

FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU
UNIVERSIDADE ESTADUAL JULIO DE MESQUITA FILHO
ALINE MARQUES DA SILVA BRAGA

Análise quantitativa das descargas epileptiformes generalizadas e
da neuroimagem de pacientes com epilepsia generalizada
idiopática

Tese de doutorado

Botucatu

2016

Aline Marques da Silva Braga

Análise quantitativa das descargas epileptiformes generalizadas e da neuroimagem de pacientes com epilepsia generalizada idiopática

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia em Clínica Médica para obtenção do título de doutor

Orientador: Prof. Dr. Luiz Eduardo Gomes Garcia Betting

Botucatu

2016

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

Braga, Aline Marques da Silva.

Análise quantitativa das descargas epileptiformes generalizadas e da neuroimagem de pacientes com epilepsia generalizada idiopática / Aline Marques da Silva Braga. - Botucatu, 2016

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. Neuroimagem. 3. Eletroencefalografia. 4. Morfometria. 5. Pesquisa quantitativa.

Palavras-chave: Análise de formato; Eletroencefalograma quantitativo; Epilepsia generalizada idiopática; Morfometria baseada em voxel; Neuroimagem.

Aos meus queridos filhos Lucas e Amelie

Ao meu esposo Gabriel, pelo seu inestimável apoio

Aos meus pais Ilsa e Edson

Aos meus irmãos Carolina e Fábio

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luiz Eduardo Gomes Garcia Betting pelos conhecimentos a mim transmitidos, pela paciência, dedicação e atenção com que me orientou.

A todos os pacientes que gentilmente aceitaram participar deste estudo.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo apoio. (Processo FAPESP nº: 2011/16452-2)

Resumo

Fundamento: Evidências experimentais de modelos animais de crises de ausência sugerem focalidades no início das descargas generalizadas. Estudos clínicos indicam que pacientes com o diagnóstico de epilepsia generalizada idiopática (EGI) exibem anormalidades focais que envolvem o circuito tálamo-cortical no eletroencefalograma (EEG) e na neuroimagem.

Objetivos: Investigar a presença de características focais nas descargas generalizadas interictais usando análise quantitativa do EEG (EEGq) e avaliar o córtex do giro do cíngulo usando múltiplas abordagens quantitativas de neuroimagem.

Métodos: 75 EEGs de 64 pacientes foram analisados. A primeira espícula generalizada inequívoca foi marcada para cada descarga. Três métodos de análise de fonte geradora da atividade observada foram aplicados: transformação do dipolo em imagem (dipole source imaging-DSI), abordagem LORETA aplicada iterativamente (CLARA), e análise de dipolo equivalente de componentes independentes com análise de agrupamentos. Após processamento do EEG, 32 pacientes (18 mulheres, 32 ± 11) fizeram ressonância magnética. Foram utilizados três métodos para comparar o giro do cíngulo de pacientes e controles: morfometria baseada em voxel (VBM), análise cortical e análise de formato.

Resultados: 753 descargas generalizadas foram analisadas. Usando as três técnicas, o lobo frontal foi a principal fonte das descargas (70%), seguido pelos lobos parietal e occipital (14%) e, por fim, os núcleos da base (12%). As principais fontes anatômicas das descargas generalizadas foram o córtex da porção anterior do giro do cíngulo (36%) e giro frontal medial (23%). A VBM mostrou atrofia de substância cinzenta na porção anterior do giro do cíngulo (972 mm^3) e no istmo (168 mm^3). Análises individuais do córtex do giro do cíngulo mostraram resultados semelhantes. Comparações de superfície mostraram anormalidades principalmente na porção posterior do giro do cíngulo (718.12 mm^2). A análise de formato demonstrou uma predominância de anormalidades nas porções anterior e posterior do giro do cíngulo.

Discussão: A análise de fonte não mostrou uma fonte única comum a todas as descargas generalizadas mas indicou predominância do giro do cíngulo e lobo frontal. Além disso, o estudo sugere a existência de anormalidades estruturais sutis no giro do cíngulo, principalmente nas porções anterior e posterior.

Palavras chave: Epilepsia Generalizada Idiopática, paroxismos epileptiformes generalizados, eletroencefalograma quantitativo, giro do cíngulo, neuroimagem, análise de formato, morfometria baseada em voxel

Abstract

Background: Experimental evidence from animal models of absence seizures suggests a focal source for the initiation of generalized spike-and-wave (GSW) discharges. Clinical studies indicate that patients diagnosed with idiopathic generalized epilepsy (IGE) exhibit focal electroencephalographic and subtle structural abnormalities, which involve the thalamo-cortical circuitry.

Aims: The objectives of the current investigation were to investigate whether interictal generalized discharges exhibit focal characteristics using qEEG analysis and to perform a comprehensive analysis of the cingulate cortex using multiple quantitative structural neuroimaging techniques.

Methods: 75 EEG recordings from 64 patients were analyzed. The first unequivocally confirmed generalized spike was marked for each discharge. Three methods of source imaging analysis were applied: dipole source imaging (DSI), classical LORETA analysis recursively applied (CLARA), and equivalent dipole of independent components with cluster analysis. After EEG analysis, 32 patients (18 women, 30 ± 10 years) and 36 controls (18 women, 32 ± 11 years) were imaged by 3 Tesla magnetic resonance (MRI). We used three models to compare cingulate gyrus of patients and the control group: voxel-based morphometry (VBM), cortical analyses and shape analyses.

Results: A total of 753 GSW discharges were spatiotemporally analyzed. Source analysis using all three techniques revealed that the frontal lobe was the principal source of GSW discharges (70%), followed by the parietal and occipital lobes (14%), and the basal ganglia (12%). The main anatomical sources of the generalized discharges were the anterior cingulate cortex (36%) and the medial frontal gyrus (23%). VBM analyses of cingulate gyrus showed areas of gray matter atrophy, mainly in the anterior cingulate gyrus (972 mm³) and the isthmus (168 mm³). Individual analyses of the cingulate cortex were similar between patients with IGE and controls. Surface-based comparisons revealed abnormalities located mainly in the posterior cingulate cortex (718.12 mm²). Shape analyses demonstrated a predominance of abnormalities in the anterior and posterior portions of cingulate gyrus abnormalities.

Discussion: Source analysis did not reveal a common focal source of generalized discharges. However, there was a predominance of GSW discharges originating from the cingulate gyrus and the frontal lobe. Furthermore, this study suggests that patients with IGE have structural abnormalities in the cingulate gyrus mainly localized at the anterior and posterior portions. This finding is subtle and variable among patients.

KEY WORDS: Idiopathic generalized epilepsy, generalized discharges, quantitative electroencephalography, cingulate cortex, neuroimaging, shape analysis, voxel-based morphometry

Lista de ilustrações

Figura 1 – Representação anatômica dos resultados da análise de localização do dipolo equivalente com transformação em imagem (DSI)	42
Figura 2 – Resultado das análises utilizando CLARA: fonte geradora de descargas para os 75 traçados de EEG em uma imagem de sobreposição (A) e em uma imagem da média (B)	43
Figura 3 – Análise de componentes independentes das 753 descargas	44
Figura 4 – Análise estatística comparando o giro do cíngulo de pacientes e controles usando (A) morfometria baseada em voxel e (B) análise cortical	46
Figura 5 – Análise de superfície cortical do giro do cíngulo	47
Figura 6 – Análise de formato do giro do cíngulo	51
Figura 7 – Análise estatística comparando o giro do cíngulo de pacientes com EMJ e controles usando (A) VBM e (B) análise cortical	52
Figura 8 - Resultados da análise de formato do giro do cíngulo comparando pacientes com EMJ e controles	55

Tabelas

Tabela 1 - Resultados da VBM do giro do cíngulo	45
Tabela 2 - Resultados da análise estatística da superfície cortical do giro do cíngulo mostrando a área, número de vértices com significância estatística e valor de p de acordo com a localização	48
Tabela 3 - Resultados da análise estatística de formato do giro do cíngulo demonstrando a área obtida de células trianguladas, número máximo de pontos adjacentes com significância estatística, número total de pontos com significância estatística e valor máximo de p de acordo com as localizações	50
Tabela 4 - Resultados da VBM comparando pacientes com EMJ e controles	53
Tabela 5 - Resultados da análise de superfície cortical do giro do cíngulo mostrando área, número de vértices com significância estatística, valores máximos de p de acordo com a localização comparando pacientes com EMJ e controles	54
Tabela 6 - Resultados de formato do giro do cíngulo de pacientes com EMJ e controles, mostrando a área obtida das células triangulares, número máximo de pontos adjacentes com significância estatística, número total de pontos com significância estatística e o valor de p máximo de acordo com a localização	56

Lista de abreviaturas

AAL	Anatomical Automatic Labeling
BESA	Brain Electric Source Analysis
CLARA	Classical LORETA recursively applied
CTCG	Crises tônico-clônicas generalizadas
DARTEL	Diffeomorphic Anatomical Registration Through Exponentiated Lie
DICOM	Digital Imaging and Communications in Medicine
DSI	Dipole Source Imaging
EA	Epilepsia de ausência
EAI	Epilepsia de ausência da infância
EAJ	Epilepsia de ausência juvenil
ECTCG	Epilepsia com crises tônico-clônicas generalizadas
EDF	European Data Format
EEG	Eletroencefalograma
EGG	Epilepsias generalizadas genéticas
EGI	Epilepsias generalizadas idiopáticas
EEGq	Eletroencefalograma quantitativo
EMJ	Epilepsia mioclônica juvenil
FAE	Fármacos antiepilépticos
FHWM	Full width at half maximum
ILAE	International League Against Epilepsy
LORETA	Low Resolution Electromagnetic Tomography
NifTI	Neuroimaging Informatics Technology Initiative
NPM	Non parametric mapping
PET	Tomografia por emissão de pósitrons
RM	Ressonância magnética

RMf	Ressonância magnética funcional
SPHARM	Descrição de harmônicos esféricos
SPHARM PDM	Descrição de harmônicos esféricos amostrada em superfícies trianguladas
TC	Tomografia computadorizada
VBM	Morfometria baseada em voxel
VIT	Volume intracraniano total

Sumário

1. Introdução	12
1.1 Neurofisiologia	20
1.2 Análise quantitativa do EEG	23
1.3 Análise quantitativa da RM	26
2. Hipótese	29
3. Objetivos	30
4. Materiais e Métodos	31
4.1 Seleção dos sujeitos	31
4.2 EEG	32
4.2.1 Análise de localização do dipolo equivalente com transformação em imagem (Dipole Source Imaging – DSI)	33
4.2.2 Análise LORETA aplicada iterativamente (CLARA- Classical LORETA recursively applied)	33
4.2.3 Dipolo equivalente de componentes independentes com análise de agrupamentos	34
4.3 Ressonância Magnética	34
4.3.1 Morfometria baseada em voxel	35
4.3.2 Análise cortical	36
4.3.3 Análise de formato	38
5. Resultados	40
5.1 Sujeitos	40
5.2 Características clínicas	40
5.3 Achados eletroencefalográficos	41
5.4 Análise qualitativa da RM	41
5.5 Análise quantitativa do EEG	42

5.5.1	Análise de localização do dipolo equivalente com transformação em imagem (Dipole Source Imaging – DSI)	42
5.5.2	Análise LORETA aplicada iterativamente (CLARA-Classical LORETA recursively applied)	43
5.5.3	Dipolo equivalente de componentes independentes com análise de agrupamentos	44
5.6	Análise quantitativa da RM	45
5.6.1	Morfometria baseada em voxel	45
5.6.2	Análise cortical com Freesurfer	45
5.6.3	Análise de formato	49
5.7	Análise do subgrupo de pacientes com EMJ	52
6.	Discussão	57
7.	Conclusões	64
8.	Referências	65
Anexo 1 – Artigo 1 –	Análise quantitativa do eletroencefalograma	76
Anexo 2 – Artigo 2 –	Análise quantitativa da RM	84
Anexo 3 – Documento de aprovação pelo comitê de ética em pesquisa		100
Apêndice 1 – Termo de consentimento para pacientes		101
Apêndice 2 – Termo de consentimento para controles		103

1. Introdução

A epilepsia é uma doença muito prevalente que produz impacto significativo na qualidade de vida do paciente. (1,2)

As principais manifestações clínicas da epilepsia são as crises epiléticas. A depender de suas características semiológicas e eletroencefalográficas, elas são classificadas em focais ou generalizadas, o que permite a categorização do tipo de epilepsia (síndrome epilética) que o paciente apresenta. As epilepsias são classificadas de acordo com sua etiologia em generalizadas idiopáticas ou genéticas, estruturais ou metabólicas (focais) e de causa desconhecida (criptogênicas). (3)

As epilepsias generalizadas são assim chamadas, pois considerava-se que suas crises seriam causadas por uma hiperexcitabilidade de todo o córtex cerebral, não havendo uma área cortical única, ou foco, responsável pela origem das crises. Em contrapartida, as epilepsias focais apresentam um foco identificável de geração das crises no parênquima cerebral, perceptível pelas características semiológicas de suas crises, eletroencefalograma e neuroimagem.(4,5)

Dentre as epilepsias generalizadas, existem as epilepsias generalizadas idiopáticas (EGI), também chamadas de epilepsias generalizadas genéticas (EGG), sendo este último termo preferido na revisão mais recente de classificação das epilepsias da Liga Internacional contra Epilepsia (*International League Against Epilepsy – ILAE*). (3)

Estudos de epidemiologia apontam para uma variação da distribuição do tipo de epilepsia (generalizada ou focal) de acordo com os critérios usados para definição das crises, das síndromes epiléticas e da localização geográfica onde o estudo foi realizado. Assim sendo, na Europa, foi encontrada uma prevalência de 17-60% de epilepsias generalizadas entre os pacientes com epilepsia, e na Ásia, 4-42%. Estes pacientes apresentam crises semiologicamente classificadas como generalizadas, ou seja, crises tônico-clônicas generalizadas (CTCG), crises mioclônicas e/ou de ausência. Ao eletroencefalograma (EEG), a característica típica são as descargas

epileptiformes generalizadas e a neuroimagem convencional não revela alterações estruturais. (6–8)

Os principais subtipos de EGG são as seguintes síndromes epiléticas: epilepsia mioclônica juvenil (EMJ), epilepsia de ausência da infância (EAI), epilepsia de ausência juvenil (EAJ) e epilepsia com crises tônico-clônicas generalizadas (ECTCG). (1,5)

A EMJ é também conhecida como síndrome de Janz e foi descrita em 1957 por Janz e Christian. É a forma mais comum de EGG correspondendo a até 15% de todas as epilepsias do adulto. Sua incidência foi estimada em 1 para 100.000, enquanto sua prevalência é de 10 a 20 para 100.000 pessoas. A EMJ costuma afetar igualmente os sexos feminino e masculino. (9,10)

A EMJ se caracteriza por início na adolescência ou idade adulta jovem e crises mioclônicas que envolvem principalmente a musculatura da cintura escapular axial e proximal dos membros superiores. As crises ocorrem preferencialmente no período matutino e a consciência não é afetada. Podem ocorrer salvas de crises mioclônicas seguidas de CTCG. Alguns fatores desencadeantes dos sintomas são: privação de sono, uso de bebidas alcoólicas, ansiedade e fotoestimulação. (11,12) Alguns dos pacientes apresentam crises induzidas por praxias ou tarefas que exigem manejo da linguagem. (13)

Embora boa parte dos pacientes apresente crises mioclônicas frequentes, as mioclonias de membros superiores ou tronco superior nem sempre são identificadas como anormais pelos pacientes e seus familiares, o que contribui para o subdiagnóstico da entidade. Muitos procuram atenção médica tardiamente devido ao aparecimento de CTCG, que ocorrem principalmente ao despertar, ou por crises mioclônicas que envolvem o corpo inteiro durante a manhã, ocasionando quedas. (9)

As crises mioclônicas podem ser assimétricas e unilaterais, fazendo com que possam ser confundidas com crises focais motoras, outro fator que concorre para o subdiagnóstico, além de favorecer a introdução de fármacos antiepiléticos (FAE) inadequados. (14,15)

Apenas 3-5% dos pacientes apresentam crises mioclônicas isoladamente. Cerca de 80 a 97% dos pacientes também apresentam CTCG. Elas usualmente se

iniciam meses ou anos após as crises mioclônicas e são, freqüentemente, precedidas por crises ou salvas mioclônicas. Podem acontecer também crises de ausência que se estima ocorrerem em 10 a 18%. Não há alterações cognitivas facilmente reconhecíveis e o curso da doença tende a ser não progressivo. (16,17)

Na maior parte dos casos, o controle das crises é atingido com o manejo correto de fatores precipitantes e monoterapia de FAE, como valproato, lamotrigina ou topiramato. (16) Valproato é a medicação de escolha, e, para casos refratários ou pacientes com contraindicações, lamotrigina é usada com sucesso em muitos casos. Para não respondedores ou em situação de efeitos adversos importantes com o uso de ácido valpróico, lamotrigina ou sua associação, pode ser feito uso de levetiracetam ou topiramato. Clobazam e clonazepam são usados como adjuvantes, quando necessário. (16–19) É importante lembrar que carbamazepina, gabapentina e fenitoína não devem ser usados, pois podem piorar a frequência de crises mioclônicas. (20)

Apesar de a maioria dos pacientes alcançar controle adequado com monoterapia, a recorrência de crises após a suspensão da medicação ocorre em cerca de 80%. Assim, estes pacientes fazem uso de FAE por longos períodos, ficando expostos a eventuais efeitos colaterais que influenciam sua qualidade de vida. As principais causas da manutenção de crises quando prescrita medicação correta são má adesão e exposição a fatores precipitantes. (21)

Crises de ausência no momento do diagnóstico, epilepsia de longa duração, necessidade de politerapia e presença de crises induzidas por praxias são fatores associados a menor taxa de remissão a longo prazo. (21,22)

Em relação aos aspectos genéticos da doença, foram identificados 9 locus associados a EMJ. Genes com padrão mendeliano de hereditariedade foram descritos para 5 deles: *EFHC1* (cromossomo 6p12-p11) que codifica a mioclonina 1 e tem interação com o canal de cálcio voltagem dependente CAV 2.3 tipo R; *GABRA1* (cromossomo 5q34-q35) que codifica a subunidade alfa 1 do receptor GABA A; *CACNB4* (cromossomo 2q22-q23), que codifica a subunidade beta 4 do canal de cálcio voltagem dependente; *GABRD*, gene do receptor da subunidade delta do receptor GABA A, e *CASR* (receptor sensível ao cálcio). O gene *CLCN2* (cromossomo 3q26) e o gene *CPA6* que codifica uma metalocarboxipeptidase (cromossomo 8), também foram relacionados à doença. (23) Três alelos de suscetibilidade foram associados com o

aumento do risco para EMJ: genes *BRD2*, *Cx-36* (conexina 36), e *ME2* (enzima de ácido málico 2). (24)

As pesquisas relacionadas a alterações genéticas na EMJ têm demonstrado que há um padrão genético de hereditariedade complexo que envolve a interação entre vários fatores de risco genéticos e fatores ambientais. (23)

A EAI se inicia entre 5 e 12 anos, mais frequentemente entre 6 e 8 anos, e se caracteriza por crises de ausência típica que envolvem a perda de consciência por, no máximo, 20-30 segundos sem estado pós-ictal e podem ocorrer várias vezes ao dia. As medicações antiepiléticas mais usadas em seu tratamento são valproato e etossuximida. As crianças tratadas primeiramente com etossuximida tiveram maiores taxas de remissão completa que as tratadas com valproato. (25) Quando não tratada corretamente, pode afetar negativamente o aprendizado das crianças acometidas. A remissão de crises acontece aproximadamente 4 anos após o início das crises e ocorre em cerca de 65% dos casos, possibilitando suspensão das FAE. (26)

Os pacientes com EAI que mantiveram crises após 10 anos do início dos sintomas, apresentaram crises mioclônicas, estado de mal epilético de ausência, história familiar de crises generalizadas em parente de primeiro grau e CTCG foram mais propensos a não remissão total do quadro. (21)

Os genes implicados na epileptogenicidade das crises de ausência incluem os genes codificadores dos receptores gama aminobutíricos A e B (*GABRG2*, *GABRA1*, *GABRB3*, *GABA(B1)*, *GABA(B2)*), dos canais de cálcio (*CACNA1 A*, *CACNA1 H*, *CACNA1 G*, *CACNA1I* e *CACNG3*), canais de sódio (*SCN1B*, *SCN1A*), e canais de cloro (*CLCN2*). O gene *CACNA1 H* parece aumentar a suscetibilidade em chineses. Em alguns casos de epilepsia de ausência (EA) de início precoce, foram descritas mutações do gene *SLC2A1*, mostrando que defeitos na GLUT1 (transportador de glicose) podem ser causa de EGI. (26)

A EAJ em geral se inicia entre os 10 e 17 anos e sua manifestação principal são as crises de ausência, que costumam ter frequência menor que na EAI. Tem uma distribuição igual entre os sexos. Pode haver CTCG ao despertar e em 15% dos casos há crises mioclônicas. Seu tratamento é feito preferencialmente com etossuximida, valproato ou lamotrigina. (27) Em comparação com a EAI, há mais casos de

farmacorresistência. Sua prevalência é bem menor que a da EMJ e por este motivo, sua incidência e história natural são menos conhecidas (28). Evoluem para EMJ mais frequentemente que pacientes com EAI. Um terço desses pacientes alcança controle total e pode suspender os FAE. (29)

Na ECTCG, os pacientes podem ter início das crises em idade mais tardia que nos outros subtipos de EGI, entre 11 e 23 anos, e sua prevalência é menor. O único tipo de crise presente é a crise tônico-clônica generalizada, podendo ser precipitada por ingestão de álcool ou privação de sono. Seu tratamento é feito com valproato ou fenobarbital. Metade desses pacientes apresenta não mais que 11 crises no total. (5,27,30)

Uma das ferramentas auxiliares na classificação das epilepsias é o EEG. Na EMJ, o traçado eletroencefalográfico tipicamente mostra salvas de poliespículas irregulares de frequência 4 a 6 Hz, bilaterais e síncronas ou complexos espícula-onda generalizados na mesma faixa de frequência. Na EAI, o achado típico são as descargas espícula-onda generalizadas e regulares na frequência de 3 Hz. Na EAJ, são encontrados complexos espícula-onda generalizados 3,5 a 4,5 Hz e na ECTCG, complexos espícula-onda generalizados com frequência maior que 3 Hz e atividade de base normal. (30)

Embora de grande auxílio diagnóstico, a sensibilidade do EEG não é muito alta. Traçado normal é encontrado no EEG inicial de 41% dos pacientes com EMJ. EEGs seriados aumentam a sensibilidade do método, sendo que após a realização de três exames, a sensibilidade aumenta para 84%. Quando são feitos de 4 a 8 EEGs, a detecção de descargas epileptiformes aumenta para 94%. Em parte dos casos, há achados eletroencefalográficos focais e o paciente é erroneamente diagnosticado como tendo epilepsia focal. (31)

O fato de haver anormalidades focais no EEG desses pacientes e a maior amplitude dos paroxismos epileptiformes nas regiões fronto-centrais foram alguns dos fatores que levaram a comunidade científica a questionar a teoria de que as epilepsias generalizadas não apresentariam um foco cortical de geração de crises e que estas seriam originadas a partir da hiperexcitabilidade de todo o córtex cerebral. (32)

A primeira teoria sobre a fisiopatologia das descargas epileptiformes generalizadas foi a teoria centrencefálica, por Penfield e Jasper. (33) Ela foi postulada a

partir da observação do início e término abruptos da atividade epileptiforme com grande sincronização inter-hemisférica. Como não havia evidência de início focal, foi proposta a origem das crises em um marcapasso subcortical profundo na linha média do tálamo com projeções corticais difusas. (34) Um achado que reforçou esta hipótese foi a descoberta de que a estimulação a 3 Hz do tálamo intralaminar podia ocasionalmente produzir padrão eletroencefalográfico espícula-onda síncrono bilateral em gatos levemente anestesiados. (35)

Mais adiante, Bennet demonstrou que em pacientes com EA, a injeção do fármaco convulsivante pentilenotetrazol em artéria carótida unilateral, produzia atividade epileptiforme generalizada. Em contraste, a injeção da mesma substância na artéria vertebral, que supre o diencefalo, não provocou a mesma resposta. (36) Outra investigação mostrou que a injeção intravertebral de pentilenotetrazol atenuou descargas generalizadas de pacientes com epilepsia. Gloor, então, propôs o conceito de epilepsias corticoreticulares. Para este autor, o início das descargas generalizadas estaria ligado aos mecanismos talamocorticais que geram fusos. Oscilações rítmicas formadas no tálamo seriam transformadas em descargas espícula-onda generalizadas quando todo o córtex cerebral se tornasse hiperexcitável. (37)

Traçados com eletrodos profundos mostraram que descargas generalizadas poderiam iniciar de forma focal no córtex, na vizinhança de uma lesão, particularmente de lobo frontal.(38) A partir dessa observação, postulou-se a teoria cortical, em que se sugeriu a existência de uma rápida propagação corticocortical da atividade epileptiforme generalizada a partir de um foco na região frontal. A interação com o tálamo seria secundária, tendo seu papel na propagação da atividade epileptiforme para o restante do córtex, contribuindo para a manutenção da crise epiléptica.

Em 1991, a teoria do relógio talâmico foi proposta após observações de que o tálamo seria imprescindível para a existência das crises. (39)

Já em 2002, estudo experimental com ratos realizado por Meeren e colaboradores mostrou foco consistente na região perioral do córtex somatossensitivo na EA. Deste foco, a atividade epileptiforme se generaliza rapidamente pelo córtex. Este resultado levou à criação da teoria do foco cortical. (32)

Na última década, estudos investigando diversos aspectos das EGI mostraram evidências que reforçam as teorias corticais. (40–43)

Em termos de semiologia das crises apresentadas, estes estudos apontaram a existência de fenômenos descritos como auras em pacientes com EGI numa prevalência de 31 a 70%. Aura é um termo utilizado para descrever uma crise focal sem alteração de consciência que ocorre antes de uma crise focal com alteração de consciência ou de uma crise generalizada e ocorre tipicamente no contexto de epilepsias focais. Nas EGI, ainda não se sabe ao certo seu significado. Elas podem indicar focalidade ou representar simplesmente sintomas prodrômicos diferentes do habitualmente descrito na literatura. (44,45)

Aguglia e colaboradores investigaram 16 pacientes que apresentavam crises versivas e/ou crises giratórias. Estas crises rotineiramente ocorrem em epilepsias focais porém estes pacientes apresentavam características generalizadas ao EEG. Além disso, alguns deles também apresentavam outros tipos de crises generalizadas, como crises de ausência ou mioclônias. (46)

Trabalhos com vídeo-EEG relataram assimetria nos movimentos tônico-clônicos e mioclônicos das crises generalizadas de parte dos pacientes com EGI. (47–51)

Já entre os estudos que incluíram os traçados eletroencefalográficos, foi verificada uma prevalência que variou de 18 a 56% de presença de paroxismos epileptiformes focais, sem evidências de crises de início focal ao EEG e vídeo-EEG. Os achados eletroencefalográficos focais mais frequentes foram ondas agudas focais, complexos onda aguda-onda lenta focais e atividade lenta focal paroxística. (52–56)

Vários trabalhos com a neuroimagem de pacientes com EGI foram realizados e mostraram resultados diversos. Quando analisada a volumetria, foram encontrados volume talâmico reduzido em crianças com EMJ e em pacientes com ECTCG. (57,58) Porém, houve um trabalho que não mostrou diferenças entre o volume talâmico de pacientes com EGI e controles. (59)

O volume do tálamo anterior estava aumentado em relação aos controles em pacientes com EA e EMJ com crises de ausência, porém sem diferenças em relação a grupo controle em pacientes com EMJ sem crises de ausência. (60) Foi também

encontrado aumento do volume de lobo frontal esquerdo em 19 pacientes com EMJ (61) bem como redução do volume do giro frontal orbital esquerdo e dos lobos temporais em pacientes com EAI. (62)

No que diz respeito à técnica de análise quantitativa da ressonância magnética (RM) morfometria baseada em voxel (VBM, do inglês *voxel-based morphometry*), a maior parte dos achados revelaram redução da concentração de substância cinzenta no tálamo e aumento nas regiões frontais, especialmente regiões mesiofrontais e frontobasais. A maior parte destes estudos investigou EMJ e EA. (63–69)

Os pesquisadores que investigaram pacientes com EGI por espectroscopia encontraram em sua maioria redução do n-acetil-aspartato no tálamo e lobos frontais. (70–78)

A ressonância magnética funcional (RMf) mostrou ativação talâmica durante as descargas espícula-onda lenta generalizadas. Alguns demonstraram ativação frontal, parietal, temporal e insular. Dois trabalhos mostraram que ocorreu ativação cortical antes do início da crise. (79–88)

Ao contrário do que se pensava anteriormente, pesquisas indicaram que a cognição e o comportamento dos pacientes com EGI também diferem da população geral (21) no que se refere a algumas características específicas, reforçando a ideia de que existem alterações cerebrais focais que determinam não apenas a existência de crises epiléticas, mas também problemas funcionais.

Em termos neuropsicológicos, a síndrome mais estudada foi a EMJ, provavelmente por se tratar do subtipo mais frequente de EGI. Resultados de pesquisas mostraram déficits funcionais envolvendo lobos frontais, incluindo memória de trabalho visual, memória prospectiva e funções executivas. Quando a síndrome investigada foi a EA, dois trabalhos mostraram resultados conflitantes. Em um deles, não houve diferença de função executiva ou memória de linguagem. Em outro, a cognição geral se mostrou pior em pacientes quando comparado com controles. Este último analisou a competência social e funções neurocognitivas de crianças com epilepsia e mostrou que elas tem mais dificuldade de interpretar as pistas de interação social e mais alterações comportamentais mesmo com epilepsia de início recente (fator que aponta para

alteração funcional anterior ao início das crises). Embora a avaliação da cognição estivesse dentro da faixa de normalidade nos testes considerados, seus resultados foram significativamente piores que os controles e pontuaram próximo ao limite inferior. A atenção, memória, funções executivas e habilidades motoras finas foram os mais alterados. (21,89–92)

Investigadores observaram que mesmo jovens com crises bem controladas tiveram desfechos piores em relação a escolaridade e atividades laborais se comparados a população saudável ou até mesmo com outros grupos de doenças, como, por exemplo, pacientes com artrite reumatoide juvenil. (21)

Considerando as anormalidades focais evidenciadas nestes estudos, a ILAE, em sua última revisão sobre terminologia da classificação das epilepsias, define a epilepsia generalizada como iniciando em algum ponto entre estruturas corticais e/ou subcorticais rapidamente envolvendo todo o córtex de ambos os hemisférios. (3)

Pode-se depreender do explanado até aqui que as alterações focais e sinais clínicos de envolvimento focal resultantes dos estudos realizados são diferentes entre si, envolvendo diferentes regiões do cérebro. Apesar disso, a maior parte deles, aponta para o envolvimento dos lobos frontais e temporais. Cabe a comunidade científica a realização de mais estudos a fim de detalhar as alterações focais encontradas e desvendar os mecanismos fisiopatológicos deste grupo de doenças, lançando mão das novas tecnologias. Neste contexto, as técnicas de análise quantitativa aplicáveis ao EEG e às imagens de RM podem ser de grande valor.

1.1 Neurofisiologia

Há mais de 60 anos, o EEG é o exame realizado de maneira rotineira para o diagnóstico e seguimento dos pacientes com epilepsia. É também usado em menor escala na investigação de encefalopatias agudas ou crônicas e síndromes demenciais, entre outras patologias. (93,94)

As vantagens desta ferramenta diagnóstica são sua relativa simplicidade técnica e baixo custo aliados a alta especificidade quando comparada a outros métodos complementares de diagnóstico.

O estudo interictal é realizado por meio da colocação de eletrodos no escalpo de acordo com o sistema 10-20, registrando em média 20 minutos da atividade cerebral. O EEG tem grande importância na confirmação do diagnóstico clínico de epilepsia e na diferenciação entre as epilepsias focais e generalizadas. (95)

O EEG é a representação gráfica das correntes elétricas geradas pela atividade cerebral cortical que são captadas no escalpo e se apresenta como um gráfico de amplitude (voltagem, aferido em microvolts) x tempo (em milissegundos). (95)

A atividade elétrica captada é o produto da atividade elétrica extracelular de um grupo de neurônios corticais (potenciais de campo) secundários aos potenciais de membrana dos neurônios. Potenciais de inibição pós sinápticos e potenciais excitatórios pós sinápticos produzem potenciais de campo na zona dendrítica e potenciais de polarização oposta na zona dos corpos celulares, produzindo um dipolo (sistema constituído de duas cargas de polaridade diferente, ou seja, sinais contrários separadas por determinada distância). Aqui, também serão chamadas de dipolos as áreas corticais que os geram.

Os principais geradores elétricos (ou fontes elétricas) da atividade cerebral são os neurônios piramidais, posicionados em forma de paliçada predominantemente nas camadas III e V do córtex cerebral, de forma paralela a superfície do escalpo. O campo elétrico produzido por estes neurônios funciona como um dipolo orientado em ângulo reto em relação à superfície cortical, chamado dipolo radial, o tipo mais frequente de dipolo registrado ao EEG. Existem ainda o dipolo horizontal (ou tangencial), que está disposto de maneira paralela a superfície e o dipolo diagonal. (96)

Dessa forma, o registro do campo elétrico no escalpo mostra as ondas de atividade cerebral. Nesse contexto, existe uma atividade registrada de forma contínua no EEG, que é a chamada atividade de base do EEG. Em geral, a atividade de base do adulto sadio em repouso varia em amplitude entre 10 e 100 μV e em diferentes faixas de frequência, como o ritmo alfa de 8-12 Hz nas regiões posteriores, e ritmo beta acima de 13 Hz nas regiões anteriores. (97)

As principais anormalidades encontradas ao EEG de pacientes com epilepsia são decorrentes das mudanças da atividade de base do cérebro devidas a despolarizações hypersincrônicas de um grupo de neurônios anormais envolvido no

circuito elétrico hiperexcitável que caracteriza a doença. Graficamente, elas são representadas pelos transientes epileptiformes, formados por ondas cerebrais que se destacam por sua morfologia diferente da atividade elétrica cerebral de base, com aspecto mais pontiagudo, amplitude mais elevada e composição variável em relação à linha de base do EEG, com componentes negativos (deflexão acima da linha de base) e positivos (deflexão abaixo da linha de base). São formados por espículas (ou pontas) ou ondas agudas. As espículas tem duração típica de 20 a 70 ms e as ondas agudas de 70 a 200 ms. (98)

Os transientes podem ocorrer de forma isolada, em sequencia ou em combinação com ondas lentas, sendo chamadas, nestas últimas situações, de poliespículas e complexos espícula-onda lenta ou complexos onda aguda-onda lenta. (99)

Experimentalmente, as espículas registradas ao EEG podem surgir em neurônios próximos a focos gerados pela penicilina pela produção de potencial de despolarização paroxística (PDP). Este é seguido por período de hiperpolarização, ou seja, de inibição de atividade, registrado no EEG de escalpo como as ondas lentas. O EEG de superfície pode captar como espículas os PDP originados em áreas corticais mais ou menos extensas. Os neurônios dessas áreas sofrem intensa modificação com mudança de potenciais de membrana de -85mV a +30mV. Pode-se verificar que existem mecanismos ligados a dois períodos da constituição do evento epiléptico: um de início e um de propagação. No início, há potenciais de ação repetitivos, de despolarização e hipsincronização. Essa atividade gerada na despolarização sustentada e ativação excessivamente sincrônica é detectada como espículas. Como o pólo negativo do dipolo geralmente aponta para a superfície do córtex, a detecção é uma espícula negativa. Caso esse ciclo se repita, trens de espículas ocorrem até o ponto em que haja inibição neuronal e supressão. A hiperpolarização é um mecanismo inibidor, caso ela seja vencida, pode haver recrutamento de neurônios circunvizinhos com propagação da alteração epileptiforme/crise. (100)

Os paroxismos epileptiformes são os elementos que permitem confirmar o diagnóstico de epilepsia se dentro de um contexto clínico e classificar a doença a depender da projeção da atividade epileptiforme. (99)

Nas epilepsias generalizadas, os paroxismos epileptiformes interictais e ictais têm projeção difusa, envolvendo de forma mais ou menos simétrica e sincrônica todos os eletrodos do escalpo. Todavia, como já assinalado anteriormente, sabe-se que esta sincronia não é perfeita, assim como é comum se observar maior amplitude dos paroxismos em determinadas áreas. Este predomínio é mais comumente visto na região frontal ou fronto-central. (98)

Os tipos de atividade epileptiforme encontrados em cada subsíndrome de EGI já foram descritos anteriormente. É importante salientar que a detecção de transientes epileptiformes está em relação direta com a extensão da área epileptogênica, o tempo de recorrência das crises, o uso de FAE e o tipo de síndrome epilética, e indireta com a profundidade do foco.

Avanços tecnológicos ocorridos nas últimas décadas permitiram grande aprimoramento na eletroencefalografia, com a introdução dos sistemas digitais (101), os registros sincronizados com vídeo, os sistemas de multicanais, chegando-se atualmente aos equipamentos de monitoração sem fio. Estes avanços propiciaram melhora no processamento de sinais e permitiram melhorar a taxa de amostragem das ondas eletroencefalográficas, fazendo possível a aplicação de diversos tipos de análises quantitativas. (102)

1.2 Análise quantitativa do EEG

A avaliação quantitativa de um método diagnóstico propõe a quantificação de parâmetros encontrados ao exame por meio de ferramenta computacional, muitas vezes aumentando a sensibilidade do método para detecção de alterações.

Para tanto, processamento matemático das ondas obtidas no EEG digital é feito de forma a caracterizar detalhadamente determinados componentes específicos da onda, transformar os sinais captados em um formato que permita esclarecer informações relevantes, e associar resultados numéricos com os seus dados para subsequente revisão ou comparação. (102)

Técnicas de avaliação quantitativa do EEG estão disponíveis para variadas finalidades. Pode-se dividi-las em análises de sinal, apresentações topográficas e análises estatísticas. (103)

A análise de sinal transforma o sinal convencional registrado digitalmente em parâmetros numéricos diferentes do tradicional amplitude x tempo. Dessa forma, pode-se fazer detecção automática de eventos, monitorização e tendências no EEG, análise de frequência e de geradores de atividade eletroencefalográfica.

Na detecção automática de eventos, o computador faz uso de algoritmos matemáticos para detectar eventos ou anormalidades para trazer à atenção do especialista. É usada em registros de longa duração para detectar espículas e/ou crises epiléticas.

Monitorização e tendências no EEG são usadas na unidade de terapia intensiva (UTI) e em centro cirúrgico.

A análise de frequências pode ser usada para procurar e quantificar sinais de excesso de atividade lenta, por exemplo. Seus resultados podem ser apresentados como tabelas de números, gráficos multidimensionais ou mapas topográficos.

Na análise dos geradores procura-se especificar a localização, orientação, intensidade e número de possíveis geradores da espícula ou de outra característica observada.

Já as apresentações topográficas do EEG fazem a representação visual de dados do EEG.

Na análise estatística, realiza-se a comparação de variáveis derivadas entre grupos ou entre um paciente e um grupo controle. Pode-se fazer a comparação com valores normativos e a análise diagnóstica discriminativa, que agrupa parâmetros selecionados para diferentes subgrupos. (103)

O parâmetro estudado geralmente é apresentado em uma figura estilizada do cérebro. Pode ser também mapeado em uma reconstrução volumétrica tridimensional a partir de uma imagem de RM. (102,104,105)

Entre outros usos, o EEG quantitativo (EEGq) tem sido usado para avaliação não invasiva de candidatos a cirurgia de epilepsia e na diferenciação entre epilepsia rolândica “típica” e “atípica”, por determinar a complexidade do campo e o modelo de estabilidade do dipolo. (106)

Assim, é possível analisar matematicamente aspectos diversos do EEG. Algumas técnicas de análise quantitativa já foram utilizadas para avaliar pacientes com EGI. (107–109)

Dentre as características que podem ser estudadas, uma das mais interessantes é a análise de geradores, que estima a área cerebral responsável pela atividade elétrica observada.

A estimação da origem da atividade cerebral observada consiste na resolução dos problema inverso e direto. A solução do problema inverso pode ser realizada por meio de várias técnicas. A análise visual é a forma mais básica. No caso das EGI, a descarga epileptiforme generalizada ocorre em todos os canais do EEG, podendo ter maior amplitude em alguns eletrodos. (110,111)

A resolução do problema direto inicia em uma determinada configuração de fonte elétrica representando neurônios ativos. Os potenciais nos eletrodos são calculados para esta configuração. O problema inverso tenta encontrar o gerador elétrico que gerou a atividade aferida. Resolvendo o problema inverso, soluções do problema direto para diferentes configurações de fonte são necessárias. (110) Para isso, existem diversos modelos de cálculo de fonte e também modelos de cabeça para demonstrar a solução encontrada. (111) Uma questão metodológica importante na localização da fonte é a seleção apropriada do algoritmo de análise de fonte geradora da atividade observada e dos modelos de cabeça.

O modelo de análise de fonte mais simples é o de dipolo único ou fonte única, em que se assume que o campo elétrico é criado por um ponto único de dipolo equivalente, ou seja, em que apenas uma pequena porção de córtex foi ativada para produzir determinada onda eletroencefalográfica. Neste caso, a acurácia da localização estimada é da ordem de 3 mm, aproximadamente. Existem também os modelos de fontes múltiplas, em que se parte da prerrogativa que há dois ou mais dipolos e o cérebro é dividido em várias sub-regiões, sendo cada sub-região representada por um dipolo. Existem ainda modelos de fontes com localizações fixas e o com fontes limitadas a uma pequena área conhecida. (112) A escolha do modelo depende do tipo de sinal que se pretende avaliar.

O modelo de cabeça mais simples e mais usado é uma esfera concêntrica multicamadas. O crânio, escalpo, córtex cerebral, e outros tecidos são modelados como diferentes camadas com diferentes condutividades elétricas. Um modelo mais realístico seria não homogêneo, anisotrópico e não esférico. Este tipo de modelo acurado usa informações anatômicas obtidas por tomografia computadorizada (TC) ou RM.(113)

Outra forma de análise quantitativa do EEG são os métodos indeterminados (distribuídos). Os modelos indeterminados são baseados na reconstrução da atividade elétrica cerebral em cada ponto de uma grade tridimensional de pontos de solução, o número de pontos é bem maior que o número de pontos medidos na superfície (eletrodos). Cada ponto de solução é considerado como possível localização de uma fonte geradora de corrente, não havendo hipótese prévia sobre o número de dipolos no cérebro. (114)

Um dos métodos distribuídos mais utilizado é a tomografia eletromagnética de baixa resolução (LORETA – do inglês Low Resolution Eletromagnetic Tomography) aplicada iterativamente seguindo a análise clássica de tomografia eletromagnética de baixa resolução. (115)

1.3 Análise quantitativa da RM

A análise visual da neuroimagem de pacientes com EGI não mostra alterações características. Assim, a análise quantitativa, que aumenta a sensibilidade para detecção de anormalidades, é uma ferramenta útil no estudo deste subgrupo de epilepsias.

Como com o EEGq, existem várias modalidades para a análise quantitativa da RM. A utilização do método adequado depende do tipo de diferença que se espera encontrar entre as imagens.

Uma das técnicas quantitativas mais utilizadas para avaliação de pacientes com EGI é a VBM. Este método permite a investigação de diferenças focais na anatomia cerebral. As imagens de RM obtidas na sequencia volumétrica são divididas em voxels, que são as unidades de informação gráfica que definem os pontos no espaço tridimensional que inclui as coordenadas x,y e z. No espaço tridimensional, cada uma das coordenadas é definida em termos de posição, cor e densidade. Assim, as imagens de TC ou RM podem ser subdivididas em diversos voxels. (116) O número de voxels

resultante dependerá do tamanho do voxel escolhido quando da aquisição da imagem. De maneira simplificada, quanto menor o voxel, maior definição possuirá a imagem pois terá maior contraste e nitidez. Assim, na VBM, faz-se a comparação entre as unidades correspondentes de diferentes exames. É utilizada principalmente para avaliação da substância cinzenta. (117)

Grande parte do processo de análise da VBM é realizada de forma automática. Esta é uma das grandes vantagens do método já que está menos sujeita a impressões subjetivas do investigador. Outra vantagem é a realização de comparações voxel a voxel. Esta abordagem permite a comparação entre grupos de imagens fornecendo como resultado final um mapa estatístico paramétrico mostrando as regiões onde a concentração de substância cinzenta difere de forma significativa entre os grupos. É realizada correção para múltiplas comparações seguindo a teoria de campos aleatórios gaussianos. (118)

A comparação entre grupos é possível, pois o primeiro passo da morfometria envolve a normalização das imagens de alta resolução de todos os sujeitos do estudo no mesmo espaço estereotáxico, fazendo com que sejam minimizadas as diferenças de forma e tamanho. O segundo passo envolve a segmentação automática, que estima a probabilidade de cada voxel corresponder a substância cinzenta. A seguir, é feita a suavização com objetivo de diminuir a variação interindividual da anatomia dos giros cerebrais. Pode ser feita VBM em toda a substância cinzenta ou trabalhar com regiões de interesse, em que se seleciona a região a ser analisada. A concentração ou volume local da substância cinzenta é calculado e os resultados se apresentam como aumento ou redução do sinal em determinados voxels, refletindo atrofia ou aumento. (117)

Em uma avaliação de 83 pacientes com EGI utilizando a VBM, foi demonstrado aumento de substância cinzenta na região frontal basal de 44 pacientes com EMJ e na região frontal mesial superior de 24 pacientes com EA. (63) Além disso, evidências também apontaram para alterações estruturais localizadas no tálamo de pacientes com EGI. (119) Deste modo, achados de investigação quantitativa estrutural indicam a participação do circuito tálamo-cortical no mecanismo fisiopatológico da doença.

Apesar dos vários estudos demonstrando anormalidades focais na análise quantitativa da RM de pacientes com EGI, poucos foram os que procuraram investigar focalidades com o EEGq. Além disso, não foram encontrados estudos que relacionam os dois métodos. Os mecanismos fisiopatológicos das EGI e das crises generalizadas ainda permanecem em investigação.

2. Hipótese

Pacientes com EGI apresentam alterações focais estruturais relacionadas a gênese das descargas epileptiformes generalizadas.

3. Objetivos

Os objetivos gerais deste estudo foram:

1- Investigar a fisiopatologia das EGI utilizando métodos quantitativos de análise do EEG e da RM.

Objetivos específicos:

1- Identificar a presença de focalidades no início das descargas epileptiformes generalizadas por meio de métodos de quantificação do EEG;

2- Identificar a presença de alterações estruturais sutis no local mais apontado como envolvido no início das descargas epileptiformes generalizadas por meio de métodos quantitativos de análise da RM de pacientes com EGI.

3- Fazer o estudo quantitativo da RM na mesma área definida para todo o grupo de EGI para o subgrupo de pacientes com EMJ.

4. Material e métodos

O projeto deste estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu e foi devidamente aprovado (Protocolo C.E.P.: 4147-2012). Todos os indivíduos que aceitaram participar do estudo assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Este é um estudo transversal que avaliou as características das descargas epileptiformes e da neuroimagem de pacientes com EGI por meio de métodos quantitativos de análise. Houve duas fases de investigação. Na primeira, investigamos o EEG de pacientes com EGI. Na segunda fase, estudamos diferenças de neuroimagem de pacientes com EGI em relação a um grupo controle.

4.1 Seleção dos sujeitos

Na primeira fase do estudo, selecionamos de forma retrospectiva EEGs com descargas epileptiformes generalizadas compatíveis com EGI realizados no laboratório de neurofisiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB-UNESP) entre os anos de 2008 e 2012. Os prontuários foram revisados para obtenção de informações quanto a história clínica e exame neurológico. Estes traçados foram posteriormente submetidos a análise quantitativa.

Na segunda fase, foram incluídos pacientes consecutivos com o diagnóstico de EGI que estavam em acompanhamento no Ambulatório de Epilepsia da FMB-UNESP e que não tinham contraindicação para a realização de RM. Foram também selecionados indivíduos sem história de doença neurológica junto à comunidade local para participar do grupo controle. Estes sujeitos foram submetidos a RM de encéfalo para posterior análise quantitativa.

O referido ambulatório de epilepsia acompanha pacientes adultos e portanto os pacientes incluídos tinham idade maior que 15 anos no momento de inclusão do estudo.

Crêterios de inclusão:

- a) Pacientes com história cl nica e exame neurológico compatíveis com EGI;
- b) Presença de descargas epileptiformes generalizadas ao eletroencefalograma;
- c) Desejo de participar da pesquisa;
- d) Ausência de contraindicações para realização do exame de RM.

Crêterios de exclusão:

- a) Desejo de sair do estudo;
- b) Ind viduos que durante a investigação apresentaram diagnóstico de crises não epilépticas.

4.2 EEG

O EEG de rotina foi registrado por 20 minutos, com montagem internacional 10-20, em aparelho Meditron de 22 canais. Os seguintes eletrodos foram utilizados para fazer o registro eletroencefalográfico: Fp1, Fp2, F7, F3, Fz, F8, F4, T3, C3, Cz, T4, C4, T5, P3, Pz, T6, P4, O2, Oz e O1, com os eletrodos A1 e A2 como referência. Fotoestimula  o e hiperventilação foram realizados durante todos os exames. A taxa de amostragem foi de 256 Hz e impedância foi mantida abaixo de 10 k .

A análise visual do exame foi realizada pelos pesquisadores. As descargas epileptiformes generalizadas foram selecionadas em toda a sua extensão independentemente de sua duração. Exames de um mesmo paciente foram incluídos em casos em que mais de um ano se passou entre as aquisições, já que vários fatores podem influenciar a aparição e a característica de descargas epileptiformes, como a idade, síndrome epiléptica, estado de consciência, fatores desencadeantes, entre outros. (120)

Os traçados eletroencefalográficos foram convertidos para o formato EDF (do inglês, *European Data Format*). Para a análise quantitativa do EEG, foram utilizados os programas BESA Research 6.0 (do inglês, *Brain Electric Source Analysis*, Grafelfing, Alemanha; <http://www.besa.de/downloads/besa-research/besa-research-6->

1/), e o EEGLAB versão 12 (<http://www.sccn.ucsd.edu/eeglab>) rodando sob a plataforma Matlab R2012b (MathWorks; Natick, EUA; http://www.mathworks.com/products/new_products/release2012b.html?requestedDomain=www.mathworks.com). (121)

Foram realizados três tipos de análise das descargas epileptiformes generalizadas:

4.2.1 Análise de localização do dipolo equivalente com transformação em imagem (do inglês, Dipole Source Imaging-DSI)

Os dados eletroencefalográficos em formato EDF foram importados para o programa BESA. As descargas epileptiformes generalizadas foram selecionadas visualmente e a primeira espícula inequívoca foi marcada para cada descarga. Trechos de 400 ms iniciando-se 250 ms anteriormente a primeira espícula e 150 ms após foram submetidos a decomposição usando análise de componente principal. Um intervalo de 20 ms na porção ascendente da espícula foi usado para análise de fonte geradora. Os dados eletroencefalográficos de cada época individual foram filtrados entre 5 e 35 Hz.

Uma aproximação de um modelo anatômico para pacientes adultos foi utilizada para localização da fonte do dipolo. Um local para o início do dipolo equivalente foi calculado para cada descarga, e as coordenadas de Talairach resultantes foram extraídas para a análise. (117,122)

4.2.2 CLARA (do inglês, Classical LORETA recursively applied- análise LORETA clássica aplicada repetidamente)

Foram utilizados os mesmos 20 ms descritos para o método anterior. Os resultados obtidos com este método são mais focais devido a uma redução implícita do espaço em cada iteração. Eles representam a densidade média de corrente, expressa em nAm/cm³. As coordenadas de Talairach foram extraídas do sítio anatômico contendo a densidade de corrente máxima. A solução também foi exportada como imagens tridimensionais com voxels de 1 mm no formato ANALYSE (*Biomedic Imaging Resource*, Mayo Clinic, E.U.A.).

Imagens de sobreposição e das médias derivadas da localização de fontes pelo método CLARA foram geradas para todos os traçados individuais com o programa NPM (do inglês, *Non-Parametric Mapping*; <http://www.cabiatl.com/mricro/npm/>). (123)

4.2.3 Dipolo equivalente de componentes independentes com análise de agrupamentos

Descargas com épocas de 1 segundo foram importadas para processamento no EEGLAB. Coordenadas da posição dos eletrodos foram verificadas e corrigidas para as diferenças individuais conforme necessário. As descargas foram processadas para decomposição em componentes espacialmente fixos e temporalmente independentes pela análise de componentes independentes.

Todos os componentes gerados foram usados para análise subsequente. Para localização do dipolo, um modelo de cabeça esférico de quatro camadas e ajuste não linear foram usados. Um modelo de fonte única de dipolo equivalente foi calculado para cada componente com a função DIPFIT. (121) Esta função também transpõe os resultados alcançados no modelo esférico para um modelo de imagem de RM no espaço padrão tridimensional de Talairach. Para identificar padrões comuns de descarga e propagação, análise de agrupamentos de dipolo equivalente obtido para cada componente foi realizado por meio de um algoritmo de médias k.

Fontes de dipolos localizados de forma muito próxima foram classificados nos mesmos agrupamentos. O número padrão de agrupamentos foi inicialmente selecionado. O número foi ajustado quando necessário de acordo com as fontes identificadas pelos outros métodos e a estabilidade do sinal. Coordenadas de Talairach foram extraídas para análise de duas formas:

Do centroide do componente independente principal e de todos os componentes independentes de dipolo do agrupamento principal.

4.3 Ressonância magnética

Pacientes e 36 sujeitos do grupo controle foram submetidos à RM, em aparelho Siemens Healthcare (Alemanha), modelo MAGNETOM® Verio 3T (Tesla), com bobina matriz de 12 canais para a cabeça.

O exame de RM seguiu um protocolo específico para avaliação de epilepsia. Foram incluídos:

- Imagens coronais: T1 “inversion recovery” e T2 multi-echo perpendiculares ao eixo longo do hipocampo definido a partir da imagem sagital.

- Imagens axiais: FLAIR (“fluid attenuation inversion recovery”) com supressão de gordura, paralelas ao eixo longo do hipocampo.
- Imagens volumétricas ponderadas em T1: imagens tridimensionais com voxels isotrópicos de 1 mm.
- Imagens de difusão (DTI): com pelo menos 32 direções.

As sequencias tridimensionais *gradient-recalled echo* T1 (192 fatias sagitais de espessura de 1 mm; em resolução plana de 0,5 x 0,5 mm; campo de visão (FOV) de 256 x 256 mm; tempo de repetição (TR): 2,300 ms; tempo de eco (TE): 2,47 ms; tempo de aquisição: 5,21 minutos por volume, e ângulo de giro de 9 graus) foram usadas. As imagens foram adquiridas no formato DICOM (do inglês, *Digital Imaging and Communications in Medicine*).

A análise visual qualitativa dos exames de RM foi realizada por investigador com experiência em neuroimagem. Durante a avaliação qualitativa, este investigador não tinha a informação em relação ao grupo ao qual determinado exame pertencia.

A análise quantitativa da RM foi feita para todo o grupo de pacientes com EGI e para o subgrupo de pacientes com EMJ, por se tratar da subsíndrome mais prevalente.

A análise quantitativa da RM foi realizada com três métodos diferentes, e teve como região de interesse o giro do cíngulo. Como veremos adiante, o giro do cíngulo foi um dos resultados mais frequentes da análise do EEG, além da porção medial do giro frontal. Assim, optamos por analisar o giro do cíngulo pois até o momento da realização das análises não havíamos encontrado nenhum estudo com enfoque nesta área.

4.3.1 Morfometria baseada em voxel (VBM)

Para a realização da VBM, as imagens da sequência volumétrica em T1 no formato DICOM foram transformadas para o formato NifTI (do inglês, *Neuroimaging Informatics Technology Initiative*) utilizando o programa MRICron (<http://www.mccauslandcenter.sc.edu/mricro/mricron/>). (117)

Esta conversão permite o manuseio e condução das análises. Para os passos seguintes, o software SPM8 (www.fil.ion.ucl.ac.uk) e a caixa de ferramentas VBM8 (<http://dbm.neuro.uni-jena.de/vbm/>) acoplado à plataforma Matlab R2012b

(MathWorks, Natick, MA, EUA) foram os principais programas usados. As imagens foram normalizadas e as substâncias cinzenta e branca segmentadas com a abordagem conhecida como segmentação unificada utilizando o algoritmo DARTEL (do inglês, *Diffeomorphic Anatomical Registration Through Exponentiated Lie*). Este algoritmo cria um modelo de todas as imagens e as registra computando um campo de deformações das imagens.

As imagens também foram moduladas para a preservação das concentrações de substância cinzenta e para a correção de vieses. A qualidade da segmentação final de cada exame foi visualmente revisada.

Finalmente, cada imagem de substância cinzenta foi suavizada com um filtro gaussiano 10 mm FWHM (do inglês *Full Width at Half Maximum*).

A região de interesse delimitada foi o giro do cíngulo. As análises estatísticas foram feitas usando uma análise fatorial limitada à região de interesse com as covariáveis: idade, sexo, e volume intracraniano total. A região de interesse foi delineada automaticamente usando a ferramenta Wake Forest University PickAtlas (WFUPickatlas; <http://fmri.wfubmc.edu/download.php>) derivada da biblioteca do Automated Anatomical Labeling (AAL). Esta ferramenta utiliza um método de parcelação automática que é capaz de obter o volume de determinadas estruturas anatômicas de acordo com um atlas. (124)

As comparações foram realizadas entre os grupos (EGI versus controle). Os resultados constituem mapas estatísticos das comparações entre grupos de imagens. O nível de significância selecionado foi um valor de p não corrigido $< 0,05$.

Por fim, o mapa de Talairach foi usado para localizar as coordenadas correspondentes às áreas de maior diferença entre os grupos de imagens de pacientes e controles encontradas nos mapas estatísticos.

4.3.2 Análise cortical do giro do cíngulo

O programa Freesurfer (versão 5.3; <http://freesurfer.net/fswiki/>) de análise de imagens foi usado para gerar modelos de superfície de substâncias branca e cinzenta, bem como para realizar a segmentação do córtex do giro do cíngulo de pacientes e controles. Imagens foram importadas para o programa e foram automaticamente submetidas a vários passos de processamento padrão, incluindo correção de movimento,

remoção de tecido não cerebral, registro automático no espaço de Talairach, segmentação de estruturas subcorticais e separação dos limites entre as substâncias branca e cinzenta. Após a realização desses passos, modelos corticais foram inflados e registrados em um atlas esférico baseado em padrões de dobramento cortical individual para equiparar a geometria cortical entre indivíduos. Finalmente, o córtex cerebral foi delimitado respeitando as estruturas de giros e sulcos.

O giro do cíngulo foi subdividido nas seguintes áreas: anterior rostral (AR), anterior caudal (AC), posterior (P) e istmo (I).

Foram então obtidos os seguintes parâmetros para cada sub-região do giro do cíngulo de cada indivíduo (AR, AC, P e I):

- Área
- Volume
- Espessura cortical com desvio padrão
- Dobramento
- Informações de curvatura (índice, média e gaussiana)

A área de superfície que compreende o vértice é determinada como a área média da região triangular associada indicando expansão de área. O volume cortical é o produto da espessura e da área de superfície. A espessura cortical é calculada como a distância entre a substância branca e a substância cinzenta na superfície modelada.

O índice de dobramento é a integral do produto da curvatura máxima principal e a diferença entre a curvatura máxima e a mínima dividida por 4π . O índice de curvatura representa a integral entre todas as regiões de curvatura positiva intrínseca dividida por 4π . A curvatura média é a média da curvatura calculada da curvatura principal em cada vértice. Curvatura gaussiana é a curvatura gaussiana média obtida pelo produto da curvatura principal em cada vértice. Resultados dos parâmetros obtidos, quando apropriado, foram normalizados de acordo com o volume intracraniano total (VIT) usando método de covariância:

$$VN = VO - \text{Grad} (CM_i - CM \text{ média})$$

VN: volume normalizado

VO: volume original

Grad: linha de regressão entre o parâmetro e a VIT

CM_i: valor da VIT para o indivíduo

CM média: valor médio da VIT para todos os sujeitos controle

Os parâmetros obtidos para cada indivíduo foram padronizados de acordo com o valor de controles normais usando uma transformada de Z score:

$$Z = \frac{(\text{medida para o indivíduo} - \text{média de todos os sujeitos})}{\text{desvio padrão}}$$

Essa transformação indica que se um paciente teve um Z score de -2, a característica estudada foi dois desvios padrão abaixo da média dos controles.

Análise estatística foi realizada comparando pacientes com controles. Testes t de Student foram usados para avaliar diferenças em cada parâmetro. Um modelo linear generalizado foi usado para análise de superfície com contrastes T procurando por parâmetros aumentados ou diminuídos. Idade e volume intracraniano total foram incluídos como fatores confundidores. As comparações ficaram restritas ao giro do cíngulo. Área, área pial, curvatura média suavizada, convexidade média representando as medidas de cada ponto acima da superfície média, espessura e volume foram comparados para cada hemisfério após uma suavização com filtro de 10 mm FWHM.

Os resultados foram apresentados por meio de mapas demonstrando as análises de cada parâmetro para pacientes e controles e também por meio de mapas estatísticos demonstrando os resultados da análise com modelo linear generalizado, que procurou demonstrar as áreas com maiores diferenças entre todos os parâmetros estudados.

O valor de p considerado foi o de <0,05.

4.3.3 Análise de formato

Para a análise de formato, dados da segmentação binária das quatro porções do giro do cíngulo (AR, AC, P e I) de cada paciente foram importados do Freesurfer. Um processamento inicial foi feito em que as imagens foram minimamente suavizadas e preenchidas. Os segmentos foram convertidos em malhas de superfície e uma parametrização esférica foi computada pela otimização de uma área igual de mapeamento da malha de voxels tridimensional em uma esfera, minimizando distorções

angulares. A descrição dos harmônicos esféricos (SPHARM) foi adquirida da malha e da parametrização esférica. (125)

Usando o elipsoide de primeira ordem obtido dos coeficientes de harmônicos esféricos, toda a parametrização esférica foi alinhada para criar a correspondência entre todas as superfícies.

Finalmente, a descrição SPHARM foi amostrada em superfícies triangulares via subdivisão icosaédrica (modelo de distribuição pontual).

As superfícies resultantes foram todas espacialmente alinhadas usando o alinhamento rígido.

Para cada sub-região do cingulo, uma estrutura média foi calculada pela média das coordenadas tridimensionais dos pontos de superfície correspondentes entre os indivíduos de cada grupo.

A superfície resultante foi usada como um modelo na análise de formato.

Para a análise estatística, as médias de formato tridimensionais dos pacientes foram comparadas com o grupo controle usando o teste T2 de Hotelling. Mapas estatísticos, mapas de distância e mapas de campos de vetores foram gerados e sobrepostos na estrutura média tridimensional. Baseado no modelo, o mapa da distância foi gerado calculando a distância da superfície.

O valor de p considerado foi $< 0,05$.

5. Resultados

5.1 Sujeitos

Foram selecionados 75 traçados eletroencefalográficos com descargas epileptiformes generalizadas compatíveis com EGI de 64 pacientes para a análise quantitativa do EEG. Trinta e cinco destes eram do sexo feminino e a idade média foi de 31 ± 14 . Quatro exames foram excluídos por excesso de artefatos ou qualidade ruim da linha de base.

Destes, 32 pacientes realizaram RM que foi submetida às análises quantitativas de neuroimagem. Dezoito eram mulheres e a idade média foi de 30 ± 10 anos (17-58). Trinta e seis sujeitos sem história de doença neurológica prévia foram selecionados para o grupo controle, com idade média de 32 ± 11 anos (21-57).

5.2 Características clínicas

Dos 64 pacientes incluídos para a análise eletroencefalográfica, 21 apresentavam o diagnóstico de EGI sem especificação de subsíndrome, 16 EMJ, 16 ECTCG, e quatro pacientes apresentavam EA. Foram incluídos ainda dois pacientes que apresentavam o diagnóstico de epilepsia focal antes da realização do EEG porém que apresentaram EEG compatível com EGI e 5 pacientes que não tinham diagnóstico prévio de epilepsia e apenas apresentaram crises generalizadas em um contexto de anormalidades metabólicas, mas que tinham EEG interictal com descargas características de EGI.

Em relação ao uso de medicações, informações acerca do quadro clínico estavam presentes para o subgrupo de 32 pacientes que realizaram a RM, pois estes ainda se encontravam em acompanhamento no ambulatório de epilepsia da FMB e responderam a questionário na ocasião da realização do exame de RM.

Todos eles estavam em uso de FAE. 23 pacientes estavam em monoterapia, 6 estavam usando 2 medicações, e 3 pacientes estavam em uso de 3 FAE. 11 estavam em uso de valproato (7 em monoterapia), 7 estavam usando lamotrigina (4 em monoterapia). As outras FAE em uso foram: carbamazepina (11 pacientes), topiramato (5), fenitoína (3), oxcarbazepina (2), clobazam (2), fenobarbital (1) e etosuximida (1).

Vinte pacientes tinham o diagnóstico de EMJ, 6 de EA, 6 ECTCG. Dezenove pacientes tinham crises mioclônicas e crises tônico-clônicas, 5 tinham crises de ausência e crises tônico-clônicas e 3 pacientes tinham todos estes 3 tipos de crises. A idade média da primeira crise foi $15,1 \pm 5,2$ anos (8-29). O tempo médio livre de crises foi de $1,3 \pm 1,8$ anos (0-7).

5.3 Achados eletroencefalográficos

Em relação aos tipos de descarga generalizadas encontradas, 46 traçados apresentavam descargas generalizadas espícula-onda irregulares, 17 traçados com descargas generalizadas espícula-onda regulares, 9 traçados com padrão misto de descargas regulares e irregulares, e 3 traçados com espículas irregulares ou poliespículas. A duração média das descargas foi de 4 ± 3 s (1-22s). 4 descargas duraram menos que 1 segundo.

Cinco pacientes tiveram seus traçados incluídos por 2 vezes e 3 pacientes tiveram traçados incluídos 3 vezes. O intervalo médio entre os exames foi de $1,6 \pm 1,2$ anos (1-4 anos).

5.4 Avaliação qualitativa da RM

À análise visual, não foram encontradas alterações nas RM de encéfalo estudadas.

ARTIGO 1 – Análise quantitativa do eletroencefalograma

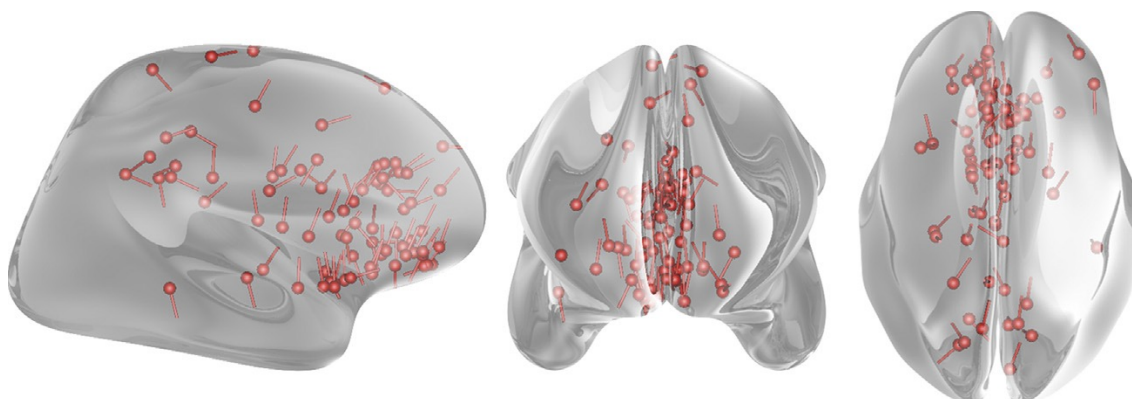
5.5 Análise quantitativa do EEG

No total, 753 descargas epileptiformes foram avaliadas, com uma média de 12 ± 15 descargas epileptiformes por exame. Análises utilizando as 3 técnicas resultaram em um predomínio da localização de focos na porção anterior do giro do cíngulo (36%) e por (23%). A porção medial do lobo frontal estava envolvido em 165 vezes (70%). Os lobos parietal e occipital em 35 fontes (14%) e gânglios da base em 29 fontes (12%).

5.5.1 Análise de localização do dipolo equivalente com transformação em imagem (Dipole Source Imaging-DSI)

A análise de dipolo identificou 72 fontes. Elas corresponderam predominantemente à porção medial do lobo frontal (27%) e porção anterior do giro do cíngulo (21%). O lobo frontal correspondeu ao local de geração das descargas em 68% das vezes.

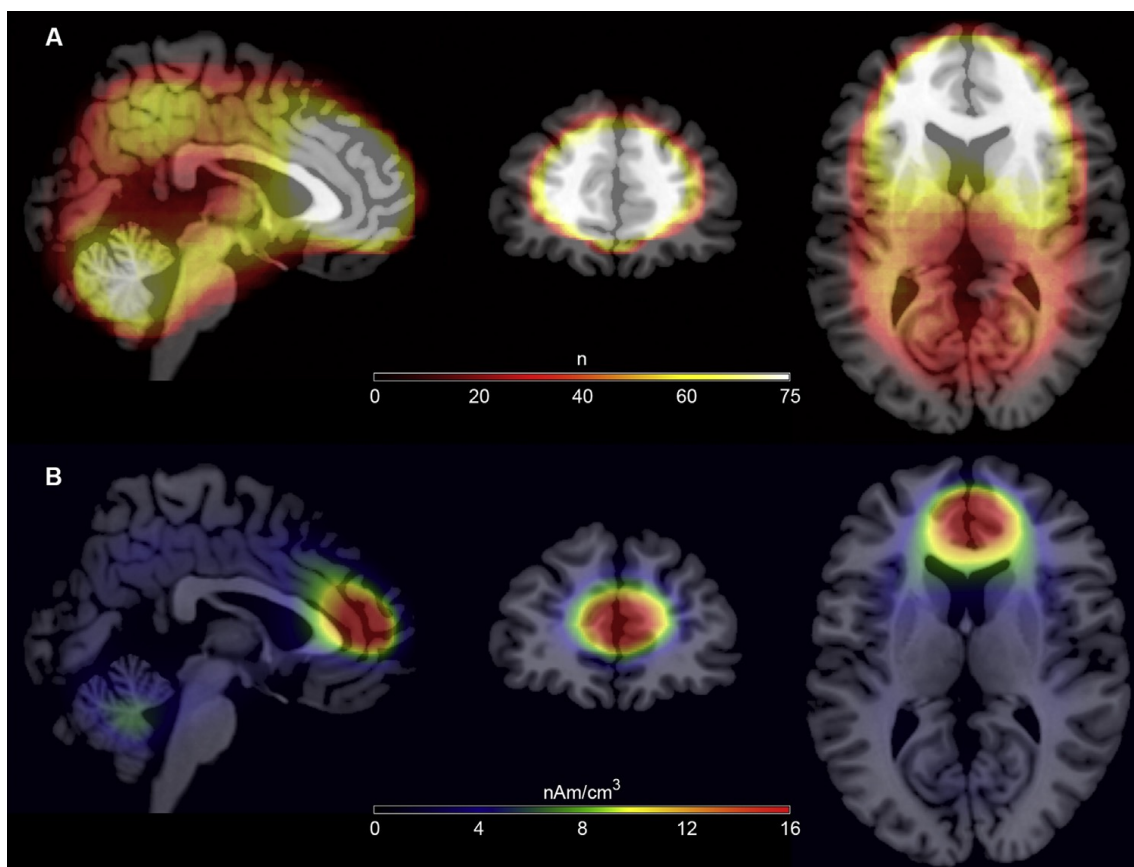
Figura 1: Representação anatômica derivada dos resultados da análise de localização do dipolo equivalente com transformação em imagem (DSI). 72 descargas estão sobrepostas em um modelo anatômico do cérebro inflado, mostrado nas orientações sagital (esquerda), coronal (anterior), e axial.



5.5.2 CLARA

Utilizando método CLARA, foram obtidas 77 fontes de geração de descargas epileptiformes. Em 2 dos traçados avaliados, houve 2 áreas com densidade de corrente máximas. O córtex da porção anterior do giro do cíngulo e a porção medial do lobo frontal foram as duas principais fontes geradoras encontradas. O lobo frontal estava envolvido em 74% das vezes.

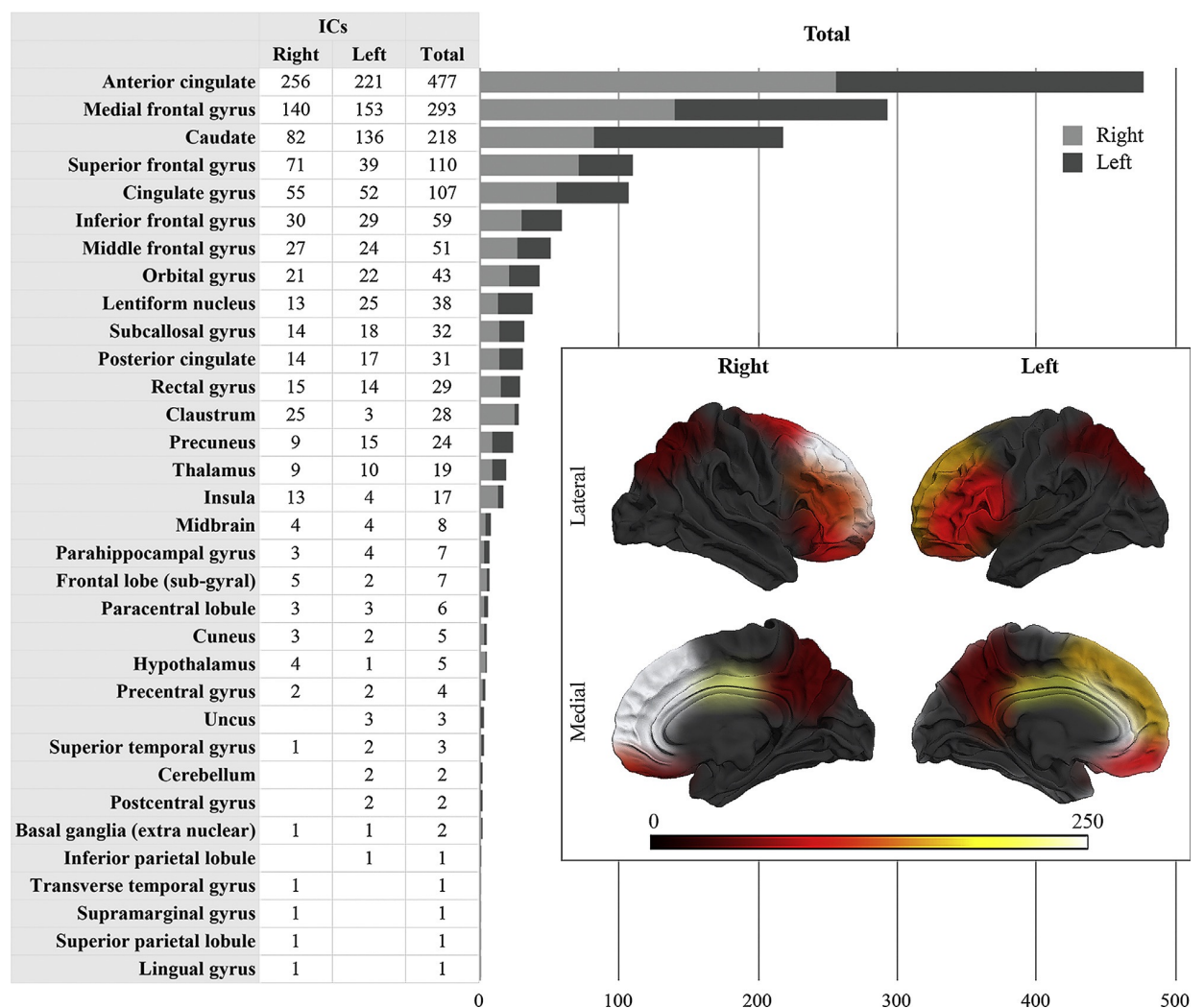
Figura 2: Resultado das análises utilizando CLARA: fonte geradora de descargas para todos os 75 traçados de EEG em uma imagem de sobreposição (A) e em uma imagem da média (B). Os resultados foram sobrepostos em um modelo de RM e estão representados em termos de número de dipolos por área de acordo com a barra de cores em (A) e densidade de corrente em nAm/cm^3 de acordo com a barra de cores em (B)



5.5.3 Dipolo equivalente de componentes independentes com análise de agrupamentos

A análise de subgrupos identificou 88 fontes de geração de descargas epileptiformes. Uma das descargas apresentou três focos e 13 descargas, dois focos. Estes resultados também mostraram um predomínio no giro do cíngulo em sua porção anterior e no lobo frontal medial. Em 63% das vezes, localização foi o lobo frontal.

Figura 3: Análise de componentes independentes de 753 descargas. A caixa mostra os resultados desenhados em um modelo tridimensional de superfície inflada de substância cinzenta. Os resultados foram mostrados em termos de número de componentes independentes de acordo com a barra de cores abaixo



ICs = componentes independentes

ARTIGO 2 – Análise quantitativa da ressonância magnética

5.6 Análise quantitativa da RM

5.6.1 Morfometria baseada em voxel (VBM)

A análise de VBM do giro do cíngulo mostrou áreas de atrofia de substância cinzenta principalmente na porção anterior do giro do cíngulo e no istmo (tabela 1; figura 4). O volume total de atrofia, incluindo agrupamentos com menos de 20 voxels contíguos, foi de 972 mm³ (10 agrupamentos) para a porção anterior do giro do cíngulo e 168 mm³ para a porção posterior do giro do cíngulo e istmo. Usando os mesmos parâmetros de análise, áreas de aumento de volume de substância cinzenta não foram encontradas.

Tabela 1. Resultados da VBM do giro do cíngulo

Tamanho do agrupamento (mm ³)	Valor T	Valor Z	Valor p	Coordenadas	Localização
370	3,2	3,1	0,001	15,29,31	AC
156	3,2	3,1	0,001	-8,-69,15	I
256	3,2	3,1	0,001	12,36,-11	AR
76	2,7	2,1	0,004	14,47,-5	AR
205	2,7	2,6	0,004	-14,38,15	AC

Coordenadas no espaço do Instituto Neurológico de Montreal (Montreal Neurological Institute) – x, y e z em milímetros

5.6.2 Análise cortical com Freesurfer

A análise de superfície cortical mostrou que 29 dos pacientes (91%) e 33 controles (92%) apresentaram pelo menos um parâmetro anormal. 28 pacientes apresentaram anormalidades de curvatura (incluindo índice, média e gaussiana). 18 pacientes apresentaram anormalidades de volume, 16 anormalidades de espessura, 12 de dobramento e 8 de área. Em relação a localização, para o hemisfério esquerdo, 5 pacientes apresentaram anormalidades na porção AR, 17 em AC, 14 na porção P, e 19

em I. Para o hemisfério direito, 12 pacientes mostraram anormalidades na porção AR, 17 em AC, 19 em P e 9 em I (figura 5). Análise estatística não mostrou diferenças entre pacientes e controles exceto pelo volume da porção anterior rostral à direita e caudal anterior ($p < 0,001$ e $p = 0,028$, respectivamente) e espessura do istmo direito ($p = 0,004$).

A área total de anormalidades focais, incluindo subgrupos com menos de 20 vértices contíguos foi de 221,95 mm² (17 agrupamentos) para a porção anterior do giro do cíngulo e 718,12 mm² (32 agrupamentos) para a porção posterior do giro do cíngulo e o istmo (tabela 2 e figura 4B).

Figura 4. Análise estatística comparando o giro do cíngulo de pacientes e controles usando (A) morfometria baseada em voxel e (B) análise cortical. Valores de p estão codificados por cor com as barras abaixo das figuras. Os resultados foram sobrepostos em um modelo de superfície cerebral. (A) Áreas estatisticamente significantes indicam atrofia de substância cinzenta. Quadro mostra a visão correspondente de um modelo de RM. (B) Diferenças com significância estatística em volume, espessura, convexidade média, curvatura média suavizada, área pial, área. As cores quentes representam áreas em que os parâmetros estão reduzidos no grupo de pacientes em relação aos controles, enquanto as cores frias representam aumento.

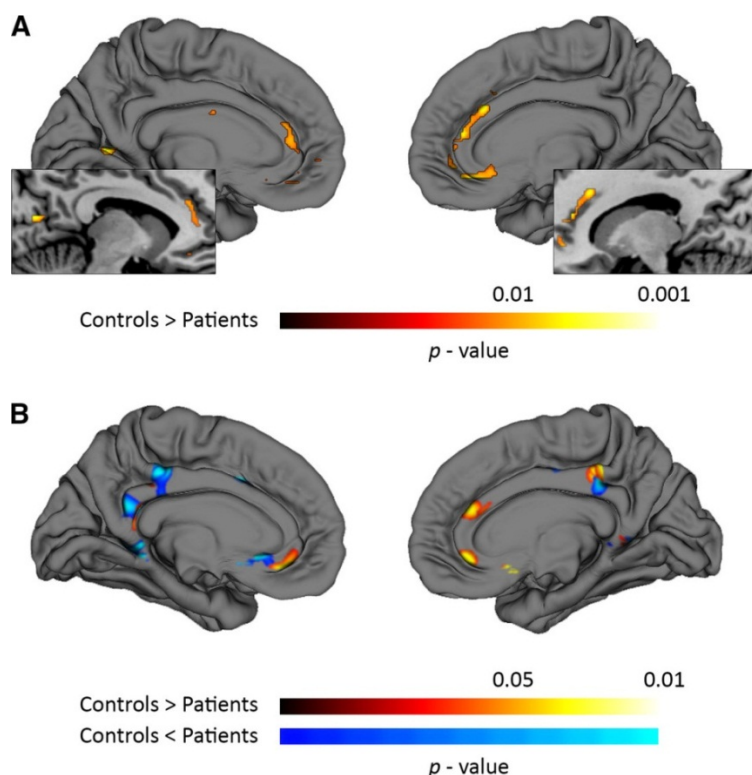


Figura 5: Análise de superfície cortical do giro do cíngulo. Os parâmetros foram padronizados de acordo com os controles utilizando transformação de Z-score. Todos os valores dos oito principais parâmetros obtidos para cada paciente (pontos pretos) e controle (pontos cinza) estão representados. As figuras estão ordenadas de acordo com a correspondência anatômica como mostrado na figura de área (porção anterior rostral- RA; porção anterior caudal- CA; porção posterior- P; istmo- I). Para EMJ e para todos com EGI, mapas do número de pacientes que tiveram 2 ou mais desvios padrão acima ou abaixo dos controles para cada parâmetro e subregião do giro do cíngulo estão mostrados em (A) (cores quentes, linhas superiores). Para EMJ e todos os pacientes com EGI, mapas com as médias dos parâmetros também foram mostrados para cada parâmetro e sub-região do giro do cíngulo em (B) (cores frias, linhas inferiores). Os mapas foram sobrepostos em modelo tridimensional de substância branca mostrado na orientação sagital medial. Mapas estão codificados por cor segundo a escala mostrada.

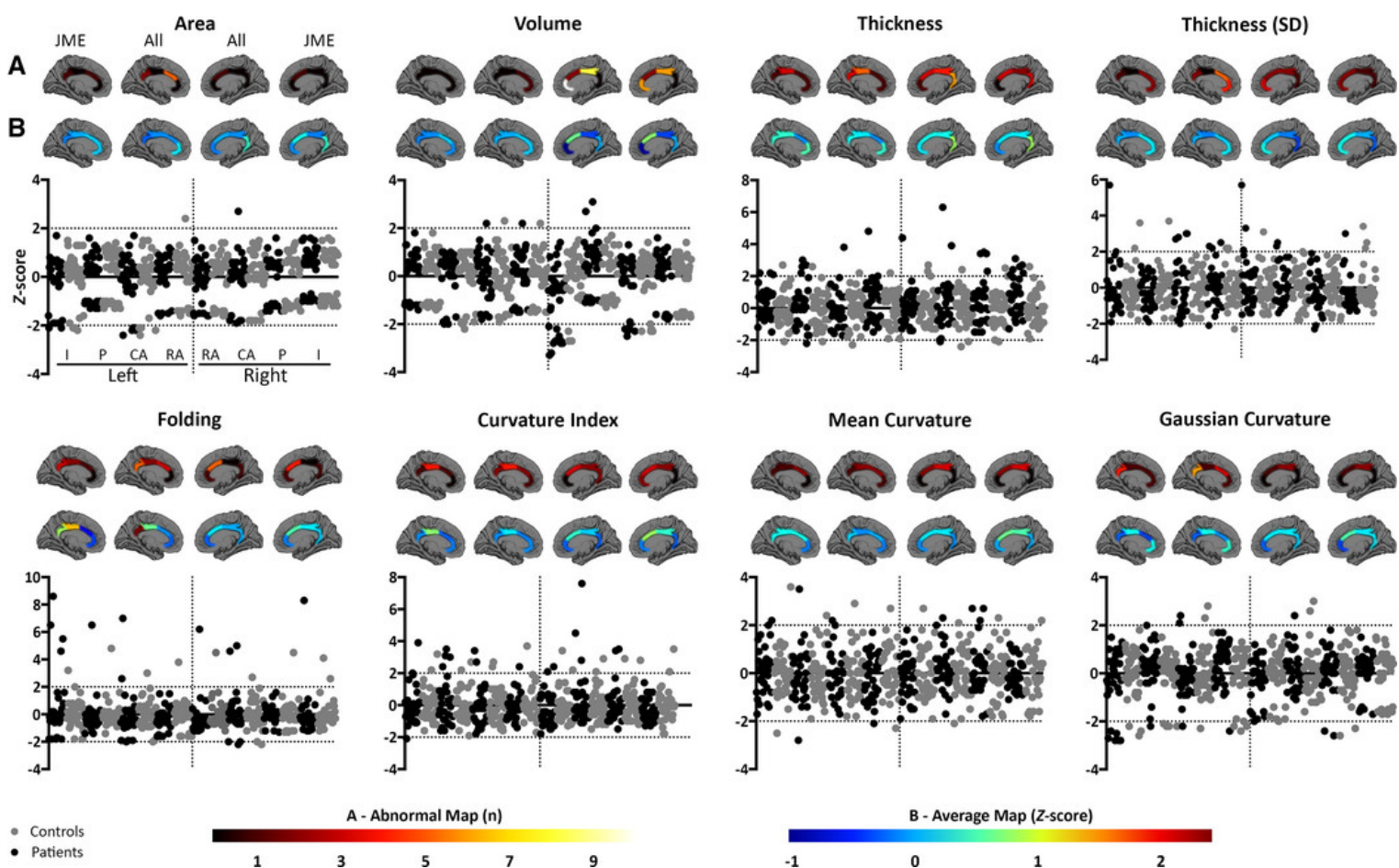


Tabela 2. Resultados da análise estatística da superfície cortical do giro do cíngulo mostrando a área, número de vértices com significância estatística e valor de p de acordo com a localização

	Área (mm²)	Vértice (n)	Valor máximo de p	Localização
Área	41	104	0,02	-11,6,38 AC
	102	278	0,005	-8,-31,40 P
	26	63	0,023	7,-35,35 P
	31	88	0,03	14,-32,37 P
	31	99	0,021	-11,-45,2 I
	43	102	0,031	-6,-51,22 I
	22	55	0,024	7,-36,35 I
Área pial	29	81	0,021	-10,-31,40 P
	22	52	0,02	7,-35,38 P
Curvatura	30	67	0,022	-3,19,-4 AR
	20	51	0,021	-5,-33,40 P
	16	50	0,016	12,-13,39 P
	18	43	0,018	5,-34,39 P
	25	61	0,010	-19,-52,3 I
	11	27	0,028	11,-52,8 I
Profundidade do sulco	23	41	0,029	6,33,19 AC
	25	61	0,028	6,-33,38 P
Espessura	32	71	0,029	-7,33,-8 AR
	45	81	0,013	6,35,-5 AR
	45	123	0,017	10,-12,39 P
	39	85	0,023	6,-36,42 P
	29	73	0,005	-20,-55,7 I
Volume	17	42	0,034	-10,13,34 AC
	33	92	0,02	-9,-31,40 P
	23	77	0,008	15,-16,40 P
	59	197	0,015	-9,-45,22 I
	20	46	0,017	-16,-45,-4 I

Localização do espaço de Talairach (x, y e z em milímetros)

5.6.3 Análise de formato

Alguns modelos de superfície foram excluídos em razão de resultados ruins nos passos de pré-processamento. Exclusões de sujeitos com processamento ruim no giro do cíngulo do hemisfério esquerdo incluíram o seguinte: três controles e quatro pacientes para a porção anterior rostral, dois controles e quatro pacientes para anterior caudal, quatro controles e um paciente para posterior, e seis controles e cinco pacientes para istmo. Para o giro do cíngulo no hemisfério direito, cinco controles e quatro pacientes, um controle e um paciente anterior caudal, um controle (posterior), e três controles e dois pacientes foram excluídos.

A análise de formato mostrou uma prevalência de diferenças estatisticamente significativas na porção anterior do giro do cíngulo.

A área total foi de 130,5 mm² para a porção anterior do giro do cíngulo e 63,1 mm² para o istmo e porção posterior. O hemisfério direito (área total 161,6 mm²) também mostrou mais diferenças que o esquerdo (32 mm²).

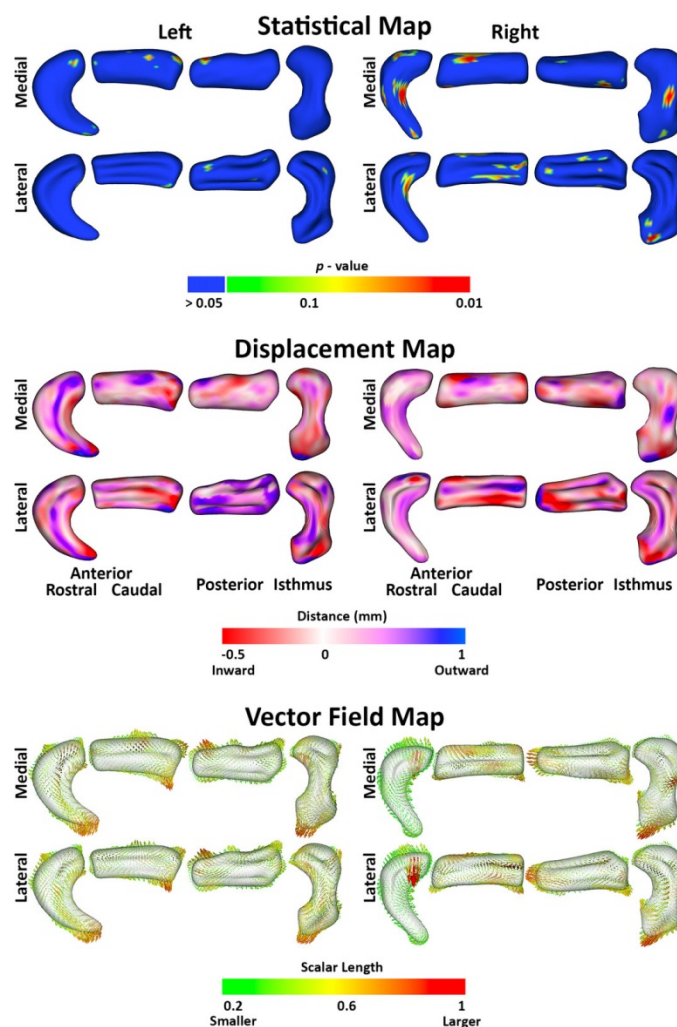
Todas as estruturas foram compostas de 1.002 pontos. A deformação observada no giro do cíngulo foi predominantemente para fora (59,5%, 4769 pontos). Das oito superfícies, apenas o istmo esquerdo (54%, 540 pontos) e a porção anterior caudal direita do giro do cíngulo apresentaram predominância de deformidades para dentro (53,5%, 536 pontos).

Para a porção anterior do giro do cíngulo, 63,6% (2549) dos pontos estavam deslocados para dentro comparado com 55,4% (2220) para a porção posterior e istmo (figura 6; tabela 3).

Tabela 3: Resultados da análise estatística de formato do giro do cingulo demonstrando a área obtida de células trianguladas, número máximo de pontos adjacentes com significância estatística, número total de pontos com significância estatística e valor máximo de p de acordo com a localização

	Área	Tamanho máximo do agrupamento (pontos)	Total	Valor máximo de p	Localização
Esquerda	6	7	13	0,016	AR
	7	10	18	0,012	AC
	19	18	22	<0,001	P
Direita	0	2	2	0,022	I
	61	55	95	<0,001	AR
	57	36	80	0,004	AC
	17	13	29	0,004	P
	27	15	33	<0,001	I

Figura 6: Análise de formato do giro do cíngulo. As figuras são modelos tridimensionais das sub-regiões do giro do cíngulo nos aspectos medial e lateral. São a representação da média dos modelos de pacientes e controles. O mapa estatístico demonstra áreas com significância estatística usando o teste T2 de Hotelling com 500 permutações. Os mapas de deslocamento mostram a subtração entre as superfícies de controles e pacientes. Os valores positivos (azuis) indicam que as superfícies foram aumentadas para corresponder aos controles, e valores negativos (vermelho) indicam o oposto. Mapas de campo de vetor mostram os vetores obtidos pela subtração de formatos médios. O tamanho dos vetores está proporcional e codificado por cores de acordo com o comprimento escalar obtido. Todos os mapas estão codificados por cor de acordo com a escala mostrada.



5.7 Análise do subgrupo de pacientes com EMJ

A análise com o subgrupo de pacientes com EMJ mostrou achados semelhantes aos da investigação do grupo de IGE. A VBM mostrou áreas de atrofia de substância cinzenta principalmente na porção anterior do giro do cíngulo (figura 7; tabela 4). O volume total de atrofia de substância cinzenta, incluindo agrupamentos com menos de 20 voxels contíguos, foi de 477 mm³ (oito agrupamentos) para a porção anterior do giro do cíngulo e 111 mm³ (dois agrupamentos) para o istmo e porção posterior. Áreas de aumento de substância cinzenta não foram encontradas.

A área total de anormalidades corticais, incluindo agrupamentos com menos de 20 voxels contíguos, foi de 224,62 mm² (nove agrupamentos) para a porção anterior do giro do cíngulo e 1261,31 mm² (32 agrupamentos) para a porção posterior e istmo. (figura 7; tabela 4)

Figura 7: Análise estatística comparando o giro do cíngulo de pacientes com EMJ e controles usando (A) VBM e (B) análise cortical

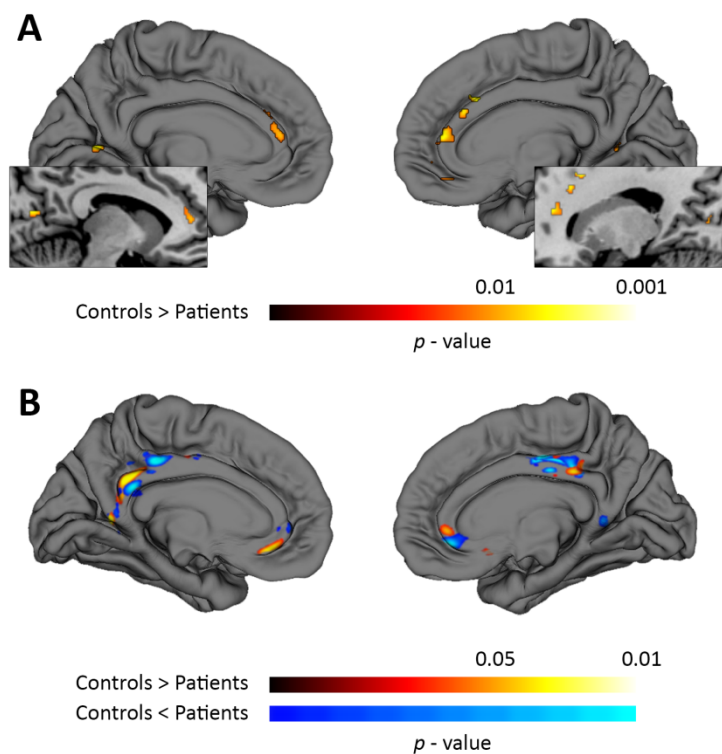


Tabela 4: Resultados da VBM comparando pacientes com EMJ e controles

Tamanho do agrupamento (mm ³)	Valor de T	Valor de Z	Valor de p	Coordenadas (x, y, z)	Localização
174	3,3	3,1	0,001	15, 41, 16	anterior caudal
85	3,2	3	0,001	-8, -69, 15	istmo
71	2,9	2,8	0,003	17, 29, 31	anterior caudal
142	2,7	2,6	0,004	-11, 41, 10	anterior rostral
32	2,6	2,5	0,007	11, 36, -11	anterior rostral

Coordenadas no espaço do Instituto Neurológico de Montreal (x, y, z em milímetros)

A análise de superfície cortical mostrou que 18 pacientes (90%) apresentaram pelo menos um parâmetro anormal. (figura 7)

A análise estatística destes parâmetros não mostrou diferenças entre pacientes e controles exceto para o volume da porção anterior rostral direita e anterior caudal ($p = 0,008$ e $p = 0,028$, respectivamente), para o dobramento da porção anterior caudal esquerda ($p = 0,036$) e espessura do istmo direito ($p = 0,009$).

Tabela 5: Resultados da análise de superfície cortical do giro do cíngulo mostrando área, número de vértices com significância estatística, valores máximos de p de acordo com a localização comparando pacientes com EMJ e controles

	Área (mm ²)	Vértice (n)	Valor máximo de p	Localização	
Área	133	363	0,006	-8, -31, 40	posterior
	180	496	0,005	14, -29, 36	posterior
	12	33	0,018	8, -36, 34	istmo
Área Pial	165	442	0,002	6, -35, 39	posterior
Curvatura	13	38	0,025	-5, -32, 39	posterior
	34	80	0,009	5, -20, 39	posterior
	15	36	0,019	5, -34, 40	posterior
	6	20	0,034	16, -24, 38	posterior
	130	427	0,004	-8, -44, 25	istmo
	12	28	0,025	-18, -51, 3	istmo
	12	25	0,027	-5, -41, 32	istmo
	26	62	0,021	21, -53, 7	istmo
Sulcos	84	159	0,009	9, 33, -8	anterior rostral
	65	153	0,011	6, -34, 39	posterior
	35	95	0,028	-9, -54, 8	Istmo
	57	138	0,019	17, -52, 7	Istmo
Espessura	65	139	0,009	-6, 30, -9	anterior rostral
	46	84	0,015	6, 35, -5	anterior rostral
	38	84	0,023	7, -37, 42	posterior
	47	114	0,001	-19, -55, 7	istmo
	16	63	0,039	-9, -45, 24	Istmo
Volume	16	35	0,032	-11, 44, 3	anterior rostral
	159	448	0,001	15, -17, 40	posterior
	55	183	0,009	-8, -43, 22	istmo

Localização no espaço de Talairach (x, y, z em milímetros)

A análise de formato mostrou $107,87 \text{ mm}^2$ para a porção anterior, e $63,2$ para posterior; direita $42,5$ e esquerda $128,6$.

Deformações foram também predominantemente para fora (58,3%, 4676 pontos). O istmo esquerdo (609 pontos) e porção anterior caudal do giro do cíngulo mostraram deformidades para dentro (610 pontos).

A porção anterior do giro do cíngulo apresentou 63,6% (2551 pontos) e a porção posterior 53% (2125 pontos) deslocados para dentro. (figura 8; tabela 6).

Figura 8: Resultados da análise de formato do giro do cíngulo comparando pacientes com EMJ e controles

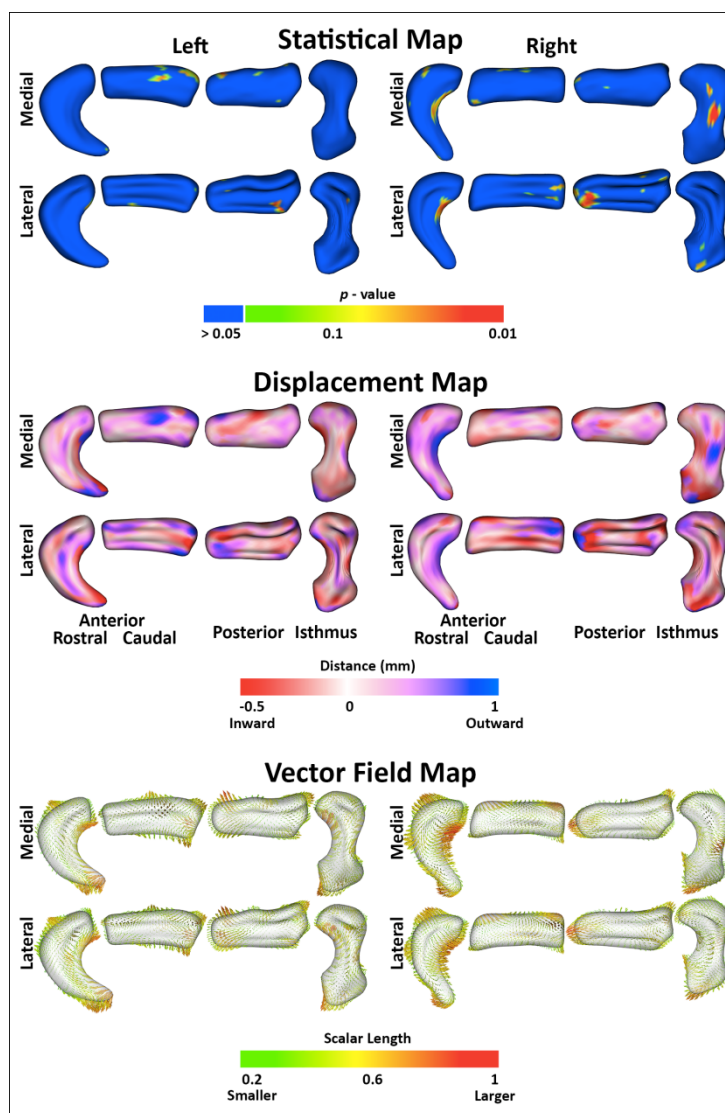


Tabela 6: Resultados da análise de formato do giro do cíngulo de pacientes com EMJ e controles, mostrando a área obtida das células triangulares, número máximo de pontos adjacentes com significância estatística, número total de pontos com significância estatística e o valor de p máximo de acordo com a localização

	Área (mm ²)	Tamanho máximo do agrupamento (pontos)	Total	Valor máximo de p	Localização
Esquerda	2	4	5	0,012	anterior rostral
	19	19	41	0,012	anterior caudal
	22	14	34	<0,001	posterior
	0	2	2	0,022	istmo
Direita	61	55	95	<0,001	anterior rostral
	26	12	41	0,004	anterior caudal
	17	13	29	0,004	posterior
	24	16	29	<0,001	istmo

6. Discussão

Em relação aos dados demográficos do estudo, foi possível observar que os nossos pacientes apresentaram características clínicas semelhantes às populações de estudos epidemiológicos sobre o tema. Foi verificado um predomínio ligeiramente maior no sexo feminino. A idade média de início das crises foi de 15 anos de idade, dado concordante com a literatura considerando o menor número de pacientes com EA, para os quais as crises se iniciam mais precocemente.

Dos nossos pacientes, 71% estavam fazendo uso de monoterapia, destacando a boa resposta ao tratamento medicamentoso. Apesar disso, notamos 28% em politerapia, sendo que 9% do total de pacientes fazia uso de 3 FAE, sem controle adequado. No tocante às drogas utilizadas, constatamos o uso de valproato, a droga mais frequentemente indicada e mais eficaz para o tratamento de EGI, em apenas 34% dos casos. Este fato pode ser resultado, em parte, do maior número de pacientes do sexo feminino em idade fértil incluído no estudo, já que é a FAE mais teratogênica. Em contrapartida, 34% dos pacientes estavam fazendo uso de carbamazepina, droga que pode piorar a frequência das crises de ausência e crises mioclônicas. Isto talvez tenha influenciado o tempo livre de crises, que variou de alguns dias a 7 anos, com média de $1,3 \pm 1,8$ anos. O uso desta medicação pode ser atribuído à dificuldade de reconhecer as EGI, bem como ao atendimento não especializado. Muitos destes pacientes foram encaminhados recentemente ao serviço e, portanto, ainda estavam utilizando a medicação prescrita no atendimento primário.

A média de tempo livre de crise, de 1,3 anos, foi baixa uma vez que todos os pacientes estavam em uso de FAE e a maioria deles apresentava EMJ, subsíndrome cuja taxa de remissão total de crises em monoterapia com droga adequada em baixas doses é alta. Isto pode ser explicado pelo tratamento inapropriado e pela maior complexidade dos casos atendidos no ambulatório de epilepsia da FMB, já que pertence ao nível terciário de atenção à saúde e, em geral, pacientes com doença de fácil controle deixam de ser referenciados ao serviço. Outrossim, todos os pacientes com EA incluídos no estudo apresentavam CTCG e um apresentava crises mioclônicas, fatores relacionados a farmacorresistência na EA.

Quanto ao tipo de crise, todos os pacientes com EMJ apresentaram crises mioclônicas e CTCG e um (5%) deles também manifestou crises de ausência. A incidência de CTCG em pacientes com EMJ é de 90-95% e de crises de ausência é de 10-18%.

Os resultados da análise quantitativa do EEG mostraram localização das descargas nos lobos frontais e giro do cíngulo enquanto que as análises da RM evidenciaram alterações sutis, especialmente, nas porções anterior e posterior do giro do cíngulo.

Os avanços no desenvolvimento de técnicas de localização permitiram estimar a distribuição das descargas generalizadas de maneira mais acurada e relacioná-las a fontes elétricas em regiões específicas do córtex cerebral. (126,127)

Alguns estudos neurofisiológicos prévios com um número menor de pacientes demonstraram envolvimento frontal no início das descargas generalizadas em pacientes com EGI. Um deles incluiu cinco pacientes com EMJ. Os dipolos foram localizados nos lobos frontal, parietal e temporal, sendo os dipolos frontais agrupados na porção medial do lobo frontal, como no nosso estudo, e na região orbito-frontal. (128) Em outra ocasião, investigadores avaliaram características ictais de 12 pacientes com crises de ausência e detectaram início da descarga no córtex frontal lateral. (41)

No nosso estudo, incluímos um grupo de 64 pacientes com diversos subtipos de EGI e houve um predomínio de fontes geradoras localizadas nos lobos frontais em 68% dos focos encontrados quando aplicada análise de dipolo equivalente com transformação em imagem (DSI), em 74% quando usado o método CLARA e em 63% quando realizada a técnica de dipolo equivalente de componentes independentes com análise de agrupamentos. Em termos de giros cerebrais, os que mais foram indicados como fontes de dipolos foram a porção medial do lobo frontal e o giro do cíngulo.

A porção anterior do giro do cíngulo é uma estrutura chave envolvida na motivação e comportamentos objetivo dirigidos.(129,130) Anormalidades do giro do cíngulo anterior se correlacionaram com a impulsividade em estudos sobre transtorno bipolar. (131)

É sabido que os pacientes com EGI podem exibir alterações de conectividade estruturais e funcionais com o tálamo e porção anterior do giro do cíngulo. (132) Dessa maneira, as alterações observadas podem estar, até certo ponto, implicadas na impulsividade aumentada dos pacientes com EGI.(133)

Os gânglios da base foram apontados como geradores de descargas epileptiformes em 12% dos resultados, sendo o núcleo caudado o mais frequentemente envolvido. Esta estrutura é funcionalmente relacionada a várias funções corticais superiores e participa diretamente da alça tálamo-cortical. (134) A morfologia das descargas e as características clínicas dos casos que foram localizados nos gânglios da base foram heterogêneas, similarmente a outras fontes geradoras encontradas.

Existem exames eletroencefalográficos com um maior número de eletrodos e canais. Seu uso possibilita uma melhor acurácia de localização das descargas epileptiformes. (113,135) Um estudo que incluiu 14 pacientes com epilepsia, a distância entre a fonte apontada como geradora da descarga e a lesão foram de 0 a 76 mm quando 31 eletrodos foram usados e 2 a 46 mm quando 123 eletrodos foram utilizados. (136) Porém acreditamos que a importância do trabalho reside também no fato de conseguirmos apresentar resultados consistentes com um exame eletroencefalográfico que é o habitualmente usado na prática clínica diária.

Foram utilizados três métodos diferentes de localização e um número grande de descargas epileptiformes para minimizar possíveis erros relacionados ao número limitado de eletrodos, e os resultados apresentados são concordantes entre si e com os de estudos em que o número de eletrodos no EEG foi maior. Um estudo usando EEG de alta densidade em 10 pacientes com EMJ também mostrou origens das descargas generalizadas no córtex das regiões mesiofrontal e orbitofrontal além de propagação para a região temporal. (40) Investigando descargas ictais em pacientes com EA, o mesmo grupo de autores encontrou alterações indicativas de início focal das descargas generalizadas espícula-onda 3 Hz na região mesial do lobo frontal e no córtex orbitofrontal. (137)

Os resultados da análise quantitativa do EEG demonstram que as técnicas utilizadas podem detectar anormalidades focais nas descargas epileptiformes de pacientes com EGI. Não houve uma fonte geradora comum das descargas epileptiformes generalizadas, porém verificou-se uma clara predominância em regiões

frontais e giro do cíngulo. Esta variabilidade também foi descrita em outros trabalhos que abordaram o tema, com a utilização de investigações quantitativas diferentes. Ela pode se dever a mecanismos fisiopatológicos ligeiramente diferentes a depender da subsíndrome de EGI e/ou do defeito genético subjacente, já que se sabe que diferentes alterações genéticas foram associadas a cada um dos subtipos de EGI. (138)

Em razão dos achados de localização eletroencefalográfica, foram realizadas análises para investigação da presença de alterações no giro do cíngulo na RM dos pacientes com EGI.

No campo de neuroimagem, os métodos de análise quantitativa aliados a imagens com resoluções cada vez melhores também têm proporcionado condições para detecção de anormalidades anteriormente não percebidas. (139)

Investigações estruturais em pacientes com EGI usaram VBM em sua maioria. Aumento e redução de volume de substância cinzenta foram descritos de maneira consistente, especialmente nos lobos frontais. (42,140)

Alguns estudos com RM quantitativa relataram alterações no giro do cíngulo. Ronan e colaboradores utilizaram o Freesurfer para examinar a morfologia cortical de pacientes com EMJ. Alterações na morfologia cortical foram encontradas em áreas corticais insulares, giro do cíngulo esquerdo e giro temporal inferior direito. (141)

Treze pacientes com EA foram avaliados e se revelou volumes de substância branca reduzidos nas porções anterior e posterior do giro do cíngulo. (66)

Neste estudo, anormalidades estruturais sutis foram detectadas no giro do cíngulo de pacientes com EGI. Baseado na abordagem do modelo neurobiológico, o giro do cíngulo é dividido em córtex da porção anterior, córtex da porção média, córtex da porção posterior e córtex retroesplênica (istmo) do giro do cíngulo. (142)

De acordo com este modelo, os achados do nosso estudo são mais aparentes nas regiões do córtex de porção anterior e posterior. Estas áreas são funcionalmente relacionadas com cognição, emoção e orientação visuoespacial. (142)

Crises que envolvem a porção anterior podem causar alteração de consciência, que é provavelmente explicada pela relação de proximidade com as estruturas do lobo temporal medial. (130) Assim, a porção anterior pode estar envolvida

nas similaridades entre as crises focais com alteração de consciência e as crises de ausência.

Para todo o grupo com EGI, a VBM mostrou áreas de redução de substância cinzenta, especialmente na região anterior, e a maior, mais significativa e com o agrupamento de voxels com maior significância estatística se localizou na região anterior caudal.

A análise de superfície cortical também demonstrou um número de anormalidades na porção anterior rostral, posterior e istmo. Apenas três parâmetros diferiram na porção anterior caudal.

A análise de formato mostrou áreas com maior significância estatística nas porções anterior rostral, posterior e istmo.

Apesar da distribuição aparentemente difusa, a observação e os mapas estatísticos revelam maior envolvimento da região anterior e da região posterior.

Considerando apenas pacientes com EMJ, este padrão foi sustentado e ficou mais claro.

Como citado anteriormente, o envolvimento do giro do cíngulo foi descrito em algumas pesquisas, mas um estudo especificamente para esta localização não havia sido encontrado durante a revisão de literatura.

Um estudo de conectividade anatômica e funcional inter-hemisférico em pacientes com EGI mostrou aumento da conectividade funcional entre o cúneo bilateral e porção anterior do giro do cíngulo. Também mostrou uma extensão menor das faixas de fibras comissurais conectando o córtex anterior do giro do cíngulo. Este achado fundamenta a hipótese de que o córtex da porção anterior do giro do cíngulo esteja envolvido na fisiopatologia das CTCG.(143)

A porção posterior do giro do cíngulo pode estar envolvida no mecanismo da geração das descargas generalizadas. Um estudo usando EEG e RMf em 15 pacientes com crises de ausência e 262 descargas mostrou alterações no sinal BOLD primariamente no pre-cúneo e porção posterior do giro do cíngulo, iniciando-se 10 segundos antes das descargas, aproximadamente. No início das descargas, aumentos do

sinal BOLD foram localizados no tálamo, cerebelo e porção anterior do giro do cíngulo. (144)

Outros trabalhos utilizando diferentes metodologias com análises de padrões estruturais, metabólicos e funcionais também encontraram diferenças consistentes entre controles e pacientes no giro do cíngulo. (140) Estes achados indicam que a EGI é um grupo de doenças com anormalidades focais e enfatizam a importância do giro do cíngulo.

Usando SPECT para investigar o fluxo sanguíneo interictal em pacientes com EGI sem tratamento, demonstrou-se reduções de fluxo em várias regiões incluindo as porções anterior e posterior do córtex do giro do cíngulo. (145)

Espectroscopia multivoxel investigando 18 indivíduos com ECTCG mostrou anormalidades envolvendo o cíngulo. Os pacientes apresentaram uma redução dos níveis totais de N-acetil-aspartato, colina e mio-inositol, e um aumento das concentrações de glutamina e glutamato. (71)

Outra evidência que também aponta para as características focais da EGI são as alterações cognitivas que se pensava que eram mínimas ou inexistente nestas entidades. Como dito anteriormente, estudos recentes mostraram déficits em domínios de funções de lobo frontal, como raciocínio não verbal, atenção e memória de trabalho. (146) A porção anterior do giro do cíngulo também tem um papel nestas funções. (142)

Tanto pacientes quanto controles se apresentaram com pelo menos um parâmetro anormal na análise cortical do giro do cíngulo (91% para pacientes e 92% para controles). A média do número de parâmetros corticais anormais por indivíduo foi ligeiramente superior para o grupo de pacientes (3,5 para pacientes e 2,5 para controles). Isto indica que o método utilizado pode não ser o mais adequado para a avaliação de alterações no giro do cíngulo no nosso grupo de pacientes, já que os sujeitos do grupo controle apresentaram resultados não uniformes e alterados (alta sensibilidade do método).

A análise estatística no modelo de superfície tridimensional mostrou apenas anormalidades sutis. Resultados negativos em imagem funcional e estrutural já foram descritos na EMJ. Em um estudo de 19 pacientes, nenhuma anormalidade foi

encontrada na VBM e os pacientes não tiveram diferenças na memória de trabalho em relação aos controles quando investigados com a RMf. (147)

O estudo de imagem realizado também teve algumas limitações. A análise estatística de neuroimagem foi menos rigorosa, o que pode ter gerado resultados falso positivos. Análises em região de interesse foram realizadas e provavelmente ajudaram a minimizar possíveis erros. A amostra estudada também pode ter introduzido algum viés. A maioria dos pacientes ainda estava apresentando crises. Além disso, alguns estavam fazendo uso de drogas antiepiléticas inadequadas, como carbamazepina, oxcarbazepina e fenitoína. Apesar de os grupos serem comparáveis para idade e sexo, o tamanho da amostra é um fator que pode ter limitado o poder estatístico.

Apesar de dados mostrarem anormalidades no córtex de pacientes com EGI, é importante destacar que as manifestações clínicas habituais são diferentes da epilepsia do giro do cíngulo, em que as manifestações ictais são atividades motoras complexas. (130) Entretanto, há relatos de crises mioclônicas em pacientes com epilepsia focal de giro do cíngulo. (148,149)

Por fim, as porções anterior e posterior do giro do cíngulo podem ter função no início ou na propagação das descargas generalizadas em pacientes com EGI e poderia ser então um condutor primário da doença mais do que uma consequência, mas investigação a respeito ainda é necessária para testar esta hipótese.

Os resultados deste trabalho e de outras investigações recentes apontam para a mudança de paradigma na classificação das epilepsias já que as ditas epilepsias generalizadas em realidade apresentam alterações estruturais focais que determinam não apenas crises epiléticas como também déficits cognitivos específicos sutis e diferenças nos padrões comportamentais em relação a população geral.

A melhor caracterização deste grupo de doenças por meio da descrição detalhada de sua patogênese é de grande importância para o recrutamento de populações mais homogêneas facilitando e melhorando o delineamento de pesquisas sobre o tema.

Futuramente, o entendimento pormenorizado dos aspectos clínicos, neurofisiológicos e de neuroimagem das EGI pode levar ao desenvolvimento de novas e mais apropriadas opções terapêuticas, reduzindo assim a morbidade e o impacto na qualidade de vida associado.

7. Conclusões

1- Na análise quantitativa do EEG, às áreas identificadas de forma mais frequente como possíveis geradoras da atividade epileptiforme generalizada foram a porção anterior do giro do cíngulo e porção medial do lobo frontal.

2- Na análise quantitativa da RM, foram identificadas diferenças sutis entre pacientes com epilepsia generalizada idiopática e controles no volume de substância cinzenta, formato e espessura do giro do cíngulo.

8. Referências

1. Asadi-Pooya AA, Emami M, Sperling MR. A clinical study of syndromes of idiopathic (genetic) generalized epilepsy. *J Neurol Sci.* 2013 Jan;324(1-2):113–7.
2. Jallon P, Latour P. Epidemiology of idiopathic generalized epilepsies. *Epilepsia.* 2005;46 Suppl 9:10–4.
3. Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, van Emde Boas W, 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 Apr;51(4):676–85.
4. Wolf P. History of epilepsy: nosological concepts and classification. *Epileptic Disord Int Epilepsy J Videotape.* 2014 Sep;16(3):261–9.
5. Nordli DR. Idiopathic generalized epilepsies recognized by the International League Against Epilepsy. *Epilepsia.* 2005;46 Suppl 9:48–56.
6. Mac TL, Tran D-S, Quet F, Odermatt P, Preux P-M, Tan CT. Epidemiology, aetiology, and clinical management of epilepsy in Asia: a systematic review. *Lancet Neurol.* 2007 Jun;6(6):533–43.
7. Banerjee PN, Filippi D, Allen Hauser W. The descriptive epidemiology of epilepsy-a review. *Epilepsy Res.* 2009 Jul;85(1):31–45.
8. Forsgren L, Beghi E, Oun A, Sillanpää M. The epidemiology of epilepsy in Europe - a systematic review. *Eur J Neurol Off J Eur Fed Neurol Soc.* 2005 Apr;12(4):245–53.
9. Engel J. *Seizures and Epilepsy.* OUP USA; 2013. 732 p.
10. Shorvon SD, Andermann F, Guerrini R. *The Causes of Epilepsy: Common and Uncommon Causes in Adults and Children.* Cambridge University Press; 2011. 833 p.
11. Wolf P, Yacubian EMT, Avanzini G, Sander T, Schmitz B, Wandschneider B, et al. Juvenile myoclonic epilepsy: A system disorder of the brain. *Epilepsy Res.* 2015 Aug;114:2–12.
12. Janz D. Juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsy with impulsive petit mal. Cleve Clin J Med.* 1989;56 Suppl Pt 1:S23–33; discussion S40–2.
13. Sousa P da S, Lin K, Garzon E, Sakamoto AC, Yacubian EMT. Language- and praxis-induced jerks in patients with juvenile myoclonic epilepsy. *Epileptic Disord.* 2005 Jun 1;7(2):115–21.
14. Montalenti E, Imperiale D, Rovera A, Bergamasco B, Benna P. Clinical features, EEG findings and diagnostic pitfalls in juvenile myoclonic epilepsy: a series of 63 patients. *J Neurol Sci.* 2001 Feb 15;184(1):65–70.

15. Létourneau K, Cieuta-Walti C, Deacon C. Epileptiform asymetries and treatment response in juvenile myoclonic epilepsy. *Can J Neurol Sci.* 2010 Nov;37(6):826–30.
16. French JA, Kanner AM, Bautista J, Abou-Khalil B, Browne T, Harden CL, et al. Efficacy and tolerability of the new antiepileptic drugs I: Treatment of new onset epilepsy: Report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee and Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the American Epilepsy Society. *Neurology.* 2004 Apr 27;62(8):1252–60.
17. Beydoun A, D’Souza J. Treatment of idiopathic generalized epilepsy – a review of the evidence. *Expert Opin Pharmacother.* 2012 Jun;13(9):1283–98.
18. Bonnett LJ, Smith CT, Donegan S, Marson AG. Treatment outcome after failure of a first antiepileptic drug. *Neurology.* 2014;83(6):552–60.
19. Tomson T, Marson A, Boon P, Canevini MP, Covanis A, Gaily E, et al. Valproate in the treatment of epilepsy in girls and women of childbearing potential. *Epilepsia.* 2015 Jul;56(7):1006–19.
20. Crespel A, Gelisse P, Reed RC, Ferlazzo E, Jerney J, Schmitz B, et al. Management of juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2013 Jul;28 Suppl 1:S81–6.
21. Nickels K. Seizure and Psychosocial Outcomes of Childhood and Juvenile Onset Generalized Epilepsies: Wolf in Sheep’s Clothing, or Well-Dressed Wolf? *Epilepsy Curr.* 2015;15(3):114–7.
22. Inoue Y, Kubota H. Juvenile myoclonic epilepsy with praxis-induced seizures. In: *Juvenile myoclonic epilepsy: the Janz syndrome.* Petersfield: Wrightson; 2000. p. 73–81.
23. Lu Y, Wang X. Genes associated with idiopathic epilepsies: a current overview. *Neurol Res.* 2009 Mar;31(2):135–43.
24. Sapio MR, Vessaz M, Thomas P, Genton P, Fricker LD, Salzmann A. Novel Carboxypeptidase A6 (CPA6) Mutations Identified in Patients with Juvenile Myoclonic and Generalized Epilepsy. *PLoS ONE.* 2015 Apr 13;10(4):e0123180.
25. Berg AT, Levy SR, Testa FM, Blumenfeld H. Long-term seizure remission in childhood absence epilepsy: might initial treatment matter? *Epilepsia.* 2014 Apr;55(4):551–7.
26. Matricardi S, Verrotti A, Chiarelli F, Cerminara C, Curatolo P. Current advances in childhood absence epilepsy. *Pediatr Neurol.* 2014 Mar;50(3):205–12.
27. Caraballo RH, Dalla Bernardina B. Idiopathic generalized epilepsies. *Handb Clin Neurol.* 2013;111:579–89.
28. Danhofer P, Brázdil M, Ošlejšková H, Kuba R. Long-term seizure outcome in patients with juvenile absence epilepsy; a retrospective study in a tertiary referral center. *Seizure.* 2014 Jun;23(6):443–7.

29. Pavlović M, Jović N, Pekmezović T. Antiepileptic drugs withdrawal in patients with idiopathic generalized epilepsy. *Seizure*. 2011 Sep;20(7):520–5.
30. Marini C, King MA, Archer JS, Newton MR, Berkovic SF. Idiopathic generalised epilepsy of adult onset: clinical syndromes and genetics. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2003;74(2):192–6.
31. Betting LE, Mory SB, Lopes-Cendes I, Li LM, Guerreiro MM, Guerreiro CAM, et al. EEG features in idiopathic generalized epilepsy: clues to diagnosis. *Epilepsia*. 2006 Mar;47(3):523–8.
32. Meeren H, van Luijckelaar G, Lopes da Silva F, Coenen A. Evolving concepts on the pathophysiology of absence seizures: the cortical focus theory. *Arch Neurol*. 2005 Mar;62(3):371–6.
33. Penfield W, Jasper H. *Epilepsy and the functional anatomy of the human brain*. Oxford, England: Little, Brown & Co.; 1954. 896 p.
34. Jasper H, Kershman J. Electroencephalographic classification of the epilepsies. *Arch Neurol Psychiatry*. 1941;45:903–43.
35. Jasper HH, Droogleever-Fortuyn J. Thalamo-cortical systems and the electrical activity of the brain. *Fed Proc*. 1948 Mar;7(1 Pt 1):61.
36. Bennett FE. Intracarotid and intravertebral metrazol in petit mal epilepsy. *Neurology*. 1953 Sep;3(9):668–73.
37. Gloor P. Generalized cortico-reticular epilepsies. Some considerations on the pathophysiology of generalized bilaterally synchronous spike and wave discharge. *Epilepsia*. 1968 Sep;9(3):249–63.
38. Bancaud J, Talairach J, Morel P, Bresson M, Bonis A, Geier S, et al. “Generalized” epileptic seizures elicited by electrical stimulation of the frontal lobe in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1974 Sep;37(3):275–82.
39. Buzsáki G. The thalamic clock: emergent network properties. *Neuroscience*. 1991;41(2-3):351–64.
40. Holmes MD, Quiring J, Tucker DM. Evidence that juvenile myoclonic epilepsy is a disorder of frontotemporal corticothalamic networks. *NeuroImage*. 2010 Jan 1;49(1):80–93.
41. Tenney JR, Fujiwara H, Horn PS, Jacobson SE, Glauser TA, Rose DF. Focal corticothalamic sources during generalized absence seizures: a MEG study. *Epilepsy Res*. 2013 Sep;106(1-2):113–22.
42. Seneviratne U, Cook M, D’Souza W. Focal abnormalities in idiopathic generalized epilepsy: A critical review of the literature. *Epilepsia*. 2014 Aug;55(8):1157–69.
43. Betting LE, Mory SB, Lopes-Cendes I, Li LM, Guerreiro MM, Guerreiro CAM, et al. MRI reveals structural abnormalities in patients with idiopathic generalized epilepsy. *Neurology*. 2006;67(5):848–52.

44. Nakken KO, Solaas MH, Kjeldsen MJ, Friis ML, Pellock JM, Corey LA. The occurrence and characteristics of auras in a large epilepsy cohort. *Acta Neurol Scand*. 2009 Feb;119(2):88–93.
45. 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.
46. Aguglia U, Gambardella A, Piane EL, Messina D, Russo C, Oliveri RL, et al. Idiopathic generalized epilepsies with versive or circling seizures. *Acta Neurol Scand*. 1999 Apr 1;99(4):219–24.
47. Casaubon L, Pohlmann-Eden B, Khosravani H, Carlen PL, Wennberg R. VideoEEG evidence of lateralized clinical features in primary generalized epilepsy with tonic clonic seizures. *Epileptic Disord*. 2003 Sep 1;5(3):149–56.
48. Chin PS, Miller JW. Ictal head version in generalized epilepsy. *Neurology*. 2004 Jul 27;63(2):370–2.
49. Kiley MA, Smith SJ, Sander JW. Idiopathic generalized epilepsy presenting with hemiconvulsive seizures. *Epilepsia*. 2000 Dec;41(12):1633–6.
50. Park K-I, Lee SK, Chu K, Lee JJ, Kim DW, Nam H. The value of video-EEG monitoring to diagnose juvenile myoclonic epilepsy. *Seizure*. 2009 Mar;18(2):94–9.
51. Niaz FE, Abou-Khalil B, Fakhoury T. The generalized tonic-clonic seizure in partial versus generalized epilepsy: semiologic differences. *Epilepsia*. 1999 Nov;40(11):1664–6.
52. Aliberti V, Grünewald RA, Panayiotopoulos CP, Chroni E. Focal electroencephalographic abnormalities in juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsia*. 1994 Apr;35(2):297–301.
53. Hedström A, Olsson I. Epidemiology of absence epilepsy: EEG findings and their predictive value. *Pediatr Neurol*. 1991 Apr;7(2):100–4.
54. Jayalakshmi SS, Srinivasa Rao B, Sailaja S. Focal clinical and electroencephalographic features in patients with juvenile myoclonic epilepsy. *Acta Neurol Scand*. 2010 Aug;122(2):115–23.
55. Lombroso CT. Consistent EEG focalities detected in subjects with primary generalized epilepsies monitored for two decades. *Epilepsia*. 1997 Jul;38(7):797–812.
56. Matur Z, Baykan B, Bebek N, Gürses C, Altındağ E, Gökyiğit A. The evaluation of interictal focal EEG findings in adult patients with absence seizures. *Seizure*. 2009 Jun;18(5):352–8.
57. Pulsipher DT, Seidenberg M, Guidotti L, Tuchscherer VN, Morton J, Sheth RD, et al. Thalamofrontal circuitry and executive dysfunction in recent-onset juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsia*. 2009 May;50(5):1210–9.

58. Ciumas C, Savic I. Structural changes in patients with primary generalized tonic and clonic seizures. *Neurology*. 2006 Aug 22;67(4):683–6.
59. Natsume J, Bernasconi N, Andermann F, Bernasconi A. MRI volumetry of the thalamus in temporal, extratemporal, and idiopathic generalized epilepsy. *Neurology*. 2003 Apr 22;60(8):1296–300.
60. Betting LE, Mory SB, Lopes-Cendes I, Li LM, Guerreiro MM, Guerreiro CAM, et al. MRI volumetry shows increased anterior thalamic volumes in patients with absence seizures. *Epilepsy Behav*. 2006 May;8(3):575–80.
61. Tae WS, Hong SB, Joo EY, Han SJ, Cho J-W, Seo DW, et al. Structural brain abnormalities in juvenile myoclonic epilepsy patients: volumetry and voxel-based morphometry. *Korean J Radiol*. 2006 Sep;7(3):162–72.
62. Caplan R, Levitt J, Siddarth P, Wu KN, Gurbani S, Sankar R, et al. Frontal and temporal volumes in Childhood Absence Epilepsy. *Epilepsia*. 2009 Nov;50(11):2466–72.
63. Betting LE, Mory SB, Li LM, Lopes-Cendes I, Guerreiro MM, Guerreiro CAM, et al. Voxel-based morphometry in patients with idiopathic generalized epilepsies. *NeuroImage*. 2006 Aug;32(2):498–502.
64. Helms G, Ciumas C, Kyaga S, Savic I. Increased thalamus levels of glutamate and glutamine (Glx) in patients with idiopathic generalised epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2006 Apr;77(4):489–94.
65. Kim JH, Lee JK, Koh S-B, Lee S-A, Lee J-M, Kim SI, et al. Regional grey matter abnormalities in juvenile myoclonic epilepsy: A voxel-based morphometry study. *NeuroImage*. 2007 Oct;37(4):1132–7.
66. Chan CH, Briellmann RS, Pell GS, Scheffer IE, Abbott DF, Jackson GD. Thalamic Atrophy in Childhood Absence Epilepsy. *Epilepsia*. 2006 Feb 1;47(2):399–405.
67. Lin K, Jackowski AP, Carrete H, de Araújo Filho GM, Silva HH, Guaranha MSB, et al. Voxel-based morphometry evaluation of patients with photosensitive juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsy Res*. 2009 Oct;86(2-3):138–45.
68. Pardoe H, Pell GS, Abbott DF, Berg AT, Jackson GD. Multi-site voxel-based morphometry: methods and a feasibility demonstration with childhood absence epilepsy. *NeuroImage*. 2008 Aug 15;42(2):611–6.
69. 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 J Neurol*. 1999 Nov;122 (Pt 11):2101–8.
70. Simister RJ, McLean MA, Barker GJ, Duncan JS. Proton MRS reveals frontal lobe metabolite abnormalities in idiopathic generalized epilepsy. *Neurology*. 2003 Oct 14;61(7):897–902.

71. Doelken MT, Mennecke A, Stadlbauer A, Kecskeméti L, Kasper BS, Struffert T, et al. Multi-voxel magnetic resonance spectroscopy at 3 T in patients with idiopathic generalised epilepsy. *Seizure*. 2010 Oct;19(8):485–92.
72. Kabay SC, Gumustas OG, Karaman HO, Ozden H, Erdinc O. A proton magnetic resonance spectroscopic study in juvenile absence epilepsy in early stages. *Eur J Paediatr Neurol*. 2010 May;14(3):224–8.
73. Haki C, Gumustas OG, Bora I, Gumustas, Oguzhan Guven AU, Parlak M. Proton magnetic resonance spectroscopy study of bilateral thalamus in juvenile myoclonic epilepsy. *Seizure*. 2007 Jun;16(4):287–95.
74. Bernasconi A, Bernasconi N, Natsume J, Antel SB, Andermann F, Arnold DL. Magnetic resonance spectroscopy and imaging of the thalamus in idiopathic generalized epilepsy. *Brain J Neurol*. 2003 Nov;126(Pt 11):2447–54.
75. Fojtiková D, Brázdil M, Horký J, Mikl M, Kuba R, Krupa P, et al. Magnetic resonance spectroscopy of the thalamus in patients with typical absence epilepsy. *Seizure*. 2006 Oct;15(7):533–40.
76. Mory SB, Li LM, Guerreiro CAM, Cendes F. Thalamic dysfunction in juvenile myoclonic epilepsy: a proton MRS study. *Epilepsia*. 2003 Nov;44(11):1402–5.
77. Lin K, Carrete H, Lin J, Peruchi MM, de Araújo Filho GM, Guaranha MSB, et al. Magnetic resonance spectroscopy reveals an epileptic network in juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsia*. 2009 May;50(5):1191–200.
78. Savic I, Lekvall A, Greitz D, Helms G. MR spectroscopy shows reduced frontal lobe concentrations of N-acetyl aspartate in patients with juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsia*. 2000 Mar;41(3):290–6.
79. Aghakhani Y, Bagshaw AP, Bénar CG, Hawco C, Andermann F, Dubeau F, et al. fMRI activation during spike and wave discharges in idiopathic generalized epilepsy. *Brain J Neurol*. 2004 May;127(Pt 5):1127–44.
80. Archer JS, Abbott DF, Waites AB, Jackson GD. fMRI “deactivation” of the posterior cingulate during generalized spike and wave. *NeuroImage*. 2003 Dec;20(4):1915–22.
81. Bai X, Vestal M, Berman R, Negishi M, Spann M, Vega C, et al. Dynamic time course of typical childhood absence seizures: EEG, behavior, and functional magnetic resonance imaging. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2010 Apr 28;30(17):5884–93.
82. Berman R, Negishi M, Vestal M, Spann M, Chung MH, Bai X, et al. Simultaneous EEG, fMRI, and behavior in typical childhood absence seizures. *Epilepsia*. 2010 Oct;51(10):2011–22.
83. Gotman J, Grova C, Bagshaw A, Kobayashi E, Aghakhani Y, Dubeau F. Generalized epileptic discharges show thalamocortical activation and suspension of the default state of the brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Oct 18;102(42):15236–40.

84. Hamandi K, Salek-Haddadi A, Laufs H, Liston A, Friston K, Fish DR, et al. EEG-fMRI of idiopathic and secondarily generalized epilepsies. *NeuroImage*. 2006 Jul 15;31(4):1700–10.
85. Szaflarski JP, DiFrancesco M, Hirschauer T, Banks C, Privitera MD, Gotman J, et al. Cortical and subcortical contributions to absence seizure onset examined with EEG/fMRI. *Epilepsy Behav*. 2010 Aug;18(4):404–13.
86. Moeller F, LeVan P, Muhle H, Stephani U, Dubeau F, Siniatchkin M, et al. Absence seizures: individual patterns revealed by EEG-fMRI. *Epilepsia*. 2010 Oct;51(10):2000–10.
87. Moeller F, Maneshi M, Pittau F, Gholipour T, Bellec P, Dubeau F, et al. Functional connectivity in patients with idiopathic generalized epilepsy. *Epilepsia*. 2011 Mar;52(3):515–22.
88. Moeller F, Siebner HR, Wolff S, Muhle H, Boor R, Granert O, et al. Changes in activity of striato-thalamo-cortical network precede generalized spike wave discharges. *NeuroImage*. 2008 Feb 15;39(4):1839–49.
89. Dickson JM. Idiopathic generalised epilepsy: a pilot study of memory and neuronal dysfunction in the temporal lobes, assessed by magnetic resonance spectroscopy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2006 Mar 20;77(7):834–40.
90. Gascoigne MB, Barton B, Webster R, Gill D, Lah S. Autobiographical memory in children with Idiopathic Generalised Epilepsy. *Neuropsychologia*. 2015 Jan;66:10–7.
91. Raud T, Kaldoja M-L, Kolk A. Relationship between social competence and neurocognitive performance in children with epilepsy. *Epilepsy Behav*. 2015 Sep 23;52(Pt A):93–101.
92. Realmuto S, Zummo L, Cerami C, Agrò L, Dodich A, Canessa N, et al. Social cognition dysfunctions in patients with epilepsy: Evidence from patients with temporal lobe and idiopathic generalized epilepsies. *Epilepsy Behav*. 2015 Jun;47:98–103.
93. Tsiptsios DI, Howard RS, Koutroumanidis MA. Electroencephalographic assessment of patients with epileptic seizures. *Expert Rev Neurother*. 2010 Dec;10(12):1869–86.
94. Koutroumanidis M, Smith S. Use and abuse of EEG in the diagnosis of idiopathic generalized epilepsies. *Epilepsia*. 2005;46 Suppl 9:96–107.
95. Olejniczak P. Neurophysiologic basis of EEG. *J Clin Neurophysiol Off Publ Am Electroencephalogr Soc*. 2006 Jun;23(3):186–9.
96. Montenegro MA, Cendes F, Guerreiro MM, Guerreiro CAM. EEG na prática clínica. 2nd ed. São Paulo: Revinter; 2011.
97. Cirelli C, Tononi G. Cortical development, electroencephalogram rhythms, and the sleep/wake cycle. *Biol Psychiatry*. 2015 Jun 15;77(12):1071–8.

98. Niedermeyer E. Epileptic seizure disorders. In: *Electroencephalography – Basic Principles, Clinical Applications and Related Fields*. 4th ed. Williams & Williams; 2001. p. 461–564.
99. Pedley TA, Mendiratta A, Walczak TS. Seizures and Epilepsy. In: *Current practice of clinical electroencephalography*. 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2003.
100. Witte OW. Afterpotentials of penicillin-induced epileptiform neuronal discharges in the motor cortex of the rat in vivo. *Epilepsy Res*. 1994 May;18(1):43–55.
101. Blum DE. Computer-based electroencephalography: technical basics, basis for new applications, and potential pitfalls. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1998 Feb;106(2):118–26.
102. Kaiser DA. Basic Principles of Quantitative EEG. *J Adult Dev*. 2005 Aug;12(2-3):99–104.
103. Luccas FJ, Anghinah R, Braga NI, Fonseca LC, Frochtengarten ML, Jorge MS, et al. Guidelines for recording/analyzing quantitative EEG and evoked potentials. Part II: Clinical aspects. *Arq Neuropsiquiatr*. 1999 Mar;57(1):132–46.
104. Thakor NV, Tong S. Advances in quantitative electroencephalogram analysis methods. *Annu Rev Biomed Eng*. 2004;6:453–95.
105. Kamarajan C, Porjesz B. Advances in Electrophysiological Research. *Alcohol Res Curr Rev*. 2015;37(1):53–87.
106. Tsai ML, Hung KL. Topographic mapping and clinical analysis of benign childhood epilepsy with centrotemporal spikes. *Brain Dev*. 1998 Jan;20(1):27–32.
107. Clemens B. Abnormal quantitative EEG scores identify patients with complicated idiopathic generalized epilepsy. *Seizure*. 2004 Sep;13(6):366–74.
108. Betting LE, Li LM, Lopes-Cendes I, Guerreiro MM, Guerreiro CAM, Cendes F. Correlation between quantitative EEG and MRI in idiopathic generalized epilepsy. *Hum Brain Mapp*. 2010 Sep;31(9):1327–38.
109. Tikka SK, Goyal N, Umesh S, Nizamie SH. Juvenile myoclonic epilepsy: Clinical characteristics, standard and quantitative electroencephalography analyses. *J Pediatr Neurosci*. 2013 May;8(2):97–103.
110. Hallez H, Vanrumste B, Grech R, Muscat J, De Clercq W, Vergult A, et al. Review on solving the forward problem in EEG source analysis. *J Neuroengineering Rehabil*. 2007;4:46.
111. Musha T, Okamoto Y. Forward and inverse problems of EEG dipole localization. *Crit Rev Biomed Eng*. 1999;27(3-5):189–239.
112. Koles ZJ. Trends in EEG source localization. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1998;106(2):127–37.

113. Michel CM, Murray MM, Lantz G, Gonzalez S, Spinelli L, Grave de Peralta R. EEG source imaging. *Clin Neurophysiol.* 2004 Oct;115(10):2195–222.
114. Scherg M, Ebersole JS. Brain source imaging of focal and multifocal epileptiform EEG activity. *Clin Neurophysiol.* 1994 Jan;24(1):51–60.
115. Pascual-Marqui RD, Michel CM, Lehmann D. Low resolution electromagnetic tomography: a new method for localizing electrical activity in the brain. *Int J Psychophysiol Off J Int Organ Psychophysiol.* 1994 Oct;18(1):49–65.
116. Taha AA, Hanbury A. Metrics for evaluating 3D medical image segmentation: analysis, selection, and tool. *BMC Med Imaging.* 2015 Aug 12;15.
117. Ashburner J, Friston KJ. Voxel-Based Morphometry—The Methods. *NeuroImage.* 2000 Jun;11(6):805–21.
118. Yasuda CL, Betting LE, Cendes F. Voxel-based morphometry and epilepsy. *Expert Rev Neurother.* 2010 Jun;10(6):975–84.
119. Kim JH, Kim JB, Seo W-K, Suh S-I, Koh S-B. Volumetric and shape analysis of thalamus in idiopathic generalized epilepsy. *J Neurol.* 2013 Jul;260(7):1846–54.
120. Sadleir LG, Scheffer IE, Smith S, Carstensen B, Farrell K, Connolly MB. EEG features of absence seizures in idiopathic generalized epilepsy: impact of syndrome, age, and state. *Epilepsia.* 2009 Jun;50(6):1572–8.
121. 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.
122. Talairach J, Tournoux P. Co-planar stereotaxic atlas of the human brain: 3-dimensional proportional system : an approach to cerebral imaging. Stuttgart; New York; New York: G. Thieme ; Thieme Medical Publishers; 1988.
123. Rorden C, Brett M. Stereotaxic display of brain lesions. *Behav Neurol.* 2000;12(4):191–200.
124. 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 Jan;15(1):273–89.
125. Styner M, Oguz I, Xu S, Brechbühler C, Pantazis D, Levitt JJ, et al. Framework for the statistical shape analysis of brain structures using SPHARM-PDM. *Insight J.* 2006;(1071):242.
126. Jatoi MA, Kamel N, Malik AS, Faye I, Begum T. A survey of methods used for source localization using EEG signals. *Biomed Signal Process Control.* 2014 May;11:42–52.
127. Ilmoniemi RJ. Models of source currents in the brain. *Brain Topogr.* 1993;5(4):331–6.

128. Santiago-Rodríguez E, Harmony T, Fernández-Bouzas A, Hernández-Balderas A, Martínez-López M, Graef A, et al. Source analysis of polyspike and wave complexes in juvenile myoclonic epilepsy. *Seizure*. 2002 Jul;11(5):320–4.
129. Walton ME, Croxson PL, Behrens TEJ, Kennerley SW, Rushworth MFS. Adaptive decision making and value in the anterior cingulate cortex. *NeuroImage*. 2007;36:T142–54.
130. Devinsky O, Morrell MJ, Vogt BA. Contributions of anterior cingulate cortex to behaviour. *Brain J Neurol*. 1995 Feb;118 (Pt 1):279–306.
131. Matsuo K, Nicoletti MA, Peluso MAM, Hatch JP, Nemoto K, Watanabe Y, et al. Anterior cingulate volumes associated with trait impulsivity in individuals with bipolar disorder. *Bipolar Disord*. 2009 Sep;11(6):628–36.
132. Zhang Z, Liao W, Chen H, Mantini D, Ding J-R, Xu Q, et al. Altered functional-structural coupling of large-scale brain networks in idiopathic generalized epilepsy. *Brain J Neurol*. 2011 Oct;134(Pt 10):2912–28.
133. Moschetta S, Valente KD. Impulsivity and seizure frequency, but not cognitive deficits, impact social adjustment in patients with juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsia*. 2013 May;54(5):866–70.
134. Haber SN. The primate basal ganglia: parallel and integrative networks. *J Chem Neuroanat*. 2003 Dec;26(4):317–30.
135. Mégevand P, Spinelli L, Genetti M, Brodbeck V, Momjian S, Schaller K, et al. Electric source imaging of interictal activity accurately localises the seizure onset zone. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2014 Jan;85(1):38–43.
136. Lantz G, Grave de Peralta R, Spinelli L, Seeck M, Michel CM. Epileptic source localization with high density EEG: how many electrodes are needed? *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2003 Jan;114(1):63–9.
137. Holmes MD, Brown M, Tucker DM. Are “generalized” seizures truly generalized? Evidence of localized mesial frontal and frontopolar discharges in absence. *Epilepsia*. 2004 Dec;45(12):1568–79.
138. Myers CT, Mefford HC. Advancing epilepsy genetics in the genomic era. *Genome Med*. 2015;7(1):91.
139. Weiskopf N, Mohammadi S, Lutti A, Callaghan MF. Advances in MRI-based computational neuroanatomy: from morphometry to in-vivo histology. *Curr Opin Neurol*. 2015 Aug;28(4):313–22.
140. Anderson J, Hamandi K. Understanding juvenile myoclonic epilepsy: Contributions from neuroimaging. *Epilepsy Res*. 2011 May;94(3):127–37.
141. Ronan L, Alhusaini S, Scanlon C, Doherty CP, Delanty N, Fitzsimons M. Widespread cortical morphologic changes in juvenile myoclonic epilepsy: evidence from structural MRI. *Epilepsia*. 2012 Apr;53(4):651–8.

142. Vogt BA. Pain and emotion interactions in subregions of the cingulate gyrus. *Nat Rev Neurosci*. 2005 Jul;6(7):533–44.
143. Ji G-J, Zhang Z, Xu Q, Zang Y-F, Liao W, Lu G. Generalized tonic-clonic seizures: aberrant interhemispheric functional and anatomical connectivity. *Radiology*. 2014 Jun;271(3):839–47.
144. Benuzzi F, Mirandola L, Pugnaghi M, Farinelli V, Tassinari CA, Capovilla G, et al. Increased cortical BOLD signal anticipates generalized spike and wave discharges in adolescents and adults with idiopathic generalized epilepsies: *fMRI Signal Changes before GSWDs*. *Epilepsia*. 2012 Apr;53(4):622–30.
145. Joo EY, Tae WS, Hong SB. Cerebral blood flow abnormality in patients with idiopathic generalized epilepsy. *J Neurol*. 2008 Apr;255(4):520–5.
146. Chowdhury FA, Elwes RDC, Koutroumanidis M, Morris RG, Nashef L, Richardson MP. Impaired cognitive function in idiopathic generalized epilepsy and unaffected family members: an epilepsy endophenotype. *Epilepsia*. 2014 Jun;55(6):835–40.
147. Roebeling R, Scheerer N, Uttner I, Gruber O, Kraft E, Lerche H. Evaluation of cognition, structural, and functional MRI in juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsia*. 2009 Nov;50(11):2456–65.
148. Lim ECH, Tan JJH, Ong BKC, Wilder-Smith EPV. Generalised myoclonus evolving into epilepsy partialis continua due to a cingulate gyrus lesion: case report and review of the literature. *Parkinsonism Relat Disord*. 2004 Oct;10(7):447–9.
149. von Lehe M, Wagner J, Wellmer J, Clusmann H, Kral T. Epilepsy surgery of the cingulate gyrus and the frontomesial cortex. *Neurosurgery*. 2012 Apr;70(4):900–10; discussion 910.



Analysis of generalized interictal discharges using quantitative EEG



Aline Marques da Silva Braga, Elaine Keiko Fujisao,
Luiz Eduardo Betting*

Departamento de Neurologia, Psiquiatria e Psicologia Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP – Univ Estadual Paulista, Brazil

Received 7 June 2014; received in revised form 29 August 2014; accepted 6 September 2014

Available online 17 September 2014

KEYWORDS

Electroencephalogram;
EEG;
Quantitative EEG;
qEEG;
Idiopathic
generalized epilepsy;
Generalized
spike-and-wave
discharges

Summary Experimental evidence from animal models of the absence seizures suggests a focal source for the initiation of generalized spike-and-wave (GSW) discharges. Furthermore, clinical studies indicate that patients diagnosed with idiopathic generalized epilepsy (IGE) exhibit focal electroencephalographic abnormalities, which involve the thalamo-cortical circuitry. This circuitry is a key network that has been implicated in the initiation of generalized discharges, and may contribute to the pathophysiology of GSW discharges. Quantitative electroencephalogram (qEEG) analysis may be able to detect abnormalities associated with the initiation of GSW discharges. The objective of this study was to determine whether interictal GSW discharges exhibit focal characteristics using qEEG analysis.

In this study, 75 EEG recordings from 64 patients were analyzed. All EEG recordings analyzed contained at least one GSW discharge. EEG recordings were obtained by a 22-channel recorder with electrodes positioned according to the international 10–20 system of electrode placement. EEG activity was recorded for 20 min including photic stimulation and hyperventilation. The EEG recordings were visually inspected, and the first unequivocally confirmed generalized spike was marked for each discharge. Three methods of source imaging analysis were applied: dipole source imaging (DSI), classical LORETA analysis recursively applied (CLARA), and equivalent dipole of independent components with cluster analysis.

A total of 753 GSW discharges were identified and spatiotemporally analyzed. Source evaluation analysis using all three techniques revealed that the frontal lobe was the principal source of GSW discharges (70%), followed by the parietal and occipital lobes (14%), and the basal ganglia (12%). The main anatomical sources of GSW discharges were the anterior cingulate cortex (36%) and the medial frontal gyrus (23%).

* Corresponding author at: Departamento de Neurologia, Psiquiatria e Psicologia, Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP – Univ Estadual Paulista, 18618-970 Botucatu, SP, Brazil. Tel.: +55 14 3811 6260; fax: +55 14 3815 5965.

E-mail addresses: betting@fmb.unesp.br, lebetting@yahoo.com.br (L.E. Betting).

Source analysis did not reveal a common focal source of GSW discharges. However, there was a predominance of GSW discharges originating from the cingulate gyrus and the frontal lobe.

© 2014 Elsevier B.V. All rights reserved.

Introduction

The worldwide prevalence of epilepsy is approximately 1%, with idiopathic generalized epilepsy (IGE) diagnoses accounting for 20–40% of all cases (Panayiotopoulos, 2002). IGE refers to a group of epileptic disorders that typically develop between childhood and adolescence. IGE subtypes are categorized according to the age of onset and the main seizure type observed (ILAE, 1989). The main subtypes of IGE are juvenile absence epilepsy (AE), juvenile myoclonic epilepsy (JME), and epilepsy with generalized tonic-clonic seizures only (GTCS). An interictal electroencephalogram (EEG) with typical generalized spike-and-wave (GSW) discharges in the context of a normal background is supportive of an IGE diagnosis (ILAE, 1989; Panayiotopoulos, 2002). Routine neuroimaging of patients diagnosed with IGE is expected to show no abnormalities and typically is not required (ILAE, 1989; Panayiotopoulos, 2002).

Studies examining EEG recordings from patients diagnosed with IGE suggest a focal onset of GSW discharges. For example, recordings from JME patients typically show a 3- to 6-Hz pattern of spike-and-wave discharges or polyspike-wave activity, with fronto-central predominance. Previous studies have reported lateralization of GSW discharges, and focal EEG abnormalities have been observed in up to 45% of JME patients (Aliberti et al., 1994; Jayalakshmi et al., 2010). EEG recordings of the absence seizures show asymmetrical discharges with a frontal predominance. Moreover, focal spikes have been observed in the occipital and centro-temporal regions of AE patients during sleep (Panayiotopoulos et al., 1994; Pavone and Niedermeyer, 2000).

Based on the observations outlined above, studies were designed to investigate the focal features of GSW discharges in IGE patients. Studies using dense-array EEG have demonstrated a localized onset and restricted cortical network involvement during the initiation and propagation of GSW discharges in JME (Holmes et al., 2010). Experimental studies using rat models of AE, suggest that rapid generalization of localized discharges spreading over the cortex and subsequent interactions with the thalamus drive seizure propagation and maintenance (Meeren et al., 2005).

Quantitative magnetic resonance imaging (MRI) studies have reported widespread focal brain abnormalities in patients with various IGE subtypes, suggesting that structural cortical changes may be associated with at least certain types of IGE (Woermann et al., 1998). A systematic review examined the contribution of advanced neuroimaging techniques for understanding IGE. The authors analyzed 17 articles addressing the issue of focal abnormalities and concluded that frontal lobe structural changes are associated with JME (Anderson and Hamandi, 2011).

Despite advances in our understanding of the etiology of IGE and clear evidence of the involvement of the thalamo-cortical network in the initiation of GSW discharges,

the exact mechanisms of GSW pathophysiology are still under debate. There is no consensus regarding a common cortical source for all GSW discharges. In the present study, quantitative EEG (qEEG) was used to identify the focal spatiotemporal characteristics of interictal GSW discharges.

Methods

Subjects and EEG recording

In this study, 75 EEG recordings from 64 patients (35 women, mean age 31 ± 14 years) were selected for analysis. Approval for the study was obtained from the institutional ethics committee. Medical records were reviewed when available. EEGs containing GSW discharges were retrieved from the neurophysiology laboratory records of our institution, covering the period from 2008 to 2012. The EEG recordings of four patients were excluded due to electrographic artifacts and poor baseline quality.

EEG recordings were performed by a 22-channel recorder (Meditron, São Paulo, Brazil), with electrodes positioned according to the international 10–20 system of electrode placement (Fp1, Fp2, F7, F3, Fz, F4, F8, T3, C3, Cz, C4, T4, T5, P3, Pz, P4, T6, O1, Oz, and O2) with linked A1 and A2 electrodes as references. Photoc stimulation and hyperventilation were performed on all subjects. EEG activity was recorded during a 20-min period. The sampling rate was 256 Hz. All electrode impedances were kept below 10 k Ω .

Visual analysis of the EEG recordings and identification of the GSW discharges were performed by an experienced neurologist. All GSW discharges that were consistent with an IGE diagnosis were selected and stored for subsequent analysis. EEG recordings from the same patient were included if more than 1 year had passed between acquisitions since several factors may influence the appearance of discharges including a complex interaction of age, epilepsy syndrome, level of arousal, provoking factors, and other intrinsic factors (Sadleir et al., 2009).

Quantitative analysis

Source localization analysis was performed with Brain Electric Source Analysis (BESA) Research 6.0 (Gräefeling, Germany) and EEGLAB version 12 running under Matlab R2012b (MathWorks; Natick, USA) (Delorme and Makeig, 2004).

All EEG recordings were processed in a series of preprocessing steps before analysis. First, they were converted to European Data Format (EDF), and the entire record was imported into the BESA software. All GSW discharges were visually localized. The first unequivocally identified generalized spike was marked for each discharge. Epochs of 1 s

centered on the marked spikes were exported for dipole cluster analysis.

Equivalent dipole source imaging (DSI)

Equivalent DSI was performed using BESA algorithms and batch analysis. Briefly, discharges were averaged using the first identifiable generalized spike in any one record. Discharges with epochs of 400 ms (beginning 250 ms before and lasting 150 ms after the first generalized spike peak) were submitted for decomposition using principal component analysis. A 20 ms fit interval placed in the ascending portion of the averaged spike was used for source analysis. EEG data from individual epochs were bandpass filtered between 5 and 35 Hz. A realistic approximation of an anatomical model for adult patients was used in the BESA analysis for dipole fitting. An onset-equivalent dipole location was generated for each GSW discharge, and the resulting Talairach coordinates were extracted for analysis (Talairach and Tournoux, 1988).

Classical LORETA analysis recursively applied (CLARA)

The inverse solution approach in CLARA is an iterative application of weighted low resolution electromagnetic tomography (LORETA; Pascual-Marqui et al., 1994) algorithm with a reduced source space in each iteration. CLARA was performed for the same 20 ms selected segment as described for equivalent DSI. Distributed source images are more focal due to an implicit reduction of the source space in each iteration. The results represent the mean current density, expressed in nAm/cm³. Talairach coordinates were extracted from the anatomic site containing the maximum current density. The solution was also exported as three-dimensional (3D) 1 mm ANALYZE images. Overlap and mean images derived from the CLARA source imaging results were generated from all individual recordings with the NPM software (Rorden and Brett, 2000).

Equivalent dipole of independent components with cluster analysis

Discharges with epochs of 1 s were imported for processing into EEGLAB. Coordinates for the electrode positions were verified and corrected for individual differences, as necessary. Discharges were processed for decomposition into temporally independent and spatially fixed components by independent component analysis (Delorme and Makeig, 2004). All generated components were used for subsequent analysis. For dipole fitting, a spherical four-shell head model and nonlinear adjustment were used. A single equivalent dipole source model was calculated for each component with the DIPFIT function (Delorme and Makeig, 2004). This function also transposes the results achieved in the spherical model to an average MRI template in standard 3D Talairach space.

To identify common patterns of discharge and propagation, cluster analysis of the equivalent dipole obtained for each component was performed, and a *k*-means algorithm

was used to generate the clusters (Jung et al., 2009; Onton et al., 2006). Closely located dipole sources were classified into the same subsets (clusters). The default number of clusters was initially selected. The number was adjusted, when necessary, according to the sources identified by other methods and the stability of the signal.

Talairach coordinates were extracted for analysis in two ways: (i) from the main independent component centroid; and (ii) from all independent component dipoles of the main cluster.

Results

Clinical features

Of the 64 patients included in this study, 21 patients were diagnosed with unspecified IGE, 16 patients with JME, 16 patients with GTCS, 4 patients with AE, and 2 patients with focal epilepsy. Five patients presented generalized acute symptomatic seizures that were attributed to metabolic abnormalities (two patients), alcohol consumption (two patients), or encephalitis (one patient).

EEG findings

There were 46 records presenting irregular GSW discharges, 17 records with regular GSW discharges, 9 records with a mixed pattern of regular and irregular discharges, and 3 records with only irregular spikes or polyspikes. The mean duration of discharges was 4 ± 3 s (range 1–22 s). Four discharges had durations lasting less than 1 s.

Five patients had two EEG recordings that were included in the analysis and similar findings for both studies were observed in one patient. Three patients had three recordings that were included in the analysis and similar findings were observed in two of the patients. Considering all three source localization techniques results of serial recordings differed in all patients. The mean interval between exams was 1.6 ± 1.2 years (range 1–4 years).

Quantitative analysis

A total of 753 discharges (mean 12 ± 15 discharges per exam, range 1–80) were evaluated. Analysis using all three techniques produced 237 sources and showed that the anterior cingulate (86/237, 36%) and the medial frontal gyrus (55/237, 23%) were the two main sources of GSW discharges. The frontal lobe was involved in 165 sources (70%). The parietal and occipital lobes were involved in 35 sources (14%). The basal ganglia was involved in 29 sources (12%). Fig. 1 shows these findings in greater detail.

Dipole analysis identified 72 focal sources of averaged GSW discharges (results of three analyses did not correspond to gray matter). GSW discharges were predominantly generated in the medial frontal gyrus (27%) and the anterior cingulate cortex (21%). The frontal lobe was the source of GSW discharges in 68% of the dipole analysis performed (Fig. 1). Results of the dipole source analysis are represented in a 3D model in Fig. 2.

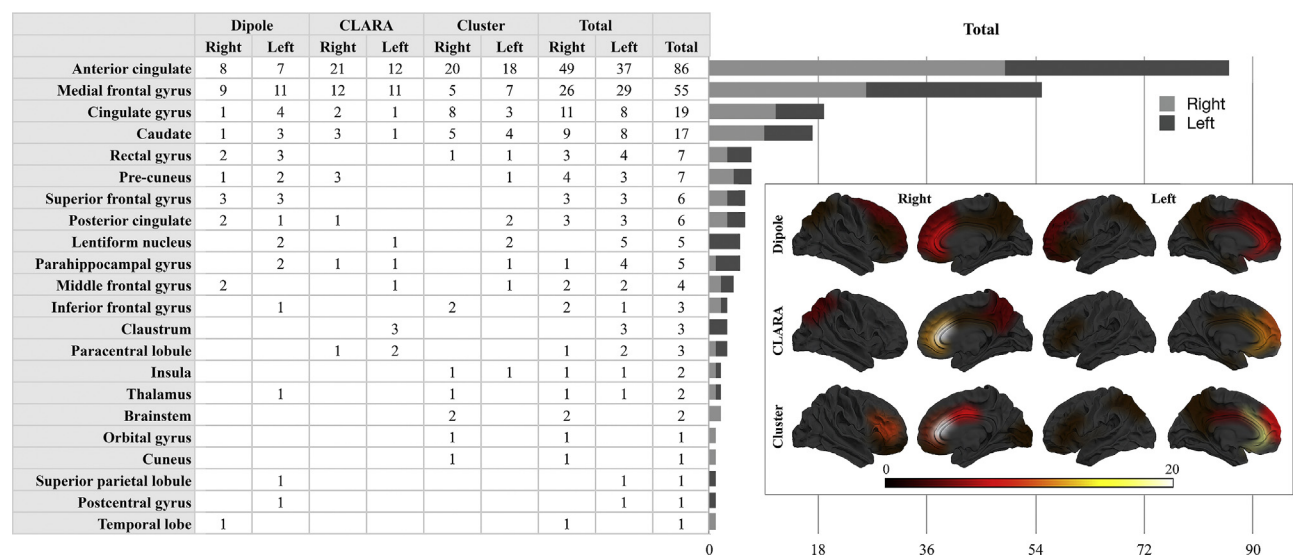


Figure 1 Results of qEEG analysis performed in 753 GSW discharges. Three imaging methods were used: dipole source imaging (Dipole), classical LORETA analysis – recursively applied (CLARA), and equivalent dipole of independent components with cluster analysis (Cluster). Inset box shows the results depicted in a 3D model of the white matter brain surface inflated and color coded according to the scale bar in the inferior portion of the box.

The CLARA imaging method identified 77 focal sources of GSW discharges (two exams had two maximum areas each). The anterior cingulate cortex and medial frontal gyrus were the two main sources of averaged GSW discharges (43% and 30%, respectively). The frontal lobe was identified as the source of GSW discharges in 74% of the CLARA analysis performed (Fig. 1). Anatomic rendering of the CLARA imaging results highlights this predominance (Fig. 3).

Cluster analysis identified 88 focal sources of GSW discharges. One discharge had three focal sources, and 13 discharges had two focal sources each. The focal sources of two discharges did not correspond to gray matter. According to cluster analysis, GSW discharges originated primarily in the anterior cingulate cortex and the medial frontal gyrus (43% and 13%, respectively). The frontal lobe was the source of initiation in 63% of the cluster analysis performed (Fig. 1).

A total of 1635 (mean 22 ± 21, range 2–119) independent component dipoles were extracted for analysis. Of the 1635 dipole sources, 477 (30%) were located in the anterior cingulate and 293 (18%) in the medial frontal gyrus. 1111 (68%) independent component dipoles were located in the

frontal lobe, 434 (26%) in the basal ganglia, and 66 (4%) in the parietal and occipital lobes. Fig. 4 shows these findings in greater detail.

Discussion

Our study demonstrates that qEEG analysis can be used to detect the focal onset of GSW discharges in patients with IGE. The analyses used in this study did not identify a common focal source of GSW discharges. However, we found clear evidence of focal predominance in the cingulate gyrus and frontal regions. The variability in focal onset location is in accordance with other reports, which have shown patient-specific patterns of cortical activation during GSW discharges (Moeller et al., 2010). This variability may be indicative of slightly distinct mechanisms involved in the initiation of GSW discharges observed in the different subtypes of IGE.

Previous neurophysiological studies demonstrated frontal involvement in the generation of GSW discharges in patients

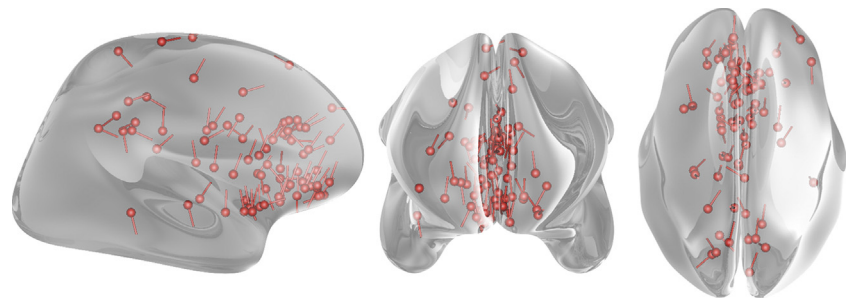


Figure 2 Anatomic representation derived from the results of dipole source imaging of generalized spike-and-wave (GSW) discharges. Seventy-two sources (red) of GSW discharges are overlaid in a 3D inflated anatomic model of the brain, displayed in the sagittal (left view), coronal (anterior view), and axial orientations (superior view, anterior on top).

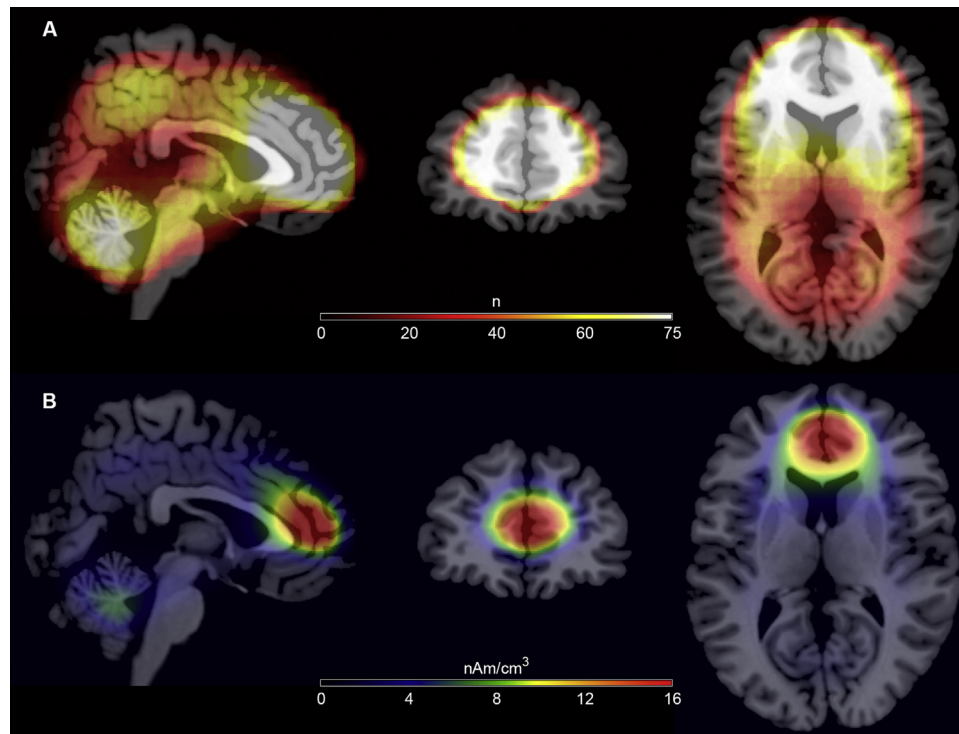


Figure 3 Result of classical LORETA analysis recursively applied (CLARA) displaying the source solution for all 75 EEG recordings as an overlap (A) and mean image (B). Results are overlaid in an anatomical magnetic resonance imaging template and color coded according to the bar on the bottom (n – total number, nAm/cm^3). Figures are in the sagittal, coronal, and axial orientations.

with IGE. However, these studies had some limitations. In one of these studies, only 5 patients with JME were included (Santiago-Rodríguez et al., 2002). In another study, researchers investigated ictal features of 12 children with absence seizures (Tenney et al., 2013). Therefore, there are critical differences from the methodology used in the present work.

The pathophysiology underlying the initiation of GSW discharges is believed to involve an extensive network encompassing the thalamus and cortex circuitry. IGE refers to a group of syndromes that exhibit a characteristic neurophysiological signature, which includes the generation of interictal GSW discharges with normal background activity.

For many decades, it was accepted that the onset of epileptiform discharges was due to diffuse cortical hyperexcitability.

Penfield and Jasper (1954) proposed the centroencephalic theory, which postulates that GSW discharges originate in a deep-seated subcortical pacemaker region in the midline thalamus with diffuse cortical projections. This concept was further refined in 1991, with the emergence of the “thalamic clock” theory. The latter theory states that the reticular thalamic nucleus contains pacemaker cells that function as a thalamic clock, imposing a rhythm on the cortex (Buzsáki, 1991).

In 1968, the cortico-reticular theory was suggested. According to this theory, GSW discharge initiation is linked to thalamocortical mechanisms that generate spindles. Rhythmic oscillations generated by the thalamus are transformed into GSW discharges when the entire cortex becomes hyperexcitable (Gloor, 1968).

In contrast, the cortical theory proposes that a cortical focus generates the GSW discharges and interacts with the thalamus, spreading the epileptic activity to the rest of cortex and contributing to the propagation and maintenance of seizures (Luhmann et al., 1995).

In the last decade, studies investigating the pathophysiology of GSW discharges and IGE have provided evidence reinforcing the cortical theory, demonstrating a presumed focal cortical origin of GSW discharges (Holmes et al., 2010; Meeren et al., 2005). Advances in the development of source localization techniques have enabled investigators to estimate the distribution of diffuse spike-wave discharges more accurately and to correlate them to electrical sources in specific regions of the cerebral cortex (Holmes et al., 2010).

Advances in neuroimaging have played an important role in determining the mechanisms of IGE.

A study of 120 patients with IGE using voxel-based morphometry found increased gray matter concentrations in the frontobasal region of 44 patients with JME and in the superior mesiofrontal region of 24 patients with AE. Region of interest analysis revealed increased gray matter concentration in the anterior portion of the thalamus in patients with absence seizures (Betting et al., 2006). Another study using MRI-based analysis coupled with surface reconstruction methods showed multiple areas of alterations in the brains of patients with JME compared to controls. Changes in cortical morphology were detected bilaterally in the insular cortices, left cingulate gyrus, and right inferior temporal gyrus (Ronan et al., 2012).

The current study showed similar findings to the above by using qEEG neuroimaging techniques.

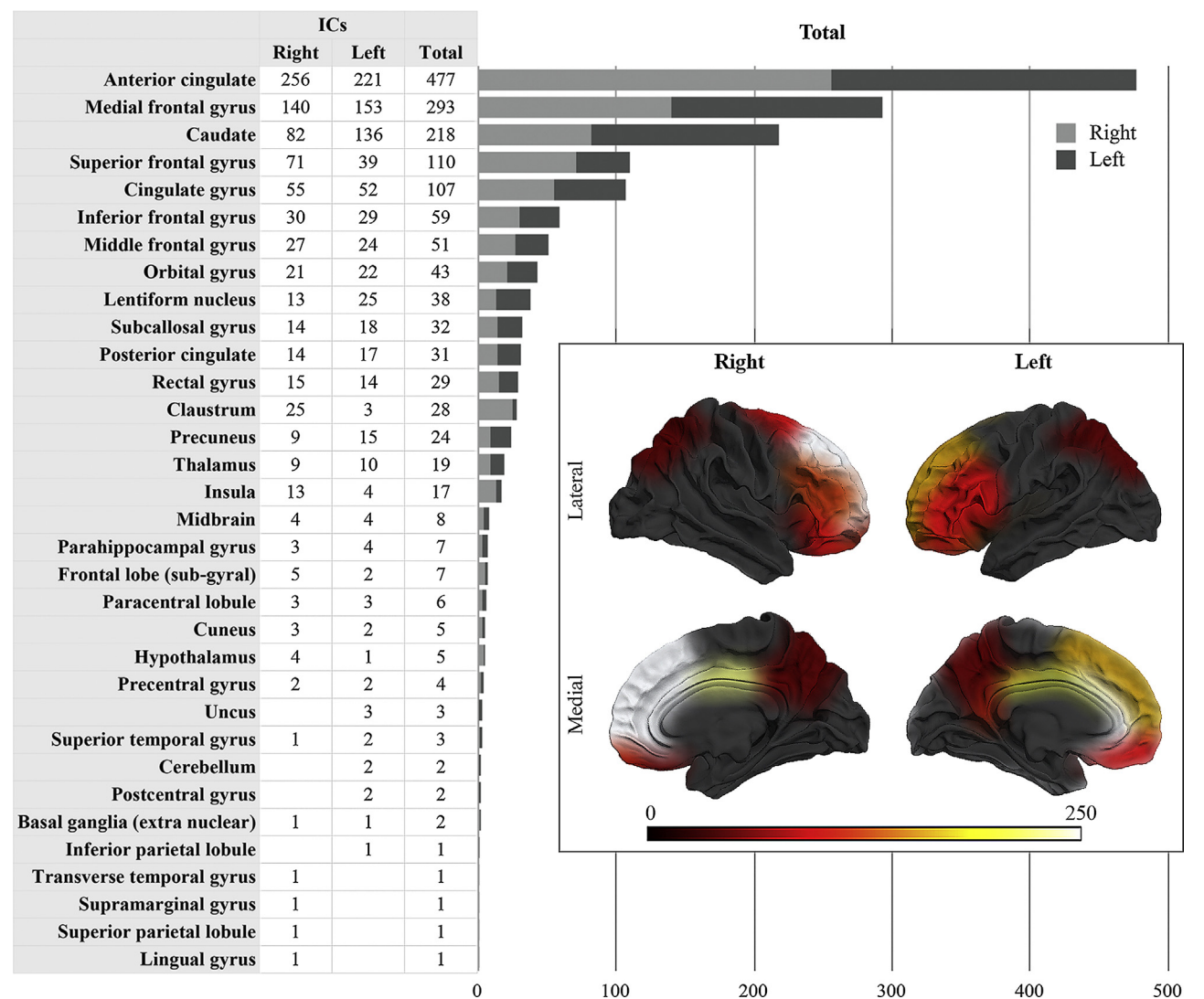


Figure 4 A total of 1635 focal sources were obtained by dipole independent component analysis of 753 GSW discharges. ICs – independent components. Inset box shows the results depicted in a 3D model of the white matter brain surface inflated and color coded according to the scale bar in the inferior portion of the box.

The anterior cingulate gyrus was identified as the main source for GSW discharges. The anterior cingulate is a key structure involved in motivation and goal-directed behaviors (Devinsky et al., 1995). IGE patients may exhibit functional and structural connectivity disruptions or abnormal functionality of key structures, such as the thalamus and anterior cingulate gyrus (Zhang et al., 2011). The abnormalities observed in the anterior cingulate may be related to the increased impulsivity observed in JME patients (Moschetta and Valente, 2013). Abnormalities in the anterior cingulate cortex correlating with increased impulsivity have been demonstrated by neuroimaging studies of patients with bipolar disorder (Matsuo et al., 2009).

The basal ganglia were involved in the generation of GSW discharges in 12% of the analyses. The caudate nucleus was the main structure linked to these discharges. The caudate nucleus is functionally related to several higher cognitive functions and directly participates of the thalamo-cortical loop (Haber, 2003). The morphology of the discharges and

the clinical features displayed were heterogeneous, similar to the other sources, in these cases. These findings provide evidence for the involvement of the basal ganglia in the generation of GSW discharges in some patients.

GSW activity is classically recognized as genetically determined (Metrakos and Metrakos, 1961). Five Mendelian genes influence the expression of clinical and EEG abnormalities in some families with JME (Delgado-Escueta et al., 2013). Generalized discharges may be present in fewer than 2% of normal individuals as well (Doose et al., 1973). In the group of patients included here, some patients did not present with an IGE diagnosis. An inherited EEG trait associated with environmental factors like alcohol abuse may explain these presentations.

A drawback of the method used in this study was the limited number of electrodes. Use of a high number of electrodes increases the accuracy of source localization (Lantz et al., 2003). In one study involving 14 patients with epilepsy, the distance between the source and the lesion was between

0 and 76 mm when 31 electrodes were used, and between 2 and 46 mm when 123 electrodes were used. The authors reported increased accuracy when more electrodes were used to determine the epileptic focus (Lantz et al., 2003). In the current study, three different methods and a high number of discharges were used to minimize error. The results are consistent with previous studies using a higher electrode count. Some degree of disparity is expected considering the differences in the methodologies applied in our study. One study using dense-array EEG and quantitative analysis of 10 subjects reported that generalized discharges originate in the orbitofrontal, mesiofrontal, and to a lesser extent, temporal lobe regions of patients with JME (Holmes et al., 2010). Another study investigating ictal discharges in AE showed focal onset of GSW discharges in the mesial frontal lobe and the orbitofrontal cortex (Holmes et al., 2004).

In conclusion, we did not identify a common focal source of GSW discharges in IGE patients. However, we found that focal onset of GSW was predominantly generated in the cingulate gyrus and the frontal cortex. Routine scalp EEG records were used to bridge the gap between research and daily clinical practice. A higher number of electrodes remains desirable for more accurate source localization. Further investigations are needed to address the use of these techniques in the clinical setting. In the future, these findings may help in the clinical management of patients with IGE.

Acknowledgement

Supported by grants number 2011/02961-2 and 2011/16452-2, São Paulo Research Foundation (FAPESP).

References

- Aliberti, V., Grunewald, R.A., Panayiotopoulos, C.P., Chroni, E., 1994. Focal electroencephalographic abnormalities in juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsia* 35, 297–301.
- Anderson, J., Hamandi, K., 2011. Understanding juvenile myoclonic epilepsy: contributions from neuroimaging. *Epilepsy Res.* 94, 127–137.
- Betting, L.E., Mory, S.B., Li, L.M., Lopes-Cendes, I., Guerreiro, M.M., Guerreiro, C.A., Cendes, F., 2006. Voxel-based morphometry in patients with idiopathic generalized epilepsies. *Neuroimage* 32, 498–502.
- Buzsaki, G., 1991. The thalamic clock: emergent network properties. *Neuroscience* 41, 351–364.
- Delgado-Escueta, A.V., Koeleman, B.P., Bailey, J.N., Medina, M.T., Duron, R.M., 2013. The quest for juvenile myoclonic epilepsy genes. *Epilepsy Behav.* 28 (Suppl. 1), S52–S57.
- Delorme, A., Makeig, S., 2004. EEGLAB: an open source toolbox for analysis of single-trial EEG dynamics including independent component analysis. *J. Neurosci. Methods* 134, 9–21.
- Devinsky, O., Morrell, M.J., Vogt, B.A., 1995. Contributions of anterior cingulate cortex to behaviour. *Brain* 118 (1), 279–306.
- Dooze, H., Gerken, H., Horstmann, T., Volzke, E., 1973. Genetic factors in spike-wave absences. *Epilepsia* 14, 57–75.
- Gloor, P., 1968. Generalized cortico-reticular epilepsies. Some considerations on the pathophysiology of generalized bilaterally synchronous spike and wave discharge. *Epilepsia* 9, 249–263.
- Haber, S.N., 2003. The primate basal ganglia: parallel and integrative networks. *J. Chem. Neuroanat.* 26, 317–330.
- Holmes, M.D., Brown, M., Tucker, D.M., 2004. Are generalized seizures truly generalized? Evidence of localized mesial frontal and frontopolar discharges in absence. *Epilepsia* 45, 1568–1579.
- Holmes, M.D., Quiring, J., Tucker, D.M., 2010. Evidence that juvenile myoclonic epilepsy is a disorder of frontotemporal corticothalamic networks. *Neuroimage* 49, 80–93.
- Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy, 1989. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia* 30, 389–399.
- Jayalakshmi, S.S., Srinivasa Rao, B., Sailaja, S., 2010. Focal clinical and electroencephalographic features in patients with juvenile myoclonic epilepsy. *Acta Neurol. Scand.* 122, 115–123.
- Jung, K.Y., Kang, J.K., Kim, J.H., Im, C.H., Kim, K.H., Jung, H.K., 2009. Spatiotemporospectral characteristics of scalp ictal EEG in mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *Brain Res.* 1287, 206–219.
- Lantz, G., Grave de Peralta, R., Spinelli, L., Seeck, M., Michel, C.M., 2003. Epileptic source localization with high density EEG: how many electrodes are needed? *Clin. Neurophysiol.* 114, 63–69.
- Luhmann, H.J., Mittmann, T., van Luijckelaar, G., Heinemann, U., 1995. Impairment of intracortical GABAergic inhibition in a rat model of absence epilepsy. *Epilepsy Res.* 22, 43–51.
- Matsuo, K., Nicoletti, M.A., Peluso, M.A., Hatch, J.P., Nemoto, K., Watanabe, Y., Nery, F.G., Monkul, E.S., Zunta-Soares, G.B., Bowden, C.L., Soares, J.C., 2009. Anterior cingulate volumes associated with trait impulsivity in individuals with bipolar disorder. *Bipolar Disord.* 11, 628–636.
- Meeren, H., van Luijckelaar, G., Lopes da Silva, F., Coenen, A., 2005. Evolving concepts on the pathophysiology of absence seizures: the cortical focus theory. *Arch. Neurol.* 62, 371–376.
- Metrakos, K., Metrakos, J.D., 1961. Genetics of convulsive disorders. II. Genetic and electroencephalographic studies in centrencephalic epilepsy. *Neurology* 11, 474–483.
- Moeller, F., LeVan, P., Muhle, H., Stephani, U., Dubeau, F., Siniatchkin, M., Gotman, J., 2010. Absence seizures: individual patterns revealed by EEG-fMRI. *Epilepsia* 51, 2000–2010.
- Moschetti, S., Valente, K.D., 2013. Impulsivity and seizure frequency, but not cognitive deficits, impact social adjustment in patients with juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsia* 54, 866–870.
- Onton, J., Westerfield, M., Townsend, J., Makeig, S., 2006. Imaging human EEG dynamics using independent component analysis. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 30, 808–822.
- Panayiotopoulos, C.P., 2002. A Clinical Guide to Epileptic Syndromes and their Treatment: Based on the New ILAE Diagnostic Scheme. Bladon Medical Pub., Oxfordshire, UK.
- Panayiotopoulos, C.P., Obeid, T., Tahan, A.R., 1994. Juvenile myoclonic epilepsy: a 5-year prospective study. *Epilepsia* 35, 285–296.
- Pascual-Marqui, R.D., Michel, C.M., Lehmann, D., 1994. Low resolution electromagnetic tomography: a new method for localizing electrical activity in the brain. *Int. J. Psychophysiol.* 18, 49–65.
- Pavone, A., Niedermeyer, E., 2000. Absence seizures and the frontal lobe. *Clin. Electroencephalogr.* 31, 153–156.
- Penfield, W., Jasper, H.H., 1954. *Epilepsy and the Functional Anatomy of the Human Brain*. Little, Brown & Co., Boston.
- Ronan, L., Alhusaini, S., Scanlon, C., Doherty, C.P., Delanty, N., Fitzsimons, M., 2012. Widespread cortical morphologic changes in juvenile myoclonic epilepsy: evidence from structural MRI. *Epilepsia* 53, 651–658.
- Rorden, C., Brett, M., 2000. Stereotaxic display of brain lesions. *Behav. Neurol.* 12, 191–200.
- Sadleir, L.G., Scheffer, I.E., Smith, S., Carstensen, B., Farrell, K., Connolly, M.B., 2009. EEG features of absence seizures in idiopathic generalized epilepsy: impact of syndrome, age, and state. *Epilepsia* 50, 1572–1578.
- Santiago-Rodríguez, E., Harmony, T., Fernández-Bouzas, A., Hernández-Balderas, A., Martínez-López, M., Graef, A., García,

- J.C., Fernández, T., 2002. [Source analysis of polyspike and wave complexes in juvenile myoclonic epilepsy](#). *Seizure* 11, 320–324.
- Talairach, J., Tournoux, P., 1988. In: Thieme, G. (Ed.), *Co-planar Stereotaxic Atlas of the Human Brain: 3-Dimensional Proportional System: An Approach to Cerebral Imaging*. Thieme Medical Publishers, Stuttgart/New York.
- Tenney, J.R., Fujiwara, H., Horn, P.S., Jacobson, S.E., Glauser, T.A., Rose, D.F., 2013. [Focal corticothalamic sources during generalized absence seizures: a MEG study](#). *Epilepsy Res.* 106, 113–122.
- Woermann, F.G., Sisodiya, S.M., Free, S.L., Duncan, J.S., 1998. [Quantitative MRI in patients with idiopathic generalized epilepsy. Evidence of widespread cerebral structural changes](#). *Brain* 121 (9), 1661–1667.
- Zhang, Z., Liao, W., Chen, H., Mantini, D., Ding, J.R., Xu, Q., Wang, Z., Yuan, C., Chen, G., Jiao, Q., Lu, G., 2011. [Altered functional–structural coupling of large-scale brain networks in idiopathic generalized epilepsy](#). *Brain* 134, 2912–2928.



Investigation of the cingulate cortex in idiopathic generalized epilepsy

*Aline M. da S. Braga, *Elaine K. Fujisao, *Roberto C. Verdade, *Rômulo P. Paschoalato, *Ricardo P. Paschoalato, †Seizo Yamashita, and *Luiz E. Betting

Epilepsia, 56(11):1803–1811, 2015
doi: 10.1111/epi.13205

SUMMARY

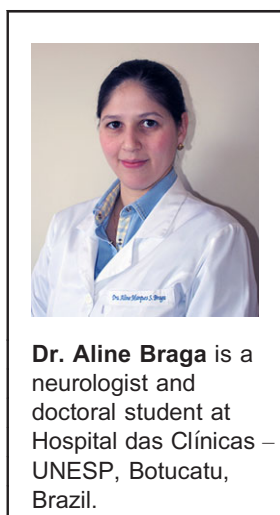
Objective: Studies using quantitative neuroimaging have shown subtle abnormalities in patients with idiopathic generalized epilepsy (IGE). These findings have several locations, but the midline parasagittal structures are most commonly implicated. The cingulate cortex is related and may be involved. The objective of the current investigation was to perform a comprehensive analysis of the cingulate cortex using multiple quantitative structural neuroimaging techniques.

Methods: Thirty-two patients (18 women, 30 ± 10 years) and 36 controls (18 women, 32 ± 11 years) were imaged by 3 Tesla magnetic resonance imaging (MRI). A volumetric three-dimensional (3D) sequence was acquired and used for this investigation. Regions-of-interest were selected and voxel-based morphometry (VBM) analyses compared the cingulate cortex of the two groups using Statistical Parametric Mapping (SPM8) and VBM8 software. Cortical analyses of the cingulate gyrus was performed using Freesurfer. Images were submitted to automatic processing using built-in routines and recommendations. Structural parameters were extracted for individual analyses, and comparisons between groups were restricted to the cingulate gyrus. Finally, shape analyses was performed on the anterior rostral, anterior caudal, posterior, and isthmus cingulate using spherical harmonic description (SPHARM).

Results: VBM analyses of cingulate gyrus showed areas of gray matter atrophy, mainly in the anterior cingulate gyrus (972 mm^3) and the isthmus (168 mm^3). Individual analyses of the cingulate cortex were similar between patients with IGE and controls. Surface-based comparisons revealed abnormalities located mainly in the posterior cingulate cortex (718.12 mm^2). Shape analyses demonstrated a predominance of anterior and posterior cingulate abnormalities.

Significance: This study suggests that patients with IGE have structural abnormalities in the cingulate gyrus mainly localized at the anterior and posterior portions. This finding is subtle and variable among patients.

KEY WORDS: Idiopathic generalized epilepsy, Cingulate cortex, Neuroimaging, Shape analysis, Voxel-based morphometry.



Dr. Aline Braga is a neurologist and doctoral student at Hospital das Clínicas – UNESP, Botucatu, Brazil.

Accepted August 31, 2015; Early View publication September 28, 2015.

*Department of Neurology, Psychology and Psychiatry, Botucatu Medical School, São Paulo State University, UNESP, Botucatu, SP, Brazil; and †Department of Tropical Diseases and Diagnostic Imaging, Botucatu Medical School, São Paulo State University, UNESP, Botucatu, SP, Brazil

Address correspondence to Luiz E. Betting, Departamento de Neurologia, Psicologia e Psiquiatria, Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP – Univ Estadual Paulista, 18618-970 Botucatu, SP, Brazil. E-mail: betting@fmb.unesp.br

Wiley Periodicals, Inc.

© 2015 International League Against Epilepsy

Several studies have demonstrated subtle abnormalities in quantitative studies of brain magnetic resonance imaging (MRI) of patients with idiopathic generalized epilepsy (IGE). Studies have found a number of different structures involved, but frontal lobe and midline parasagittal structures, including the cingulate gyrus, are predominantly implicated.¹ The cingulate gyrus is localized in the pericallosal medial face of each frontal lobe. Its anterior portion has three functional subdivisions, which are related to

KEY POINTS

- Midline parasagittal structures are most commonly implicated in quantitative neuroimaging studies of idiopathic generalized epilepsies (IGEs)
- The objective of the current investigation was to perform a comprehensive analysis of the cingulate cortex
- Three quantitative MRI techniques were used for structural analysis of the cingulate gyrus
- IGEs probably have structural abnormalities in the cingulate gyrus
- This finding is subtle and variable among patients

affection, cognition, and pre motor activity. Studies of functional organization have shown that the anterior portion of cingulate gyrus is involved in monitoring behavior, detecting errors, and adaptive decision making.² The posterior portion has visuospatial and memory functions. It is believed to be an important structure in the propagation of epileptic discharges once it has diffuse connections.^{3,4}

Quantitative analysis of generalized spike and wave (GSW) discharges showed that they originate in the frontal lobe, especially in the anterior cingulate cortex and medial frontal gyrus.⁵ Resting-state functional MRI (fMRI) could demonstrate increased connectivity between para-cingulate cortex and anterior thalamus.⁶ Despite evidence pointing to the involvement of the cingulate gyrus, the exact importance and participation of this structure in the mechanisms of IGE is still unclear. Therefore, this study evaluated the cingulate cortex using quantitative structural neuroimaging.

METHODS

This study was approved by the local ethics committee. Patients with IGE ($n = 32$, 18 women, mean age 30 ± 10 years, range 17–58) were enrolled. Diagnosis was performed following previous recommendations.⁷ Control subjects ($n = 36$, 18 women, mean age 32 ± 11 years, range 21–57) without histories of neurologic disease were recruited from the local community.

All subjects provided informed consent and underwent MRI. Acquisitions were done in a 3 Tesla scanner (Siemens, Verio, Erlangen, Germany) with a 12-channel head array coil. Three-dimensional spoiled gradient-recalled echo T_1 sequences (192 sagittal slices; slice thickness, 1 mm; in plane resolution, 0.5×0.5 mm; field of view (FOV), 256×256 mm; repetition time (TR), 2,300 msec; echo time (TE), 2.47 msec; acquisition time, 5.21 min per volume; flip angle, 9 degrees) were used for this study. Images were acquired in Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM) format and transformed into Neuroimaging Informatics Technology Initiative (NIfTI)

format using MRIcron software.⁸ Three quantitative techniques were used for structural analysis of the cingulate gyrus.

Region-of-interest voxel-based morphometry (VBM)

Volumetric images in the NIfTI format were imported and processed with SPM8 software (<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk>) and the VBM8 toolbox (<http://dbm.neuro.uni-jena.de/vbm/>) using the Matlab R2012b platform (MathWorks, Natick, MA, U.S.A.). VBM8 uses a unified segmentation approach improving automatic segmentation and normalization.⁹ Normalization is performed by the Diffeomorphic Anatomical Registration Through Exponentiated Lie algebra (DARTEL) algorithm, which creates a template of all images and registers them by computing a flow field that generates both forward and backward deformations.¹⁰ Images were also modulated to preserve gray matter concentrations and bias corrected, and the final segmentation quality was visually inspected. Finally, every gray matter image was smoothed with a 10 mm full-width at half-maximum (FWHM) filter. Statistical analyses were performed using a full factorial analysis limited to the region of interest (ROI) with age, sex, and total intracranial volume (TIV) as covariates. ROI was delineated automatically using the Wake Forest University PickAtlas (WFUPickAtlas) toolbox derived from the Automated Anatomical Labeling (AAL) library.^{11,12} The level of significance selected was an uncorrected p -value < 0.01 . Comparisons between patients and controls were performed using T-contrasts to identify areas of increased and decreased gray matter volume.

Cortical analysis of the cingulate gyrus

Freesurfer (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>, version 5.3, developed at the Martinos Center for Biomedical Imaging by the Laboratory for Computational Neuroimaging, Charlestown, MA, U.S.A.) image analysis suite was used to generate models of white and gray matter surface, as well as segmentation of the cingulate cortex.^{13,14} The standard processing pipeline was used. Images were imported into the software and automatically underwent several processing steps including motion correction, non-brain-tissue removal, automatic registration into Talairach space, segmentation of subcortical structures, and tessellation of gray-white matter boundaries. After completion, cortical models were inflated and registered to a spherical atlas based on individual cortical folding patterns to match cortical geometry across subjects.^{14,15} Finally, the cerebral cortex was parcellated with respect to gyral and sulcal structure.^{16,17} From the tessellated cortical surface submitted to parcellation, we obtained area, volume, cortical thickness with standard deviation, folding, and curvature information (index, mean, and gaussian) from the rostral anterior, caudal anterior, posterior, and isthmus cingulate gyrus for each individual.¹⁷ Vertex-wise surface area is determined as the mean area of the associated triangular

region indicating the areal expansion. Cortical volume is the product of thickness and surface area. Cortical thickness is calculated as the distance between white and gray matter on the tessellated surface.¹⁸ The folding index is the integral of the product of the maximum principal curvature and the difference between maximum and minimum curvature divided by 4π . The curvature index represents the integral across all regions of positive intrinsic curvature divided by 4π .¹⁹ Mean curvature is the average curvature calculated from the principal curvature at each vertex. Gaussian curvature is the average gaussian curvature obtained by the product of the principal curvatures at each vertex.

Results of the obtained parameters when appropriate were normalized according to the TIV (cerebral measurement) using a covariance method:

$$NV = OV - \text{Grad} (CM_i - CM \text{ mean})$$

where NV is normalized volume, OV is the original, Grad is the regression line between the parameter and the TIV, CM_i is the value of the TIV for the individual subject, and CM mean is the mean value of TIV for all control subjects.²⁰ The parameters obtained for each individual were standardized according to the value of normal controls using a Z-score transformation:

$$Z = (\text{measure for that individual} - \text{mean of all subjects}) / \text{standard deviation}$$

this transformation indicates that if a patient had a Z-score of -2 , he had a volume that was two standard deviations (SDs) below the mean of normal controls.

Statistical analysis was also performed comparing patients with controls. Student's *t*-tests were used to access differences in each parameter. A general linear model (GLM) was used for surface-based analysis with T-contrasts searching for increased and decreased parameters. Age and TIV were included as nuisance factors. The comparisons were restricted to the cingulate gyrus. Area, area pial, smoothed mean curvature, average convexity (sulcal depth) representing the measures of each point above the average surface, thickness, and volume were compared for each hemisphere after a 10 mm FWHM smoothing.¹⁴

Shape analysis of the cingulate gyrus

For shape analysis, the spherical harmonic description (SPHARM) concept was used. This is a hierarchical, global, multiscale boundary description that can only represent objects with spherical topology.²¹ First, binary segmentation of the four portions of the cingulate gyrus described earlier were imported from Freesurfer. An initial processing was performed where images were minimally smoothed and filled. Segments were converted to surface meshes, and a spherical parameterization was computed by optimizing an

equal area mapping of the three-dimensional (3D) voxel mesh onto a sphere and minimizing angular distortions. The SPHARM description was acquired from the mesh and the spherical parameterization. By using the first-order ellipsoid obtained from the spherical harmonic coefficients, all spherical parameterization was aligned to create a correspondence across all surfaces. Finally, the SPHARM description was sampled into triangular surfaces via icosahedron subdivision (Point Distribution Model, SPHARM-PDM). The resulting surfaces are all spatially aligned using rigid Procrustes alignment.²¹

For each cingulate subregion, an average structure was calculated by averaging the 3D coordinates of corresponding surface points across each group. This resulting surface was used as a template in the shape analysis. For statistical analysis, the tridimensional shape averages of the patients were compared with controls using Hotelling's T^2 test. Statistical maps, distance maps, and vector field maps were generated and superimposed on the mean 3D structure. Based on the template, the distance map was generated calculating the Euclidean surface distance for every boundary point for each object.²²

RESULTS

Clinical findings

All patients were using antiepileptic medications. Twenty-three patients were on monotherapy, six patients were using two medications, and three patients were using three medications. Eleven were using valproate (seven on monotherapy), and seven patients were using lamotrigine (four on monotherapy). The other medications used were carbamazepine (11 patients), topiramate (5 patients), phenytoin (3 patients), oxcarbazepine (2 patients), clobazam (2 patients), phenobarbital (one patient) and ethosuximide (one patient).

Twenty patients had juvenile myoclonic epilepsy (JME), six juvenile absence epilepsy, and six had generalized tonic-clonic seizures only. Nineteen patients presented with myoclonic and tonic-clonic seizures, five patients presented with absence and tonic-clonic, five patients had isolated tonic-clonic, and three patients had all three types. The mean age of the first seizure was 15.1 ± 5.2 years (8–29). The mean time since the last seizure was 1.3 ± 1.8 years (0–7). Twenty-two patients presented at least one EEG with typical GSW discharge with normal background.

Table S1 depicts the main clinical and EEG findings for each individual.

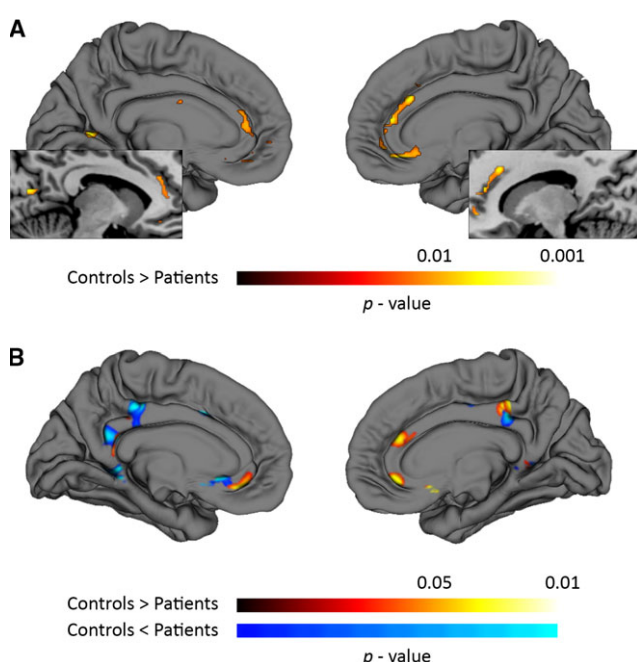
Region of interest VBM

VBM analysis of the cingulate gyrus showed areas of gray matter atrophy mainly in the anterior cingulate gyrus and in the isthmus (Table 1 and Fig. 1A). The total volume of gray matter atrophy, including clusters with <20 contiguous voxels, was 972 mm^3 (10 clusters) for the anterior cin-

Table 1. Results of the voxel-based morphometry analysis of the cingulate gyrus

Cluster size (mm ³)	T-value	Z-value	p-Value	Coordinates	Location
370	3.2	3.1	0.001	15, 29, 31	Caudal anterior
156	3.2	3.1	0.001	-8, -69, 15	Isthmus
256	3.2	3.1	0.001	12, 36, -11	Rostral anterior
76	2.7	2.1	0.004	14, 47, -5	Rostral anterior
205	2.7	2.6	0.004	-14, 38, 15	Caudal anterior

Coordinates in Montreal Neurological Institute space (x, y, and z in millimeters).

**Figure 1.**

Statistical analysis comparing the cingulate gyrus of patients with controls using (A) voxel-based morphometry and (B) cortical analysis. p-Values are color-coded according with the color bars below. Results are overlaid on a 3D model of the white matter surface. In A, significant areas indicate gray matter atrophy. Inset shows the corresponding slice of the MRI template. (B) Shows significant differences in area, area pial, smoothed mean curvature, average convexity, thickness, and volume. Hot colors represent areas where the parameters are decreased in the patient group, whereas cold colors show increases.

Epilepsia © ILAE

gulate gyrus and 168 mm³ (two clusters) for the posterior and isthmus cingulate gyrus. Using the same threshold areas of increased gray matter volumes were not disclosed.

Cortical analysis of the cingulate gyrus

Cortical surface analysis showed that 29 patients (91%, mean of 3.5 ± 2.6 per patients, range 1–10) and 33 con-

trols (92%, 2.5 ± 2.3 , range 1–10) presented at least one abnormal parameter. Twenty-eight patients presented abnormalities of curvature (including index, mean, and gaussian), 18 patients of volume, 16 of thickness, 12 of folding, and 8 of area. Concerning localization, for the left hemisphere, 5 patients presented abnormalities in the rostral anterior cingulate, 17 in the caudal anterior, 14 in the posterior, and 19 in the isthmus. For the right hemisphere, 12 patients presented abnormalities in the rostral anterior cingulate, 17 in the caudal anterior, 19 in the posterior, and 9 in the isthmus (Fig. 2). Statistical analysis did not show any differences between patients and controls except for the volume of the right rostral and caudal anterior cingulate ($p < 0.001$, $t = 3.46$ and $p = 0.028$, $t = 2.23$, respectively) and thickness of the right isthmus ($p = 0.004$, $t = 2.96$). The total area of cortical abnormalities, including clusters with <20 contiguous vertexes, was 221.95 mm² (17 clusters) for the anterior cingulate gyrus and 718.12 mm² (32 clusters) for the posterior and isthmus cingulate gyrus (Table 2 and Fig. 1B).

Shape analysis of the cingulate gyrus

Some surface models were excluded because of poor results in the processing steps. Exclusions for subjects with poor processing in the cingulate gyrus of the left hemisphere included the following: three controls and four patients for the rostral anterior, two controls and four patients for the caudal anterior, four controls and one patient for the posterior, and six controls and five patients for the isthmus. For the cingulate gyrus in the right hemisphere, five controls and four patients (rostral anterior), one control and one patient (caudal anterior), one control (posterior), and three controls and two patients (isthmus) were excluded.

Shape analysis showed a prevalence of statistically significant differences in the anterior portion of cingulate gyrus. The total area was 130.5 mm² for the anterior cingulate gyrus and 63.1 mm² for the posterior and isthmus cingulate gyrus. The right hemisphere (total area 161.6 mm²) also showed more differences than the left (32 mm²).

All structures were composed of 1,002 points. The deformation observed in cingulate gyrus was predominantly outward (59.5%, 4,769 points). Of the eight surfaces, only the left isthmus (54%, 540 points) and the right caudal anterior cingulate (53.5%, 536 points) presented predominantly inward deformations. For the anterior cingulate 63.6% (2549), points were displaced inward compared to 55.4% (2220) for the posterior and isthmus cingulate (Fig. 3 and Table 3).

Analysis of juvenile myoclonic epilepsy

Analysis of patients with JME showed findings similar to those obtained in the investigation of the whole IGE group. VBM showed areas of gray matter atrophy mainly in the anterior cingulate (Fig. S1A and Table S2). The total volume of gray matter atrophy, including clusters with <20

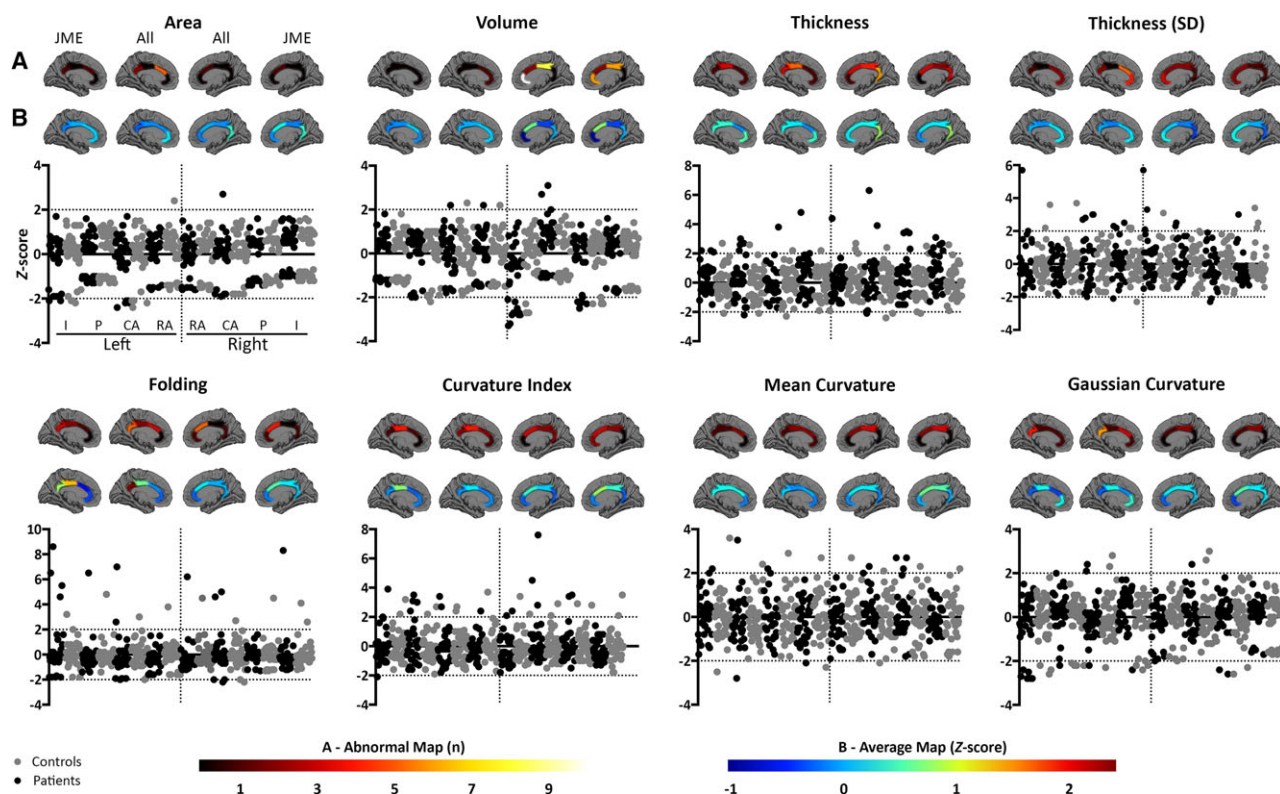


Figure 2.

Cortical surface analysis of cingulate gyrus. Parameters were standardized according to the controls using a Z-score transformation. All values of eight main parameters obtained for each patient (black dots) and control (gray dots) are shown. Pictures are ordered according with the anatomic correspondence as shown in the area figure (RA, rostral anterior cingulate; CA, caudal anterior cingulate; P, posterior cingulate; I, isthmus cingulate). For juvenile myoclonic epilepsy (JME) and for all patients with idiopathic generalized epilepsy (All), maps of the number of patients who had two or more standard deviations above or below controls for each parameter and cingulate gyrus subfield are shown in (A) (hot colors, superior rows). For JME and All patients, maps with the averages of the parameters are also shown for each parameter and cingulate gyrus subfield in (B) (cold color, inferior rows). Maps are overlaid on a 3D model of the white matter surface displayed in sagittal-medial view. Maps are color-coded according to the scale shown.

Epilepsia © ILAE

contiguous voxels, was 477 mm³ (eight clusters) for the anterior cingulate gyrus and 111 mm³ (two clusters) for the posterior and isthmus cingulate gyrus. Areas of increased gray matter were not disclosed.

The total area of cortical abnormalities, including clusters with <20 contiguous vertexes, was 224.62 mm² (nine clusters) for the anterior cingulate gyrus and 1,261.31 mm² (32 clusters) for the posterior and isthmus cingulate gyrus (Fig. S1B and Table S3). Cortical surface analysis showed that 18 patients (90%, mean of 3.7 ± 2.9 per patients, range 1–10) presented at least one abnormal parameter (Fig. 2). Statistical analysis of these parameters did not show any differences between patients and controls except for the volume of the right rostral and caudal anterior cingulate ($p = 0.008$, $t = 2.74$ and $p = 0.028$, $t = 2.24$, respectively), folding of the left caudal anterior cingulate ($p = 0.036$, $t = 2.14$) and thickness of the right isthmus ($p = 0.009$, $t = 2.71$).

Shape analysis showed 107.87 mm² for the anterior cingulate and 63.2 for the posterior; right 42.5 and left 128.6.

Deformations were also predominantly outward (58.3%, 4,676 points). Left isthmus (609 points) and right caudal anterior cingulate (610 points) remained with inward deformations. Anterior cingulate presented 63.6% (2,551 points) and posterior cingulate 53% (2,125 points) displaced inward (Fig. S2 and Table S4).

DISCUSSION

Subtle structural abnormalities were detected in the cingulate gyrus of patients with IGE. Based on a neurobiologic model approach, the cingulate gyrus can be divided in anterior cingulate cortex, mid-cingulate cortex, posterior cingulate cortex, and retrosplenial cingulate cortex.²³ According with the neurobiologic model, the findings of this study are most apparent in the anterior and posterior cingulate cortex regions. These areas are functionally related with cognition, emotion, and visuospatial orientation.²³ Seizures involving the anterior cingulate cortex may cause conscience impairment that is probably explained by the close relationship

Table 2. Results of the cortical surface statistical analysis of the cingulate gyrus showing the area, number of statistically significant vertex, and maximum p-value according to the locations

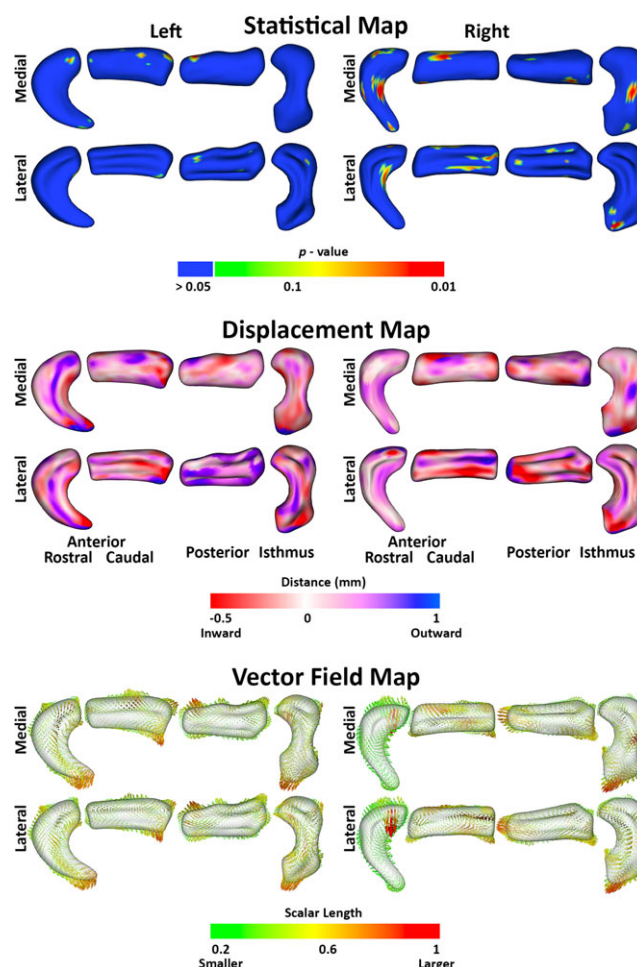
	Area (mm ²)	Vertex (n)	Max p-Value	Location	
Area	41	104	0.02	-11, 6, 38	Caudal anterior
	102	278	0.005	-8, -31, 40	Posterior
	26	63	0.023	7, -35, 35	Posterior
	31	88	0.03	14, -32, 37	Posterior
	31	99	0.021	-11, -45, 2	Isthmus
	43	102	0.031	-6, -51, 22	Isthmus
	22	55	0.024	7, -36, 35	Isthmus
Area pial	29	81	0.021	-10, -31, 40	Posterior
	22	52	0.02	7, -35, 38	Posterior
Curvature	30	67	0.022	-3, 19, -4	Rostral anterior
	20	51	0.021	-5, -33, 40	Posterior
	16	50	0.016	12, -13, 39	Posterior
	18	43	0.018	5, -34, 39	Posterior
	25	61	0.010	-19, -52, 3	Isthmus
	11	27	0.028	11, -52, 8	Isthmus
	23	41	0.029	6, 33, 19	Caudal anterior
Thickness	25	61	0.028	6, -33, 38	Posterior
	32	71	0.029	-7, 33, -8	Rostral anterior
	45	81	0.013	6, 35, -5	Rostral anterior
	45	123	0.017	10, -12, 39	Posterior
	39	85	0.023	6, -36, 42	Posterior
	29	73	0.005	-20, -55, 7	Isthmus
	17	42	0.034	-10, 13, 34	Caudal anterior
Volume	33	92	0.02	-9, -31, 40	Posterior
	23	77	0.008	15, -16, 40	Posterior
	59	197	0.015	-9, -45, 22	Isthmus
	20	46	0.017	-16, -45, -4	Isthmus

Location in Talairach space (x, y, and z in millimeters).

with medial temporal lobe structures.³ The anterior cingulate cortex may be involved in the similarities between absence and focal seizures with conscience impairment.

For the whole group of IGE patients, VBM showed areas of gray matter reduction, mainly in the anterior region, and the major, most significant cluster was localized in the caudal anterior cingulate. Cortical surface analysis also showed a number of abnormalities in the rostral anterior, posterior, and isthmus cingulate. Only three parameters differed in the caudal anterior cingulate. Finally, shape analysis disclosed the most significant areas in the rostral anterior, posterior, and isthmus cingulate gyrus. Despite the apparently diffuse distribution, this observation and the statistical maps support major involvement of the anterior and posterior cingulate cortex. Considering only JME patients, this pattern was sustained and clearer.

Structural investigations of patients with IGE mainly used VBM methodology, which can detect subtle abnormal-

**Figure 3.**

Shape analysis of the cingulate gyrus results. Figures are superimposed average 3D models of patients and control cingulate gyrus subfields in the medial and lateral regions. Statistical mapping demonstrates statistically significant areas using the Hotelling's T^2 test with 500 permutations. Displacement maps show the subtraction between patient and control surfaces. Positive values (blue) indicate that patient surfaces were increased to match controls, and negative values (red) indicate the opposite. Vector field maps show vectors obtained by the subtraction of the mean shapes. The size of the vectors is proportional and color-coded according to the scalar length obtained. All maps are color-coded according to the scale shown.

Epilepsia © ILAE

ities.^{1,24} Increased and reduced gray matter volumes were described consistently, especially in the frontal lobe.^{1,24} Involvement of the cingulate gyrus was reported, but a direct comprehensive study was not performed previously. One investigation evaluated 13 patients with childhood absence epilepsy. In this investigation the authors found reduced white matter volumes in the anterior and posterior cingulate.²⁵ Decreased gray matter volume in the posterior cingulate was also reported in 28 patients with JME.²⁶ The anterior-posterior gradient observed in the present study has not been established previously.

Table 3. Results of the shape statistical analysis of the cingulate gyrus demonstrating the obtained area of triangulated cells, maximum number of statistically significant adjacent points, total number of statistically significant points, and the maximum p-value according to the locations

	Area (mm ²)	Max cluster size (points)	Total	Max p-Value	Location
Left	6	7	13	0.016	Rostral anterior
	7	10	18	0.012	Caudal anterior
	19	18	22	<0.001	Posterior
	0	2	2	0.022	Isthmus
Right	61	55	95	<0.001	Rostral anterior
	57	36	80	0.004	Caudal anterior
	17	13	29	0.004	Posterior
	27	15	33	<0.001	Isthmus

A study of interhemispheric functional and anatomic connectivity in patients with IGE and generalized tonic-clonic seizures showed increased interhemispheric functional connectivity between the bilateral cuneus and anterior cingulate cortex. It also reported a shorter length of the commissural fiber bundles connecting the anterior cingulate cortex. This investigation supports that the bilateral anterior cingulate cortex may be involved in the pathophysiology of generalized tonic-clonic seizures in IGE.²⁷ Using routine electroencephalography (EEG), quantitative source analyses also revealed the anterior cingulate gyrus as the main source for GSW discharges.⁵

The posterior cingulate may also be involved in the mechanism of GSW discharges. A study using EEG and fMRI in 15 patients presenting absence seizures and 262 GSW discharges showed blood oxygen level-dependent (BOLD) changes primarily in the precuneus and posterior cingulate region starting approximately 10 s before GSW discharges. At the start of GSW discharges, BOLD enhancements were located in thalamus, cerebellum, and anterior cingulate gyrus.²⁸ This investigation suggests the critical role of parietal regions as generators of GSW. The observation of abnormalities in the anterior and posterior cingulate gyrus in the current study is in line with these hypotheses.

In this study, both patients and controls presented with at least one abnormal parameter in the cortical analysis of the cingulate gyrus (91% for patients and 92% controls). The mean number of abnormal cortical parameters per patient was slightly superior for the group of patients (3.5 for patients and 2.5 for controls). These findings confirm that the structural abnormalities, when present, are subtle and individually may not be detected because of insufficient statistical power determined by limited sample size. Furthermore, some data obtained by the parcellation method may not have sufficient sensitivity. Statistical analysis in the 3D surface model revealed only subtle changes. Negative results in functional and structural

imaging were reported in JME. In a study of 19 patients, no abnormalities were found using VBM, and the patients did not show working memory differences from controls when investigated by fMRI.²⁹

Other investigations using different methodologies and analyzing functional, metabolic, and structural patterns also have found consistent differences between patients and control subjects in the cingulate gyrus.¹ These findings indicate that IGE is a group of diseases with focal abnormalities and emphasizes the importance of this structure. Using single photon emission computed tomography (SPECT) to investigate the interictal blood flow in patients with IGE without treatment, one study demonstrated flow reductions in several regions including the anterior and posterior cingulate cortex.³⁰ Another multivoxel spectroscopic study of 18 patients who had epilepsy with generalized tonic-clonic seizures demonstrated abnormalities involving the cingulum. Patients presented decrease of total *N*-acetyl aspartate, choline, and myo-inositol levels, and an increase in glutamine and glutamate concentrations.³¹

Thalamocortical circuitry associated with neuronal hyperexcitability is critical in the pathophysiology of IGE.^{1,32,33} Previous studies have shown that thalamus and cingulate gyrus can have different structural connective profiles in patients with IGE and that abnormalities in anterior cingulate cortex were related to impulsivity in bipolar patients.^{34,35} This may also be related with some degree of impulsivity demonstrated by these patients.³⁶ The abnormalities presented here support cingulate involvement.

Other evidence also points to the focal features of IGE such as the cognitive impairment once thought to be minimal or inexistent in these entities. Recent evidence showed deficits in domains of frontal lobe function, such as nonverbal reasoning, verbal generativity, attention, and working memory in 36 patients and their relatives compared to a control group.³⁷ The anterior cingulate cortex also plays an important role in these functions.²³

Although evidence shows abnormalities in the cingulate cortex of patients with IGE, it is important to point out that the usual clinical manifestations are different from cingulate gyrus epilepsy, where the main features are ictal events with complex motor activities.³ However, there are reports of unilateral myoclonic seizures and even generalized myoclonic seizures occurring in patients with focal epilepsy.^{38,39}

There are some limitations to this study. The neuroimaging statistical analysis performed was less stringent than it could have been. This may have generated false positives in the results. A restricted ROI analysis was performed and probably minimized this error. The sample investigated may also have introduced some bias. Patients were recently referred to our tertiary center and most of them were still having seizures. In addition, some patients were taking inappropriate antiepileptic drugs. Although groups were comparable for age and gender, the sample size was a factor that might have limited the statistical power.

This study demonstrated differences between patients and healthy controls that suggest the cingulate may be involved in the pathologic mechanism of IGE. These data are consistent with those from previous investigations that identified alterations in the cingulate cortex among other areas. However, none of the previous studies investigated the cingulate cortex alone. The anterior and posterior cingulate cortex may play a role in the initiation or propagation of GSW discharges in patients with IGE and could thus be a primary driver of the disease rather than a consequence, but further investigation is still needed to test his hypothesis.

ACKNOWLEDGMENT

Supported by grants number 2011/02961-2 and 2011/16452-2, São Paulo Research Foundation (FAPESP).

DISCLOSURE

None of the authors has any conflict of interest to disclosure. We confirm that we have read the Journal's position on issues involved in ethical publication and affirm that this report is consistent with those guidelines.

REFERENCES

- Anderson J, Hamandi K. Understanding juvenile myoclonic epilepsy: contributions from neuroimaging. *Epilepsy Res* 2011;94:127–137.
- Walton ME, Croxson PL, Behrens TE, et al. Adaptive decision making and value in the anterior cingulate cortex. *Neuroimage* 2007;36(Suppl. 2):T142–T154.
- Devinsky O, Morrell MJ, Vogt BA. Contributions of anterior cingulate cortex to behaviour. *Brain* 1995;118:279–306.
- Alkawadri R, Mickey BE, Madden CJ, et al. Cingulate gyrus epilepsy: clinical and behavioral aspects, with surgical outcomes. *Arch Neurol* 2011;68:381–385.
- da Silva Braga AM, Fujisao EK, Betting LE. Analysis of generalized interictal discharges using quantitative EEG. *Epilepsy Res* 2014;108:1740–1747.
- Kay BP, Holland SK, Privitera MD, et al. Differences in paracingulate connectivity associated with epileptiform discharges and uncontrolled seizures in genetic generalized epilepsy. *Epilepsia* 2014;55:256–263.
- Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, 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;51:676–685.
- Rorden C, Brett M. Stereotaxic display of brain lesions. *Behav Neurol* 2000;12:191–200.
- Ashburner J, Friston KJ. Unified segmentation. *Neuroimage* 2005;26:839–851.
- Ashburner J. A fast diffeomorphic image registration algorithm. *Neuroimage* 2007;38:95–113.
- Maldjian JA, Laurienti PJ, Kraft RA, et al. An automated method for neuroanatomic and cytoarchitectonic atlas-based interrogation of fMRI data sets. *Neuroimage* 2003;19:1233–1239.
- Tzourio-Mazoyer N, Landeau B, Papathanassiou D, 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.
- Dale AM, Fischl B, Sereno MI. Cortical surface-based analysis. I. Segmentation and surface reconstruction. *Neuroimage* 1999;9:179–194.
- Fischl B, Sereno MI, Dale AM. Cortical surface-based analysis. II: inflation, flattening, and a surface-based coordinate system. *Neuroimage* 1999;9:195–207.
- Fischl B, Sereno MI, Tootell RB, et al. High-resolution intersubject averaging and a coordinate system for the cortical surface. *Hum Brain Mapp* 1999;8:272–284.
- Fischl B, van der Kouwe A, Destrieux C, et al. Automatically parcellating the human cerebral cortex. *Cereb Cortex* 2004;14:11–22.
- Desikan RS, Segonne F, Fischl B, et al. An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *Neuroimage* 2006;31:968–980.
- Fischl B, Dale AM. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:11050–11055.
- Van Essen DC, Drury HA. Structural and functional analyses of human cerebral cortex using a surface-based atlas. *J Neurosci* 1997;17:7079–7102.
- Jack CR Jr, Twomey CK, Zinsmeister AR, et al. Anterior temporal lobes and hippocampal formations: normative volumetric measurements from MR images in young adults. *Radiology* 1989;172:549–554.
- Styner M, Oguz I, Xu S, et al. Framework for the statistical shape analysis of brain structures using SPHARM-PDM. *Insight J* 2006;1071:242–250.
- Styner M, Lieberman JA, Pantazis D, et al. Boundary and medial shape analysis of the hippocampus in schizophrenia. *Med Image Anal* 2004;8:197–203.
- Vogt BA. Pain and emotion interactions in subregions of the cingulate gyrus. *Nat Rev Neurosci* 2005;6:533–544.
- Seneviratne U, Cook M, D'Souza W. Focal abnormalities in idiopathic generalized epilepsy: a critical review of the literature. *Epilepsia* 2014;55:1157–1169.
- Chan CH, Briellmann RS, Pell GS, et al. Thalamic atrophy in childhood absence epilepsy. *Epilepsia* 2006;47:399–405.
- O'Muircheartaigh J, Vollmar C, Barker GJ, et al. Focal structural changes and cognitive dysfunction in juvenile myoclonic epilepsy. *Neurology* 2011;76:34–40.
- Ji GJ, Zhang Z, Xu Q, et al. Generalized tonic-clonic seizures: aberrant interhemispheric functional and anatomical connectivity. *Radiology* 2014;271:839–847.
- Benuzzi F, Mirandola L, Pugnaghi M, et al. Increased cortical BOLD signal anticipates generalized spike and wave discharges in adolescents and adults with idiopathic generalized epilepsies. *Epilepsia* 2012;53:622–630.
- Roebeling R, Scheerer N, Uthner I, et al. Evaluation of cognition, structural, and functional MRI in juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsia* 2009;50:2456–2465.
- Joo EY, Tae WS, Hong SB. Cerebral blood flow abnormality in patients with idiopathic generalized epilepsy. *J Neurol* 2008;255:520–525.
- Doelken MT, Mennecke A, Stadlbauer A, et al. Multi-voxel magnetic resonance spectroscopy at 3 T in patients with idiopathic generalised epilepsy. *Seizure* 2010;19:485–492.
- Meeren HK, Pijn JP, Van Luijtelaar EL, et al. Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *J Neurosci* 2002;22:1480–1495.
- Blumenfeld H. From molecules to networks: cortical/subcortical interactions in the pathophysiology of idiopathic generalized epilepsy. *Epilepsia* 2003;44(Suppl. 2):7–15.
- Matsuo K, Nicoletti MA, Peluso MA, et al. Anterior cingulate volumes associated with trait impulsivity in individuals with bipolar disorder. *Bipolar Disord* 2009;11:628–636.
- Zhang Z, Liao W, Chen H, et al. Altered functional-structural coupling of large-scale brain networks in idiopathic generalized epilepsy. *Brain* 2011;134:2912–2928.
- Moschetta S, Valente KD. Impulsivity and seizure frequency, but not cognitive deficits, impact social adjustment in patients with juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsia* 2013;54:866–870.
- Chowdhury FA, Elwes RD, Koutroumanidis M, et al. Impaired cognitive function in idiopathic generalized epilepsy and unaffected family members: an epilepsy endophenotype. *Epilepsia* 2014;55:835–840.
- Lim EC, Tan JJ, Ong BK, et al. Generalised myoclonus evolving into epilepsy partialis continua due to a cingulate gyrus lesion: case report and review of the literature. *Parkinsonism Relat Disord* 2004;10:447–449.

39. von Lehe M, Wagner J, Wellmer J, et al. Epilepsy surgery of the cingulate gyrus and the frontomesial cortex. *Neurosurgery* 2012;70:900–910.

SUPPORTING INFORMATION

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article:

Figure S1. Statistical analysis comparing the cingulate gyrus of patients with juvenile myoclonic epilepsy with controls using (A) voxel-based morphometry and (B) cortical analysis.

Figure S2. Shape analysis of the cingulate gyrus results comparing patients with juvenile myoclonic epilepsy and controls.

Table S1. Demographic and electroencephalographic features of 32 patients with idiopathic generalized epilepsy.

Table S2. Results of the voxel-based morphometry analysis of the cingulate gyrus comparing patients with juvenile myoclonic epilepsy and controls.

Table S3. Results of the cortical surface statistical analysis of the cingulate gyrus showing the area, number of statistically significant vertex, maximum p-value according to the locations comparing patients with juvenile myoclonic epilepsy and controls.

Table S4. Results of the shape statistical analysis of the cingulate gyrus demonstrating the obtained area of triangulated cells, maximum number of statistically significant adjacent points, total number of statistically significant points, and the maximum p-value according to the locations comparing patients with juvenile myoclonic epilepsy and controls.

INVESTIGATION OF THE CINGULATE CORTEX IN IDIOPATHIC GENERALIZED EPILEPSY

Aline M. da S. Braga, MD¹; Elaine K. Fujisao, MD¹; Roberto C. Verdade, MS; Rômulo P. Paschoalato, MS; Ricardo P. Paschoalato, MS; Seizo Yamashita, MD, PhD²; Luiz E. Betting, MD, PhD¹

¹ Departamento de Neurologia, Psiquiatria e Psicologia

² Departamento de Doenças Tropicais e Diagnóstico por Imagem
Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP – Univ Estadual Paulista

Running Title: Cingulate cortex and generalized epilepsy

Key Words: idiopathic generalized epilepsy, cingulate cortex, neuroimaging, shape analysis, voxel based morphometry

Number of figures: 2

Number of tables: 4

Authors address and Corresponding author: Luiz Eduardo Betting, MD, PhD

Departamento de Neurologia, Psiquiatria e Psicologia

Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP – Univ Estadual Paulista

Zip Code 18618-970, Botucatu, SP, Brazil

Phone: +55 14 3811 6260 / FAX: +55 14 3815 5965

Email: betting@fmb.unesp.br

Supplementary Material

Tables

Table 1: Demographic and electroencephalographic features of 32 patients with idiopathic generalized epilepsy.

Patient	Gender	GSW on the EEG	Diagnosis	Age	Age at the First Seizure	Last Seizure (years)	Seizure Type
1	Male	Yes	JME	33	19	1	MT
2	Female	No	JME	25	15	2	MT
3	Male	No	GTCS	19	16	2	T
4	Male	No	JME	18	14	1	MT
5	Female	No	GTCS	31	29	1	T
6	Female	Yes	JME	20	16	3	MT
7	Male	Yes	JME	24	16	0	MT
8	Male	Yes	JME	29	NA	1	MT
9	Female	No	JME	58	10	6	MT
10	Female	No	JME	19	14	0	MT
11	Female	Yes	JME	25	12	0	MT
12	Female	Yes	JME	40	14	1	MT
13	Female	Yes	JAE	41	15	7	AT
14	Female	Yes	JAE	29	13	0	AT
15	Female	Yes	JME	42	21	0	AMT
16	Female	Yes	JME	32	NA	NA	MT
17	Male	Yes	JME	41	22	0	MT
18	Male	Yes	JME	26	20	4	MT
19	Male	Yes	JME	37	9	3	MT
20	Female	No	JME	19	12	2	MT
21	Male	Yes	JAE	17	15	0	AT
22	Female	Yes	JME	34	NA	0	AMT
23	Female	Yes	GTCS	34	14	1	T
24	Male	Yes	GTCS	39	15	0	T
25	Female	No	GTCS	22	9	2	MT
26	Female	Yes	GTCS	17	14	0	T

27	Male	No	JAE	20	9	3	AMT
28	Male	Yes	JAE	46	NA	0	AT
29	Male	Yes	JME	24	8	0	MT
30	Female	Yes	JME	24	NA	0	MT
31	Male	Yes	JAE	38	27	0	AT
32	Female	Yes	JME	29	11	3	MT

GSW: generalized spike and wave discharges. JME: juvenile myoclonic epilepsy. JAE: juvenile absence epilepsy. GTCS: epilepsy with generalized tonic-clonic seizures only. A: absence, M: myoclonic, T: tonic-clonic seizures. NA: data not available.

Table 2: Results of the voxel-based morphometry analysis of the cingulate gyrus comparing patients with juvenile myoclonic epilepsy and controls.

Cluster size (mm³)	T value	Z value	p value	Coordinates (x, y, z)	Location
174	3.3	3.1	0.001	15, 41, 16	caudal anterior
85	3.2	3	0.001	-8, -69, 15	isthmus
71	2.9	2.8	0.003	17, 29, 31	caudal anterior
142	2.7	2.6	0.004	-11, 41, 10	rostral anterior
32	2.6	2.5	0.007	11, 36, -11	rostral anterior

Coordinates in Montreal Neurological Institute space (x, y, z in millimeters).

Table 3: Results of the cortical surface statistical analysis of the cingulate gyrus showing the area, number of statistically significant vertex, maximum p value according to the locations comparing patients with juvenile myoclonic epilepsy and controls.

	Area (mm ²)	Vertex (n)	Max p value	Location	
Area	133	363	0.006	-8, -31, 40	posterior
	180	496	0.005	14, -29, 36	posterior
	12	33	0.018	8, -36, 34	isthmus
Area Pial	165	442	0.002	6, -35, 39	posterior
Curv	13	38	0.025	-5, -32, 39	posterior
	34	80	0.009	5, -20, 39	posterior
	15	36	0.019	5, -34, 40	posterior
	6	20	0.034	16, -24, 38	posterior
	130	427	0.004	-8, -44, 25	isthmus
	12	28	0.025	-18, -51, 3	isthmus
	12	25	0.027	-5, -41, 32	isthmus
	26	62	0.021	21, -53, 7	isthmus
Sulc	84	159	0.009	9, 33, -8	rostral anterior
	65	153	0.011	6, -34, 39	posterior
	35	95	0.028	-9, -54, 8	isthmus
	57	138	0.019	17, -52, 7	isthmus
Thickness	65	139	0.009	-6, 30, -9	rostral anterior
	46	84	0.015	6, 35, -5	rostral anterior
	38	84	0.023	7, -37, 42	posterior
	47	114	0.001	-19, -55, 7	isthmus
	16	63	0.039	-9, -45, 24	isthmus
Volume	16	35	0.032	-11, 44, 3	rostral anterior
	159	448	0.001	15, -17, 40	posterior
	55	183	0.009	-8, -43, 22	isthmus

Location in Talairach space (x, y, z in millimeters).

Table 4: Results of the shape statistical analysis of the cingulate gyrus demonstrating the obtained area of triangulated cells, maximum number of statistically significant adjacent points, total number of statistically significant points and the maximum p value according to the locations comparing patients with juvenile myoclonic epilepsy and controls.

	Area (mm ²)	Max cluster size (points)	Total	Max p value	Location
Left	2	4	5	0.012	rostral anterior
	19	19	41	0.012	caudal anterior
	22	14	34	<0.001	posterior
	0	2	2	0.022	isthmus
Right	61	55	95	<0.001	rostral anterior
	26	12	41	0.004	caudal anterior
	17	13	29	0.004	posterior
	24	16	29	<0.001	isthmus

Figure Legends

Figure 1. Statistical analysis comparing the cingulate gyrus of juvenile myoclonic epilepsy patients with controls using (A) VBM and (B) cortical analysis. *P* values are color-coded according with the color bars below. Results are overlaid on 3D model of the white matter surface. In A, significant areas indicate gray matter atrophy. Inset shows the corresponding slice of the MRI template. B shows significant differences in area, area pial, smoothed mean curvature, average convexity, thickness, and volume. Hot colors represent areas where the parameters are decreased in the patient group, while cold colors show increases.

Figure 2: Shape analysis of the cingulate gyrus results comparing patients with juvenile myoclonic epilepsy and controls. Figures are superimposed average 3D models of patients and control cingulate gyrus subfields in the medial and lateral regions. Statistical mapping demonstrates statistically significant areas using the Hotelling T^2 test with 500 permutations. Displacement maps show the subtraction between patient and control surfaces. Positive values (blue) indicate that patient surfaces were increased to match controls and negative values (red) indicate the opposite. Vector field maps show vectors obtained by the subtraction of the mean shapes. The size of the vectors is proportional and color-coded according to the scalar length obtained. All maps are color-coded according with the scale shown.

Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu - S.P.

CEP: 18.618-970

Fone/Fax: (0xx14) 3811-6143

e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br

e-mail coordenadoria: tsarden@fmb.unesp.br

Registrado no Ministério da Saúde
em 30 de abril de 1997

Botucatu, 02 de abril de 2012

Of. 122/2012

Ilustríssimo Senhor

Prof. Dr. Luiz Eduardo Gomes Garcia Betting

Departamento de Neurologia, Psicologia e Psiquiatria da
Faculdade de Medicina de Botucatu

Prezado Dr. Luiz Eduardo,

De ordem do Senhor Coordenador deste CEP, informo que o Projeto de Pesquisa (Protocolo CEP 4147-2012) "**Análise quantitativa das descargas generalizadas de pacientes com epilepsia mioclônica juvenil utilizando o EEG e a neuroimagem**", a ser conduzido por Aline Souza Marques da Silva, orientada por Vossa Senhoria, recebeu do relator parecer **favorável**, aprovado em reunião de 02/04/2012.

Situação do Projeto: APROVADO. Os pesquisadores deverão apresentar ao CEP ao final da execução do Projeto o "**Relatório Final de Atividades**".

Atenciosamente,

Alberto Santos Capelluppi
Secretário do CEP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Protocolo de Pesquisa: ANÁLISE QUANTITATIVA DAS DESCARGAS GENERALIZADAS DE PACIENTES COM EPILEPSIA MIOCLÔNICA JUVENIL UTILIZANDO O EEG E A NEUROIMAGEM

Convidamos o (a) senhor (a) a participar deste estudo sobre epilepsia que será realizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP e terá como duração média de 24 meses. A epilepsia é uma doença cerebral que leva a crises epiléticas (convulsivas) e tem diversas causas.

Solicitamos o seu consentimento para utilizarmos as informações contidas no seu prontuário, onde serão analisados os dados referentes aos sintomas de sua doença (por exemplo, como evoluiu ao longo do tempo, como foi o tratamento) e resultados de exames já existentes (eletroencefalograma, tomografia e ressonância de crânio).

O senhor (a) será submetido a um eletroencefalograma com duração de 20 minutos. O eletroencefalograma é um exame que faz parte da avaliação rotineira das epilepsias, dura de 20-30 minutos, não provoca nenhuma dor e é realizado por meio de eletrodos colocados no couro cabeludo fixados com uma pasta.

Após o eletroencefalograma, será agendada uma data para realização de um exame de ressonância magnética de crânio. A ressonância é uma técnica radiológica que permite a visualização de imagens do interior do nosso corpo de maneira não invasiva sem uso de radiação. Este exame também não provoca dor, e o (a) senhor(a) deverá ficar deitado em uma superfície plana situada abaixo de um aparelho que cobrirá sua cabeça e seu pescoço, por aproximadamente 30-45 minutos. Quanto aos riscos, não há, até o momento, documentação de efeitos adversos significativos da ressonância magnética no corpo humano.

Garantimos que o senhor (a) terá acesso, a qualquer momento, às informações relacionadas à pesquisa, tendo total liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar deste estudo, sem que isso traga prejuízo à continuidade de seu atendimento neste hospital.

Gostaríamos também de salientar que o (a) senhor (a) terá garantido o sigilo e a privacidade durante e após o andamento desta pesquisa, isto é, não será possível identificar sua pessoa (citação de seu nome, seu registro de prontuário, etc).

Informamos que não haverá qualquer tipo de pagamento ou remuneração por sua participação nesta pesquisa.

Os possíveis benefícios incluem proporcionar maior grau de conhecimento sobre esta doença, podendo contribuir no tratamento de outros indivíduos em condições semelhantes futuramente.

INFORMAÇÕES DE NOMES, TELEFONES E E-MAIL DO RESPONSÁVEL PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA

Prof. Dr. Luiz Eduardo Betting: (14) 3811 6260
e-mail: lebetting@hotmail.com

Discente de pós-graduação (mestrado): Aline Marques da Silva Braga
Telefone: 3811 6260 e-mail: aline.sms@gmail.com

“Qualquer dúvida adicional, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa, através do fone: (14) 3811-6143.”

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

Nome do participante ou responsável

Assinatura do participante ou responsável

data

Nome da testemunha

Assinatura da testemunha

data

RESPONSABILIDADE DO PESQUISADOR:

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

Nome do pesquisador

Assinatura do pesquisador

data

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Protocolo de Pesquisa: ANÁLISE QUANTITATIVA DAS DESCARGAS GENERALIZADAS DE PACIENTES COM EPILEPSIA MIOCLÔNICA JUVENIL UTILIZANDO O EEG E A NEUROIMAGEM

Convidamos o (a) senhor (a) a participar deste estudo sobre epilepsia que será realizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP e terá duração média de 24 meses. A epilepsia é uma doença cerebral que leva a crises epiléticas (convulsivas) e tem diversas causas. Participarão do estudo 2 grupos: pacientes com epilepsia tratados no ambulatório de epilepsia e pessoas que não tem doença neurológica, como o senhor (a), para que se possa estudar as diferenças entre os grupos.

O senhor (a) será submetido a um exame de ressonância magnética de crânio. A ressonância é uma técnica que permite a visualização de imagens do interior do nosso corpo de maneira não invasiva, sem uso de radiação. Este exame não provoca dor, e o senhor deverá ficar deitado em uma superfície plana situada abaixo de um aparelho que cobrirá sua cabeça e seu pescoço, por aproximadamente 30-45 minutos.

Garantimos que o senhor (a) terá acesso, a qualquer momento, às informações relacionadas à pesquisa, tendo total liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar deste estudo.

Gostaríamos também de salientar que o (a) senhor (a) terá garantido o sigilo e a privacidade durante e após o andamento desta pesquisa, isto é, não será possível identificar sua pessoa (citação de seu nome, seu registro de prontuário, etc).

Informamos que não haverá qualquer tipo de pagamento ou remuneração por sua participação nesta pesquisa.

Os possíveis benefícios incluem proporcionar maior grau de conhecimento sobre esta doença, podendo contribuir no tratamento de outros indivíduos em condições semelhantes futuramente.

**INFORMAÇÕES DE NOMES, TELEFONES E E-MAIL DO RESPONSÁVEL PELO
ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA**

Prof. Dr. Luiz Eduardo Betting: (14) 3811 6260
e-mail: lebetting@hotmail.com

Discente de pós-graduação (mestrado): Aline Marques da Silva Braga
Telefone: 3811 6260 e-mail: aline.sms@gmail.com

“Qualquer dúvida adicional, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa, através do fone: (14) 3811-6143.”

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

Nome do participante ou responsável

Assinatura do participante ou responsável

data

Nome da testemunha

Assinatura da testemunha

data

RESPONSABILIDADE DO PESQUISADOR:

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

Nome do pesquisador

Assinatura do pesquisador

data