



Resumo da pesquisa para o XXVIII Congresso de Iniciação Científica da UNICAMP - Virtual

Elaboração de manuscrito para publicação dos estudos de morfometria cerebral de pacientes com Epilepsia do Lobo Temporal e controle de crises variável

Aluno: Lucas Lodi Montanher - **RA:** 172832

Orientadora: Dr^a. Clarissa Lin Yasuda

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Este projeto é a conclusão, por assim dizer, de 3 anos consecutivos de trabalho envolvendo o acometimento cerebral, em suas mais variadas nuances, sofrido por pacientes portadores de epilepsia do lobo temporal, sem no entanto obviamente encerrar o conteúdo acerca do assunto, cujas pesquisas nos mostram cada vez mais aspectos da doença e perspectivas de ação com finalidade terapêutica.

Planejamos para o período a compilação dos dados dos estudos anteriores de morfometria baseada em voxel (*"Estudo de morfometria baseada em voxel das alterações cerebrais em pacientes com Epilepsia do Lobo Temporal e controle de crises variável."* PIBIC, 2018) e morfometria de superfície (*"Impacto do controle de crises epilêpticas na atrofia da superfície cortical em pacientes com epilepsia do lobo temporal."* PIBIC, 2019), com o já realizado estudo de espessura cortical, reunindo todas as informações e dados processados até o momento em um único documento. Em conjunto com pesquisadores do laboratório de neuroimagem do HC-Unicamp, ampliamos as análises com outros parâmetros (girificação, complexidade cortical e profundidade dos sulcos), utilizando o mesmo grupo de pacientes e controles, obtendo resultados complementares no processo de entendimento das alterações cerebrais causadas pela ELT, além da espessura cortical já investigada no estudo anterior. Os resultados obtidos foram traduzidos em imagens, de padrão semelhante aos anteriores, que se encontram dispostos mais abaixo em uma tabela comparativa dos métodos e graus de controle de crises. Incluímos no presente relatório os resultados gráficos obtidos no estudo baseado em voxel, fazendo um paralelo que ajuda na compreensão global das alterações observadas na substância branca com as da cinzenta.

INTRODUÇÃO

Epilepsia é um distúrbio neurológico crônico de grande incidência global, associado a múltiplas etiologias e disfunções cerebrais. Dentre as crises focais, a Epilepsia do Lobo Temporal (ELT) é a síndrome epilêptica mais comum em adultos, afetando percentil considerável da população mundial e correspondendo a aproximadamente 40% de todos os casos de epilepsia. Estima-se que aproximadamente 1/3 dos pacientes com epilepsia sejam resistentes às Drogas Anti-Epilêpticas (DAE) e, uma vez que cada indivíduo reage de forma diferente às terapias anti-epilêpticas, há também um espectro de manifestação das crises nos pacientes com ELT, desde as mais raras e sutis até as mais frequentes e refratárias.

Vários estudos dispuseram-se a avaliar e mapear os impactos cerebrais oriundos das epilepsias focais, demonstrando consistentemente alterações cerebrais extensas não necessariamente restritas ao foco epileptogênico. Dentre os métodos de análise, a Morfologia Baseada em Voxel (MBV) e a Morfologia Baseada em Superfície (MBS) compõe importantes ferramentas para quantificação de alterações morfométricas de substância branca e cinzenta cerebrais.

A MBV é uma técnica automatizada de análise de imagens de ressonância magnética desenvolvida para detectar diferenças no volume e na concentração tecidual de diferentes regiões do cérebro utilizando parâmetros estatísticos, muito embora seja limitada, menos precisa devido à resolução limitada da grade do voxel e afetada por efeitos de volume parciais nos limites de estruturas altamente convolutas, como os sulcos profundos do cérebro. A MBS, por sua vez, consiste em procedimento analítico bem validado para fornecer informações complementares no entendimento da neuroanatomia de diversos distúrbios cerebrais¹, reconstruindo e analisando a superfície cortical do cérebro em sua geometria altamente irregular.

As análises de MBS compreendem vários parâmetros que buscam, em conjunto, medir diferentes propriedades da morfologia superficial cerebral. Entre eles, temos a espessura cortical, a girificação, profundidade de sulcos e complexidade cortical (em inglês “*fractal dimension*”). A espessura cortical é, como o próprio nome indica, o tamanho em milímetros da camada cortical cerebral, cuja análise é de grande interesse tanto no desenvolvimento normal quanto em uma grande variedade de distúrbios neurodegenerativos. A profundidade de sulcos é, em geral, utilizada para quantificar a grande quantidade de informações geométricas no córtex cerebral, e definida como o produto do deslocamento e do vetor unitário regular no processo de expansão cortical. O índice de girificação, de forma semelhante, mede o grau de dobramento cortical dentro de um sulco versus aquele fora do sulco, sendo também usada para análise de alterações corticais em processos degenerativos. Por fim, a complexidade cortical usa os métodos de análise fractal para quantificar a complexidade do córtex cerebral humano. A somatória das análises descritas pode auxiliar na melhor compreensão sobre os impactos da ELT sobre o córtex cerebral e dar ensejo tanto a novas investigações futuras quanto ao desenvolvimento de estratégias de combate aos efeitos prejudiciais da epilepsia.

MATERIAIS E MÉTODOS

A. Sujeitos: Foram utilizados 227 controles sem patologia neurológica ou psiquiátrica e 214 pacientes com epilepsia do lobo temporal, que realizaram o exame de ressonância magnética (RM) e cujas imagens se encontram no Banco de Dados do Laboratório de Neuroimagem do HC-Unicamp. Os participantes foram divididos em 4 grupos clínicos previamente estabelecidos por outro pesquisador, que diferiam de acordo com os graus de controle de crises. Os grupos 3 e 4 (grupos “livre de crises”) foram unidos para fins de análises estatísticas, uma vez que ambos correspondem a indivíduos com crises controladas.

Grupo 1 – pacientes com crises refratárias	Grupo 2 – pacientes com padrão de crises flutuante
Grupo 3 – pacientes com controle de crises precoce	Grupo 4 – pacientes com controle de crises tardio

Obs: Os grupos 3 e 4 compreendem os indivíduos livres de crises.

B. Seleção e Processamento das Imagens

As imagens de RM foram retiradas do banco de dados do Laboratório de Neuroimagem (LNI) do HC-UNICAMP, das quais foram adquiridas em um aparelho de 3T, Achieva-Intera PHILIPS®. Posteriormente, processamos as imagens através do software SPM12 (<https://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm12/>) executado no MATLAB com a Toolbox CAT12 (<http://www.neuro.uni-jena.de/cat/>). As imagens passaram por pré-processamento com correção para movimento, segmentação, normalização para um template e suavização.

Área e espessura cortical foram então estimadas com o método de projeção descrito por Dahnke e colaboradores, o qual permite a mensuração da espessura cortical e reconstruções da superfície central

conjuntamente. A superfície central foi então utilizada para calcular os parâmetros de complexidade cortical, girificação e profundidade de sulcos. Resultados individuais foram checados para homogeneidade intra e inter-específica (distância de Mahalanobis) com exclusão de imagens que demonstraram qualidade inferior a mais de 2 desvios-padrões do restante da amostra.

C. Análises Estatísticas

Comparação entre grupos foi realizada por meio de *Full Factorials* individuais para cada parâmetro analisado (espessura cortical, complexidade cortical, girificação e profundidade de sulcos) com idade e sexo como covariáveis. Criamos contrastes específicos para comparação de cada grupo de controle de crises com o mesmo grupo controle identificando áreas específicas de atrofia ou excesso em cada um deles.

Na análise de espessura cortical, usamos um *threshold* mais rigoroso com $p < 0.001$ e correção para FDR com tamanho de cluster variado para cada análise baseado na distribuição dos dados. Devido a maior complexidade das medidas e sutileza das alterações, os demais parâmetros analisados foram submetidos à correção com FDR e $p < 0.05$.

RESULTADOS

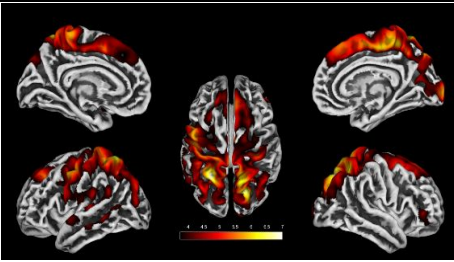
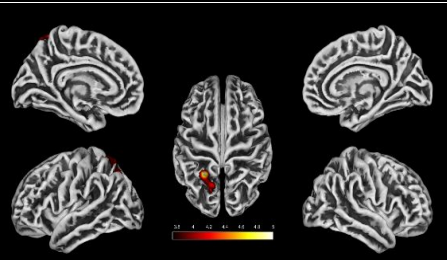
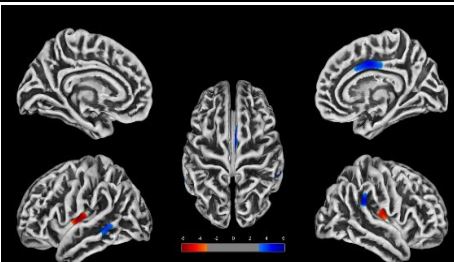
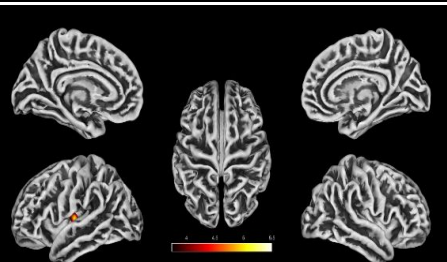
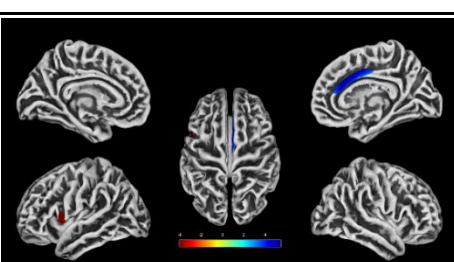
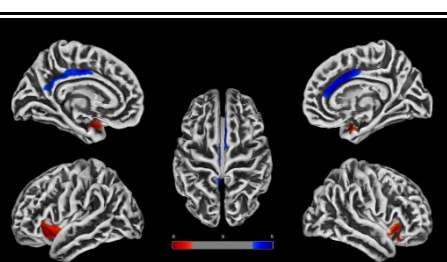
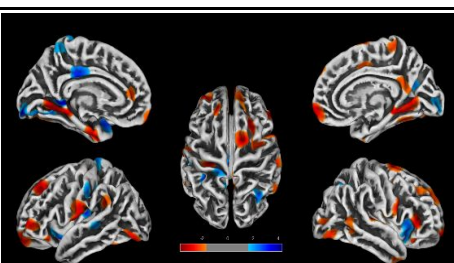
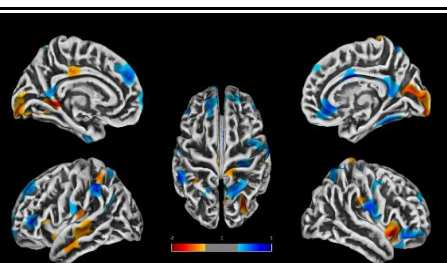
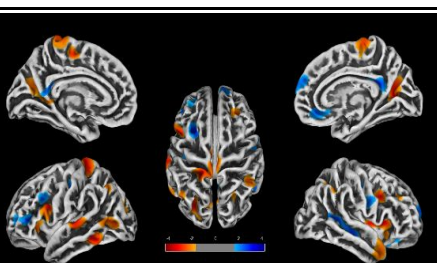
	Refratário	Flutuante	Livre de crises
CT			Sem anormalidades
GI			Sem anormalidades
SD			Sem anormalidades
FD			

Figura 1: tabela comparativa com os resultados de todas as análises realizadas (linhas), em função da gravidade das crises (colunas).
 Legenda: CT (cortical thickness – espessura cortical), GI (gyrification – girificação), SD (sulcal depth – profundidade dos sulcos, FD (fractal dimension – complexidade cortical).

As imagens acima representam graficamente os resultados obtidos através do processamento das imagens de ressonância magnética com a comparação entre os grupos após as análises estatísticas devidas, conforme detalhado nos métodos. As imagens permitem a visualização de diversas regiões cerebrais e incluem um espectro de cores, do vermelho ao azul, que denotam atrofia ou excesso do parâmetro estudado em cada caso.

Nas análises de espessura cortical, girificação e profundidade de sulcos, observou-se diversas áreas de redução e incremento nos grupos refratário e flutuante. Contrariamente, o grupo livre de crises não demonstrou nenhuma anormalidade com significância estatística, não sendo por esse motivo representado graficamente, exceto na análise da complexidade cortical. Neste parâmetro, observamos grupos esparsos de anormalidades em todos os grupos estudados.

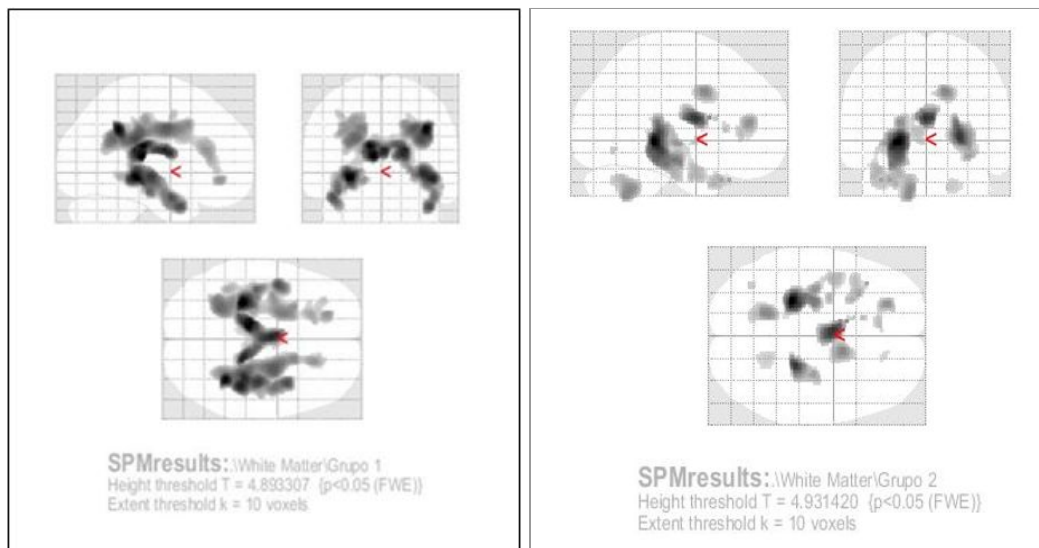
DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Em nossa amostra, observamos áreas extensas de redução de espessura cortical no grupo refratário (grupo 1) principalmente nos lobos parietais, giros do cíngulo e lobos frontais. Também é possível notar pequenas regiões de atrofia na comparação realizadas no grupo 2, com destaque para o córtex parietal bilateralmente. Não foram observadas áreas de anormalidades de espessura cortical no grupo 3.

Com relação à girificação, o grupo refratário apresentou redução desse parâmetro na ínsula bilateralmente e aumento no cíngulo direito. O grupo flutuante demonstrou apenas aumento na ínsula esquerda e o grupo livre de crises não apresentou anormalidades.

A profundidade de sulcos estava reduzida no cíngulo direito do grupo refratário. O grupo flutuante apresentou redução em ambos os cíngulos e aumento em regiões restritas do giro frontal inferior bilateralmente. O grupo livre de crises novamente não mostrou anormalidades.

Ao analisar a complexidade cortical, observamos pequenos clusters de aumento e redução, envolvendo todos os lobos em todos os 3 grupos.



As imagens acima, do estudo baseado em voxel, representam as regiões de atrofia de substância branca nos grupos 1 e 2. Não representamos aqui os resultados dos grupos 3 e 4, uma vez que nele não houve alterações estatisticamente significantes. No estudo de superfície, já realizamos a comparação entre tais resultados e a atrofia cortical, que mostrou padrões semelhantes de atrofia nos grupos estudados. Nossos dados sugerem que pacientes com epilepsia do lobo temporal refratária apresentam mais anormalidades em substância branca e cinzenta que os grupos flutuante e livre de crises. Além disso, tais alterações são frequentemente mais abrangentes e bilaterais.

Em comparação com o estudo VBM, as análises de superfície (MBS) também mostraram alterações mais amplas, especialmente nas regiões occipitoparietais, cíngulo e ínsula. A superfície cortical, como mostra a primeira linha da tabela com as imagens, foi o parâmetro mais afetado e o que mais distingue o

grupo com crises daqueles com epilepsia controlada (livre de crises). Por outro lado, não observamos uma associação direta entre as regiões de substância cinzenta e branca, em alguns casos com atrofia não sendo apenas não adjacente, mas distante um do outro. De toda forma, tais resultados corroboram a hipótese já difundida no meio científico do impacto deletério da epilepsia no cérebro dos indivíduos afetados, mais intensa nos indivíduos fármaco-resistentes.