

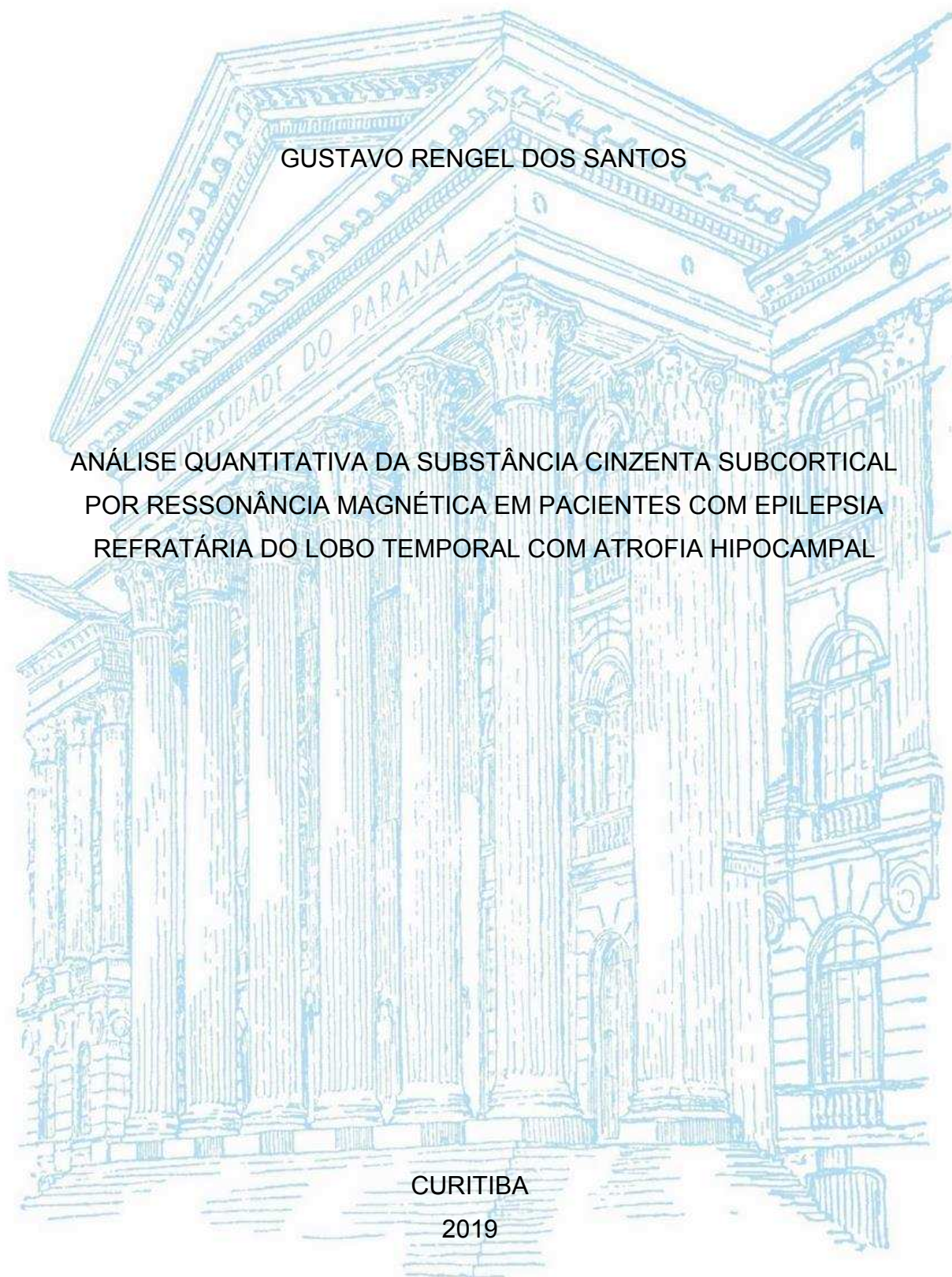
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANA

GUSTAVO RENGEL DOS SANTOS

ANÁLISE QUANTITATIVA DA SUBSTÂNCIA CINZENTA SUBCORTICAL
POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA EM PACIENTES COM EPILEPSIA
REFRATÁRIA DO LOBO TEMPORAL COM ATROFIA HIPOCAMPAL

CURITIBA

2019



GUSTAVO RENGEL DOS SANTOS

ANÁLISE QUANTITATIVA DA SUBSTÂNCIA CINZENTA SUBCORTICAL POR
RESSONÂNCIA MAGNÉTICA EM PACIENTES COM EPILEPSIA
REFRATÁRIA DO LOBO TEMPORAL COM ATROFIA HIPOCAMPAL

Dissertação apresentada como requisito para
obtenção de grau de Mestre pelo Programa
de Pós-Graduação em Medicina Interna. Setor
de Ciências da Saúde, Universidade Federal
do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Dante Luiz Escuissato

Co-orientador: Prof Dr. Arnolfo Carvalho Neto

CURITIBA

2019

S237 Santos, Gustavo Rengel dos
Análise quantitativa da substância cinzenta subcortical por ressonância magnética em pacientes com epilepsia refratária do lobo temporal com atrofia hipocampal [recurso eletrônico] / Gustavo Rengel dos Santos. – Curitiba, 2019.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.
Orientador: Prof. Dr. Dante Luiz Escuissato
Coorientador: Prof. Dr. Arnolfo Carvalho Neto

1. Epilepsia. 2. Hipocampo. 3. Titulometria. 4. Substância cinzenta. I. Escuissato, Dante Luiz. II. Carvalho Neto, Arnolfo. III. Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

NLM: WL 385




MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MEDICINA INTERNA E
CIÊNCIAS DA SAÚDE - 40001016012P1

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em MEDICINA INTERNA E CIÊNCIAS DA SAÚDE da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de GUSTAVO RENGEL DOS SANTOS intitulada: **ANÁLISE QUANTITATIVA DA SUBSTÂNCIA CINZENTA SUBCORTICAL POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA EM PACIENTES COM EPILEPSIA REFRATÁRIA DO LOBO TEMPORAL COM ATROFIA HIPOCAMPAL**, sob orientação do Prof. Dr. DANTE LUIZ ESCUISSATO, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 10 de Dezembro de 2019.



DANTE LUIZ ESCUISSATO

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)



ROSANA HERMINIA ESCOLA

Avallador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)



ARNOLFO DE CARVALHO NETO

Coorientador - Avallador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por nos dar saúde e condições para confecção deste trabalho.

A minha família, por todo o apoio incondicional, em especial minha esposa Larissa.

Ao Prof. Dr. Dante Luiz Escuissato, pelo aceite para a orientação deste projeto.

Ao Prof. Dr. Arnolfo de Carvalho Neto, pela co-orientação neste projeto e revisões realizadas no texto da dissertação.

Ao Dr. Sergio Eiji Ono, pelo auxílio fundamental na execução dos pós-processamentos de dados deste estudo.

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Soares Silvado e demais integrantes do Serviço de Epilepsia do Hospital de Clínicas da UFPR, por todo auxílio prestado na análise clínica dos pacientes de estudo.

À clínica DAPI – Diagnóstico Avançado por Imagem, que além de me acolher profissionalmente permite o meu crescimento acadêmico desde a graduação.

Aos pacientes do Hospital de Clínicas da UFPR, que sempre nos deram oportunidade para o aprendizado.

A Valeria Knapp, pelo auxílio com as normas referentes ao Programa de Pós-Graduação.

Aos meus colegas de pós-graduação, por toda a ajuda prestada.

RESUMO

A epilepsia do lobo temporal (ELT) é a forma mais comum de epilepsia refratária, também associada com muitos prejuízos clínicos e sociais para os pacientes. Esta síndrome apresenta história clínica e semiologia de crise características, assim como um foco epileptogênico localizado em estudos eletroencefalográficos. A principal lesão associada à ELT é a esclerose mesial temporal (EMT), a qual é bem caracterizada em estudos convencionais por ressonância magnética (RM) como atrofia hipocampal com alterações de sinal.

A evidência atual mostra que a ELT associada a EMT não é restrita ao lobo temporal, mas pode estar associada a anormalidades extratemporais acometendo as substâncias branca e cinzenta. No entanto, a literatura é conflitante, sobretudo em relação a achados contralaterais.

No presente estudo comparamos os volumes das estruturas da substância cinzenta subcortical obtidas por técnicas quantitativas automatizadas aplicadas a estudos de RM de pacientes com ELT associada a atrofia hipocampal com grupo controle saudável.

Pacientes com ELT e atrofia hipocampal à esquerda apresentaram volumes significativamente menores no tálamo, putamen e globo pálido esquerdos, bem como no putamen direito. O grupo com ELT e atrofia hipocampal à direita não apresentou redução volumétrica estatisticamente significativa. Os dois grupos apresentaram leve aumento dos volumes das amígdalas temporais contralaterais.

Palavras-chave: Epilepsia. Hipocampo. Volumetria. Freesurfer. Segmentação. Substância Cinzenta.

ABSTRACT

Temporal lobe epilepsy (TLE) is the most common form of refractory epilepsy and is also associated with several clinical and social impairments for patients. This syndrome presents with characteristic history and seizure semiology, as well as epileptogenic focus localized at electroencephalographic (EEG) studies. The main lesion associated with TLE is hippocampal sclerosis, which is well characterized in conventional magnetic resonance (MRI) studies as hippocampal atrophy with signal abnormalities.

Current evidence shows that TLE associated with HS is not restricted to the temporal lobe but can be associated with extratemporal abnormalities affecting both white and gray matter structures. However, literature data are conflicting, specifically in relation to contralateral findings.

In the present study we compared the subcortical gray matter structures volumes with automated quantitative techniques applied to high field MRI studies of TLE patients with hippocampal atrophy with healthy controls.

Patients with left – TLE-HA demonstrated significant lower volumes in left thalamus, putamen and pallidum, and also in right putamen. No significant volume loss was detected in right TLE-HA group. Both groups presented with subtle but statically significant amygdala volume increase.

Keywords: Epilepsy. Hippocampus. Volumetry. Freesurfer. Segmentation. Gray matter.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Aprovação pelo Comitê de Ética do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.....	30
FIGURA 2- Segmentação da substância cinzenta profunda.....	30
FIGURA 3- Volumetria e segmentação do hipocampo.....	31

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Dados clínicos e demográficos dos pacientes incluídos na análise.....	25
TABELA 2- Análise dos dados clínicos e demográficos entre os grupos de pacientes e grupo controle.....	26
TABELA 3- Comparação dos volumes subcorticais corrigidos nos grupos de pacientes e grupo controle.....	27
TABELA 4- Análise dos segmentos das formações hipocâmpais no grupo de pacientes com atrofia hipocâmpal à esquerda.....	28
TABELA 5- Análise dos segmentos das formações hipocâmpais no grupo de pacientes com atrofia hipocâmpal à direita.....	29

LISTA DE ABREVIATURAS

ELT	-	Epilepsia do Lobo Temporal
EMT	-	Esclerose Mesial Temporal
DAPI	-	Diagnóstico Avançado Por Imagem
EEG	-	Electroencephalography
GC-DG	-	Granular cell layer of the dentate gyrus
GM	-	Gray matter
HATA	-	Hippocampus - amygdala transition area
ICV	-	Intracranial volume
ILAE	-	International League Against Epilepsy
MRI	-	Magnetic Resonance Imaging
RM	-	Ressonância Magnética
TCLE	-	Termo de consentimento livre e esclarecido
TLE	-	Temporal lobe epilepsy
TLE-HA	-	Temporal lobe epilepsy with hippocampal atrophy
VBM	-	Voxel – based morphometry
VEEG	-	Video-eletroencefalograma / videoelectroencephalography

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	HIPÓTESE E IMPORTÂNCIA DO ESTUDO	13
3	OBJETIVOS	14
3.1	OBJETIVO GERAL.....	14
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
4	CASUÍSTICA, METODOLOGIA	15
5	REVISÃO DA LITERATURA	15
6	MATERIAL E MÉTODOS	17
7	RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
8	CONSIDERAÇÕES GERAIS	20
9	CONCLUSÕES	21
10	REFERÊNCIAS	22
11	TABELAS	25
12	FIGURAS	30
13	VERSÃO FINAL DO ARTIGO	32

1 INTRODUÇÃO

A epilepsia de difícil controle é um desafio permanente para a medicina. Estima-se que, da população mundial, 0,5 a 1% apresenta epilepsia ativa, sendo em 30% refratária à farmacoterapia (BRASIL. Ministério da Saúde, 2010). Para controlar as crises, novas drogas são introduzidas a cada ano, mas, mesmo assim, alguns indivíduos têm sua qualidade de vida seriamente prejudicada por frequentes convulsões, além do risco de lesão cerebral e morte súbita, o que levou ao desenvolvimento de técnicas de tratamento cirúrgico da epilepsia, onde se procura identificar e extirpar a área geradora das descargas elétricas anormais (BERNASCONI, 2011).

Existem duas formas mais comuns de epilepsia refratária relacionada a alteração focal: a epilepsia do lobo temporal com esclerose mesial temporal e a epilepsia neocortical. Nesses dois casos a Ressonância Magnética (RM) desempenha papel fundamental no prognóstico desses pacientes, uma vez que a identificação da anomalia estrutural à imagem e a completa ressecção cirúrgica do foco epileptogênico resulta em fator de melhor prognóstico na evolução destes pacientes (BERNASCONI, 2011).

A epilepsia do lobo temporal é determinada a partir dos achados conjuntos relacionados à clínica da crise convulsiva e à determinação do foco epileptogênico por atividade irritativa no estudo eletroencefalográfico monitorado durante a crise (vídeo eletroencefalograma – VEEG). Clinicamente, é comum a história de algum insulto prévio (convulsão febril, infecções ou traumas), seguido de um longo intervalo antes do desenvolvimento da epilepsia refratária; na crise, é comum uma aura com alterações viscero-sensoriais, sensações de medo e ansiedade, seguidas por perda da consciência e olhar fixo imóvel; automatismos oroalimentares ou de membros superiores podem ocorrer. Porém, não é raro quadros clínicos atípicos, sobretudo em pacientes com esclerose mesial temporal severa (MALMGREN K, 2012; SO EL, 2006).

Sabe-se que a epilepsia do lobo temporal é a forma mais comum de epilepsia de difícil controle em adultos (CACIAGLI L, 2017), e a alteração estrutural mais comumente encontrada é a esclerose hipocampal, também chamada esclerose mesial temporal (EMT).

Apesar do tratamento cirúrgico de pacientes com epilepsia associada a EMT ser mais efetivo, nota-se um intervalo de tempo entre aproximadamente 20 anos entre o diagnóstico e a ressecção cirúrgica da formação hipocampal afetada (CACIAGLI, 2017, ENGEL, 2012).

Na avaliação por RM, a EMT apresenta achados típicos, sobretudo relacionados à redução volumétrica e com perda da sua arquitetura interna (melhor avaliada em aparelhos de alto campo magnético de 3 tesla) e com aumento do sinal na ponderação em T2 (MALMGREN K, 2012).

Estudos recentes mostram que a epilepsia de lobo temporal com atrofia hipocampal não é restrita à região temporal mesial, de modo que pode apresentar alterações de volume em estruturas extra-temporais. Por outro lado, estes achados são sutis e não podem ser adequadamente avaliados pelo médico radiologista na análise qualitativa convencional, mas sim por novas ferramentas de análise quantitativa.

2 IMPORTÂNCIA DO ESTUDO

Embora já existam estudos de análise quantitativa subcortical por técnicas avançadas quantitativas de RM em epilepsia de lobo temporal, ainda não há definição precisa de quais as alterações subcorticais relacionadas ao lobo temporal, tampouco em que ponto são apenas alterações crônicas adquiridas pelos insultos durante os episódios de crise ou podem estar relacionadas à mesma fisiopatologia que determina a esclerose mesial temporal e o quadro de epilepsia refratária. Além disso, também há grande variabilidade de outros fatores adquiridos e genéticos nas diferentes populações dos estudos realizados, de forma que a análise de um maior número de indivíduos permite a literatura sobre o tema tornar-se mais robusta.

Finalmente, diante do grande número de pacientes com quadros refratários de epilepsia de lobo temporal, com ou sem esclerose hipocampal, em acompanhamento no Hospital de Clínicas da UFPR, trata-se de oportunidade de melhor caracterização da própria população em acompanhamento no serviço e, confirmando-se a hipótese de alterações estruturais, de prosseguir com novos

estudos avaliando possíveis repercussões clínicas e funcionais nestes pacientes.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Utilização de técnica avançada de ressonância magnética para análise quantitativa da substância cinzenta subcortical por morfometria baseada em voxels, em equipamento de alto campo magnético, para avaliação de pacientes com epilepsia de lobo temporal de difícil controle em acompanhamento com o serviço de neurologia do Hospital de Clínicas da UFPR, com alterações estruturais (atrofia hipocampal) ao exame de ressonância magnética (RM) convencional.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

A partir dos dados de volumetria, avaliar a hipótese de que há diferenças significativas no volume da substância cinzenta subcortical em pacientes com esclerose mesial do lobo temporal em relação ao grupo controle.

Realizar análise específica das formações hipocampais, com técnica que segmentação, a fim de se pesquisar eventuais anormalidades de volumetria em segmentos específicos dos hipocampos, sobretudo no hipocampo contralateral ao foco ictal.

4 METODOLOGIA

Trata-se de estudo observacional transversal, incluindo-se pacientes maiores de 18 anos com história de epilepsia refratária do lobo temporal que tenham concordado com o estudo, e com exame de RM que apresenta sinais de atrofia hipocampal unilateral. Pacientes com outras comorbidades neurológicas e outras alterações ao exame convencional de RM foram excluídos.

Utilizou-se grupo controle de características semelhantes de idade e gênero, sem história de doenças neurológicas e com estudo de RM convencional normal.

5 REVISÃO DA LITERATURA

Localizado na porção mesial do lobo temporal, a formação hipocampal é composta pelo hipocampo propriamente dito e por bandas neuronais do giro denteado, além de apresentar diversas camadas histologicamente características, dentre as quais a mais importante é a camada de células piramidais, que dentro da estrutura hipocampal divide-se em quatro segmentos (CA1 – 4) e é onde estão centradas as alterações da esclerose hipocampal, caracterizadas por perda neuronal e gliose fibrilar crônica. Algumas teorias são propostas para a epileptogênese na formação hipocampal doente: as duas principais referem-se à formação de uma rede de projeções de fibras desorganizadas nas células granulosas denteadas, ao passo que a outra defende a presença de atividade epileptiforme espontânea no subículo, conforme já avaliado em estudos com humanos. (KITAURA, 2018). Possivelmente, os danos principais são gerados ao longo do tempo pelas próprias crises (VOETS, 2012, BERNHARDT, 2012).

As alterações no lobo temporal em pacientes com esclerose mesial temporal não se restringem aos achados referentes à atrofia do hipocampo. São descritas alterações discretas em outras regiões subcorticais, cerebelo e áreas neocorticais, que podem estar relacionadas a fatores ambientais (insultos prévios que determinaram a EMT ou fatores poligenéticos). Diversos estudos apontam alterações corticais relacionadas a áreas límbicas e neocorticais ipsilaterais à EMT (ALHUSAINI, 2012, LABATE, 2011).

Como aproximadamente 20% dos pacientes com crises de difícil controle têm exame de RM convencional normal (RUGG-GUNN, 2006), sobretudo pela dificuldade de se detectar alterações em áreas corticais, o desenvolvimento de novas técnicas de RM para demonstração anatômica ou funcional podem ter um papel muito importante na localização de áreas epileptogênicas (BERNASCONI, 2011; SALMENPERA, 2007). Desta forma, a análise quantitativa estrutural pode

identificar alterações em exames aparentemente normais (BRASIL. Ministério da Saúde, 2010).

Por meio destas técnicas avançadas de ressonância magnética, é possível detectar anormalidades, não apenas na estrutura propriamente dita, mas em também suas conexões e áreas vizinhas, conforme demonstrado por diversos estudos.

Previamente, a análise cortical era realizada, a partir da análise subjetiva do radiologista ou pelo delineamento manual do córtex por regiões de interesse (ROI) em imagens ponderadas em T1. Essa técnica apresenta muitas limitações, sobretudo em regiões onde a delimitação do córtex e substância branca é pouco nítida, gerando muita variabilidade conforme o executante, além de consumir grande parte do tempo de laudo (TAKAO, 2010).

Houve avanço nesta área com o surgimento de formas de análise automatizadas, imparciais e objetivas, e que permitem a varredura de todo o encéfalo, por meio de softwares, muitos dos quais gratuitos e disponíveis na rede. Destas técnicas destaca-se a morfometria baseada em voxel (voxel-bases morphometry – VBM).

A aquisição inicial para a análise morfométrica se baseia em uma sequência em T1 volumétrica, ou seja, com voxels menores ou iguais a 1 x 1 x 1 mm, que permitem alto contraste entre córtex, substância branca e líquido cérebro-espinhal, com alta resolução espacial, como a MPRAGE (*magnetization prepared rapid acquisition with gradient echo*) ou IR-FSPGR (*inversion recovery prepared fast spoiled gradient recalled acquisition in the steady state*).

A análise por VBM é uma técnica de pós-processamento, realizada, portanto, a partir das imagens já adquiridas (matrizes) em computadores de alta capacidade. Inicia-se pela suavização do voxels, onde a intensidade de sinal é substituída pela média ponderada dos voxels adjacentes; desta maneira, a distribuição de intensidade destes voxels tende a apresentar uma distribuição de campo mais próxima do Gaussiano, aumentando a validade de testes paramétricos e reduzindo a variabilidade entre indivíduos. Na VBM, softwares específicos são utilizados, realizando a análise de diversos parâmetros quantitativos da substância cinzenta por análise de grupo (vários sujeitos), sendo

essencial realizar as aquisições dos indivíduos de maneira o mais homogênea possível. (TAKAO, 2010).

6 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Hospital de Clínicas da UFPR (CAAE: 05201412.4.0000.0096)

Trata-se de um estudo observacional transversal. Foram selecionados pacientes maiores de 18 anos, do ambulatório de epilepsia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (HC-UFPR), que tenham epilepsia de lobo temporal difícil controle e que concordaram em participar, com assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Foram excluídos do estudo indivíduos que não aceitem o convite ou tenham alguma contraindicação para realizar o exame de Ressonância Magnética.

A definição do foco da epilepsia como temporal se dá por critérios de eletroencefalograma associados a quadro clínico compatível. Dados clínicos foram obtidos por análise de informações cadastradas no serviço de Epilepsia do Hospital de Clínicas da UFPR. Os dados dos exames de VEEG foram tabulados para localização do foco epileptogênico. Os dados clínicos obtidos foram referentes a:

- 1 – Idade
- 2 – Gênero
- 3 – Idade da primeira crise (anos)
- 4 – Tempo de doença (anos)
- 5 – Tipos de crise, conforme última classificação da ILAE
- 6 – Presença de foco ictal contralateral ao VEEG

Foram selecionados 38 pacientes com achados de EMT à RM, comparados a grupo controle de 58 indivíduos sem histórico de doenças neurológicas e com estudo de RM sem alterações significativas. A definição da atrofia hipocampal se dá ao estudo de imagem pela presença dos critérios típicos de redução volumétrica, aumento de sinal em T2 e perda da arquitetura interna da formação hipocampal. Os critérios de inclusão, portanto, são:

- Achados compatíveis com atrofia hipocampal unilateral à imagem por RM.
- Aquisições volumétricas com resolução adequada, sem artefatos de movimento que comprometam as aferições.
- São tolerados até cinco pequenos focos hiperintensos na ponderação T2 na substância branca dos hemisférios cerebrais, desde que de pequenas dimensões e sem efeito expansivo ou restrição à difusão, comumente associados a espaços perivasculares e sem significado clínico
- Também são toleradas até três pequenas calcificações detectáveis na ponderação T2*, assim como pequenas lesões extraxiais sem alteração do sinal do parênquima adjacente (p. ex. pequenos meningiomas calcificados).

Os estudos de RM foram realizados sem qualquer ônus para os pacientes ou para o grupo controle, em equipamento SIEMENS® 3.0 T Skyra (Erlangen, Alemanha) com bobina de 16 canais na clínica DAPI – Diagnóstico Avançado por Imagem. Foram obtidas imagens estruturais MPRAGE ponderadas em T1, compatível com morfometria baseada em voxel, usando os seguintes parâmetros: Tempo de repetição (TR) = 1.620mseg; tempo de eco (TE) = 3mseg; espessura de corte = 1mm; flip angle = 15°; matriz = 192 × 256 e resolução no plano de 0.9 × 0.9 mm. Para a análise morfométrica, não é necessário a injeção de meio de contraste paramagnético, e o estudo tem duração de cerca de 60 minutos.

Uma vez adquiridas, as imagens dos pacientes ficaram armazenadas no sistema interno (PACS). Estas imagens foram pós-processadas por meio do software Freesurfer (<https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu>), utilizando o script de processamento “*recon-all*” para as estruturas subcorticais. Foram obtidos os volumes da substância cinzenta subcortical das seguintes estruturas:

- 1 – Putamen
- 2 – Globo pálido
- 3 – Tálamo
- 4 – Núcleo caudado
- 5 – Amígdala

A segmentação do hipocampo foi realizada com o script adicional “*hippocampal-subfields-T1*”, obtendo-se volumes das seguintes estruturas:

- 1 – Cauda do hipocampo

- 2 – Subículo
- 3 – CA1
- 4 – Fissura hipocampal
- 5 – Pré-subículo
- 6 – Para-subículo
- 7 – Camada molecular
- 8 – Camada granulosa do giro denteado (GM-DG)
- 9 – CA2/CA3
- 10 – CA4
- 11 – Fimbria
- 12 – Área de transição da Amígdala / Hipocampo
- 13 – Volume total do hipocampo

Os dados foram primeiramente tabulados em planilha do Microsoft® Excel. Posteriormente, realizou-se a correção dos volumes das estruturas pelo método de covariância descrito por Jack e cols.(1995), considerando-se o volume intracraniano (ICV).

A análise estatística foi realizada utilizando-se o software GraphPad Prism Software versão 8.0.0 para Windows (GraphPad Software, San Diego, California EUA). A normalidade de distribuição das amostras foi analisada por testes de Shapiro-Wilk ($p < 0,05$). Os dados demográficos foram então analisados com testes de Chi-quadrado (gênero), ANOVA (idade) e Mann-Whitney (idade e idade de início de doença). Os volumes entre os grupos de pacientes e grupo controle foram comparados com múltiplas comparações utilizando-se teste-t, sendo corrigido pelo método de FDR (*false discovery rate*) de Benjamini-Hochberg, assumindo-se valor-p ajustado $p_{FDR} > 0,05$.

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em artigo final para publicação em anexo.

8 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Conforme descrito na literatura, observou-se redução volumétrica da substância cinzenta subcortical em pacientes com esclerose mesial temporal,

quando comparados a controles saudáveis. Esta redução só foi observada em pacientes com ELT com atrofia hipocampal à esquerda. As diferenças entre os pacientes com EMT à direita e à esquerda são descritas em estudos prévios.

É notável a variação entre estruturas afetadas comparando-se pacientes com esclerose mesial à direita e à esquerda observada no estudo. Vários estudos demonstram uma diferença de padrão entre pacientes com EMT à direita e à esquerda, sendo identificado um início mais precoce das crises convulsivas em pacientes com alteração à esquerda, talvez por mecanismos biológicos diferentes, o que poderia justificar o maior número de achados à direita (WHELAN, 2018; BLUMCKE, 2017).

A redução volumétrica da formação hipocampal é o achado mais consistente neste estudo e nos demais estudos da literatura, sendo condizente com o esperado pela própria esclerose mesial. Há estudos que demonstram a redução volumétrica da formação hipocampal contralateral, e possivelmente associado a pior prognóstico pós-operatório; possivelmente se explica pela propagação de estímulos pela comissura hipocampal entre as porções CA3 (BARRON, 2012). Não se obteve resultado estatisticamente significativo em relação à segmentação do hipocampo contralateral e a análise do grupo controle, o que também foi observado em outro estudo recente (KREILKAMP, 2018).

Outra estrutura cuja redução volumétrica foi identificada em pacientes com EMT à direita é o tálamo ipsilateral, sendo um dos poucos achados consistentes associado à EMT em vários estudos e meta-análises (BARRON, 2012, CAGLIARI, 2017, WHELAN, 2018). O tálamo, sobretudo na sua porção medial e dorsal, apresenta várias conexões com a formação hipocampal, estando diretamente envolvido na transmissão de estímulos na crise convulsiva. Já seus núcleos anteriores parecem exercer função reguladora sobre as formações hipocampais (BARRON, 2012).

O que ainda não foi esclarecido pelos diferentes estudos é a real natureza da redução volumétrica de substância cinzenta, e em que ponto isso decorre somente pela epilepsia. Estudo de AVIM e cols. (2016) mostra que pacientes com EMT e bom controle das crises de epilepsia tendem a desenvolver maior perda de substância cinzenta em relação aos controles. Além disso, parece haver relação com medicações antiepilépticas e com fatores genéticos (CACIAGLI, 2017).

O estudo apresenta limitações em relação ao tamanho da amostra. Por outro lado, é homogênea, de forma que todos os pacientes são acompanhados pela mesma equipe assistente, passaram pelos mesmos exames de VEEG e foram submetidos a estudos de RM no mesmo aparelho, com pós-processamento das imagens sob condições técnicas semelhantes.

Outra limitação refere-se a eventuais erros de aferição da técnica automatizada, embora o pós-processamento com o software Freesurfer já foi utilizado e validado em estudos anteriores (FISCHL, 1999; HAN, 2006; JOVICICH, 2006; IGLESIAS, 2015).

9 CONCLUSÕES

A ressonância magnética é um método de imagem que permite boa caracterização da atrofia hipocampal em pacientes com epilepsia do lobo temporal e, associada a técnicas avançadas de pós-processamento, é possível identificar alterações de volume de estruturas de substância cinzenta subcortical nestes pacientes. O padrão de acometimento de pacientes com ELT com atrofia hipocampal unilateral varia conforme a lateralidade do foco epileptogênico, o que pode indicar diferentes formas de acometimento e de fisiopatologia nestes pacientes.

O surgimento de novas técnicas permite melhor avaliação dos segmentos do hipocampo, mas não há evidência de alterações em segmentos específicos da formação hipocampal contralateral ao foco epileptogênico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALHUSAINI, S.; DOHERTY, C.P.; PALANIYAPPAN, L. et al. Asymmetric cortical surface area and morphology changes in mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. **Epilepsia**, v. 53, p 995 – 1003, 2012.
- ALVIM, M.K.M, COAN, A.C., CAMPOS, B.M., e cols. Progression of gray matter atrophy in seizure-free patients with temporal lobe epilepsy. **Epilepsia**, v.4, 621 – 629, 2016.
- BARRON, D.S., FOX, P.M., LAIRD, A.R., ROBINSON, J.L., FOX, P.T. Thalamic medial dorsal nucleus atrophy in medial temporal lobe epilepsy: A VBM meta-analysis. **NeuroImage: Clinical**. V.2, p25-32.
- BEHESHTI, I., SONE, D., FAROKHIAN, F., MAIKUSA, N., MATSUDA, H. Gray Matter and White Matter Abnormalities in Temporal Lobe Epilepsy Patients with and without Hippocampal Sclerosis. **Frontiers in Neurology**, v.9, p1-10, 2018.
- BERNHARDT, B.C.; CHEN, Z.; HE, Y. et al. Graph-Theoretical Analysis Reveals Disrupted Small-World Organization of Cortical Thickness Correlation Networks in Temporal Lobe Epilepsy. **Cerebral Cortex**, v.1, p. 11, 2012.
- BERNASCONI, A.; BERNASCONI, N.; BERNHARDT, B.C.; SCHRADER, D. Advances in MRI for “cryptogenic epilepsies”. **Nature Reviews Neurology**, v.7, p. 99-108, 2011.
- BERNASCONI, N.; DUCHESNE, S.; JANKE, A.; LERCH, J.; COLLINS, D.L.; BERNASCONI, A. Whole-brain voxel-based statistical analysis of gray matter and white matter in temporal lobe epilepsy. **Neuroimage**, v. 23, p.717-723, 2004.
- BLUMCKE, I., SPREAFICO, R., HAAKER, G., e cols. Histopathological Findings in Brain Tissue Obtained during Epilepsy Surgery. **N Engl J Med**, 377, p1648 – 1656, 2017.
- BONILHA, L., EDWARDS, J.C., KINSMAN, S.L., cols. Extrahippocampal gray matter loss and hippocampal deafferentation in patients with temporal lobe epilepsy. **Epilepsia**, v.1, p519-528, 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas – Epilepsia. Anexo à **Portaria SAS/MS** No 429, 23 de setembro de 2010.
- CACIAGLI, L.; BERNASCONI, A.; WIEBE, S.; KOEPP, M.; BERNASCONI, N.; BERNHARDT, B.C. A meta-analysis on progressive atrophy in intractable temporal lobe epilepsy – Time is brain? **Neurology**, v. 89, p 506-516, 2017.
- CALDERON-GARCIDUEÑAS, A.L., MARTHON, B., LÉVY, P., e cols. New clinicopathological associations and histoprognostic markers in ILAE types of hippocampal sclerosis. **Brain Pathol**, 2018.

FISCHL, B., SERENO, M.I., TOOTELL, R.B., DALE A.M. High-resolution intersubject averaging and a coordinate system for the cortical surface. **Hum Brain Mapp** 8, p272-84, 1999.

HAN, X., JOVICICH, J., SALAT, D., VAN DER KOUWE, A., QUINN, B., CZANNER, S. et al. Reliability of MRI-derived measurements of human cerebral cortical thickness: The effects of field strength, scanner upgrade and manufacturer. **Neuroimage**, **32**, p180–94, 2006.

IGLESIAS, J.E., AUGUSTINACK, J.C., NGUYEN, K., PLAYER, C.M., PLAYER, A., WRIGHT, M., et al. A computational atlas of the hippocampal formation using ex-vivo , ultra-high resolution MRI. **Neuroimage**, p115-37 2015.

KELLER, S.S., ROBERTS, N. Voxel-based morphometry of temporal lobe epilepsy: An introduction and review of the literature. **Epilepsia**, v.5, 741-757, 2008.

KIM, J.S., KOO, D.L., JOO, E.Y. cols. Asymmetric Gray Matter Volume Changes Associated with Epilepsy Duration and Seizure Frequency in Temporal-Lobe-Epilepsy Patients with Favorable Surgical Outcome. **J Clin Neurol**, v.3, p323 – 331, 2016.

KITAURA, H., SHIROZU, H., MASUDA, H., FUKUDA, FUJII, Y; KAKITA, A.; Pathophysiological Characteristics Associated With Epileptogenesis in Human Hippocampal Sclerosis. **EBioMedicine**, v. 29, p 38-46, 2018.

JOVICICH, J., CZANNER, S., GREVE, D., HALEY, E., VAN DER KOUWE, A., GOLLUB, R. et al. Reliability in multi-site structural MRI studies: Effects of gradient non-linearity correction on phantom and human data. **Neuroimage**, 30, p436-43, 2006.

LABATE, A.; CERASA, A.; AGUGLIA, U.; MUMOLI, L.; QUATTRONE, A.; GAMBARDELLA, A. Neocortical thinning in “benign” mesial temporal lobe epilepsy. **Epilepsia**, v. 52, p. 712 – 717, 2011.

MALMGREN, K.; THOM, M. Hippocampal sclerosis – Origins and imaging. **Epilepsia**, v.53, suppl. 4; p. 19 – 33, 2012.

MUELLER S.G., LAXER, K.D., CASHDOLLAR, N., cols. Voxel-based Optimized Morphometry (VBM) of Gray and White Matter in Temporal Lobe Epilepsy (TLE) with and without Mesial Temporal Sclerosis. **Epilepsia**, v.5, p 900-907, 2006.

REUTER, M., SCHMANSKY, N.J., ROSAS, H.D., FISCHL, B. 2012. Within-Subject Template Estimation for Unbiased Longitudinal Image Analysis. **Neuroimage** v.4, p1402-1418, 2012.

RUGG – GUNN, F.J.; BOULBY, P.A.; SYMMS, M.R.; BARKER, G.J.; DUNCAN, J.S. Imaging of the neocortex in epilepsy with double inversion recovery imaging. **Neuroimage**, v. 31, p. 39-50, 2006.

SALMENPERA, T.M.; SYMMS, M.R.; RUGG – GUNN, F.J.; BOULBY, P.A.; FREE, S.L.; BARKER, G.J.; YOUSRY, T.A.; DUNCAN, J.S. Evaluation of quantitative magnetic resonance imaging contrasts in MRI-negative focal epilepsy. **Epilepsia**, v. 48, p. 229 – 237, 2007.

SCANLON, C., MUELLER, S.G., TOSUN, D., e cols. Impact of Methodologic Choice for Automatic Detection of Different Aspects of Brain Atrophy by Using Temporal Lobe Epilepsy as a Model. **AJNR Am J Neuroradiol**, v. 9, 2011.

SO, E.L. Value and limitations of seizure semiology in localizing onset. **J Clin Neurophysiol**, v. 23, p. 353 – 357, 2006.

TAKAO, H.; OSAMU, A.; OHTOMO, K. Computational analysis of cerebral cortex. **Neuroradiology**, v. 52, p. 691 – 698, 2010.

VOETS, N.L.; BECKMANN, C.F.; COLE, D.M. et al. Structural substrates for resting network disruption in temporal lobe epilepsy. **Brain**, v.1 p. 8, 2012.

WHELAN, C.D., ALTMANN, A., BOTIA, J.A., e cols. Structural brain abnormalities in the common epilepsies assessed in a worldwide ENIGMA study. **Brain**. 141, p391-408. 2018.

TABELAS

Tabela 1. Dados clínicos e demográficos dos pacientes incluídos na análise.**Table 1.** Clinical and demographic data of the patients included in the analysis.

Patient	^a TLE-HA (^b MRI)	Age (years)	^c Gender	Age of epilepsy onset (years)	Mean time of epilepsy (years)	EEG focus	Contralateral abnormalities (ictal EEG record)	Seizure classification
1	Left	45,78	M	18	27,8	Left temporal	Right temporal	Focal to bilateral tonic clonic
2	Left	37,42	M	7	30,4	Left temporal	Right temporal	Focal to bilateral tonic clonic
3	Left	29,74	F	16	13,7	Left temporal		Focal to bilateral tonic clonic
4	Left	53,02	F	9	44,0	Left temporal	Right temporal	Focal to bilateral tonic clonic
5	Left	41,29	F	0,75	40,5	Left temporal		Focal to bilateral tonic clonic
6	Left	26,73	F	6	20,7	Left temporal	Right temporal	Focal to bilateral tonic clonic
7	Left	41,91	F	25	16,9	Left temporal		Focal
8	Left	56,67	F	16	40,7	Left temporal		Focal to bilateral tonic clonic
9	Left	53,65	F	8	45,6	Left temporal		Focal to bilateral tonic clonic
10	Left	23,94	F	3	20,9	Left temporal	Right temporal	Focal
11	Left	26,19	M	1,2	25,0	Left temporal		Focal
12	Left	31,85	M	0,9	30,9	Left temporal		Focal to bilateral tonic clonic
13	Left	44,38	F	20	24,4	Left temporal	Right temporal	Focal to bilateral tonic clonic
14	Left	38,85	F	7	31,9	Left temporal		Focal to bilateral tonic clonic
15	Left	34,08	M	0,25	33,8	Left temporal	Right temporal	Focal to bilateral tonic clonic
16	Left	32,99	M	27	6,0	Left temporal		Focal to bilateral tonic clonic
17	Left	42,57	F	8	34,6	Left temporal		Focal to bilateral tonic clonic
18	Right	45,44	F	3	42,4	Right temporal		Focal
19	Right	28,32	F	0,75	27,6	Right temporal		Focal to bilateral tonic clonic
20	Right	50,53	M	5	45,5	Right temporal	Left temporal	Focal to bilateral tonic clonic
21	Right	17,81	M	4	13,8	Right temporal		Focal
22	Right	41,61	F	17	24,6	Right temporal	Left temporal	Focal
23	Right	40,71	F	29	11,7	Right temporal	Left temporal	Focal to bilateral tonic clonic
24	Right	45,92	F	7	38,9	Right temporal	Left temporal	Focal
25	Right	33,68	M	4	29,7	Right temporal		Focal to bilateral tonic clonic
26	Right	34,46	F	30	4,5	Right temporal		Focal to bilateral tonic clonic
27	Right	47,06	F	34	13,1	Right temporal		Focal to bilateral tonic clonic
28	Right	46,52	F	14	32,5	Right temporal	Left temporal	Focal to bilateral tonic clonic
29	Right	27,20	M	4	23,2	Right temporal	Left centrotemporal	Focal to bilateral tonic clonic
30	Right	24,72	F	3	21,7	Right temporal	Left temporal	Focal to bilateral tonic clonic
31	Right	41,89	M	1,5	40,4	Right temporal		Focal to bilateral tonic clonic
32	Right	48,22	F	20	28,2	Right temporal		Focal to bilateral tonic clonic
33	Right	33,67	F	1,4	32,3	Right temporal		Focal to bilateral tonic clonic
34	Right	48,87	F	28	20,9	Right temporal	Left temporal	Focal
35	Right	46,67	M	6	40,7	Right temporal		Focal to bilateral tonic clonic
36	Right	33,67	M	1,5	32,2	Right temporal		Focal to bilateral tonic clonic
37	Right	44,39	F	6	38,4	Right temporal	Left temporal	Focal
38	Right	38,52	M	3	35,5	Right temporal		Focal to bilateral tonic clonic

^aTLE-HA: temporal lobe epilepsy with hippocampal atrophy. ^bMRI: magnetic resonance imaging. ^cM: male. F: female.

Tabela 2. Análise dos dados clínicos e demográficos entre os grupos de pacientes e grupo controle.

Table 2. Comparisons of demographic and clinical data from patients and control groups.

	Controls (n = 59)	Right ^a TLE-HA (n=21)	Left TLE-HA (n=17)	
Gender (F/M)	32 / 27	13/8	11/6	$\chi^2 = 0,9436$ (p = 0,62)
Age (years)	38,5	38,8	39,0	F = 0,016 (p = 0,98)
Median time of disease (years)	-	28,7	28,5	t = 0,005 (p = 0,9557)
Median age of epilepsy onset (years)	-	10,3	10,7	U = 171 (p = 0,8446)

^aTLE-HA: temporal lobe epilepsy with hippocampal atrophy

Tabela 3. Comparação dos volumes subcorticais corrigidos nos grupos de pacientes e grupo controle.

Table 3. Subcortical corrected volumes comparisons in controls, left and right TLE-HA^a patients.

Laterality in MRI imaging and VEEG ^b		Structure	TLE-HA means(cm ³) / SD		Controls means (mm ³) / SD		t ratio	p _(FDR)
Left		Left Thalamus	6521	426,9	7070	692,6	3,095	0,014
		Left Caudate	3225	448	3386	373,2	1,497	0,173
		Left Putamen	4489	507,6	4973	452,4	3,782	0,003
		Left Pallidum	1895	161,1	2004	170,7	2,348	0,043
		Left Amygdala	1558	188	1624	201	1,209	0,256
		Right Thalamus	6675	477,2	7006	606,6	2,069	0,067
		Right Caudate	3357	365,1	3473	399,7	1,074	0,286
		Right Putamen	4697	388,7	5001	466	2,452	0,041
		Right Pallidum	1780	124	1871	173,1	2,019	0,067
		Right Amygdala	1849	176,4	1720	167	2,772	0,023
Right		Left Thalamus	7038	646,3	7070	692,6	0,185	0,807
		Left Caudate	3235	355,6	3386	373,2	1,611	0,151
		Left Putamen	4835	510,2	4973	452,4	1,161	0,262
		Left Pallidum	1942	150,9	2004	170,7	1,471	0,172
		Left Amygdala	1814	186,7	1624	201	3,787	0,003
		Right Thalamus	6625	676,3	7006	606,6	2,398	0,089
		Right Caudate	3274	384,5	3473	399,7	1,978	0,121
		Right Putamen	4804	432,1	5001	466	1,694	0,151
		Right Pallidum	1782	155,1	1871	173,1	2,077	0,121
		Right Amygdala	1795	225	1720	167	1,607	0,151

^aTLE-HA: temporal lobe epilepsy with hippocampal atrophy ^bVEEG: videoelectroencephalography

Tabela 4. Análise dos segmentos das formações hipocâmpais no grupo de pacientes com atrofia hipocâmpal à esquerda.

Table 4 – Hippocampal subfields volumetry data of Left TLE-HA patients compared with control group.

Laterality in MRI and VEEG ^d	Structure	TLE-HA ^a		Controls		t ratio	P _(FRD)
		Mean (mm ³) / SD	Mean (mm ³) / SD	Mean (mm ³) / SD	Mean (mm ³) / SD		
Left	Left Hippocampal tail	399,3	68,63	319,0	74,77	6,308	<0,000001
	Left subiculum	340,4	50,41	63,71	49,36	6,219	<0,000001
	Left CA1	469,5	60,28	564,9	64,86	7,957	<0,000001
	Left hippocampal-fissure	148,2	35,67	291,0	26,67	0,911	0,365140
	Left presubiculum	238,6	26,25	195,1	35,9	7,455	<0,000001
	Left parasubiculum	54,27	7,25	249,6	9,084	3,257	0,001708
	Left molecular layer HP	409,2	50,48	87,30	52,52	10,27	<0,000001
	Left GC-ML-DG ^b	196,4	28,78	60,74	24,86	11,65	<0,000001
	Left CA3	142,1	22,85	3437	22,68	6,334	<0,000001
	Left CA4	225,4	130,7	561,7	137,1	12,59	<0,000001
	Left fimbria	73,91	17,99	436,9	16,13	2,031	0,045858
	Left HATA ^c	54,23	7,993	654,2	7,536	1,899	0,061496
	Left Whole hippocampus	2545	297	145,0	298	10,00	<0,000001
	Right Hippocampal tail	565,8	52,76	561,7	76,12	0,2077	0,562937
	Right subiculum	511,5	147,8	436,9	164,4	1,684	0,119890
	Right CA1	666,7	50,26	654,2	76,23	0,6358	0,441135
	Right hippocampal-fissure	160,2	32,03	145,0	24,47	2,100	0,052654
	Right presubiculum	289,8	27,14	302,1	36,15	1,299	0,200008
	Right parasubiculum	60,57	6,447	60,63	8,436	0,0270	0,608154
	Right molecular layer HP	590,0	36,41	580,9	58,51	0,6066	0,441135
Right GC-ML-DG	302,3	19,22	299,0	30,03	0,4274	0,499213	
Right CA3	221,8	19,21	213,5	29,17	1,103	0,259902	
Right CA4	273,2	32,78	257,0	41	1,495	0,149958	
Right fimbria	86,69	20,05	84,83	17,57	0,372	0,499213	
Right HATA ^c	66,59	11,7	62,78	7,667	1,591	0,133718	
Right Whole hippocampus	3548	203,1	3514	325	0,4079	0,499213	

^aTLE-HA: temporal lobe epilepsy with hippocampus atrophy. ^bGM-ML-DG: granule cell layer of the dentate gyrus. ^cHATA: hippocampus amygdala transitional area. ^dVEEG: video-electroencephalography

Tabela 5. Análise dos segmentos das formações hipocâmpais no grupo de pacientes com atrofia hipocâmpal à direita.

Table 5 – Hippocampal subfields volumetry data of Right TLE-HA patients compared with control group.

Laterality in MRI and VEEG ^d	Structure	TLE-HA ^a		Controls		t ratio	P _(FRD)
		Mean (mm ³) / SD	Mean (mm ³) / SD	Mean (mm ³) / SD	Mean (mm ³) / SD		
Right	Left Hippocampal tail	550,3	59,11	547,6	74,77	0,149	0,569624
	Left subiculum	443,9	58,77	437,7	49,36	0,468	0,527276
	Left CA1	634	76,46	620,1	64,86	0,802	0,418757
	Left hippocampal-fissure	151,5	18,94	147,7	26,67	0,602	0,513463
	Left presubiculum	315,1	30,77	319,0	35,9	0,442	0,527276
	Left parasubiculum	61,67	9,789	63,71	9,084	0,866	0,418757
	Left molecular layer HP	561,3	65,37	564,9	52,52	0,252	0,562081
	Left GC-ML-DG ^b	292,2	35,22	291,0	24,86	0,169	0,569624
	Left CA3	193,4	27,03	195,1	22,68	0,280	0,562081
	Left CA4	298,9	128,7	249,6	137,1	1,437	0,199870
	Left fimbria	90,83	19,7	87,30	16,13	0,811	0,418757
	Left HATA ^c	64,71	8,52	60,74	7,536	2,003	0,068114
	Left Whole hippocampus	3457	357,7	3437	298	0,250	0,562081
	Right Hippocampal tail	424,4	58,36	561,7	76,12	7,506	<0,000001
	Right subiculum	387,6	149,1	436,9	164,4	1,208	0,276860
	Right CA1	486,9	61,71	654,2	76,23	9,046	<0,000001
	Right hippocampal-fissure	148,3	23,09	145,0	24,47	0,538	0,523339
	Right presubiculum	224,1	23,57	302,1	36,15	9,196	<0,000001
	Right parasubiculum	50,79	7,023	60,63	8,436	4,782	0,000015
	Right molecular layer HP	424,1	46,24	580,9	58,51	11,09	<0,000001
Right GC-ML-DG ^b	202,7	31,5	299,0	30,03	12,46	<0,000001	
Right CA3	152,8	22,23	213,5	29,17	8,668	<0,000001	
Right CA4	183,2	38,51	257,0	41	7,193	<0,000001	
Right fimbria	68,2	10,46	84,83	17,57	4,078	0,000183	
Right HATA	58,31	8,895	62,78	7,667	2,199	0,047108	
Right Whole hippocampus	2590	294,5	3514	325	11,45	<0,000001	

aTLE-HA: temporal lobe epilepsy with hippocampus atrophy. bGM-ML-DG: granule cell layer of the dentate gyrus. cHATA: hippocampus amygdala transitional area. dVEEG: video-electroencephalography.

FIGURAS

Figura 1. Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do HC-UFPR

DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: RESSONÂNCIA MAGNÉTICA AVANÇADA EM PACIENTES COM EPILEPSIA DE DIFÍCIL CONTROLE
Pesquisador Responsável: Arnolfo de Carvalho Neto
Área Temática:
Versão: 3
CAAE: 05201412.4.0000.0096
Submetido em: 14/04/2018
Instituição Proponente: Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná
Situação da Versão do Projeto: Aprovado
Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável
Patrocinador Principal: LIGA DAS SENHORAS CATÓLICAS DE CURITIBA
 Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná



Figura 2. Segmentação da substância cinzenta subcortical ao nível dos núcleos da base. As estruturas de interesse são demonstradas em verde escuro (tálamo), roxo (putamen), azul (globo pálido) e cinza (núcleo caudado).

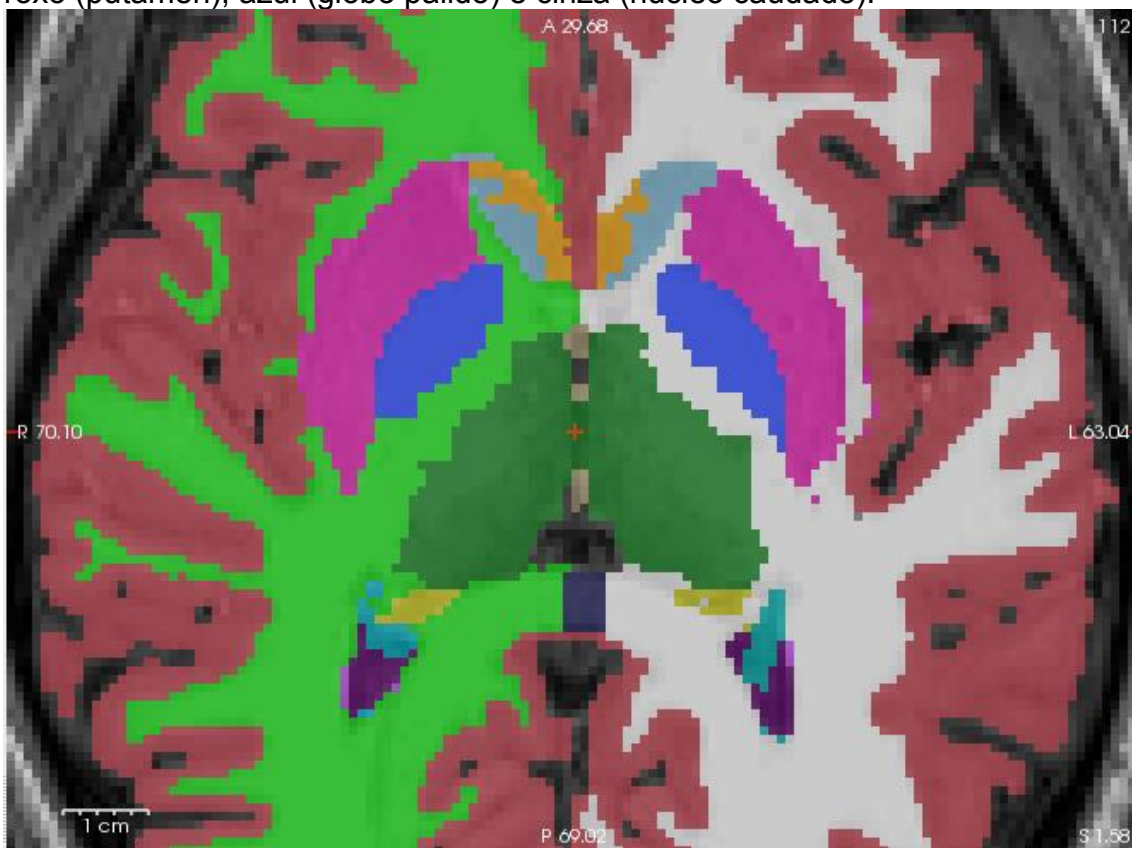


Figura 3a e 3b. Volumetria e segmentação do hipocampo nos planos coronal (a) e longitudinal do hipocampo (b). Nestas imagens é possível identificar os

segmentos CA1 (vermelho), CA2/CA3 (verde escuro), camada molecular (vermelho escuro), camada granulosa do giro denteado (azul claro), subículo (azul), parasubículo (amarelo), pré-subículo (roxo escuro), fissura hipocampal (roxo), caudal hipocampal (roxo claro) e área de transição amígdala – hipocampo (verde claro).

a.



b.



ARTIGO FINAL

Title:

Subcortical gray matter volume abnormalities in temporal lobe epilepsy with hippocampal atrophy: a VBM study with hippocampal segmentation.

Authors:

Gustavo Rengel dos Santos¹

Sergio Eiji Ono¹

Arnolfo de Carvalho Neto^{1,3}

Daniel Dias da Silva Cavalheiro¹

Luciano de Paola²

Carlos Eduardo Soares Silvado²

Dante Luiz Escuissato^{1,3}

¹ Clínica Diagnóstico Avançado por Imagem – DAPI. Curitiba/PR, Brazil.

² Epilepsy and EEG Service, Hospital de Clínicas, Federal University of Paraná, Curitiba/PR, Brazil.

³ Internal Medicine Department, Hospital de Clínicas, Federal University of Paraná, Curitiba/PR, Brazil.

Corresponding author: Gustavo Rengel dos Santos. Clínica Diagnóstico Avançado por Imagem – DAPI.

Rua Brigadeiro Franco, 122. Curitiba/PR, Brazil, 80430-210. E-mail address:

santos.gustavodos@gmail.com

ORCID: 0000-0002-2626-0703 (GRS)

ABSTRACT

Hippocampal atrophy (HA) is the main lesion associated with drug-resistant temporal lobe epilepsy and can be reliably evaluated in conventional magnetic resonance imaging studies (MRI), with satisfactory lateralization of epileptogenic focus. Also, post-processing quantitative techniques permit better evaluation of extratemporal volume abnormalities, including cortical and subcortical gray matter (GM) structures, with more consistent findings in the ipsilateral hemisphere to the epileptogenic focus, including the thalamus and adjacent gyri. Since the results from previous studies are variable, especially in contralateral hippocampus, we aimed to analyze the relationship of subcortical GM volume in patients with temporal lobe epilepsy associated with hippocampal atrophy (TLE-HA), including hippocampal subfield analysis. Subcortical GM volumes of hippocampus, amygdala and basal ganglia were obtained with automated techniques from MRI scans of 38 TLE-HA patients (seventeen with left TLE-HA) and compared with 59 healthy controls. Patients with left TLE-HA demonstrated significant lower volumes in left thalamus ($t=3,09$, $p=0,014$), putamen ($t=3,78$, $p=0,003$) and pallidum ($t=2,35$, $p=0,043$), and also volume loss in right putamen ($t=2,45$, $p=0,041$). No significant volume loss was detected in right TLE-HA group. Volume increase in contralateral amygdala was found in both L-TLE-HA ($t=2,77$, $p=0,022$) and R-TLE-HA groups ($t = 3,79$, $p = 0,003$). No significant changes were observed in the contralateral hippocampus or hippocampal subfields comparisons. Our findings suggest different patterns in subcortical volume abnormalities in left and right TLE-HA patients, which may indicate different neural network abnormalities accordingly to the ictal side. Subtle contralateral amygdala enlargement is present in both groups and may have a specific role in epileptogenic mechanisms. There appear to be no significant volume abnormalities in contralateral hippocampus in TLE-HA, as well in specific hippocampal subfields in automated analysis.

Keywords:

- 1 – Epilepsy
- 2 – Hippocampus
- 3 – Volumetry
- 4 – Freesurfer
- 5 - Segmentation

INTRODUCTION

Epilepsy is a significant neurological disease, with several clinical and social impairments. Almost one-third of patients do not achieve appropriate control of seizures with pharmacologic therapy [1–4]. Temporal lobe epilepsy (TLE) is the most common drug-resistant epilepsy in adults, with characteristic history and seizure semiology, as well as epileptogenic focus localized at electroencephalographic (EEG) studies during the crisis. It is also the most common epilepsy referred for surgical treatment [5,6]. The primary structural lesion associated with TLE is hippocampal sclerosis, present at magnetic resonance imaging (MRI) studies as hippocampal atrophy (HA) and T2 hyperintensity [6,7]. Although TLE associated with

hippocampal atrophy (TLE-HA) is usually related to alterations restricted to the mesial portion of the temporal lobe in conventional MRI, several studies have demonstrated extra-hippocampal white and gray matter abnormalities [8,9], as well in contralateral side to epileptogenic focus [10]. It is also known that gray matter volume loss in TLE-HA is correlated with poor surgical outcome.

Since these findings are not often accessible in conventional MRI studies, quantitative techniques can improve hippocampal atrophy detection [6], moreover, can also indicate extra-hippocampal findings in deep gray matter and extratemporal findings. Voxel-based morphometry (VBM) is an automated computerized quantitative technique that evaluates differences in the brain between two or more groups of subjects and has been frequently used in researches of gray matter volume abnormalities associated with epilepsy [9,11]. Also, new segmentation techniques permit a better evaluation of hippocampal subfields. However, data from several studies are conflicting, especially in contralateral structures to the epileptic focus [8,12].

The aims of this study are to identify subcortical gray matter abnormalities in TLE-HA patients in a tertiary health care center using VBM techniques including hippocampal subfield analysis.

METHODS

Subjects

This study was approved by the Ethics in Research Committee of Clinics Hospital of the Federal University of Parana, and patients have signed informed consent. We included thirty-eight subjects (21 patients with right TLE-HA – 8 males – and 17 patients with left TLE-HA – 6 males), referred to surgical planning between September 2013 and August 2018, and without any other pathologies in MRI scans than hippocampal atrophy. They have been evaluated clinically and by EEG record during the crisis, with findings consistent with TLE. We compared the subjects with 59 healthy controls, with no history of neurological conditions. Clinical data of age, gender, time of disease, education, and laterality were obtained from medical records and video-EEG reports.

MRI acquisition

MRI scans were performed in a 3T Siemens MAGNETOM Skyra (Erlangen, Germany). The morphometry protocol consists of a 3D T1 MP-RAGE (Three-Dimensional Magnetization Prepared Rapid Acquisition GRE), acquired in the sagittal plane (176 slices, FoV 256mm, slice thickness 1mm, voxel volume 1mm³, TE 3.36ms, TR 2530ms, TI 1100ms, pixel bandwidth 200Hz/px, flip angle 7°). We acquired additional sequences of coronal T2-weighted fast spin-echo perpendicular to the hippocampi, 3D T2 fluid-attenuated inversion recovery, susceptibility-weighted imaging, and diffusion tensor imaging. The scans were read by two neuroradiologists (GRS and SEO), and unilateral HA diagnosis and affected side were established by consensus, considering visual and qualitative parameters: hippocampus height, morphology, and altered signal. All patients have concordant side of HA and ictal changes in VEEG.

MRI volumetry

The T1-weighted MRI scans were processed using the FreeSurfer software package (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>), stable version 6.0 (January 2017), documented in detail in previous articles [14–29]. We ran the recon-all script adding the hippocampalsubfields-T1 flag, and extracted subcortical gray matter and hippocampal subfield volumes [27]. Twelve subfields were determined by automated segmentation: hippocampal tail, subiculum, CA1, hippocampal fissure, presubiculum, parasubiculum, molecular layer, granule cell layer of the dentate gyrus (GC-DG), CA3, CA4, fimbria and hippocampus – amygdala transitional area, as well the whole hippocampus volume. The results were satisfactory and minor errors in volumes detected in the visual inspection were not considered for editing, as bias due to over- or under-correction along the process could occur. We used the database of the control group to obtain reference volumes. Hippocampal volumes and their subfields and subcortical gray matter structures were normalized using the covariance method previously described [28], and we considered the intracranial volume (ICV) in the correction [29].

Statistical analysis

We used GraphPad Prism Software version 8.0.0 for Windows (GraphPad Software, San Diego, California USA) for the statistical analysis. Demographic data were evaluated with Chi-square (gender); ANOVA analysis for age between the groups and Mann-Whitney tests for time of disease and age of disease onset, since those variables do not present a normal distribution in Shapiro-Wilk tests ($p < 0,05$). The ICV-corrected subcortical volumes were compared with means and SD, and FDR adjusted p -value $< 0,05$ was considered significant.

RESULTS

The demographic data and clinical features are described in Table 1. There was no difference in age, gender, age of epilepsy onset and disease duration among the groups (Table 2).

The post-processed basal ganglia ICV-corrected volume comparisons of TLE-HA patients compared to controls are demonstrated in Table 3. In the L-TLE-HA group, volume decrease was detected in ipsilateral thalamus (6521 ± 426 in patients and 7070 ± 692 in controls, $p=0,014$), putamen ($4489 \pm 507 / 4973 \pm 452$, $p=0,003$) and pallidum ($1895 \pm 161 / 2004 \pm 170$, $p=0,043$), as well as in right putamen ($4697 \pm 388 / 5001 \pm 466$, $p=0,041$); no statistically significant volume loss was detected in R-TLE-HA patients. In both L-TLE-HA and R-TLE-HA groups, contralateral amygdala enlargement was detected ($1849 \pm 176 / 1720 \pm 167$ $p=0.022$ in L-TLE-HA, and $1814 \pm 187 / 1624 \pm 201$, $p = 0.003$ in R-TLE-HA).

Post-processed hippocampal subfield comparisons are demonstrated in Tables 4 and 5. No significant differences were founded in the comparisons with group control for each of subfields or whole contralateral hippocampal volumes.

DISCUSSION

We made a quantitative analysis of subcortical GM on TLE patients with hippocampal atrophy. Aside from determination of epileptogenic focus in TLE, MRI post processing techniques are useful for determination of extra-hippocampal findings utilizing VBM analysis. Previous studies have consistently demonstrated GM volume loss in ipsilateral thalamus and mesiotemporal structures [9,12,29]. We found ipsilateral volume loss in thalamus, putamen and pallidum in L-TLE-HA. Also, contralateral volume reduction was found in the right putamen in that group. The thalamus is the extra-temporal structure with more consistent findings in several studies [8,9,12], usually in the ipsilateral hemisphere, and different hippocampal-thalamic and cortical-subcortical networks may be involved in epileptogenic propagation in these patients. No significant volume loss was detected in R-TLE-HA group. It suggests different mechanisms and networks involved in epileptic pathogenesis between right and left hippocampal atrophy, as previously described, although with conflicting results [8, 9], with description of more subcortical abnormalities in R-TLE-HA.

We also found contralateral amygdala enlargement in both TLE-HA groups. The amygdala consists of a nuclei group connected with several cortical and subcortical structures and is related to emotional and behavioral aspects and, in TLE, may be implied in seizure semiology and symptoms, like sensation of fear, olfactory hallucinations and autonomic disorders [30]. There is a considerable evidence of amygdala enlargement in TLE, principally in “non-lesional” negative MRI studies [8,31,32], although there is no consensus if may be considered an isolated syndrome [33,34], however, there are correlation to later age of onset of epilepsy, more impaired consciousness crisis and a better response do pharmacologic treatment [35]. Moreover, histological analysis after surgical resection demonstrates different results, including gliosis, cortical dysplasia and tumors [36]. Amygdala enlargement associated with hippocampal sclerosis has been reported previously by Coan et al. [37], with more than 90% of patients with contralateral volume abnormality to ictal zone; also, an earlier age of onset of seizures was described in the AE group, which could also represent a marker of early TLE. However, those patients were previously selected based in amygdala enlargement defined by a volume higher than 2 standard deviations from the median of group control, which differs from our patients, who have more subtle volume abnormalities; therefore, there is an evident difference between the median amygdala volume in our sample (1848 cm³ and 1814 cm³ in R-TLE and L-TLE) compared with the referred study (mean of 2729 cm³), although our patients have a similar median age of onset of epilepsy (right TLE-HA: 10 years – 1 to 34 years – left TLE-HA: 10 years – 1 to 18 years) to the group with AE reported (11 years – 1 to 38 years) [37].

Our analysis showed no statistically significant volume abnormalities in the contralateral hippocampus. The connections between the hippocampi and its role in epileptogenic spread are well defined [38,39], but previous data regarding the contralateral hippocampus volume are conflicting [11,12,39]. We either found any statistically significant difference in hippocampus subfield analysis. Recent results with automated Freesurfer analysis show no correlation of ipsilateral hippocampal segmentation and clinical data as age, age of epilepsy onset, time of disease and seizure frequency [13], but there appear to be better surgical outcomes in patients with CA1 and CA4 atrophy in ipsilateral hippocampus [40].

Our study has limitations. Our sample is small, but the groups evaluated are homogeneous, with the same parameters in clinical evaluation in MRI scans, although we have not applied correlation tests with clinical

data. Also, there are some imprecisions in automated analysis, although these methods have been previously validated in several studies. Moreover, it is not possible to correlate the findings with histological data since surgical resection is not indicated for contralateral findings.

CONCLUSION

Automated post-processing techniques are a valuable method for quantitative analysis of subcortical gray matter and hippocampal subfields in TLE. Quantitative analysis of subcortical gray matter showed statistically significant volume reduction in L-TLE-HA, but not in R-TLE-HA. These findings could relate to different epileptogenic mechanisms in the left and right patients, which could also explain different clinical findings between these patients.

Amygdala enlargement was detected in both groups. The role of amygdala in TLE seems to be complex, and further studies may be necessary to evaluate this structure involvement in different types of epilepsy.

Compliance with Ethical Standards:

Funding:

This study did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Conflict of Interest:

Author Gustavo Rengel dos Santos declares that he has no conflict of interest. Author Sergio Eiji Ono declares that he has no conflict of interest. Author Arnolfo de Carvalho Neto declares that he has no conflict of interest. Author Daniel Dias da Silva Cavalheiro declares that he has no conflict of interest. Author Luciano de Paola declares that he has no conflict of interest. Author Carlos Eduardo Soares Silvado declares that he has no conflict of interest. Author Dante Luiz Escuissato declares that he has no conflict of interest.

Ethical approval:

All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional (Hospital de Clínicas of Federal University of Parana) research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards. The study was registered in the Plataforma Brasil (CAAE: 05201412.4.0000.0096) before approval by the Ethics in Research Committee.

Informed consent:

Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

References

1. Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross JH, Elger CE, et al. ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. 2014;55(4):475–82.
2. Laxer KD, Trinka E, Hirsch LJ, Cendes F, Langfitt J, Delanty N, et al. The consequences of refractory epilepsy and its treatment. *Epilepsy Behav*. 2014;37:59–70.

3. Mohan M, Keller S, Nicolson A, Biswas S, Smith D, Farah J, et al. The long-term outcomes of epilepsy surgery. *PLoS One*. 2018;13(5):1–16.
4. Wiebe S, Jette N. Pharmacoresistance and the role of surgery in difficult to treat epilepsy. *Nat Rev Neurol*. 2012;8(12):669–77.
5. Caciagli L, Bernasconi A, Wiebe S, Koepp MJ, Bernasconi N, Bernhardt BC. A meta-Analysis on progressive atrophy in intractable temporal lobe epilepsy: Time is brain? *Neurology*. 2017;89(5):506–16.
6. Coan a. C, Kubota B, Bergo FPG, Campos BM, Cendes F. 3T MRI quantification of hippocampal volume and signal in mesial temporal lobe epilepsy improves detection of hippocampal sclerosis. *Am J Neuroradiol*. 2014;35(1):77–83.
7. Baulac M. MTLE with hippocampal sclerosis in adult as a syndrome. *Rev Neurol (Paris)*. 2015;171(3):259–66.
8. Whelan CD, Altmann A, Botía JA, Jahanshad N, Hibar DP, Absil J, et al. Structural brain abnormalities in the common epilepsies assessed in a worldwide ENIGMA study. *Brain*. 2018;141(2):391–408.
9. Li JP, Zhang ZB, Shang HF. A meta-analysis of voxel-based morphometry studies on unilateral refractory temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res*. 2012;98(2–3):97–103.
10. Seidenberg M, Kelly KG, Parrish J, Geary E, Dow C, Rutecki P, et al. Ipsilateral and contralateral MRI volumetric abnormalities in chronic unilateral temporal lobe epilepsy and their clinical correlates. *Epilepsia*. 2005;46(3):420–30.
11. Keller SS, Roberts N. Voxel-based morphometry of temporal lobe epilepsy: An introduction and review of the literature. *Epilepsia*. 2008;49(5):741–57.
12. Barron DS, Fox PM, Laird AR, Robinson JL, Fox PT. Thalamic medial dorsal nucleus atrophy in medial temporal lobe epilepsy: A VBM meta-analysis. *NeuroImage Clin*. 2013;2(1):25–32.
13. Dale AM, Fischl B, Sereno MI. Cortical Surface-Based Analysis. *Neuroimage*. 1999 Feb;9(2):179–94.
14. Dale AM, Sereno MI. Improved Localization of Cortical Activity by Combining EEG and MEG with MRI Cortical Surface Reconstruction: A Linear Approach. *J Cogn Neurosci*. 1993 Apr;5(2):162–76.
15. Ségonne F, Dale AM, Busa E, Glessner M, Salat D, Hahn HK, et al. A hybrid approach to the skull stripping problem in MRI. *Neuroimage*. 2004 Jul;22(3):1060–75.
16. Reuter M, Rosas HD, Fischl B. Highly accurate inverse consistent registration: a robust approach. *Neuroimage*. 2010 Dec;53(4):1181–96.
17. Reuter M, Schmansky NJ, Rosas HD, Fischl B. Within-subject template estimation for unbiased

- longitudinal image analysis. *Neuroimage*. 2012 Jul;61(4):1402–18.
18. Fischl B, Dale AM. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proc Natl Acad Sci*. 2000 Sep;97(20):11050–5.
 19. Fischl B, Liu A, Dale AM. Automated manifold surgery: constructing geometrically accurate and topologically correct models of the human cerebral cortex. *IEEE Trans Med Imaging*. 2001 Jan;20(1):70–80.
 20. Fischl B, Salat DH, Busa E, Albert M, Dieterich M, Haselgrove C, et al. Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. *Neuron*. 2002 Jan;33(3):341–55.
 21. Fischl B, Salat DH, van der Kouwe AJW, Makris N, Ségonne F, Quinn BT, et al. Sequence-independent segmentation of magnetic resonance images. *Neuroimage*. 2004 Jan;23(SUPPL. 1):S69–84.
 22. Fischl B, van der Kouwe A, Destrieux C, Halgren E, Ségonne F, Salat DH, et al. Automatically parcellating the human cerebral cortex. *Cereb Cortex*. 2004 Jan;14(1):11–22.
 23. Fischl B, Sereno MI, Tootell RB, Dale AM. High-resolution intersubject averaging and a coordinate system for the cortical surface. *Hum Brain Mapp*. 1999;8(4):272–84.
 24. Han X, Jovicich J, Salat D, van der Kouwe A, Quinn B, Czanner S, et al. Reliability of MRI-derived measurements of human cerebral cortical thickness: The effects of field strength, scanner upgrade and manufacturer. *Neuroimage*. 2006 Aug;32(1):180–94.
 25. Jovicich J, Czanner S, Greve D, Haley E, van der Kouwe A, Gollub R, et al. Reliability in multi-site structural MRI studies: Effects of gradient non-linearity correction on phantom and human data. *Neuroimage*. 2006 Apr;30(2):436–43.
 26. Iglesias JE, Augustinack JC, Nguyen K, Player CM, Player A, Wright M, et al. A computational atlas of the hippocampal formation using ex vivo , ultra-high resolution MRI. *Neuroimage*. 2015;115–37.
 27. Jack CR, Twomey CK, Zinsmeister AR, Sharbrough FW, Petersen RC, Cascino GD. Anterior temporal lobes and hippocampal formations: normative volumetric measurements from MR images in young adults. *Radiology*. 1989 Aug;172(2):549–54.
 28. Free SL, Bergin PS, Fish DR, Cook MJ, Shorvon SD, Stevens JM. Methods for normalization of hippocampal volumes measured with MR. *AJNR Am J Neuroradiol*. 1995 Apr;16(4):637–43.
 29. Beheshti I, Sone D, Farokhian F, Maikusa N, Matsuda H. Gray matter and white matter abnormalities in temporal lobe epilepsy patients with and without hippocampal sclerosis. *Front Neurol*. 2018;9.
 30. Benarroch EE. The amygdala: Functional organization and involvement in neurologic disorders.

- Neurology. 2015;84(3):313–24.
31. Takaya S, Ikeda A, Mitsueda-Ono T, Matsumoto R, Inouchi M, Namiki C, et al. Temporal Lobe Epilepsy with Amygdala Enlargement: A Morphologic and Functional Study. *J Neuroimaging*. 2014;24(1):54–62.
 32. Coan AC, Morita ME, de Campos BM, Yasuda CL, Cendes F. Amygdala Enlargement in Patients with Mesial Temporal Lobe Epilepsy without Hippocampal Sclerosis. *Front Neurol*. 2013;4:1–5.
 33. Rui-Juan L, Zhen-Rong S, Tao C, Guan H, Hai-tao R, Xiao-Qiu S. Temporal lobe epilepsy with amygdala enlargement : a subtype of temporal lobe epilepsy. *BMC Neurol*. 2014;14:1–8.
 34. Reyes A, Thesen T, Kuzniecky R, Devinsky O, McDonald CR, Jackson GD, et al. Amygdala enlargement: Temporal lobe epilepsy subtype or nonspecific finding? *Epilepsy Res*. 2017;132:34–40.
 35. Beh SMJ, Cook MJ, D’Souza WJ. Isolated amygdala enlargement in temporal lobe epilepsy: A systematic review. *Epilepsy Behav*. 2016;60:33–41.
 36. Minami N, Morino M, Uda T, Komori T, Nakata Y, Arai N, et al. Surgery for amygdala enlargement with mesial temporal lobe epilepsy: Pathological findings and seizure outcome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015;86(8):887–94.
 37. Coan AC, Morita ME, Campos BM, Bergo FPG, Kubota BY, Cendes F. Amygdala enlargement occurs in patients with mesial temporal lobe epilepsy and hippocampal sclerosis with early epilepsy onset. *Epilepsy Behav*. 2013;29(2):390–4.
 38. Adam C. Comment communiquent les lobes temporaux au cours des crises d’origine médio-temporale? *Rev Neurol (Paris)*. 2006;162(8–9):813–8.
 39. Spencer SS, Williamson PD, Spencer DD, Mattson RH. Human Hippocampal Seizure Spread Studied by Depth and Subdural Recording: The Hippocampal Commissure. *Epilepsia*. 1987;28(5):479–89.
 40. Kreilkamp BAK, Weber B, Elkommos SB, Richardson MP, Keller SS. Hippocampal subfield segmentation in temporal lobe epilepsy: Relation to outcomes. *Acta Neurol Scand*. 2018;137(6):598–608.
 41. Costa BS, Santos MC V., Rosa D V., Schutze M, Miranda DM, Romano-Silva MA. Automated evaluation of hippocampal subfields volumes in mesial temporal lobe epilepsy and its relationship to the surgical outcome. *Epilepsy Res*. 2019;154:152–6.