



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

KAREN FERNANDA ALVES

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DAS MEDICAÇÕES ANTICRISES
NA CONECTIVIDADE FUNCIONAL CEREBRAL DE
PACIENTES COM EPILEPSIA GENERALIZADA IDIOPÁTICA**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Fisiopatologia em clínica médica.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Eduardo Gomes Garcia Betting

**Botucatu
2022**

Karen Fernanda Alves

Avaliação dos efeitos das medicações anticrises na conectividade funcional cerebral de pacientes com epilepsia generalizada idiopática

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em
Fisiopatologia em Clínica Médica

Orientador: Luiz Eduardo Gomes Garcia Betting

Botucatu
2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Alves, Karen Fernanda.

Avaliação dos efeitos das medicações anticrises na conectividade funcional cerebral de pacientes com epilepsia generalizada idiopática / Karen Fernanda Alves.
- Botucatu, 2022

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Luiz Eduardo Gomes Garcia Betting
Capes: 20702019

1. Epilepsia. 2. Eletroencefalografia. 3. Neuroimagem.
4. Medicamentos - Efeito fisiológico.

Palavras-chave: Conectividade funcional;
Eletroencefalografia; Epilepsia; Neuroimagem.

Dedico esta tese aos meus pacientes,
por quem nutro profunda admiração e carinho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu professor, chefe, amigo e orientador Prof, Dr. Luiz Eduardo Gomes Garcia Betting, pelo fôlego, disposição e empenho dispensados ao nosso trabalho. O senhor sempre será meu verdadeiro Mestre.

À minha companheira e melhor amiga Amanda Zorzetto Antonialli, que nunca me permitiu desanimar, e em cuja determinação e energia para perseguir seus ideais, me inspiro e me fortaleço.

Aos meus pais, que são minha fonte inesgotável de admiração e carinho, que eu possa deixá-los orgulhosos.

Aos meus colegas de neurologia, Julia Viana Espinosa de Oliveira, Julio César dos Santos Moreira, Camila Bonfanti Baima, e em especial Thais Oppenheimer Pitanga de Rezende, pelas aventuras e desafios compartilhados, e Laura Cardia Gomes Lopes, que mesmo não diretamente relacionada à minha tese e atuação, me serve de exemplo todos os dias.

Aos meus professores e mestres da Neurologia, Rodrigo Bazan, Fernando Coronetti Gomes da Rocha, Elaine Keiko Fujisao, Sheila Abe Magalhães, Gabriel Pereira Braga, pelos grandes ensinamentos, e em especial ao professor e querido amigo Ronaldo Guimarães Fonseca, que me despertou o fascínio por nossa especialidade, tanto quanto pelo saber geral, o senhor me inspira!

Daria tudo o que sei

Pela metade do que ignoro –

René Descartes

RESUMO

Nas epilepsias generalizadas idiopáticas (EGI) o controle das crises é conseguido com fármacos anticrise (FACs). Os efeitos das medicações na conectividade cerebral de pacientes com EGI ainda estão sob investigação. Nossa hipótese é de que a concentração sérica dos FACs pode influenciar na conectividade cerebral. 25 pacientes com EGI e 25 controles foram selecionados. Todos os sujeitos foram submetidos à RM de 3T. Sequências volumétricas em T1 foram usadas para análise anatômica, e sequências BOLD foram adquiridas para a análise da conectividade funcional. A taxa de FAC foi calculada baseada no número de medicações e nos níveis séricos. O processamento das imagens foi feito por meio da ferramenta Conn e os mapas de correlação foram calculados. Análises estatísticas da conectividade baseada em sementes de toda a substância cinzenta e do tálamo foram realizadas usando modelo linear geral (GLM). Uma análise complementar foi conduzida explorando as correlações entre os mapas funcionais e as taxas de FACs. A análise de correlação entre a taxa de FACs e a conectividade dos pacientes mostrou para a análise da substância cinzenta apenas correlação positiva com a conectividade envolvendo o giro frontal superior porção medial. Para o tálamo direito foram observadas áreas de correlação positiva na região parietal esquerda e giro temporal médio esquerdo. A análise do tálamo esquerdo mostrou áreas de correlação positiva no giro angular esquerdo e no polo temporal esquerdo. 55 conexões entre 11 ROIs foram avaliadas sendo 4 da rede de modo padrão e 7 da rede saliência. A análise de correlação mostrou 2 agrupamentos principais intra-rede de correlações positivas entre a conectividade funcional e a taxa dos FACs relacionados a rede de modo padrão ($F=66,4$ e $p < 0,001$) e a rede saliência ($F = 88,9$ e $p < 0,001$). Um agrupamento de anticorrelação foi observado conectando estas duas redes ($F = 18,6$ e $p < 0,001$). Esses achados podem indicar um padrão de resposta às medicações. No futuro, esse padrão pode ser usado para auxiliar a titulação das FACs, e o alcance da dose ótima.

ABSTRACT

In idiopathic generalized epilepsies (IGE) seizure control is usually achieved with antiepileptic medications (AEDs). Effects of medications in the brain connectivity of patients with IGE is still under investigation. We hypothesized that AEDs concentration may directly influence brain connectivity. 25 patients (10 women, 33 ± 10 years) with IGE and 25 controls were enrolled. All subjects underwent 3T MRI. T1 volumetric sequences were used for anatomical analysis. BOLD fMRI time-series during rest were acquired for functional connectivity. Blood samples were collected, and dosage of medications were performed. AEDs ratios were calculated based on the number of medications and the blood levels. Image processing was conducted using Conn toolbox. Functional time-series were realigned, co-registered with the anatomical images, smoothed and submitted to denoising. Correlations maps were calculated for each subject. Statistical analysis of seed-based connectivity of the whole gray matter and the thalamus was performed using general linear model (GLM). Differences between patients and controls were investigated. A complementary analysis was conducted exploring the correlations between functional maps and AEDs ratio. The correlation analysis between AEDs rate and patient connectivity showed for the gray matter analysis only positive correlation with connectivity involving the superior frontal gyrus medial portion. For the right thalamus, areas of positive correlation were observed in the left parietal region and left middle temporal gyrus. Analysis of the left thalamus showed areas of positive correlation in the left angular gyrus and left temporal pole. 55 connections between 11 ROIs were evaluated, 4 from the default mode network and 7 from the salience network. Correlation analysis showed 2 main intra-network clusters of positive correlations between functional connectivity and AEDs rates related to the default mode network ($F=66.4$ ep < 0.001) and the salience network ($F = 88.9$ ep < 0.001). An anticorrelation cluster was observed connecting these two networks ($F = 18.6$ and $p < 0.001$). These findings may indicate a pattern of response to medications. In the future, this standard can be used to help titrate FACs and reach the optimal dose.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vi
INTRODUÇÃO	11
Quadro clínico.....	11
Neurofisiologia	12
Fisiopatologia das descargas epileptiformes generalizadas	14
Neuroimagem	15
Neuroimagem estrutural e EGI	16
Neuroimagem funcional em repouso (conectividade funcional) e EGI	17
Tratamento das EGIs.....	18
Fármaco-RM.....	20
JUSTIFICATIVA	22
OBJETIVOS	23
Hipótese principal	23
Objetivos gerais	23
Objetivos específicos.....	23

MATERIAL E MÉTODOS.....	24
Seleção dos sujeitos.....	24
Dosagem Sérica	25
Ressonância magnética	25
FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	27
Ressonância magnética.....	27
RESULTADOS.....	29
Dados clínicos e de EEG.....	29
Análise de conectividade: comparação entre pacientes e controles.....	33
Análise de conectividade e correlação com taxa de fármacos anticrise	34
Análise de conectividade entre regiões de interesse envolvendo as redes de modo padrão e saliência.....	35
DISCUSSÃO	37
CONCLUSÕES	41
REFERÊNCIAS.....	42
ANEXOS	48

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Traçado típico mostrando atividade de base normal, seguida de complexos espícula e poliespícula onda lenta generalizados, na frequência delta 13
- Figura 2.** Taxa de fármacos antiepilépticos utilizados por 25 pacientes com epilepsia generalizada idiopática..... 32
- Figura 3.** Resultados da análise estatística entre os mapas de conectividade de pacientes com EGI e controles para toda substância cinzenta. 33
- Figura 4.** Resultados da análise de correlação entre os mapas de conectividade de 3 regiões de interesse e a taxa de medicações antiepilépticas..... 35
- Figura 5.** Mapa de conectividade ROI para ROI (superior) e gráfico 3D (inferior) mostrando a conectividade intra e inter-redes para rede de modo padrão e rede saliência. 36

LISTA DE ABREVIATURAS

BOLD	Sinal Blood Oxygen Level Dependent
EEG	Eletroencefalograma
EGI	Epilepsias generalizadas idiopáticas
EMJ	Epilepsia mioclônica juvenil
FAC	Fármaco anticrise
FLAIR	Imagens de ressonância magnética - Fluid-attenuated inversion recovery
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GLM	Modelo linear geral
RM	Ressonância magnética
ROI	Região de interesse

INTRODUÇÃO

Dentre as doenças neurológicas graves, a epilepsia é a mais comum, ocorrendo em todas as idades e apresentando grande variedade de manifestações, bem como de etiologias. Sua principal manifestação clínica são as crises epiléticas, definidas como a ocorrência transitória de sinais e sintomas decorrentes de atividade neuronal síncrona ou excessiva no cérebro. Operacionalmente epilepsia é definida como: 1) ocorrência de pelo menos duas crises não provocadas (ou reflexas) num intervalo superior a 24 horas; 2) uma crise não provocada e probabilidade de crises subsequentes semelhante ao risco geral de recorrência (pelo menos de 60%) após duas crises não provocadas, ocorrendo nos próximos 10 anos; 3) diagnóstico de uma síndrome epilética (Epilepsia Atual, ILAE, 2018).

Estima-se que a probabilidade de se ter 1 crise epilética durante a vida seja de 10%, porém a maioria das pessoas que apresenta ao menos 1 crise, não desenvolverá epilepsia. A incidência de epilepsia varia de 50,4 a 81,7 por 100.000 habitantes, por ano, sendo mais prevalente nos países em desenvolvimento (Falco-Walter, 2020), podendo-se atribuir esta maior prevalência a fatores como inadequada assistência ao parto, traumas mais frequentes, violência urbana ou infecções.

Quadro clínico

A principal manifestação clínica das epilepsias são as crises epiléticas. A interpretação da semiologia das crises epiléticas junto com o exame de

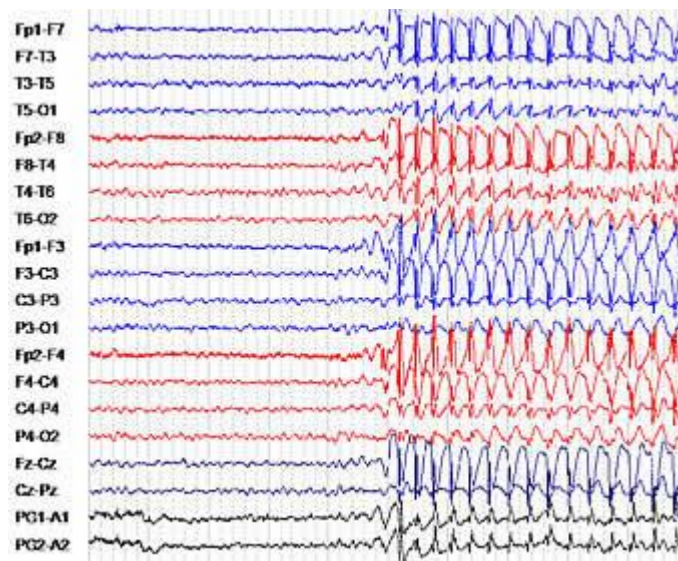
eletroencefalograma (EEG) permite a classificação das epilepsias em diversas síndromes epilépticas (ILAE, 2017). Sob esta ótica, as epilepsias podem ser divididas em epilepsias focais e epilepsias generalizadas, entre as quais: epilepsia mioclônica juvenil (EMJ), a epilepsia ausência juvenil e a epilepsia com crises tônico-clônicas generalizadas.

Neurofisiologia

O estudo neurofisiológico das epilepsias pode ser realizado durante o período interictal e durante o período ictal. O estudo interictal é realizado por meio do EEG de rotina registrando em média 20 minutos da atividade cerebral. Este exame tem grande importância especialmente na confirmação do diagnóstico clínico de epilepsia e na diferenciação sindrômica entre epilepsias focais e generalizadas.

Os achados típicos do EEG nas epilepsias generalizadas idiopáticas (EGIs) são caracterizados por complexos espícula-onda lenta generalizados e síncronos ou complexos poliespícula-onda lenta generalizados. A atividade de fundo por definição é normal. Alguns padrões específicos de descargas estão relacionados com as diferentes síndromes clínicas.

Figura 1. Traçado típico mostrando atividade de base normal, seguida de complexos espícula e poliespícula onda lenta generalizados, na frequência delta



Traçado interictal normal é encontrado em aproximadamente 40% dos pacientes com EGI. EEGs seriados parecem ser fundamentais para confirmar o diagnóstico, pois 3 EEGs identificam 84% dos casos, e quando são feitos de 4 a 8 EEGs, a detecção aumenta para 94%. (Sousa et al., 2005). Ainda, realizar algumas provas de ativação, como privação de sono e fotoestimulação intermitente, pode aumentar a sensibilidade do exame (Betting et al., 2006).

Em alguns casos, há achados eletroencefalográficos atípicos e o paciente pode ser erroneamente diagnosticado com epilepsia focal. Anormalidades focais no EEG de pacientes com EMJ, por exemplo, foram evidenciadas em 19,7 a 29,3% dos casos (Atlaki et al., 1998; Betting et al., 2006).

Fisiopatologia das descargas epileptiformes generalizadas

A etiologia das epilepsias, de modo geral, está relacionada com hiperexcitabilidade neuronal que inclui falha de mecanismos inibitórios e aumento dos mecanismos excitatórios. A fisiopatologia das descargas epileptiformes generalizadas observadas em pacientes com EGI permanece em investigação. As principais teorias para a sua origem envolvem duas estruturas fundamentais: o córtex e o tálamo.

Desde a década de 40 o tálamo é considerado uma das principais regiões envolvidas no mecanismo das EGI. As primeiras hipóteses levavam em conta especialmente o achado eletroencefalográfico. Desta forma, acreditava-se que o tálamo seria responsável pelo aumento da sincronia inter-hemisférica causando as crises (Penfield & Jasper, 1954). Entretanto, especialmente após o surgimento de modelos animais, a interação entre tálamo e córtex passou a ser vista como fundamental na origem das descargas generalizadas (Gloor, 1968). Mais recentemente, estes estudos experimentais geraram fortes evidências de que o córtex é fundamental na gênese das crises. O envolvimento talâmico seria na realidade secundário, porém com importante participação na manutenção das crises (Meeren et al., 2002). A ativação deste circuito ocorre de forma habitual durante o sono (Chang & Lowenstein, 2003). Entretanto, uma falha neste mecanismo faz com que a ativação cortical que normalmente existe durante o sono ocorra durante a vigília. Deste modo, as EGI são ocasionadas por uma falha no mecanismo de manutenção do ciclo sono-vigília modulado pelo circuito tálamo-cortical (Chang & Lowenstein, 2003).

Mais recentemente estuda-se o papel dos hubs de rede cerebral na gênese das crises epiléticas. Chama-se de hubs, regiões do cérebro com alta conectividade com

outras áreas encefálicas, estando situados ao longo das vias de comunicação mais eficientes do cérebro. Essas áreas são cada vez mais reconhecidas como “contribuintes” para as crises epiléticas e os desequilíbrios funcionais relacionados à epilepsia. Já foi estudado que essas áreas são vulneráveis à alterações estruturais relacionadas à epilepsia, e ainda, alguns estudos mostram que eles podem desempenhar um papel importante no prognóstico específico do paciente, bem como nas terapias modificadoras da doença (Royer et al., 2022).

Acredita-se que a sincronização anormal da rede resultante de circuitos excitatórios, pode contribuir para a geração e manutenção das crises epiléticas (Royer et al., 2021)

Neuroimagem

A investigação por neuroimagem de escolha em pacientes com epilepsia é a ressonância magnética (RM) de alta resolução. Este exame é capaz de detectar alterações sutis, entre elas displasias corticais e alterações na porção medial do lobo temporal, que outros métodos de imagem falham em diagnosticar (Li et al., 1995). Além disso, é um exame amplamente utilizado em pesquisa, pois existem várias técnicas de aquisição e processamento de imagens que podem aprimorar a detecção de alterações cerebrais.

Para avaliação adequada de pacientes com epilepsia o protocolo de aquisição da RM deve ser cuidadosamente planejado dependendo da suspeita levantada pelo quadro clínico e eletroencefalográfico. Um protocolo adequado envolve a aquisição das imagens em um aparelho de 1.5 Tesla ou preferencialmente de alto campo com 3

Tesla. O protocolo básico inclui: imagens coronais T1 e T2 perpendiculares ao longo eixo do hipocampo com cortes finos menores do que 3 mm; imagens axiais T1, T2 e FLAIR; aquisição volumétrica 3D para reconstrução multiplanar e aquisição de imagens de difusão.

A análise de um método diagnóstico pode ser realizada de forma qualitativa ou quantitativa. A análise qualitativa é a forma de análise convencional realizada por um especialista com treinamento em epilepsia. A análise quantitativa é mais comumente realizada para pesquisa. Esta modalidade de análise tem como principal objetivo aumentar a sensibilidade de detecção de anormalidades sutis que não são detectadas pela análise visual rotineira. A escolha do método quantitativo para avaliação das epilepsias é bastante importante e deve ser realizada de forma criteriosa. Esta seleção é feita de acordo com a hipótese principal e metodologia do estudo.

Neuroimagem estrutural e EGI

Os métodos usuais de aquisição de imagens, e a inspeção visual simples dos exames de RM não mostram anormalidades no cérebro de pacientes com EGI (ILAE, 1989). Estudos de neuroimagem avançada, incluindo volumetria e análise baseada em voxel foram capazes de demonstrar alterações nesses pacientes, quando comparados a controles.

A volumetria foi aplicada em RM de pacientes com EMJ, e demonstrou-se um aumento do volume em algumas áreas de substância cinzenta desses pacientes, quando comparados a controles sadios (Woermann et al., 1998). Com o objetivo de tentar localizar as áreas potencialmente alteradas nesses pacientes, foram realizados

estudos utilizando imagens baseadas em voxel, conseguindo demonstrar por exemplo, aumento de volume de substância cinzenta nas regiões mesiais dos lobos frontais desses pacientes (Woermann et al. 1999). Achados esses corroborados por um estudo com número maior de pacientes, em que 44 pacientes com EMJ apresentaram aumento de volume de substância cinzenta nas regiões frontobasais (Betting et al., 2006). Esses mesmos pacientes com EMJ que também apresentavam ausências, apresentaram também aumento de volume na região anterior do tálamo.

Neuroimagem funcional em repouso (conectividade funcional) e EGI

A RM funcional é capaz de quantificar alterações hemodinâmicas locais de forma não invasiva, constituindo-se uma técnica importante na localização de regiões cerebrais durante uma condição experimental. Estas alterações hemodinâmicas estão relacionadas ao chamado sinal BOLD (“Blood Oxygen Level Dependent”). O sinal BOLD, na realidade, é um sinal complexo controlado por diversos parâmetros dependentes não só da oxigenação sanguínea, mas também de todo fluxo sanguíneo e volume cerebral (Ogawa et al., 1998). Este sinal reflete um aumento no fluxo sanguíneo cerebral que ocorre para suprir a demanda cerebral de oxigênio durante uma determinada tarefa (Fox et al., 1988).

Durante a RM funcional adquirida em repouso, existem flutuações de baixa frequência do sinal BOLD. As regiões que apresentam estas flutuações são definidas como redes do estado de repouso e provavelmente refletem alguma forma de conectividade entre sistemas neuroanatômicos distintos (Fox & Raichle, 2007). Deste

modo, a RM funcional em repouso auxilia na avaliação da integração entre múltiplos sistemas cerebrais.

O cérebro humano é uma complexa rede neural e seu funcionamento adequado depende de múltiplas regiões interconectadas. Por sua vez, a epilepsia é uma doença que envolve as redes neurais cerebrais em que um circuito hiperexcitado predomina e origina crises epilépticas recorrentes. Uma ferramenta amplamente utilizada para análise das redes neurais em epilepsia é a RM funcional em repouso (Vandel Heuvel et. Al, 2013)

Um dos primeiros estudos feito com EGI avaliou 31 pacientes com EMJ, 17 com epilepsia com crises tônico-clônicas generalizadas e 1 com epilepsia ausência juvenil. Os autores observaram que estes pacientes apresentavam redução da conectividade funcional entre o tálamo medial anterior com o córtex pré-frontal e a região do giro do cíngulo posterior. Além disso, uma correlação positiva entre a duração da epilepsia e as anormalidades foi observada sugerindo consequência da doença (Kim et al., 2014).

Tratamento das EGIs

Entre as principais medicações de escolha para o tratamento das EGIs estão o valproato, clobazam, lamotrigina, topiramato e levetiracetam (Perucca et al., 2021).

Valproato: Medicação de escolha no tratamento das epilepsias generalizadas, exceto para mulheres em idade reprodutiva, pelo efeito teratogênico. Apresenta também boa eficácia no tratamento das epilepsias focais. Os principais efeitos adversos são tremor, queda de cabelo, irregularidades menstruais, ganho de peso e edema. O

valproato não leva a indução enzimática e sua associação pode elevar o nível de outros fármacos anticrises (FACs). O mecanismo de ação do valproato está relacionado aos canais de sódio e a inibição neuronal mediada pelo ácido gama-aminobutírico (GABA)¹ (Brodie & Dichter, 1996).

Lamotrigina: FAC de amplo espectro de ação. Pode ser utilizada para epilepsias focais e generalizadas. Estudos sugerem um melhor perfil de tolerabilidade da lamotrigina em comparação com outros FACs (Marson et al., 2007). Rash cutâneo pode aparecer em 5% dos adultos e em menos que 1% dos casos pode ocorrer a síndrome de Stevens-Johnson (Dichter & Brodie, 1996). A titulação lenta diminui o risco de efeitos adversos mais sérios. O mecanismo de ação da lamotrigina está relacionado com a inibição das correntes de sódio (Cheung et al., 1992). Levetiracetam: Outro fármaco de amplo espectro de ação. Possui eficácia elevada, pouca interação com outros fármacos e efeitos adversos raros e reversíveis, o que o torna uma medicação muito segura. Possui mecanismos de ação diversos, entre eles a diminuição do cálcio intracelular, inversão parcial das reduções nas correntes do GABA e glicina, redução da fusão de vesículas sinápticas à membrana. Seus principais efeitos adversos são sonolência, astenia, fadiga, além de sintomas psiquiátricos como depressão, irritabilidade e ansiedade (Perucca et al., 2011)

Topiramato: Também constitui uma opção para o tratamento das epilepsias generalizadas. Representa boa escolha para pacientes que apresentem obesidade ou migrânea como comorbidades. Sua titulação deve ser realizada de forma muito lenta minimizando efeitos adversos que ocorrem, sobretudo na esfera cognitiva. Existe o risco aumentado de litíase renal. Apresenta múltiplos mecanismos de ação entre eles o

bloqueio dos canais de sódio, a inibição de receptores glutamatérgicos e o aumento da ação inibitória do GABA (Brodie & Dichter, 1996).

Clobazam: é um benzodiazepínico que atua aumentando a ação do GABA por meio da ligação nos receptores GABA_A (Rudolph et al., 1999). A metabolização é hepática por meio de desmetilação (Patsalos, 2005). O clobazam não tem propensão a interagir com outros FACs. Entretanto, seu metabolismo é aumentado por medicações indutoras hepáticas reduzindo suas concentrações séricas. É utilizado na maioria das vezes como tratamento adjuvante junto com outro FAC.

Alterações cognitivas como efeito adverso dos FACs são bem conhecidas. Entretanto seu mecanismo ainda é pouco compreendido. Os efeitos ocasionados pelo uso do topiramato são os mais frequentemente descritos e investigados (Beltramini et al., 2015). Alterações funcionais, sobretudo durante tarefas também foram descritas com a carbamazepina, lamotrigina e com o valproato (Beltramini et al., 2015). Contudo, estudos ainda são bastante escassos e o impacto das medicações na RM funcional em repouso ainda não está estabelecido.

Fármaco-RM

A fármaco-RM é uma modalidade de imagem funcional que permite o mapeamento não-invasivo da função cerebral em resposta às alterações hemodinâmicas provocadas pelo uso de medicamentos. Esta técnica pode mapear o curso de tempo e a resposta neurológica a estímulos farmacológicos específicos, e fornece informações sobre as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas de

medicações destinadas principalmente às doenças neurológicas e psiquiátricas (Wandschneider et al., 2016).

Nas EGIs, um estudo utilizando a RM funcional em repouso mostrou conectividade mais restrita no tálamo e difusa no córtex cerebral comparada com controles. O grau de alteração apresentou relação com as medicações em uso. Pacientes com mais anormalidades tiveram maior chance de recorrência de crises (Wang et al., 2019) A análise de pacientes com EGI controlada e refratária evidenciou também um perfil diferente de conectividade (Chen et. al., 2021) Ambos os grupos apresentaram alteração de conectividade entre o núcleo centro-mediano do tálamo e o córtex cerebral. Entretanto, apenas pacientes refratários mostraram aumento da conectividade entre o núcleo ventral posterior lateral e regiões corticais. Entretanto, estes achados são sutis e não estão completamente estabelecidos na literatura. Alguns estudos não foram capazes de determinar diferenças de conectividade entre pacientes com EGI controlada e refratária (Pegg et.al., 2021)

JUSTIFICATIVA

A EMJ é uma patologia frequente que corresponde a 5 a 11% das epilepsias (Panayiotopoulos, 2002). O início das crises ocorre na adolescência e uma crise nesta faixa etária representa um importante impacto para o indivíduo. Portanto, o estudo da fisiopatologia desta forma de epilepsia é fundamental pelo fato de que a sua melhor caracterização e compreensão podem auxiliar no diagnóstico mais precoce e na escolha de melhor tratamento para esses casos, reduzindo assim sua morbidade e mortalidade.

A observação de um padrão de correlação entre o nível sérico da medicação e a frequência de crises com as redes neurais em repouso de pacientes com EGI teria implicação prática imediata. Este achado pode representar um marcador de neuroimagem para as EGI auxiliando no tratamento e monitorização terapêutica destes pacientes.

OBJETIVOS

Hipótese principal

O uso da medicação anticrise, avaliada por meio da dosagem sérica, influencia de maneira importante a conectividade funcional dos pacientes com epilepsia, traduzida pela diminuição do número de descargas.

Objetivos gerais

O presente estudo teve como objetivo geral investigar a fisiopatologia e a conectividade funcional dos pacientes com epilepsia.

Objetivos específicos

O objetivo específico do estudo foi correlacionar a conectividade funcional com a dosagem sérica das medicações nos pacientes com EGI.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi submetido ao comitê de ética em pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu, sob o parecer 2.931.898 (anexo 1), e após aprovação foi iniciada a seleção de sujeitos. Todos os indivíduos que aceitaram participar do estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

Seleção dos sujeitos

O presente estudo avaliou de forma prospectiva 26 pacientes com EGI e 26 indivíduos controles voluntários selecionados junto à comunidade local sem antecedentes de patologias neurológicas. Os pacientes foram selecionados no Ambulatório de Epilepsia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB-UNESP) por meio da história clínica e do exame neurológico. Indivíduos com suspeita de EGI foram submetidos ao EEG de rotina para confirmação da hipótese diagnóstica. Quando necessário, mais de um exame foi realizado. O EEG interictal foi registrado por 20 minutos com montagem internacional 10-20 incluindo dois eletrodos adicionais (T1 e T2 zigomáticos de Silverman) para melhor cobertura das regiões temporais, além do eletrodo de eletrocardiograma. A leitura do exame foi realizada pelos pesquisadores deste estudo. Depois de confirmado o diagnóstico e observado a presença de descargas interictais o paciente foi submetido à dosagem sérica das medicações em uso, bem como à RM funcional de encéfalo.

Os dados clínicos como tipos, frequência e data das últimas crises foram obtidos por meio da revisão dos prontuários e da história clínica obtida diretamente com o paciente ou com o acompanhante que tenha presenciado pelo menos uma crise típica.

Dosagem Sérica

Foi realizada com o paciente em jejum, no período da manhã, antes de ingerida a primeira dose de sua medicação (Patsalos et al., 2008).

Os níveis sanguíneos das medicações anticrises foram obtidos por meio de imunoenensaio de inibição turbidimétrico melhorado de partículas homogêneas – PETINIA (ácido valpróico, carbamazepina, fenobarbital), cromatografia líquida de alta resolução – HPLC (lamotrigina, oxcarbazepina, clobazam, clonazepam), cromatografia líquida e espectrometria de massa – LC-MS/MS (topiramato) e cromatografia de gases (levetiracetam). Para cada medicação, a taxa medicamentosa foi obtida com base nos valores séricos padronizados de acordo com média de sua faixa de referência previamente estabelecida por meio do Z score. Para pacientes em uso de mais de uma medicação a taxa medicamentosa foi a somatória da taxa de todas as medicações.

Ressonância magnética

Todos os sujeitos foram submetidos ao exame de RM, com aparelho de 3 Tesla, seguindo um protocolo específico para avaliação das epilepsias. Neste protocolo foram incluídos:

- Gradiente eco volumétrica ponderada em T1: MPRAGE (“Magnetization Prepared Rapid Gradient Echo”) com voxels de 0,5 x 0,5 mm, adquiridos no plano sagital com 1 mm de espessura; ângulo de excitação 9°; tempo de repetição (TR), 2300 milissegundos (ms); tempo de eco (TE), 2,47 ms; tempo de inversão (TI), 1100; matriz, 256 x 256 mm e campo de visão (FOV) 256 mm;
- Imagens funcionais em repouso (BOLD): “Echo Planar Imaging” (EPI) com voxels isotrópicos de 3 mm de espessura; ângulo de excitação 90°; TR, 3000; TE, 30; matriz, 64 x 64 mm; FOV 192 mm com o paciente de olhos abertos e previamente instruído.

Deste modo, os principais critérios de inclusão foram: a) Pacientes com história clínica, exame neurológico e EEG interictal de rotina compatíveis com EGI; b) Indivíduos que apresentaram descargas epileptiformes no eletroencefalograma; c) Indivíduos maiores de 15 anos; d) Ausência de lesão estrutural na RM; e) Desejo de participar da presente pesquisa; f) Ausência de contraindicações para realização do exame de RM.

Como critérios de exclusão: a) Desejo de sair do estudo; b) Indivíduos que durante a investigação apresentassem diagnóstico de outros tipos de epilepsia ou crises não epiléticas; c) Indivíduos com dupla patologia (como por exemplo presença de lesão estrutural ou microangiopatia extensa).

FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS

Ressonância magnética

A análise visual qualitativa dos exames de RM foi feita de forma cega por dois investigadores independentes (sendo um o pesquisador principal) com experiência em neuroimagem e epilepsia. O objetivo principal desta análise foi identificar lesões estruturais.

A análise da conectividade funcional foi realizada com o programa CONN (“Functional Connectivity Toolbox”; Whitfield-Gabrieli & Nieto-Castanon, 2012) associado ao pacote SPM12 (www.fil.ion.ucl.ac.uk), executado sobre a plataforma Matlab R2012b (MathWorks; Natick, Estados Unidos da América). As imagens adquiridas foram transformadas para o formato NifTI (“Neuroimaging Informatics Technology Initiative”) utilizando o programa MRICron (Rorden & Brett, 2000). Esta conversão permitiu o manuseio e condução das análises subsequentes.

As imagens estruturais T1 volumétricas foram registradas no espaço padrão do “Montreal Neurological Institute - International Consortium for Brain Mapping” (ICBM; Collins et al., 1995) e as substâncias branca e cinzenta segmentadas com a abordagem conhecida como segmentação unificada utilizando o algoritmo DARTEL (Ashburner, 2007).

O processamento das imagens funcionais consistiu em realinhamento, correção temporal e para artefatos de movimento, normalização (ICBM) e suavização espacial com filtro de 4,0 mm (largura à meia altura; Full Width at Half Maximum). As imagens funcionais de cada sujeito foram registradas com a sequência volumétrica T1. Em

seguida as imagens foram submetidas a um algoritmo para redução de ruído que aplica regressão linear e filtragem para remoção de artefatos fisiológicos e outros efeitos artefatuais que poderiam ser confundidos com o sinal BOLD. Para cada sujeito, a análise de três regiões de interesse (ROI) foi utilizada: substância cinzenta, tálamo direito e tálamo esquerdo. Estas estruturas foram selecionadas com base no mecanismo das EGIs. A extração dos mapas de conectividade foi feita por meio de um modelo linear geral (GLM) para medidas ponderadas de regressão / correlação entre as séries temporais e as áreas de interesse. Neste caso, estes mapas representam o nível de conectividade funcional entre o ROI (média de todos os voxels contidos) e todas as localizações no cérebro (voxel individual).

A análise de grupos foi feita também utilizando o GLM com nível de significância de $p < 0,05$, corrigido para múltiplas comparações (False Discovery Rate). Parâmetros de realinhamento foram introduzidos como covariáveis. Nesta análise de grupos foram feitas comparações estatísticas dos mapas de conectividade. Os mapas de correlação obtidos na análise individual foram utilizados para realização das comparações em grupo. Análises utilizando a taxa de medicações foram realizadas investigando áreas de correlação entre os Z scores e os mapas de conectividade. Finalmente, análise de conectividade de ROI para ROI incluindo a rede de modo padrão e a rede de saliência também foram realizadas com o objetivo de avaliar o comportamento destas redes de forma mais específica.

RESULTADOS

Dados clínicos e de EEG

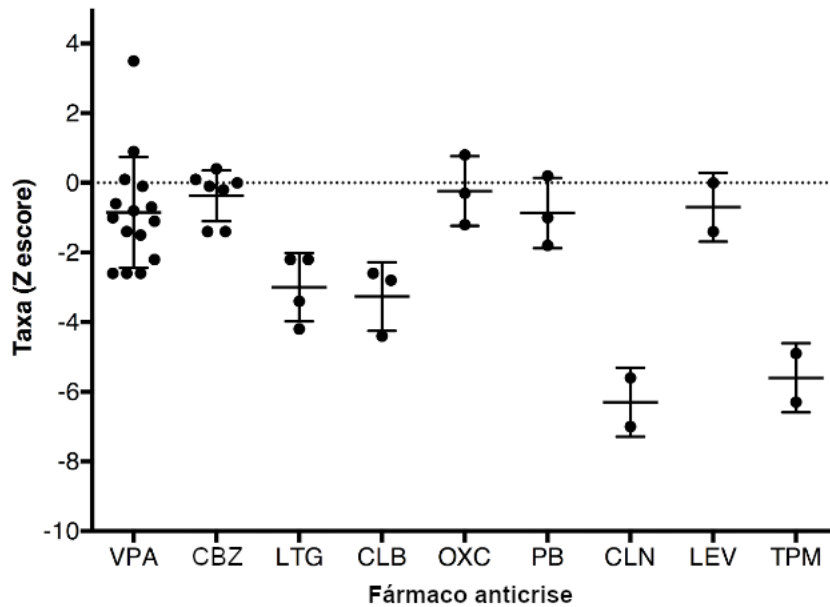
Os pacientes apresentaram uma média de idade de $32,9 \pm 10,5$ anos (mínimo de 16 - máximo 51), sendo dos 25 pacientes, 15 mulheres com média de primeira crise de $11,3 \pm 6,9$ anos (2 -15) e a última crise ocorrendo em média $0,9 \pm 1,3$ anos antes da avaliação (0 - 3). Com relação ao diagnóstico, 18 pacientes apresentando epilepsia mioclônica juvenil, 3 pacientes com epilepsia ausência juvenil, e 4 pacientes epilepsia com crises tônico-clônicas generalizadas.

NOME	IDADE	1ª CRISE	TIPO DE CRISE	COMORBIDADES	FAC EM USO	CONTROLE DE CRISES	RM	NÍVEL SÉRICO
E.A.B.C.	43	6	MIOCLÔNICAS + CTCG	-----	AVP 500MG/DIA CBZ 400MG/DIA	Sim	Normal	AVP 53,8 CBZ 8,1
A.M.R.	32	8	MIOCLÔNICAS + CTCG	TR. DISSOCIATIVO- CONVERSIVO + TR. PERSONALIDADE EMOCIONALMENTE INSTÁVEL	LEV 1G/DIA CLB 20MG/DIA CLN 2MG/DIA AVP 1G/DIA	Sim	Normal	LEV < 1 CLB 130 CLN 8,6 AVP < 3
C.S.C.	29	8	MIOCLÔNICAS + CTCG	DEPRESSÃO + TR. PERSONALIDADE EMOCIONALMENTE INSTÁVEL	OXC 1,8G/DIA	Sim	Normal	OXC 28,1
S.R.B.A.	33	11	MIOCLÔNICAS + CTCG	DEPRESSÃO + MIGRÂNIA SEM AURA	TPM 25MG/DIA LMT 300MG/DIA CLN 2MG/DIA	Sim	Normal	TPM 0,9 LMT 2,8 CLN 16
R.A.V.	31	RN	CTCG	MIGRÂNIA	SEM MEDICAÇÃO	Sim	Normal	-----
V.J.F.	51	15	AUSÊNCIA + MIOCLÔNICAS + CTCG	HÉRNIA DE DISCO LOMBAR	SEM MEDICAÇÃO	Não	Normal	-----
F.B.P.	40	9	CTCG	DMII + RM LIMÍTROFE + TR. AFETIVO PERSISTENTE	CBZ 200MG/DIA	Sim	Normal	CBZ < 0,4
A.C.G.R.J.	27	14	MIOCLÔNICAS + CTCG	-----	LMT 100MG/DIA AVP 2G/DIA	Sim	Normal	AVP 77,9 LMT 4,7
G.S.B.	25	Desconhecido	CTCG	-----	AVP 1,5G/DIA	Sim	Normal	AVP 173,3
V.V.F.	30	8	CTCG	-----	AVP 250MG/DIA	Sim	Normal	AVP 13,1
A.V.	24	15	MIOCLÔNICAS + CTCG	-----	AVP 500MG/DIA CBZ 600MG/DIA	Não	Normal	CBZ 7,6 AVP 47,8

A.A.I.	50	9	CTCG	HAS + HIPOTIREOIDISMO	CBZ 800MG/DIA AVP 1G/DIA	Não	Normal	CBZ 10 AVP 34,1
V.M.B	26	22	CTCG	-----	LMT 50MG/DIA	Sim	Normal	LMT 1,3
I.A.G.	29	12	MIOCLÔNICAS + CTCG	HIDRADENITE SUPURATIVA	CBZ 600MG/DIA PB 50MG/DIA	Sim	Normal	CBZ 8,5 PB 6,4
E.C.O.	48	16	CTCCG	CA DE MAMA	AVP 500MG/DIA	Sim	Normal	AVP < 3
E.P.	46	13	AUSÊNCIA + MIOCLÔNICAS + CTCG	HAS	AVP 3G/DIA CLB 10MG/DIA	Não	Normal	AVP 101,9 CLB 142
M.N.	26	19	MIOCLÔNICAS + CTCG	-----	CBZ 800MG/DIA	Sim	Normal	CBZ 6,6
A.A.C.	22	14	MIOCLÔNICAS + CTCG	-----	TPM 150MG/DIA AVP 500MG/DIA	Sim	Normal	TPM 3,2 AVP 51,6
A.C.M.G.	20	12	AUSÊNCIA + CTCG	DEPRESSÃO	LEV 1G/DIA	Não	Normal	LEV 18,1
M.C.M.	31	7	MIOCLÔNICAS + CTCG	TABAGISMO	PB 100MG/DIA	Não	Normal	PB 15,1
L.F.G.M.M.	20	10	MIOCLÔNICAS + CTCG	TREMOR ESSENCIAL	AVP 500MG/DIA	Sim	Cisto Aracnóide	AVP 32,8
A.A.S.S.	24	Desconhecido	MIOCLÔNICAS + CTCG	-----	SEM MEDICAÇÃO	Sim	Normal	-----
J.E.L.S.	16	16	MIOCLÔNICAS + CTCG	-----	AVP 750MG/DIA	Sim	Normal	AVP 72,9
C.A.S.S.	45	13	CTCG	-----	OXC 1,2G/DIA	Sim	Normal	OXC 19,3
E.C.S.O.	44	15	AUSÊNCIA + CTCG	DEPRESSÃO	OXC 600MG/DIA PB 100MG/DIA	Sim	Normal	OXC 11,9 PB 30
L.R.B.	27	11	CTCG	TABAGISMO	AVP 500MG/DIA CBZ 400MG/DIA	Sim	Normal	< 3 < 0,4

A respeito das medicações em uso, 3 pacientes não estavam utilizando FAC com média de $1,7 \pm 0,9$ (1 - 4) por paciente. As principais medicações utilizadas foram o valproato (15 pacientes), carbamazepina (7), lamotrigina (4), oxcarbazepina (3), fenobarbital (3), clobazam (3), topiramato (2), levetiracetam (2) e clonazepam (2). A média da carga de FACs calculada foi de $-2,3 \pm 3,9$ (-15,2 - 0,8). A figura 1 resume estes achados.

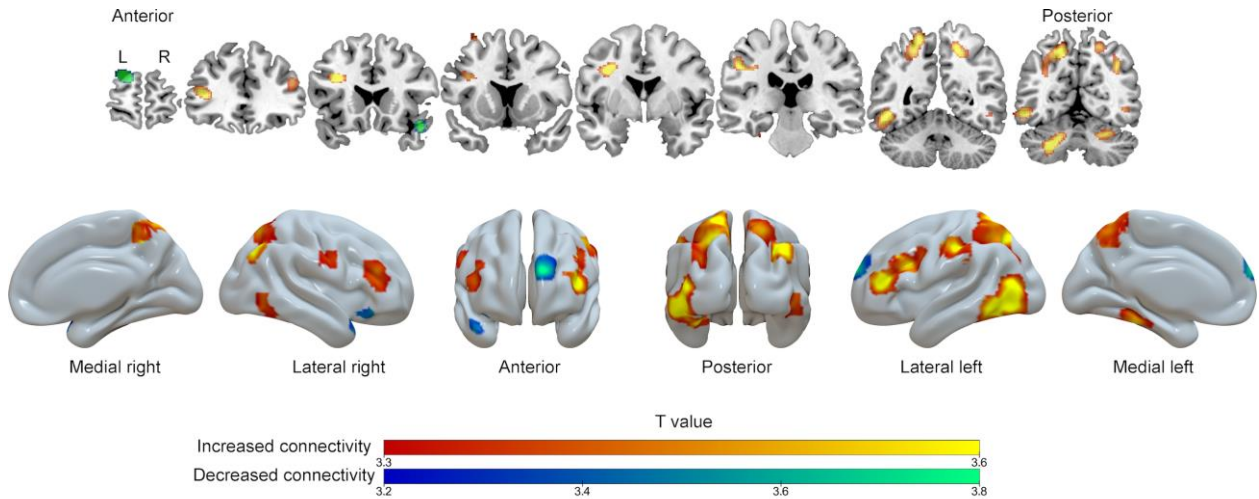
FIGURA 1: Taxa de fármacos anticrise utilizados por 25 pacientes com epilepsia generalizada idiopática. A taxa foi calculada com base na dosagem sérica das medicações utilizando uma transformada Z a partir da média do nível sérico padrão para cada medicação. Deste modo, o índice obtido indica o número de desvios padrão acima ou abaixo da dose sérica média para cada um dos pacientes. Para pacientes com mais de uma medicação os escores obtidos foram somados. As barras representam a média e o desvio padrão. Cada ponto corresponde a um paciente. VPA - valproato; CBZ - carbamazepina; LTG - lamotrigina; CLB - clobazam; OXC - oxcarbazepina; PB - fenobarbital; CLN - clonazepam; LEV - levetiracetam; TPM – topiramato.



Análise de conectividade: comparação entre pacientes e controles

A comparação entre a conectividade da substância cinzenta de pacientes e controles mostrou área de redução da conectividade localizada na região frontal esquerda (194 mm^3 ; $p = 0,039$) e área de aumento da conectividade na região parieto-temporal esquerda (2350 mm^3 ; $p = 0,018$). A análise dos tálamos não mostrou diferenças entre pacientes e controles. A figura 2 representa estas alterações obtidas.

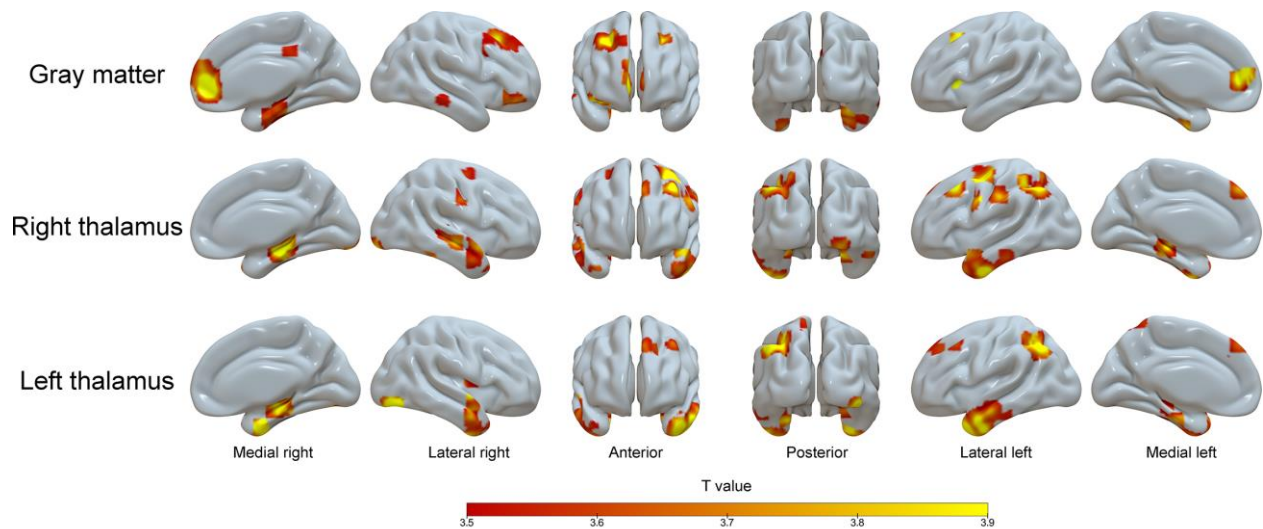
FIGURA 2: Resultados da análise estatística entre os mapas de conectividade de pacientes com EGI e controles para toda substância cinzenta. O resultado estatístico está representado de acordo com a escala abaixo da figura. Sobreposições em um modelo tridimensional do cérebro são demonstradas.



Análise de conectividade e correlação com taxa de fármacos anticrise

A análise de correlação entre a taxa de FACs e a conectividade dos pacientes mostrou para a análise da substância cinzenta apenas correlação positiva com a conectividade principalmente envolvendo o giro frontal superior porção medial (1520 mm³; $p = 0,04$). Para o tálamo direito foram observadas apenas áreas de correlação positiva na região parietal esquerda (1770 mm³; $p = 0,028$) e no giro temporal médio esquerdo (1564 mm³; $p = 0,044$). A análise do tálamo esquerdo também mostrou apenas áreas de correlação positiva no giro angular esquerdo (1630 mm³; $p = 0,039$) e no polo temporal esquerdo (2632 mm³; $p = 0,01$). A figura 3 resume estes achados.

FIGURA 3: Resultados da análise de correlação entre os mapas de conectividade de 3 regiões de interesse e a taxa de medicações antiepilépticas. O resultado estatístico está representado de acordo com a escala abaixo da figura. Sobreposições em um modelo de ressonância (corte axial, direita a direita) e em um modelo tridimensional do cérebro são demonstradas.

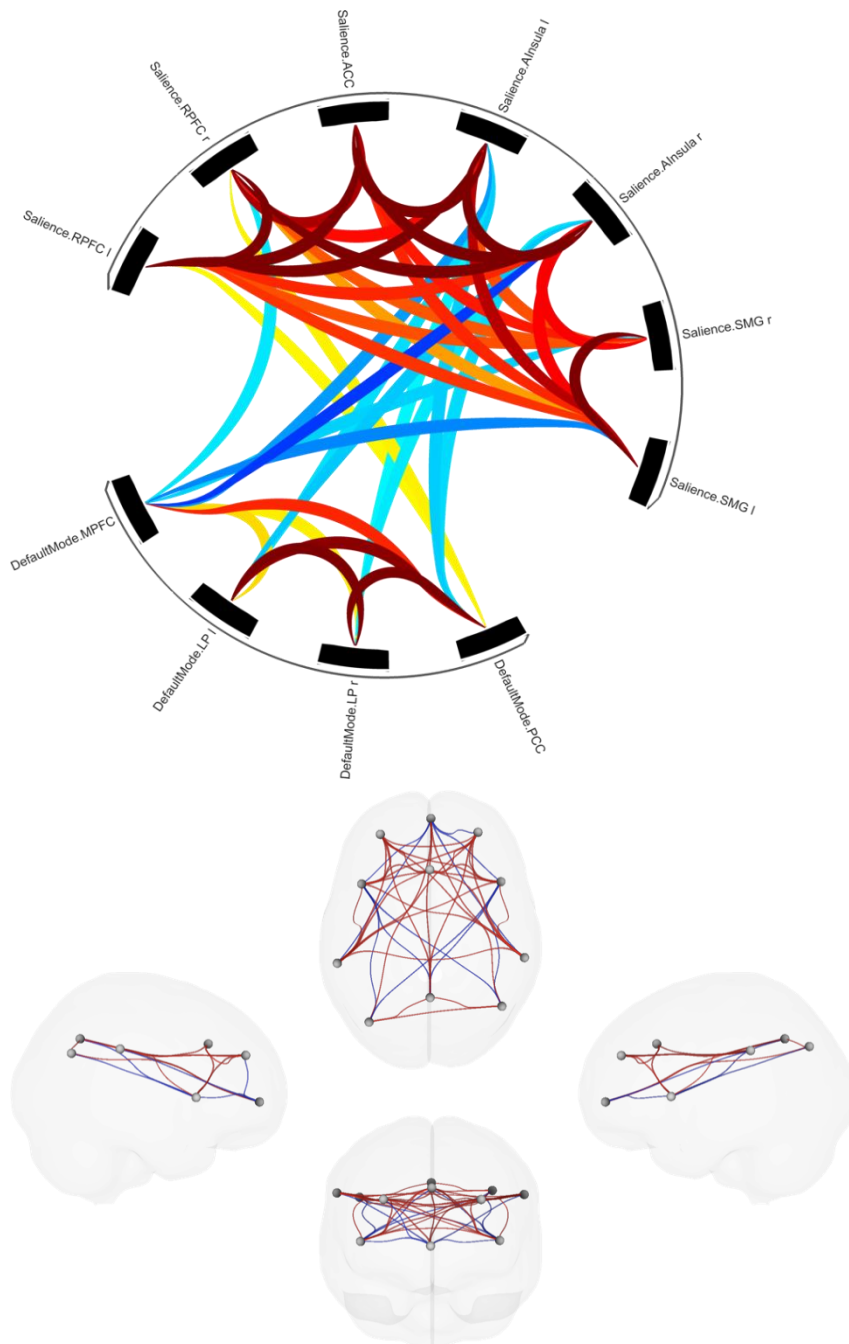


Análise de conectividade entre regiões de interesse envolvendo as redes de modo padrão e saliência

55 conexões entre 11 ROIs foram avaliadas sendo 4 da rede de modo padrão (córtex pré-frontal medial, parietal lateral esquerdo e direito e córtex do cíngulo posterior) e 7 da rede saliência (córtex pré-frontal rostral direito e esquerdo, córtex do cíngulo anterior, insula anterior direita e esquerda e giro supramarginal direito e esquerdo).

A análise de correlação mostrou 2 agrupamentos principais intra-rede de correlações positivas entre a conectividade funcional e a taxa dos FACs relacionados a rede de modo padrão ($F=66,4$ e $p < 0,001$) e a rede saliência ($F = 88,9$ e $p < 0,001$). Um agrupamento de anticorrelação foi observado conectando estas duas redes ($F = 18,6$ e $p < 0,001$).

FIGURA 4: Mapa de conectividade ROI para ROI (superior) e gráfico 3D (inferior) mostrando a conectividade intra e inter-redes para rede de modo padrão e rede saliência. A força da conectividade é proporcional à cor (vermelho – correlacionado, azul anticorrelacionado às doses de FACs). A escala de cor indica a significância estatística.



DISCUSSÃO

Múltiplos estudos prévios foram capazes de identificar que há uma diminuição da conectividade funcional em repouso nos pacientes com diagnóstico de EGI (McGill et al., 2012). Mais recentemente esses achados foram corroborados por uma revisão sistemática, que incluiu 24 estudos publicados entre os anos de 2008 e 2017, todos mostrando diminuição da conectividade funcional dos pacientes quando comparados aos controles (Parsons et al., 2019). Ainda que nas diferentes subsíndromes tenha havido diferenças nas áreas de alteração de conectividade, de modo geral a conectividade apresentou-se diminuída como um todo. No presente estudo, os níveis de FACs foram correlacionados positivamente com a conectividade funcional, incluindo as áreas pré-central, parieto-occipital, parietal superior, temporal inferior e frontal inferior, incluindo regiões que integram a rede de modo padrão. Estes achados podem indicar uma ação positiva das FACs sobre a conectividade funcional de repouso desses pacientes.

Diferente disso, a conectividade talâmica não foi correlacionada com a taxa das medicações. Em indivíduos com EGI a conectividade funcional tálamo-cortical mostrou-se reduzida, e ainda, estudos prévios mostraram que quanto mais reduzida a conectividade, maior o tempo de duração da doença (Kim et al, 2014). Esses achados sugerem que a anormalidade da rede tálamo-cortical seja a base fisiopatológica desse tipo de epilepsia.

Utilizando a metodologia de análise de ROIs, os níveis dos FACs foram principalmente correlacionados positivamente com as redes de repouso. As conexões

entre a rede de modo padrão e saliência foram influenciadas positivamente pelas FACs. No cérebro normal durante o estado de repouso, a rede de modo padrão é ativada e a saliência desativada mantendo uma interação antagônica (Gonen et al., 2020). Nossos achados indicam que os FACs aumentaram a conectividade intra-rede das redes de repouso e também reduziram sua interação. Mesmo que ainda em investigação, assume-se que a anti-correlação entre essas redes é necessária para uma cognição eficiente (Seeley WW. 2019). Portanto, os FACs podem modular as redes cerebrais de pacientes com IGE normalizando sua funcionalidade.

Há poucos estudos correlacionando a conectividade funcional de indivíduos com EGI sem tratamento, tampouco correlacionando a imagem em uso de medicação ou após sua suspensão. Porém, uma avaliação prévia mostrou que alterações na ativação da rede de modo padrão já estão presentes no diagnóstico da doença, visto que não houve diferença na conectividade de indivíduos em tratamento por longos períodos e aqueles ainda sem medicação (Wang et al., 2019), o que nos permite estender os achados deste estudo para pacientes em vigência ou não de tratamento. No presente estudo, a maioria dos pacientes investigados apresentou níveis séricos baixos de FACs. A aderência ao tratamento em epilepsia é considerada baixa na maioria dos estudos realizados (Landmark et al., 2019), em parte pelos efeitos colaterais conhecidos dos FACs. Em pacientes com EGI esta aderência pode ser ainda mais baixa, uma vez que o controle das crises é mais facilmente obtido. Nossos resultados apoiam uma menor aderência de nossos pacientes. Neste sentido, o emprego da fármaco-RM seria de bastante relevância, uma vez que há uma ampla variedade de conexões envolvidas nos diferentes subtipos de epilepsia, e esta técnica poderia

fornecer um marcador de eficácia medicamentosa, bem como o perfil de efeitos colaterais de determinada medicação (Wandschneider et al., 2016).

A principal medicação para o tratamento das EGI é o valproato. Em mulheres em idade fértil, lamotrigina e levetiracetam podem ser utilizados. No presente estudo, vários pacientes estavam usando medicações inadequadas para esta síndrome, entre elas carbamazepina e fenobarbital. Estes pacientes foram encaminhados ao nosso serviço terciário e devido o controle adequado das crises, essas medicações foram mantidas. Alguns estudos mostram que em indivíduos com EGI a aderência ao tratamento pode ser pobre, em parte pelo efeito colateral dos fármacos, sendo os mais comuns ganho de peso e disfunção cognitiva (valproato), mudanças de humor e irritabilidade (levetiracetam), além de rash cutâneo e piora das mioclônias (lamotrigina), e em parte pela benignidade das crises de ausência ou mioclônicas. No grupo dos pacientes estudados vimos preocupação apenas com as crises tônico e clônicas, muitas vezes ignorando os abalos mioclônicos e ausências.

Como limitações desta investigação temos a ausência de utilização de um esquema terapêutico único, o que dificultou a interpretação de nossos resultados. Um determinado efeito funcional não pôde ser atribuído a uma medicação específica na maioria dos pacientes, ainda que os efeitos de alguns FACs sobre a conectividade funcional já tenham sido estudados previamente, durante a realização de tarefas, não sabemos a atuação desses mesmos medicamentos sobre a rede de modo padrão. A EMJ tem sido associada a aumento da conectividade funcional e estrutural entre as redes cognitivas motora central e pré-frontal, provavelmente responsável pelos abalos desencadeados cognitivamente (Vollmar et al., 2011/2012). Estudo prévio mostrou que

a co-ativação anormal presente na síndrome foi atenuada conforme maior a dose do valproato, consistente com a impressão de que o valproato é de fato eficaz na EMJ, em especial no tratamento dos abalos mioclônicos, sem necessariamente alterar a cognição (Wandschneider et. al., 2012). Os efeitos do levetiracetam também já foram estudados na imagem funcional relacionada a realização de tarefas, e parece estar associado a restauração de ativação funcional, traduzindo talvez um efeito benéfico da medicação sobre as redes cognitivas. Alguns estudos com fármaco-RM também foram desenvolvidos com o topiramato, dado seu conhecido efeito sobre a cognição, sendo que todos eles avaliaram sua ação sobre a conectividade funcional relacionada principalmente à linguagem. Ainda que conhecidos esses efeitos sobre a conectividade relacionada a realização de tarefas, não há relatos consistentes sobre os efeitos dessas mesmas medicações sobre a rede de modo padrão.

Outro ponto é o pequeno número de pacientes, entretanto a maioria dos estudos funcionais apresentam número de pacientes incluídos semelhante ao nosso. Ressaltamos ainda que pacientes com comorbidades psiquiátricas como depressão e transtorno de ansiedade generalizada não foram excluídos do estudo, impedindo a diferenciação entre alterações de conectividade atribuídas a EGI ou à comorbidade psiquiátrica (Yan et al., 2019).

Pretendemos realizar nas próximas etapas a análise individual de cada um dos pacientes na tentativa de compreender os efeitos de cada uma das medicações. Além disso, pretendemos ampliar a nossa amostra para aumentar a confiança dos dados obtidos.

CONCLUSÕES

Os níveis séricos dos FACs apresentaram principalmente correlações positivas com a conectividade funcional obtida por meio da RM.

O principal envolvimento observado foi nas regiões cerebrais posteriores.

Este achado pode representar um marcador de neuroimagem para as EGI auxiliando no tratamento e monitorização terapêutica destes pacientes.

REFERÊNCIAS

1. H. Akimoto, H. Kazamatsuri, M. Seino and A.A. Ward, Jr. (eds). Advances in epileptology: the XIIIth Epilepsy International Symposium. New York: Raven Press; 1982.
2. Ashburner J, Friston KJ. Unified segmentation. *NeuroImage* 2005;26:839-851.
3. Ashburner J. A fast diffeomorphic image registration algorithm. *NeuroImage* 2007; 38:95-113.
4. Atakli D, Sözüer D, Atay T, Baybas S, Arpaci B. Misdiagnosis and treatment in juvenile myoclonic epilepsy. *Seizure*. 1998;7(1):63-66.
5. Bellentani FF, Fujisao EK, Braga AS, Yamashita S, Betting LE. Laterality and medication effects in the functional connectivity of mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2015;56(S1):77-78.
6. Beltramini GC, Yasuda CL, Cendes F.. The effects of antiepileptic drugs on cognitive functional magnetic resonance imaging. *Quant Imaging Med Surg* 2015;5:238-246.
7. Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, Boas WVE, et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia* 2010;51(4):676-685.
8. Betting LE, Mory SB, Lopes-Cendes I, Li LM, Guerreiro MM, Guerreiro CA et al. EEG features in idiopathic generalized epilepsy: clues to diagnosis. *Epilepsia* 2006;47(3):523-528.(a)

9. Betting LE, Mory SB, Lopes-Cendes I, Li LM, Guerreiro MM, Guerreiro CA, et al. MRI reveals structural abnormalities in patients with idiopathic generalized epilepsy. *Neurology* 2006;67(5):848-852.(b)
10. Betting LE, Mory SB, Li LM, Lopes-Cendes I, Guerreiro MM, Guerreiro CA, et al. Voxel-based morphometry in patients with idiopathic generalized epilepsies. *NeuroImage* 2006;32(2):498-502.(c)
11. Betting LE, Li LM, Lopes-Cendes I, Guerreiro MM, Guerreiro CA, Cendes F. Correlation between quantitative EEG and MRI in idiopathic generalized epilepsy. *Hum Brain Mapp* 2010;31:1327-1338.
12. Boylan LS, Labovitz DL, Jackson SC, Starner K, Devinsky O. Auras are frequent in idiopathic generalized epilepsy. *Neurology*. 2006 Jul 25;67(2):343-5.
13. Chang BS, Lowenstein DH. Epilepsy *N Engl J Med* 2003;349(13):1257-1266.
14. Collins DL, Holmes CJ, Peters TM, Evans AC. Automatic 3-D model-based neuroanatomical segmentation. *Hum Brain Mapp* 1995;3:190-208.
15. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia* 1981;22:489-501.
16. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia* 1989;30:389-399.

17. Delorme A, Makeig S. EEGLAB: an open source toolbox for analysis of single-trial EEG dynamics including independent component analysis. *J Neurosci Methods*. 2004 Mar 15;134(1):9-21.
18. Engel J, Pedley TA (eds). *Epilepsy: a comprehensive textbook*, 2nd ed. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, 2008.
19. Fox PT, Raichle ME, Mintun MA, Dence C. Nonoxidative glucose consumption during focal neurophysiologic neural activity. *Science* 1988;241:462-464.
20. Fox MD, Raichle ME. Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging. *Nat Rev Neurosci* 2007;8:700-711.
21. Gloor P. Generalized cortico-reticular epilepsies: some considerations on the pathophysiology of generalized bilaterally synchronous spike and wave discharge. *Epilepsia* 1968;9:249-63.
22. Gonen OM, Kwan P, O'Brien TJ, Lui E, Desmond PM. Resting-state functional MRI of the default mode network in epilepsy. *Epilepsy & Behavior* 111 (2020) 107308.
23. Holmes MD, Quiring J, Tucker DM. Evidence that juvenile myoclonic epilepsy is a disorder of frontotemporal corticothalamic networks. *Neuroimage* 2010;49(1):80-93.
24. Kim JH, Im KC, Kim JS, Lee SA, Kang JK. Correlation of interictal spike-wave with thalamic glucose metabolism in juvenile myoclonic epilepsy. *Neuroreport* 2005;16:1151-1155.

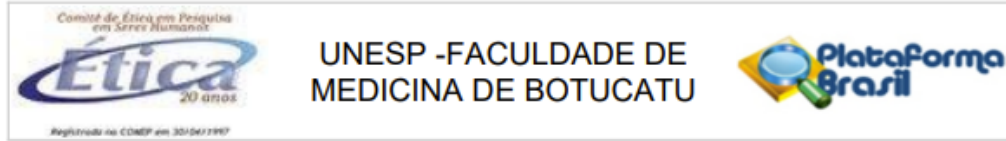
25. Kim JB, Suh SI, Seo WK, Oh K, Koh SB, Kim JH. Altered thalamocortical functional connectivity in idiopathic generalized epilepsy. *Epilepsia* 2014;55(4):592-600.
26. Landmark CJ, Flogstad I, Syvertsen M, Baftiu A, Enger U, Koht J et al.. Treatment and challenges with antiepileptic drugs in patients with juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsy & Behavior* 98 (2019) 110 – 116.
27. Li LM, Fish DR, Sisodiya SM, Shorvon SD, Alsanjari N, Stevens JM. High resolution magnetic resonance imaging in adults with partial or secondary generalised epilepsy attending a tertiary referral unit. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1995;59:384-387.
28. McGill ML, Devinsky O, Kelly C, Milham M, Castellanos FX, Quinn BT et al.. Default mode network abnormalities in idiopathic generalized epilepsy. *Epilepsy & Behavior* 23 (2012) 353 – 359.
29. Meeren H, van Luijtelaar G, Lopes da Silva F, Coenen A. Evolving concepts on the pathophysiology of absence seizures: the cortical focus theory. *Arch Neurol* 2005;62:371-376.
30. Mory SB, Betting LE, Fernandes PT, Lopes-Cendes I, Guerreiro MM, Guerreiro CA, et al. Structural abnormalities of the thalamus in juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsy Behav* 2011.
31. Mumford JA, Nichols TE. Power calculation for group fMRI studies accounting for arbitrary design and temporal autocorrelation. *NeuroImage* 2008;39(1):261-268.

32. Ogawa S, Menon RS, Kim SG, Ugurbil K. On the characteristics of functional magnetic resonance imaging of the brain. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 1998;27:447-474.
33. Panayiotopoulos CP. A clinical guide to epileptic syndromes and their treatment: based on the new ILAE diagnostic scheme. Oxfordshire, UK: Bladon Medical Pub., 2002.
34. Patsalos PN, Berry DJ, Bourgeois BF, Cloyd JC, Glauser TA, Johannessen SI et al. Antiepileptic drugs - best practice guidelines for therapeutic drug monitoring: a position paper by the subcommission on therapeutic drug monitoring, ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia* 2008;49(7):1239-1276.
35. Penfield WG, Jasper HH. *Epilepsy and the Functional Anatomy of the Human Brain*. Boston, Mass: Little Brown & Co, 1954.
36. Rose S, Ebersole JS. Advances in spike localization with EEG dipole modeling. *Clin EEG Neurosci*. 2009;40(4):281-287.
37. Rorden C, Brett M. Stereotaxic display of brain lesions. *Behav Neurol* 2000;12:191-200.
38. Tyvaert L, Chassagnon S, Sadikot A, LeVan P, Dubeau F, Gotman J. Thalamic nuclei activity in idiopathic generalized epilepsy: an EEG-fMRI study. *Neurology* 2009;73:2018-2022.
39. Tzourio-Mazoyer N, Landeau B, Papathanassiou D, Crivello F, Etard O, Delcroix N, et al. Automated anatomical labeling of activations in SPM using a

- macroscopic anatomical parcellation of the MNI MRI single-subject brain. *NeuroImage* 2002;15:273-289.
40. Whitfield-Gabrieli S, Nieto-Castanon A. Conn: a functional connectivity toolbox for correlated and anticorrelated brain networks. *Brain Connect* 2012;2(3):125-141.
41. Woermann FG, Free SL, Koepp MJ, Sisodiya SM, Duncan JS. Abnormal cerebral structure in juvenile myoclonic epilepsy demonstrated with voxel-based analysis of MRI. *Brain* 1999;122:2101-2108.
42. Yan R, Tao S, Liu H, Chen Y, Shi J, Yang Y et al.. Abnormal alterations of regional spontaneous neuronal activity in inferior frontal orbital gyrus and corresponding brain circuit alterations: a resting-state fMRI study in somatic depression. *Frontiers in Psychiatry* 10:267 (2019).
43. Yasuda CL, Betting LE, Cendes F. Voxel-based morphometry and epilepsy. *Expert Rev Neurother* 2010;10:975-984.

ANEXOS

Anexo 1 – Parecer do CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação dos efeitos das medicações antiepilépticas na conectividade funcional cerebral de pacientes com epilepsia generalizada idiopática

Pesquisador: KAREN FERNANDA ALVES

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 98479918.1.0000.5411

Instituição Proponente: Departamento Neurologia, Psicologia e Psiquiatria

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.931.898

Apresentação do Projeto:

O presente estudo irá avaliar de forma prospectiva 20 pacientes com epilepsia generalizada idiopática (EGI) e 20 indivíduos controles voluntários

selecionados junto à comunidade local sem antecedentes de patologias neurológicas. Os pacientes serão selecionados no Ambulatório de Epilepsia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB-UNESP) por meio da história clínica e do exame neurológico. Indivíduos com suspeita de EGI serão submetidos ao EEG de rotina para confirmação da hipótese diagnóstica. Se necessário, mais de um exame poderá ser

realizado. O EEG interictal será registrado por 20 minutos com montagem internacional 10-20 incluindo seis eletrodos adicionais para melhor

cobertura das regiões temporais, além do eletrodo de eletrocardiograma. A leitura do exame será realizada pelos pesquisadores deste projeto.

Depois de confirmado o diagnóstico e observado a presença de descargas interictais o paciente será submetido à dosagem sérica das medicações

em uso, bem como à RM funcional de encéfalo. Os dados clínicos como tipos, frequência e data das últimas crises serão obtidos por meio da revisão dos prontuários e da história clínica obtida diretamente com o paciente ou com acompanhante .

Endereço: Chácara Butignolli , s/n

Bairro: Rubião Junior

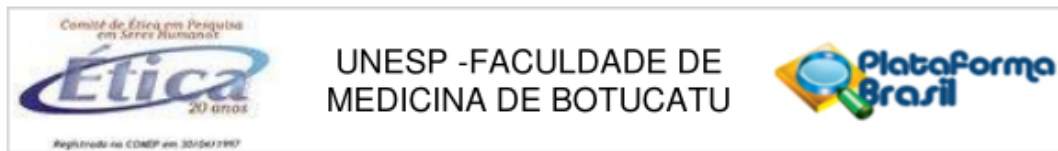
CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1609

E-mail: cep@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 2.931.898

Objetivo da Pesquisa:

Geral- Investigar a fisiopatologia e a conectividade funcional dos pacientes com epilepsia.

Secundário- correlacionar a conectividade funcional com a dosagem sérica das medicações nos pacientes com EGI.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo os pesquisadores os riscos são mínimos, como de formação de hematoma no local da punção venosa, risco de desconforto mecânico durante a realização da ressonância magnética e eletroencefalograma.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa interessante e muito bem delineada quanto à sua metodologia.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos forma apresentados. O TCLE tanto do grupo estudado , como do grupo controle estão com todas as informações pertinentes ,com explicação de todos os Termos Técnicos utilizados.

Recomendações:

Readequar o cronograma, no item recrutamento de 06/08 para 06/10/2018.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após análise, o Colegiado deliberou APROVAÇÃO do projeto de pesquisa apresentado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Conforme deliberação do Colegiado em reunião ordinária do Comitê de Ética em Pesquisa da FMB/UNESP, realizada em 1º de outubro de 2018, o projeto encontra-se APROVADO, sem (com) necessidade de envio à CONEP.

No entanto, informamos que ao final da execução da pesquisa, seja enviado o "Relatório Final de Atividades", na forma de "Notificação", via sistema Plataforma Brasil.

Atenciosamente,

Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P	12/09/2018		Aceito

Endereço: Chácara Butignolli , s/n

Bairro: Rubião Junior

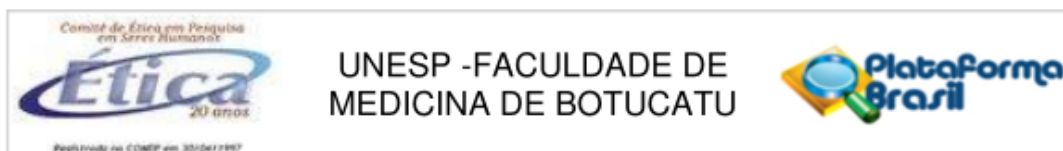
CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1609

E-mail: cep@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 2.931.898

Básicas do Projeto	ETO_1098267.pdf	10:30:18		Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	biorrepositorio.pdf	12/09/2018 10:29:52	KAREN FERNANDA ALVES	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	questionario_atendimento.docx	12/09/2018 10:20:20	KAREN FERNANDA ALVES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_controles_Karen.docx	16/06/2018 12:17:59	KAREN FERNANDA ALVES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Karen.docx	16/06/2018 12:17:39	KAREN FERNANDA ALVES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Karen.pdf	15/06/2018 08:29:47	KAREN FERNANDA ALVES	Aceito
Outros	termo_de_anuencia_institucional.pdf	12/06/2018 12:30:52	KAREN FERNANDA ALVES	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_karen_fernanda_alves.pdf	12/06/2018 12:30:15	KAREN FERNANDA ALVES	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BOTUCATU, 02 de Outubro de 2018

Assinado por:
SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
 (Coordenador(a))

Endereço: Chácara Butignolli, s/n
Bairro: Rubião Junior **CEP:** 18.618-970
UF: SP **Município:** BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1609 **E-mail:** cep@fmb.unesp.br