas em conjunto podem ser responsáveis pela geração e manutenção de crises e pelos fenômenos clínicos observados com a doença.

***REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS***

Reference List

- (1) Sander JW. The epidemiology of epilepsy revisited. *Curr Opin Neurol* 2003; 16(2):165-170.
- (2) Borges MA. Prevalência urbana da epilepsia: estudo populacional na cidade de São José do Rio Preto - Brasil. Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, 2002.
- (3) Engel J, Jr. *Surgical Treatment of the Epilepsies*. second ed. New York: Raven Press, 1993
- (4) Engel J, Jr. *Surgical treatment of the epilepsies*. New York: Raven Press, 1987
- (5) Engel JJr. *Seizures and Epilepsy*. Philadelphia: F.A. Davis, 1989
- (6) Spencer SS. When should temporal lobe epilepsy be treated surgically. *Lancet Neurology* 1, 357-382. 2002.
- (7) Babb TL, Brown WJ. Pathological findings in epilepsy. In: Engel J, Jr., editor. *Surgical treatment of the epilepsies*. New York: Raven Press, 1987: 511-540.
- (8) Babb TL, Lieb JP, Brown WJ et al. Distribution of pyramidal cell density and hyperexcitability in the epileptic human hippocampal formation. *Epilepsia* 1984; 25:721-728.
- (9) Luders H. *Epilepsy surgery*. New York: Raven Press, 1991
- (10) Cendes F, Kobayashi E. Epilepsia de lobo temporal. In: Guerreiro CAM, Guerreiro MM, Cendes F et al, editors. *Epilepsia*. Sao Paulo: Lemos, 2000: 201-213.
- (11) Wyllie E. *The treatment of epilepsy: principles and practice*. Philadelphia: 1993
- (12) Mattson RH, Cramer JA, Collins JF et al. Comparison of carbamazepine, phenobarbital, phenytoin, and primidone in partial and secondarily generalized tonic-clonic seizures. *N Engl J Med* 1985; 313(3):145-151.
- (13) Kwan P, Brodie MJ. Early identification of refractory epilepsy. *N Engl J Med* 2000; 342(5):314-319.
- (14) Kobayashi E, D'Agostino MD, Lopes-Cendes I et al. Outcome of surgical treatment in familial mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2003; 44(8):1080-1084.

- (15) Sander JW. Some aspects of prognosis in the epilepsies: a review. *Epilepsia* 1993; 34(6):1007-1016.
- (16) Sander JW. The natural history of epilepsy in the era of new antiepileptic drugs and surgical treatment. *Epilepsia* 2003; 44 Suppl 1:17-20.
- (17) Sillanpaa M. Remission of seizures and predictors of intractability in long-term follow-up. *Epilepsia* 1993; 34(5):930-936.
- (18) Engel J, Jr. Outcome with respect to epileptic seizures. In: Engel J, Jr., editor. *Surgical treatment of the epilepsies*. New York: Raven Press, 1987: 553-571.
- (19) Engel JJr, Cascino GD, Shields WD. Surgically remediable syndromes. In: Engel J, Jr., Peddley TA, editors. *Epilepsy: A comprehensive textbook*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997: 1687-1696.
- (20) Gloor P. Mesial temporal sclerosis: historical background and an overview from a modern perspective. In: Luders H, editor. *Epilepsy surgery*. New York: Raven Press, 1991: 689-703.
- (21) Margerison JH, Corselis JAN. Epilepsy and the temporal lobes: a clinical electroencephalographic and neuropathological study of the brain in epilepsy, with particular reference to the temporal lobes. *Brain* 1966; 89:499-530.
- (22) Meencke HJ, Veith G. Hippocampal sclerosis in epilepsy. In: Luders H, editor. *Epilepsy surgery*. New York: Raven Press, 1991: 705-715.
- (23) Jack CR, Jr., Sharbrough FW, Cascino GD et al. Magnetic resonance image-based hippocampal volumetry: correlation with outcome after temporal lobectomy. *Ann Neurol* 1992; 31:138-146.
- (24) Kuzniecky R, Burgard S, Faught E et al. Predictive value of magnetic resonance imaging in temporal lobe epilepsy surgery. *Arch Neurol* 1993; 50:65-69.
- (25) Arruda F, Cendes F, Andermann F et al. Mesial atrophy and outcome after amygdalohippocampectomy or temporal lobe removal. *Ann Neurol* 1996; 40(3):446-450.

- (26) Berkovic SF, McIntosh AM, Kalnins RM et al. Preoperative MRI predicts outcome of temporal lobectomy: an actuarial analysis [see comments]. *Neurology* 1995; 45(7):1358-1363.
- (27) Garcia PA, Laxer KD, Barbaro NM et al. Prognostic value of qualitative magnetic resonance imaging hippocampal abnormalities in patients undergoing temporal lobectomy for medically refractory seizures. *Epilepsia* 1994; 35(3):520-524.
- (28) Jack CR, Jr., Trenerry MR, Cascino GD et al. Bilaterally symmetric hippocampi and surgical outcome [see comments]. *Neurology* 1995; 45(7):1353-1358.
- (29) Cascino GD, Jack CR, Parisi JE et al. Magnetic resonance imaging-based volume studies in temporal lobe epilepsy: pathological correlations. *Ann Neurol* 1991; 30:31-36.
- (30) Watson C, Jack CR, Jr., Cendes F. Volumetric magnetic resonance imaging. Clinical applications and contributions to the understanding of temporal lobe epilepsy. *Arch Neurol* 1997; 54(12):1521-1531.
- (31) Cendes F, Andermann F, Gloor P et al. MRI volumetric measurement of amygdala and hippocampus in temporal lobe epilepsy. *Neurology* 1993; 43(4):719-725.
- (32) Spencer SS. The relative contributions of MRI, SPECT, and PET imaging in epilepsy. *Epilepsia* 1994; 35 Suppl 6:S72-S89.
- (33) McIntosh AM, Wilson SJ, Berkovic SF. Seizure outcome after temporal lobectomy: current research practice and findings. *Epilepsia* 2001; 42(10):1288-1307.
- (34) Williamson PD, French JA, Thadani VM et al. Characteristics of medial temporal lobe epilepsy: II. Interictal and ictal scalp electroencephalography, neuropsychological testing, neuroimaging, surgical results, and pathology. *Ann Neurol* 1993; 34(6):781-787.
- (35) Spencer SS, McCarthy G, Spencer DD. Diagnosis of medial temporal lobe seizure onset: relative specificity and sensitivity of quantitative MRI. *Neurology* 1993; 43(10):2117-2124.
- (36) Spencer SS. Neural networks in human epilepsy: evidence of and implications for treatment. *Epilepsia* 2002; 43(3):219-227.

- (37) Bernasconi N, Bernasconi A, Caramanos Z et al. Mesial temporal damage in temporal lobe epilepsy: a volumetric MRI study of the hippocampus, amygdala and parahipocampal region. *Brain* 2003; 126(Pt 2):462-469.
- (38) Insausti R, Amaral DG, Cowan WM. The entorhinal cortex of the monkey: II. Cortical afferents. *J Comp Neurol* 1987; 264(3):356-395.
- (39) Squire LR, Zola-Morgan S. The medial temporal lobe memory system. *Science* 1991; 253(5026):1380-1386.
- (40) Suzuki WA, Amaral DG. Topographic organization of the reciprocal connections between the monkey entorhinal cortex and the perirhinal and parahipocampal cortices. *J Neurosci* 1994; 14(3 Pt 2):1856-1877.
- (41) Berkovic SF, Andermann F, Olivier A et al. Hippocampal sclerosis in temporal lobe epilepsy demonstrated by magnetic resonance imaging. *Ann Neurol* 1991; 29:175-182.
- (42) Gloor P. *The Temporal Lobe and Limbic System*. Oxford University Press, 1997
- (43) Milner B. Disorders of learning and memory after temporal lobe lesions in man. *Clin Neurosurg* 1972; 19:421-446.
- (44) Milner B. Memory and medial temporal regions of the brain. In: Pribram KH and Broadbent DE, editor. *Biology and Memory*. New York: Academic Press, 1970: 29-50.
- (45) Scoville WB, Milner B. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 1957; 12(1):103-113.
- (46) Squire LR, Davis HP, Spanis CW. Neurobiology of amnesia. *Science* 1980; 209(4458):836-837.
- (47) Mishkin M. Memory in monkeys severely impaired by combined but not by separate removal of amygdala and hippocampus. *Nature* 1978; 273(5660):297-298.
- (48) Zola-Morgan S, Squire LR. Medial temporal lesions in monkeys impair memory on a variety of tasks sensitive to human amnesia. *Behav Neurosci* 1985; 99(1):22-34.

- (49) Zola-Morgan S, Squire LR, Amaral DG. Human amnesia and the medial temporal region: enduring memory impairment following a bilateral lesion limited to field CA1 of the hippocampus. *J Neurosci* 1986; 6(10):2950-2967.
- (50) Jack CR, Jr. MRI-based hippocampal volume measurements in epilepsy. [Review]. *Epilepsia* 1994; 35 Suppl 6:S21-9.
- (51) Zola-Morgan S, Squire LR. Neuroanatomy of memory. *Annu Rev Neurosci* 1993; 16:547-563.
- (52) Petersson KM, Elfgrén C, Ingvar M. A dynamic role of the medial temporal lobe during retrieval of declarative memory in man. *Neuroimage* 1997; 6(1):1-11.
- (53) Suzuki WA, Amaral DG. Perirhinal and parahippocampal cortices of the macaque monkey: cortical afferents. *J Comp Neurol* 1994; 350(4):497-533.
- (54) Afif A, Bergman RA. *Functional Neuroanatomy: Text and Atlas*. First ed. McGraw-Hill Professional Publishing, 1997
- (55) Cahill L, Haier RJ, Fallon J et al. Amygdala activity at encoding correlated with long-term, free recall of emotional information. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93(15):8016-8021.
- (56) Cahill L, Babinsky R, Markowitsch HJ et al. The amygdala and emotional memory. *Nature* 1995; 377(6547):295-296.
- (57) LaBar KS, LeDoux JE, Spencer DD et al. Impaired fear conditioning following unilateral temporal lobectomy in humans. *J Neurosci* 1995; 15(10):6846-6855.
- (58) Adolphs R, Tranel D, Damasio H et al. Impaired recognition of emotion in facial expressions following bilateral damage to the human amygdala. *Nature* 1994; 372(6507):669-672.
- (59) Young AW, Aggleton JP, Hellawell DJ et al. Face processing impairments after amygdalotomy. *Brain* 1995; 118 (Pt 1):15-24.
- (60) Scott SK, Young AW, Calder AJ et al. Impaired auditory recognition of fear and anger following bilateral amygdala lesions. *Nature* 1997; 385(6613):254-257.

- (61) Bertram EH, III, Lothman EW. Morphometric effects of intermittent kindled seizures and limbic status epilepticus in the dentate gyrus of the rat. *Brain Res* 1993; 603(1):25-31.
- (62) Cavazos JE, Das I, Sutula TP. Neuronal loss induced in limbic pathways by kindling: evidence for induction of hippocampal sclerosis by repeated brief seizures. *J Neurosci* 1994; 14(5 Pt 2):3106-3121.
- (63) Tasch E, Cendes F, Li LM et al. Neuroimaging evidence of progressive neuronal loss and dysfunction in temporal lobe epilepsy. *Ann Neurol* 1999; 45(5):568-576.
- (64) Pitkanen A, Sutula TP. Is epilepsy a progressive disorder? Prospects for new therapeutic approaches in temporal-lobe epilepsy. *Lancet Neurol* 2002; 1(3):173-181.
- (65) Schauwecker PE. Complications associated with genetic background effects in models of experimental epilepsy. *Prog Brain Res* 2002; 135:139-148.
- (66) Kobayashi E, Cendes F, Guerreiro CAM et al. MRI abnormalities in familial temporal lobe epilepsy. *Neurology* 52[Suppl 2], A545. 1999.

Ref Type: Abstract

- (67) Feindel W, Rasmussen T. Temporal lobectomy with amygdalectomy and minimal hippocampal resection: review of 100 cases. *Can J Neurol Sci* 1991; 18(4 Suppl):603-605.
- (68) Rasmussen T, Feindel W. Temporal lobectomy: review of 100 cases with major hippocampectomy. *Can J Neurol Sci* 1991; 18(4 Suppl):601-602.
- (69) Li LM, Cendes F, Andermann F et al. Prognostic value of proton MR spectroscopic imaging for surgical outcome in patients with intractable temporal lobe epilepsy and bilateral hippocampal atrophy. *Ann Neurol* 2000; 47(2):195-200.
- (70) Sisodiya SM, Moran N, Free SL et al. Correlation of widespread preoperative magnetic resonance imaging changes with unsuccessful surgery for hippocampal sclerosis. *Ann Neurol* 1997; 41(4):490-6.
- (71) Radhakrishnan K, So EL, Silbert PL et al. Predictors of outcome of anterior temporal lobectomy for intractable epilepsy: a multivariate study. *Neurology* 1998; 51(2):465-71.

- (72) Antel SB, Li LM, Cendes F et al. Predicting surgical outcome in temporal lobe epilepsy patients using MRI and MRSI. *Neurology* 2002; 58(10):1505-1512.
- (73) Jackson GD, Berkovic SF, Tress BM et al. Hippocampal sclerosis can be reliably detected by magnetic resonance imaging. *Neurology* 1990; 40:1869-1875.
- (74) Pruessner JC, Li LM, Serles W et al. Volumetry of hippocampus and amygdala with high-resolution MRI and three-dimensional analysis software: minimizing the discrepancies between laboratories. *Cereb Cortex* 2000; 10(4):433-442.
- (75) Seidman LJ, Faraone SV, Goldstein JM et al. Thalamic and amygdala-hippocampal volume reductions in first-degree relatives of patients with schizophrenia: an MRI-based morphometric analysis. *Biol Psychiatry* 1999; 46(7):941-954.
- (76) Xu Y, Jack CR, Jr., O'Brien PC et al. Usefulness of MRI measures of entorhinal cortex versus hippocampus in AD. *Neurology* 2000; 54(9):1760-1767.
- (77) Cendes F, Andermann F, Gloor P et al. MRI volumetric measurements of amygdala and hippocampus in temporal lobe epilepsy. *Neurology* 1993; 43:719-725.
- (78) Bronen RA, Cheung G, Charles JT et al. Imaging findings in hippocampal sclerosis: Correlation with pathology. *Am J Neuroradiol* 1991; 12:933-940.
- (79) Bernasconi N, Bernasconi A, Andermann F et al. Entorhinal cortex in temporal lobe epilepsy: a quantitative MRI study. *Neurology* 1999; 52(9):1870-1876.
- (80) Braak H, Braak E. Morphological criteria for the recognition of Alzheimer's disease and the distribution pattern of cortical changes related to this disorder. *Neurobiol Aging* 1994; 15(3):355-356.
- (81) Juottonen K, Laakso MP, Partanen K et al. Comparative MR analysis of the entorhinal cortex and hippocampus in diagnosing Alzheimer disease. *AJNR Am J Neuroradiol* 1999; 20(1):139-144.
- (82) Laakso MP, Frisoni GB, Kononen M et al. Hippocampus and entorhinal cortex in frontotemporal dementia and Alzheimer's disease: a morphometric MRI study. *Biol Psychiatry* 2000; 47(12):1056-1063.

- (83) Jutila L, Ylinen A, Partanen K et al. MR volumetry of the entorhinal, perirhinal, and têmporo-polar cortices in drug-refractory temporal lobe epilepsy. *AJNR Am J Neuroradiol* 2001; 22(8):1490-1501.
- (84) Bernasconi N, Bernasconi A, Caramanos Z et al. Morphometric MRI analysis of the parahipocampal region in temporal lobe epilepsy. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 911:495-500.
- (85) Bernasconi N, Bernasconi A, Caramanos Z et al. Entorhinal córtex atrophy in epilepsy patients exhibiting normal hippocampal volumes. *Neurology* 2001; 56(10):1335-1339.
- (86) Insausti R, Juottonen K, Soininen H et al. MR volumetric analysis of the human entorhinal, perirhinal, and têmporo-polar cortices. *AJNR Am J Neuroradiol* 1998; 19(4):659-671.
- (87) Laakso MP, Juottonen K, Partanen K et al. MRI volumetry of the hippocampus: the effect of slice thickness on volume formation. *Magn Reson Imaging* 1997; 15(2):263-265.
- (88) Guerreiro C, Cendes F, Li LM et al. Clinical patterns of patients with temporal lobe epilepsy and pure amygdalar atrophy. *Epilepsia* 1999; 40(4):453-461.
- (89) Kalviainen R, Salmenpera T, Partanen K et al. MRI volumetry and T2 relaxometry of the amygdala in newly diagnosed and chronic temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 1997; 28(1):39-50.
- (90) Szeszko PR, Robinson D, Alvir JM et al. Orbital frontal and amygdala volume reductions in obsessive-compulsive disorder. *Arch Gen Psychiatry* 1999; 56(10):913-919.
- (91) Cuenod CA, Denys A, Michot JL et al. Amygdala atrophy in Alzheimer's disease. An in vivo magnetic resonance imaging study. *Arch Neurol* 1993; 50(9):941-945.
- (92) Gur RE, Turetsky BI, Cowell PE et al. Temporolimbic volume reductions in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 2000; 57(8):769-775.

- (93) Howard MA, Cowell PE, Boucher J et al. Convergent neuroanatomical and behavioural evidence of an amygdala hypothesis of autism. *Neuroreport* 2000; 11(13):2931-2935.
- (94) Achten E, Boon P, De Poorter J et al. An MR protocol for presurgical evaluation of patients with complex partial seizures of temporal lobe origin. *AJNR Am J Neuroradiol* 1995; 16(6):1201-1213.
- (95) Convit A, McHugh P, Wolf OT et al. MRI volume of the amygdala: a reliable method allowing separation from the hippocampal formation. *Psychiatry Res* 1999; 90(2):113-123.
- (96) Ashburner J, Friston KJ. Voxel-based morphometry--the methods. *Neuroimage* 2000; 11(6 Pt 1):805-821.
- (97) Ashburner J, Friston KJ. Why voxel-based morphometry should be used. *Neuroimage* 2001; 14(6):1238-1243.
- (98) Friston KJ, Holmes AP, Worsley K et al. Statistic parametric maps in functional imaging: A general linear approach. *Hum. Brain Mapp.* 2, 189-210. 1995.

Ref Type: Magazine Article

- (99) Collins DL, Neelin P, Peters TM et al. Automatic 3D inter-subject registration of MR volumetric data in standardized Talairach space. *J Comp Assist Tomogr* 1994; 18:192-205.
- (100) Keller SS, Wieshmann UC, Mackay CE et al. Voxel based morphometry of grey matter abnormalities in patients with medically intractable temporal lobe epilepsy: effects of side of seizure onset and epilepsy duration. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002; 73(6):648-655.
- (101) Keller SS, Mackay CE, Barrick TR et al. Voxel-based morphometric comparison of hippocampal and extrahippocampal abnormalities in patients with left and right hippocampal atrophy. *Neuroimage* 2002; 16(1):23-31.
- (102) Wennberg R, Arruda F, Quesney LF et al. Preeminence of extrahippocampal structures in the generation of mesial temporal seizures: evidence from human depth electrode recordings. *Epilepsia* 2002; 43(7):716-726.

- (103) Spencer SS, Spencer DD. Implications of seizure termination location in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 1996; 37(5):455-8.
- (104) Li LM, Cendes F, Andermann F et al. Spatial extent of neuronal metabolic dysfunction measured by proton MR spectroscopic imaging in patients with localization-related epilepsy. *Epilepsia* 2000; 41(6):666-674.
- (105) Chang DJ, Zubal IG, Gottschalk C et al. Comparison of statistical parametric mapping and SPECT difference imaging in patients with temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2002; 43(1):68-74.
- (106) Salmenpera T, Kalviainen R, Partanen K et al. MRI volumetry of the hippocampus, amygdala, entorhinal cortex, and perirhinal cortex after status epilepticus. *Epilepsy Res* 2000; 40(2-3):155-170.
- (107) Salmenpera T, Kalviainen R, Partanen K et al. Quantitative MRI volumetry of the entorhinal cortex in temporal lobe epilepsy. *Seizure* 2000; 9(3):208-215.
- (108) Talairach J, Tournoux P. Co-planar stereotactic atlas of the human brain: 3-dimensional proportional system: an approach to cerebral imaging. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag, 1988
- (109) Sled JG, Zijdenbos AP, Evans AC. A nonparametric method for automatic correction of intensity nonuniformity in MRI data. *IEEE Trans Med Imaging* 1998; 17(1):87-97.
- (110) Watson C, Andermann F, Gloor P et al. Anatomic basis of amygdaloid and hippocampal volume measurement by magnetic resonance imaging. *Neurology* 1992; 42(9):1743-1750.
- (111) Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; 1(8476):307-310.
- (112) Bernasconi A, Antel SB, Collins DL et al. Texture analysis and morphological processing of magnetic resonance imaging assist detection of focal cortical dysplasia in extra-temporal partial epilepsy. *Ann Neurol* 2001; 49(6):770-775.
- (113) Duvernoy H. The human hippocampus: an atlas of applied anatomy. New York: Springer-Verlag, 1988

- (114) Brierley B, Shaw P, David AS. The human amygdala: a systematic review and meta-analysis of volumetric magnetic resonance imaging. *Brain Res Brain Res Rev* 2002; 39(1):84-105.
- (115) David AS, Brierley B, Shaw P. Measuring amygdala volume. *Br J Psychiatry* 2002; 181:255-256.
- (116) Kobayashi E, Lopes-Cendes I, Guerreiro CA et al. Seizure outcome and hippocampal atrophy in familial mesial temporal lobe epilepsy. *Neurology* 2001; 56(2):166-172.
- (117) Rorden C, Brett M. Stereotaxic display of brain lesions. *Behav Neurol* 2000; 12(4):191-200.
- (118) Good CD, Johnsrude IS, Ashburner J et al. A voxel-based morphometric study of ageing in 465 normal adult human brains. *Neuroimage* 2001; 14(1 Pt 1):21-36.
- (119) Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia* 1989; 30(4):389-399.
- (120) Milner B. Psychological aspects of focal epilepsy and its neurosurgical management. *Adv Neurol* 1975; 8:299-321.
- (121) Hermann BP, Seidenberg M, Schoenfeld J et al. Neuropsychological characteristics of the syndrome of mesial temporal lobe epilepsy. *Arch Neurol* 1997; 54(4):369-376.
- (122) Baxendale SA. The role of the hippocampus in recognition memory. *Neuropsychologia* 1997; 35(5):591-598.
- (123) Eichenbaum H. A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nat Rev Neurosci* 2000; 1(1):41-50.
- (124) Brown MW, Aggleton JP. Recognition memory: what are the roles of the perirhinal cortex and hippocampus? *Nat Rev Neurosci* 2001; 2(1):51-61.
- (125) Alessio A, Damasceno BP, Camargo CHP et al. Differences in memory performance and other clinical characteristics in patients with mesial temporal lobe epilepsy with and without hippocampal atrophy. *Epilepsy and Behaviour*, in press . 2004.

- (126) Commission on classification and terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia* 1989; 30(4):389-399.
- (127) Kobayashi E, D'Agostino MD, Lopes-Cendes I et al. Hippocampal atrophy and T2-weighted signal changes in familial mesial temporal lobe epilepsy. *Neurology* 2003; 60(3):405-409.
- (128) Sullivan EV, Marsh L, Mathalon DH et al. Age-related decline in MRI volumes of temporal lobe gray matter but not hippocampus. *Neurobiol Aging* 1995; 16(4):591-606.
- (129) Convit A, de Leon MJ, Hoptman MJ et al. Age-related changes in brain: I. Magnetic resonance imaging measures of temporal lobe volumes in normal subjects. *Psychiatr Q* 1995; 66(4):343-355.
- (130) Amaral DG, Insausti R, Cowan WM. The entorhinal cortex of the monkey: I. Cytoarchitectonic organization. *J Comp Neurol* 1987; 264(3):326-355.
- (131) Watson C, Andermann F, Gloor P et al. Anatomic basis of amygdaloid and hippocampal volume measurement by magnetic resonance imaging. *Neurology* 1992; 42:1743-1750.
- (132) Filipek PA, Richelme C, Kennedy DN et al. The young adult human brain: an MRI-based morphometric analysis. *Cereb Cortex* 1994; 4(4):344-360.
- (133) Jack CR, Jr., Gehring DG, Sharbrough FW et al. Temporal lobe volume measurement from MR images: accuracy and left-right asymmetry in normal persons. *J Comput Assist Tomogr* 1988; 12(1):21-29.
- (134) Jack CR, Jr., Twomey CK, Zinsmeister AR et al. Anterior temporal lobes and hippocampal formations: normative volumetric measurements from MR images in young adults. *Radiology* 1989; 172(2):549-554.
- (135) Pruessner JC, Collins DL, Pruessner M et al. Age and gender predict volume decline in the anterior and posterior hippocampus in early adulthood. *J Neurosci* 2001; 21(1):194-200.

- (136) Peters M, Jancke L, Zilles K. Comparison of overall brain volume and midsagittal corpus callosum surface area as obtained from NMR scans and direct anatomical measures: a within-subject study on autopsy brains. *Neuropsychologia* 2000; 38(10):1375-1381.
- (137) Lencz T, McCarthy G, Bronen RA et al. Quantitative magnetic resonance imaging in temporal lobe epilepsy: relationship to neuropathology and neuropsychological function. *Ann Neurol* 1992; 31:629-637.
- (138) Kitchener EG, Squire LR. Impaired verbal category learning in amnesia. *Behav Neurosci* 2000; 114(5):907-911.
- (139) Scott SA, DeKosky ST, Scheff SW. Volumetric atrophy of the amygdala in Alzheimer's disease: quantitative serial reconstruction. *Neurology* 1991; 41(3):351-356.
- (140) Bogerts B, Meertz E, Schonfeldt-Bausch R. Basal ganglia and limbic system pathology in schizophrenia. A morphometric study of brain volume and shrinkage. *Arch Gen Psychiatry* 1985; 42(8):784-791.
- (141) Herzog AG, Kemper TL. Amygdaloid changes in aging and dementia. *Arch Neurol* 1980; 37(10):625-629.
- (142) Achten E, Deblaere K, De Wagter C et al. Intra- and interobserver variability of MRI-based volume measurements of the hippocampus and amygdala using the manual ray-tracing method. *Neuroradiology* 1998; 40(9):558-566.
- (143) Woermann FG, Free SL, Koepp MJ et al. Voxel-by-voxel comparison of automatically segmented cerebral gray matter--A rater-independent comparison of structural MRI in patients with epilepsy. *Neuroimage* 1999; 10(4):373-384.
- (144) Bonilha L, Kobayashi E, Rorden C et al. Medial temporal lobe atrophy in patients with refractory temporal lobe epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003; 74(12):1627-1630.
- (145) Helmstaedter C, Grunwald T, Lehnertz K et al. Differential involvement of left temporolateral and temporomesial structures in verbal declarative learning and memory: evidence from temporal lobe epilepsy. *Brain Cogn* 1997; 35(1):110-131.

- (146) Baron JC, Chetelat G, Desgranges B et al. In vivo mapping of gray matter loss with voxel-based morphometry in mild Alzheimer's disease. *Neuroimage* 2001; 14(2):298-309.
- (147) Maguire EA, Gadian DG, Johnsrude IS et al. Navigation-related structural change in the hippocampi of taxi drivers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97(8):4398-4403.
- (148) Serles W, Caramanos Z, Lindinger G et al. Combining ictal surface-electroencephalography and seizure semiology improves patient lateralization in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2000; 41(12):1567-1573.
- (149) Serles W, Patariaia E, Bacher J et al. Clinical seizure lateralization in mesial temporal lobe epilepsy: differences between patients with unitemporal and bitemporal interictal spikes. *Neurology* 1998; 50(3):742-747.
- (150) Dreifuss S, Vingerhoets FJ, Lazeyras F et al. Volumetric measurements of subcortical nuclei in patients with temporal lobe epilepsy. *Neurology* 2001; 57(9):1636-1641.
- (151) Moran NF, Lemieux L, Kitchen ND et al. Extrahippocampal temporal lobe atrophy in temporal lobe epilepsy and mesial temporal sclerosis. *Brain* 2001; 124(Pt 1):167-175.
- (152) Specht U, May T, Schulz R et al. Cerebellar atrophy and prognosis after temporal lobe resection. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997; 62(5):501-506.
- (153) Sandok EK, O'Brien TJ, Jack CR et al. Significance of cerebellar atrophy in intractable temporal lobe epilepsy: a quantitative MRI study. *Epilepsia* 2000; 41(10):1315-1320.
- (154) Specht U, May T, Schulz R et al. Cerebellar atrophy and prognosis after temporal lobe resection. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997; 62(5):501-506.
- (155) Guerrero AL, Paniagua JA, Diaz CP et al. [Temporal cerebellar atrophy following phenytoin therapy]. *Neurologia* 1997; 12(6):259-261.
- (156) Del Negro A, Dantas CD, Zanardi V et al. [Dose-dependent relationship of chronic use of phenytoin and cerebellar atrophy in patients with epilepsy]. *Arq Neuropsiquiatr* 2000; 58(2A):276-281.

- (157) Teixeira RA, Li LM, Santos SL et al. Crossed cerebellar atrophy in patients with precocious destructive brain insults. Arch Neurol 2002; 59(5):843-847.
- (158) Cendes F, Cook MJ, Watson C et al. Hippocampal volumes in normal subjects: A multicenter study. Epilepsia 33[Suppl 3], 49. 1992.

Ref Type: Abstract

- (159) Cendes F, Leproux F, Melanson D et al. MRI of amygdala and hippocampus in temporal lobe epilepsy. J Comput Assist Tomogr 1993; 17(2):206-210.