



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

**Patrícia Sanches**

**Imagem de tensor de difusão na epilepsia de lobo  
temporal mesial**

Trabalho apresentado à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Eduardo Gomes Garcia Betting

**Botucatu  
2016**

Patrícia Sanches

Imagem de tensor de difusão na epilepsia de  
lobo temporal

Trabalho apresentado à Faculdade de  
Medicina, Universidade Estadual Paulista  
“Júlio de Mesquita Filho”, Campus de  
Botucatu, para obtenção do título de  
Mestre em fisiopatologia em Clínica  
Médica.

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

Sanches, Patricia.

Imagem de tensor de difusão na epilepsia de lobo temporal mesial / Patricia Sanches. - Botucatu, 2016

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Luiz Eduardo Gomes Garcia Betting  
Capes: 40101070

1. Epilepsia. 2. Ressonância magnética. 3. Cérebro - Doenças - Diagnostico. 4. Imagem de Tensor de Difusão.

Palavras-chave: Atrofia hipocampal; Epilepsia de lobo temporal mesial; Ressonância magnética.

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.”*

(Madre Teresa de Calcutá)

## DEDICATÓRIA

*Dedico esse trabalho...*

*À Deus por sua infinita misericórdia e bondade. Sempre presente, me guiando e auxiliando nas horas de dificuldades e alegrias.*

*À minha mãe Eliana, ao meu pai Sidnei e à minha irmã Vanessa, pelo amor e apoio incondicional em todos os momentos de minha vida.*

*Ao Carlos Eduardo (e família), por sempre se fazer presente, apesar da distância, me apoiando, demonstrando seu amor, dedicação, carinho e companheirismo, principalmente nos momentos mais difíceis. Obrigada por tudo!*

*Aos portadores de epilepsia, pacientes e familiares e, a todos os voluntários que colaboraram com este estudo.*

*Obrigada por ainda acreditarem no valor da Educação, nas suas mais diversas instâncias!*

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”- Unesp Campus de Botucatu e a todo corpo docente e funcionários.

À Faculdade de Medicina de Botucatu, sua direção, corpo docente, funcionários e alunos.

Ao Hospital das Clínicas de Botucatu, sua direção e funcionários.

Ao Departamento de Neurologia. Psicologia e Psiquiatria, seus docentes e funcionários.

Ao Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia em Clínica Médica e à Seção de pós-graduação (funcionários) que sempre atenderam minhas solicitações prontamente.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Proc FAPESP # 2011/02961-2) pelo auxílio financeiro para a execução deste projeto.

Ao Centro de Diagnóstico por Imagem do HC – FMB, sua direção e funcionários.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luiz Eduardo Gomes Garcia Betting, pelos ensinamentos, paciência e confiança para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao grupo de pesquisa em Epilepsia, em especial, à Elaine Keiko Fujisao e Fernanda Furlanetto.

À Cássia Maria Lopes Modolo, pelo apoio, amizade e compreensão.

À Maita, por sempre se fazer presente e pelo apoio.

Aos funcionários do setor de Tomografia Computadorizada, em especial à Alessandra, Sula, Maria Regina, pelo apoio, torcida, ajuda e amizade.

Aos funcionários do setor de Ressonância Magnética por toda ajuda e colaboração.

Às minhas amigas Alexia, Nadine e Renata, companheiras de trabalho, sempre dispostas a me ajudar, ouvir, compartilhando bons momentos.

Ao Dr. Seizo Yamashita pelo apoio.

A todos que contribuíram direta e indiretamente para realização e conclusão deste trabalho.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS</b> .....	<b>3</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>5</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>6</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>7</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>8</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
1.1. DEFINIÇÃO.....	9
1.2. CLASSIFICAÇÃO DAS CRISES EPILÉPTICAS.....	9
1.3. EPIDEMIOLOGIA.....	11
1.4. EPILEPSIA LOBO TEMPORAL MESIAL (ELTM).....	11
1.5. CLÍNICA E ELETROENCEFALOGRAFIA (EEG) DA ELTM.....	12
1.6. ELTM ASSOCIADO À ESCLEROSE HIPOCAMPAL.....	14
1.7. NEUROIMAGEM DA ELTM COM ESCLEROSE HIPOCAMPAL.....	15
1.8. IMAGEM POR TENSOR DE DIFUSÃO (DTI).....	16
1.9. DTI NA EPILEPSIA DE LOBO TEMPORAL MESIAL.....	19
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>23</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>24</b>
3.1. ASPÉCTOS ÉTICOS.....	24
3.2. CASUÍSTICA.....	24
3.2.1. <i>Grupo amostral</i> .....	24
3.2.2. <i>Grupo controle</i> .....	25
3.3. INVESTIGAÇÃO DA EPILEPSIA.....	26
3.3.1. <i>Eletroencefalograma durante a crise - interictal</i> .....	26
3.3.2. <i>Ressonância magnética</i> .....	26
3.3.3. <i>Neuroimagem</i> .....	26
3.3.4. <i>Aquisição e análise das imagens</i> .....	27
3.4. PÓS-PROCESSAMENTOS.....	28
3.4.1. <i>Obtenção de dados estruturais</i> .....	28
3.4.2. <i>Obtenção dos mapas de difusão</i> .....	29
3.4.3. <i>Criação do template e alinhamento</i> .....	30
3.4.4. <i>Morfometria baseada em voxel (VBM)</i> .....	32
3.4.5. <i>Estatística espacial baseada em tratos (TBSS)</i> .....	32
3.4.6. <i>Análise específica de tratos e fascículos</i> .....	33
<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>34</b>
4.1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E DE EEG.....	34
4.1.1. <i>Características clínicas</i> .....	34
4.1.2. <i>EEG</i> .....	34

4.2. CARACTERÍSTICAS DE NEUROIMAGEM .....	34
4.3. ANÁLISE DE VBM.....	39
4.3.1. <i>Comparação Difusão Axial (AD)</i> .....	39
4.3.2. <i>Comparação Difusão Radial (RD)</i> .....	39
4.3.3. <i>Comparação Difusão Média (MD)</i> .....	39
4.3.4. <i>Comparação Anisotropia Fracionada (FA)</i> .....	39
4.4. ANÁLISE DE TBSS .....	43
4.4.1. <i>Comparação Difusão Axial (AD)</i> .....	43
4.4.2. <i>Comparação Difusão Radial (RD)</i> .....	43
4.4.3. <i>Comparação Difusão Média (MD)</i> .....	43
4.4.4. <i>Comparação Anisotropia Fracionada (FA)</i> .....	43
4.5. ANÁLISE ESPECÍFICA DE TRATOS .....	48
<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	<b>52</b>
<b>6. CONCLUSÃO .....</b>	<b>58</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>59</b>
<b>8. ANEXOS .....</b>	<b>72</b>
8.1. APROVAÇÕES DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	72
8.2. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - PACIENTES .....	77
8.3. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - GRUPO CONTROLE .....	79

## LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS

<b>AD</b>	<i>Axial Diffusivity</i>
<b>VPA</b>	Ácido Valpróico
<b>CBZ</b>	Carbamazepina
<b>CLB</b>	Clobazam
<b>DTI</b>	<i>Diffusion Tractography Imaging</i>
<b>EEG</b>	Eletroencefalografia
<b>EH</b>	Esclerose Hipocampal
<b>ELTM</b>	Epilepsia de Lobo Temporal Mesial
<b>FA</b>	<i>Fractional Anisotropy</i>
<b>FLAIR</b>	<i>Fluid Attenuated Inversion Recovery</i>
<b>FNB</b>	Fenobarbital
<b>FNT</b>	Fenitoína
<b>FOV</b>	<i>Field of View</i>
<b>FWHM</b>	<i>Full Width at Half Maximum</i>
<b>ICMB</b>	<i>International Consortium for Brain Mapping</i>
<b>ILAE</b>	<i>International League Against Epilepsy</i>
<b>JHU</b>	Johns Hopkins University
<b>LMT</b>	Lamotrigina
<b>MD</b>	<i>Mean Diffusivity</i>
<b>MNI</b>	Montreal Neurological Institute
<b>MPRAGE</b>	<i>Magnetization Prepared Rapid Gradient Echo</i>
<b>NEX</b>	<i>Number of Excitations</i>
<b>OXC</b>	Oxcarbazepina
<b>RD</b>	<i>Radial Diffusivity</i>
<b>RM</b>	Ressonância magnética
<b>SNC</b>	Sistema Nervoso Central
<b>STIR</b>	<i>Short Tau Inversion Recovery</i>
<b>TBSS</b>	<i>Tract-Based Spatial Statistics</i>
<b>TCLE</b>	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
<b>TE</b>	Tempo de Excitação
<b>TI</b>	Tempo de Inversão

<b>TPM</b>	Topiramato
<b>TR</b>	Tempo de Repetição
<b>VBM</b>	<i>Voxel-Based Morphometry</i>

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Representação dos mapas médios de difusão axial (AD), radial (RD), média (MD) e anisotropia fracionada (FA) desenvolvidos a partir do *template*..... 31
- Figura 2.** Achados de ressonância magnética de 24 pacientes com epilepsia de lobo temporal medial. Os números indicam os pacientes. Para cada indivíduo, estão demonstrados cortes coronais nas sequências T1 (superior) e T2 (inferior) em orientação radiológica incluindo a porção anterior do hipocampo..... 38
- Figura 3.** Resultados da comparação voxel à voxel realizada por meio do programa SPM12 dos mapas de difusão axial (AD), radial (RD), média (MD) e anisotropia fracionada (FA) dos pacientes com epilepsia de lobo temporal mesial e indivíduos controles. Os resultados (áreas coloridas) estão codificados de acordo com o valor do  $p$  (escalas na porção inferior da figura) e sobrepostos em cortes coronais de um *template* anatômico (cortes) ou de um modelo tridimensional inflado do cérebro (projeção – todas as áreas significativas). A orientação é radiológica..... 42
- Figura 4.** Resultado da comparação voxel à voxel realizada por meio de *Tract-Based Spatial Statistics* (TBSS) dos mapas de difusão axial (AD), radial (RD), média (MD) e anisotropia fracionada (FA) dos pacientes com epilepsia de lobo temporal mesial e indivíduos controles. Os resultados (áreas coloridas) estão codificados de acordo com o valor do  $p$  (escalas na porção inferior da figura) e sobrepostos em cortes coronais de um *template* anatômico (cortes) ou de um modelo tridimensional inflado do cérebro (projeção – todas as áreas). A orientação é radiológica..... 47
- Figura 5.** Resultado da análise específica de tratos e fascículos obtidas por meio da comparação tridimensional entre os modelos dos fascículos analisando os mapas de difusão axial (AD), radial (RD), média (MD) e anisotropia fracionada (FA) dos pacientes com epilepsia de lobo temporal mesial e indivíduos controles. Os resultados (áreas coloridas) estão codificados de acordo com o valor do  $p$  (escalas na porção inferior da figura) e sobrepostos nos modelos tridimensionais dos fascículos..... 51

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Características clínicas, eletroencefalográficas e de neuroimagem de 24 pacientes com epilepsia de lobo temporal mesial. ....	36
<b>Tabela 2.</b> Resultados da comparação voxel à voxel realizada por meio do programa SPM12 dos mapas de difusão axial (AD), radial (RD), média (MD) e anisotropia fracionada (FA) de pacientes com epilepsia de lobo temporal mesial e indivíduos controles. ....	40
<b>Tabela 3.</b> Resultados da comparação voxel à voxel realizada por meio de <i>Tract-Based Spatial Statistics</i> (TBSS) dos mapas de difusão axial (AD), radial (RD), média (MD) e anisotropia fracionada (FA) de pacientes com epilepsia de lobo temporal mesial e indivíduos controles. ....	45
<b>Tabela 4.</b> Principais fascículos e tratos obtidos por meio da comparação voxel à voxel utilizando as técnicas baseada no SPM12 (VBM) e a estatística espacial baseada em tratos (TBSS). ....	48
<b>Tabela 5.</b> Resultado da análise específica de tratos e fascículos obtidas a partir da comparação entre pacientes e indivíduos controle para cada um dos quatro mapas de difusão. ....	49
<b>Tabela 6.</b> Áreas de alteração de acordo com os fascículos e parâmetros investigados. Resultado obtido por meio da comparação específica para cada fascículo entre pacientes e indivíduos controle. ....	50

## RESUMO

SANCHES, P. **Imagem de tensor de difusão na epilepsia de lobo temporal mesial**. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2016.

**Objetivo:** Epilepsia de lobo temporal mesial (ELTM) é a epilepsia refratária mais comum do adulto. A esclerose hipocampal (EH) é a alteração estrutural mais frequentemente relacionada a esta doença. Técnicas quantitativas de análise de difusão permitem a análise mesoscópica *in vivo* da fisiopatologia das epilepsias. O objetivo deste estudo foi analisar a variação dos principais parâmetros de difusão e explorar as diferenças entre duas metodologias de análise voxel à voxel de imagens comparando um grupo de pacientes com ELTM com controles.

**Métodos:** Foram selecionados pacientes com diagnóstico de ELTM. Os pacientes e um grupo controle foram submetidos a ressonância magnética de 3 Tesla. Os parâmetros de difusão foram obtidos das imagens. Com base nos tensores, um *template* customizado foi criado e as imagens registradas em um espaço padrão. Três formas de comparação de cada parâmetro foram realizadas: morfometria baseada em voxel (VBM), estatística espacial baseada em tratos (TBSS) e análise específica de tratos.

**Resultados:** Foram investigados 24 pacientes com ELTM e 36 controles. 10 apresentaram EH à esquerda, 11 à direita e três bilateral com predomínio à esquerda. Nos pacientes, o VBM mostrou as maiores alterações localizadas no giro parahipocampal direito (aumento de difusão axial, radial e média; volumes de 290, 758 e 595 mm<sup>3</sup>;  $p = 0,001$ ,  $< 0,0001$  e  $< 0,0001$  respectivamente) e no lobo temporal esquerdo (redução de anisotropia fracionada; 719 mm<sup>3</sup>;  $p < 0,0001$ ). Nos pacientes, o TBSS mostrou as maiores alterações no giro temporal superior esquerdo (aumento de difusão axial; 423 mm<sup>3</sup>;  $p = 0,028$ ), no lobo temporal esquerdo (aumento da difusão radial; 1132 mm<sup>3</sup>;  $p = 0,001$ ), no uncus direito (aumento da difusão média; 254 mm<sup>3</sup>;  $p = 0,008$ ) e no lobo temporal esquerdo (redução de anisotropia fracionada; volume de 17518 mm<sup>3</sup>;  $p < 0,001$ ).

**Conclusão:** As técnicas utilizadas mostraram resultados semelhantes. Entretanto, as análises se complementaram reforçando a significância dos achados. As alterações foram mais frequentemente observadas nos parâmetros de anisotropia fracionada e difusão radial indicando a necessidade do uso de múltiplos parâmetros de difusão para investigação de pacientes com ELMT. Foi possível observar um predomínio de alterações nas adjacências do lobo temporal mas alterações mais difusas também foram detectadas bem como maior comprometimento no lado esquerdo.

### Descritores

1. Epilepsia de Lobo Temporal Mesial;
2. Ressonância Magnética;
3. Atrofia Hipocampal.

## ABSTRACT

SANCHES, P. **Diffusion tensor imaging in mesial temporal lobe epilepsy.** Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2016.

**Objectives:** Mesial temporal lobe epilepsy (MTLE) is the most common refractory epilepsy of adults. Hippocampal sclerosis (HS) is the most frequent structural abnormality associated with this disease. Quantitative techniques of diffusion analysis allow an *in vivo* mesoscopic analysis the epilepsy physiopathology. The objective of this investigation was to analyze the variation of the main diffusion parameters and explore differences between two methodologies of voxel-wise neuroimaging analysis, comparing a group of patients with MTLE to controls.

**Methods:** Patients with MTLE and controls were selected. All patients and controls were underwent 3 Tesla magnetic resonance imaging. Diffusion parameters were obtained from the raw images. Based on the tensors, a customized template was created and images were transformed into standard space. Three comparisons for each parameter were performed: voxel-based morphometry (VBM), tract based spatial statistics (TBSS) and specific tract analysis.

**Results:** 24 patients with MTLE and 36 controls were investigated. 10 patients presented with left HS, 11 with right and 3 bilateral with left predominance. VBM showed major abnormalities localized in the right parahippocampal gyrus (increased axial, radial and mean diffusivity; volumes 290, 758 and 595 mm<sup>3</sup>;  $p = 0.001$ ,  $< 0.0001$  and  $< 0.0001$ , respectively) and in the left temporal lobe (decreased fractional anisotropy; 719 mm<sup>3</sup>;  $p < 0.0001$ ). TBSS showed major abnormalities in the left superior temporal gyrus (increased axial diffusivity; 423 mm<sup>3</sup>;  $p = 0.028$ ), in the left temporal lobe (increased radial diffusivity; 1132 mm<sup>3</sup>;  $p = 0.001$ ), in the right uncus (increased mean diffusivity; 254 mm<sup>3</sup>;  $p = 0.008$ ) and in the left temporal lobe (decreased fractional anisotropy; volume 17518 mm<sup>3</sup>;  $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** The two techniques used showed similar findings. The analyses were complementary, stressing the significance of the findings. The abnormalities were more frequently observed in fractional anisotropy and radial diffusivity indicating the need for several diffusion parameters in the investigation of patients with MTLE. We observed a predominance of abnormalities in the temporal lobe adjacencies but diffuse abnormalities and a major burden of the left side were also observed.

### Key Words

1. Mesial Temporal Lobe Epilepsy;
2. Magnetic Resonance Imaging;
3. Hippocampal Atrophy.

## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1. DEFINIÇÃO**

Epilepsia é um distúrbio cerebral caracterizado pela predisposição perene do cérebro em gerar crises epiléticas e pelas consequências neurobiológicas, cognitivas, psicológicas e sociais (FISHER, R.S. et al., 2014).

Trata-se de condição neurológica crônica, compreendida por recorrentes crises epiléticas (intervalo superior a 24 horas) sem que haja um fator desencadeante agudo ou imediato, tais como condições tóxico-metabólicas e febris (FISHER, R.S. et al., 2014).

A ampla gama de sintomas complexos decorrentes de alterações nas funções cerebrais não permite, conceitualmente, caracteriza-la como uma doença específica, além de ser passível de acometer indistintamente pessoas de idade, gênero e classe social em diferentes graus (FERNANDES, J.G. e SANDER, J.W.A.S., 1998; GUERREIRO, C.A.M. e GUERREIRO, M.M., 1999; GUERREIRO, C.A.M. et al., 2000; ENGEL, J., 2001).

A fisiopatologia da epilepsia configura-se como um desequilíbrio, ainda vagamente compreendido, entre excitação e inibição do sistema nervoso central. No entanto, há fortes indícios da participação de neurotransmissores envolvidos com a inibição, como o GABA (ácido  $\gamma$ -aminobutírico) (BRIGGS, S.W. e GALANOPOULOU, A.S., 2011).

### **1.2. CLASSIFICAÇÃO DAS CRISES EPILÉTICAS**

As crises epiléticas se referem a episódios de disfunção cerebral manifestados por alterações estereotipadas do comportamento (ENGEL, J.J. e SHIELDS, W.D., 1997). Essas crises podem ser classificadas em mais de

40 tipos distintos, baseados não apenas pelo tipo de manifestação, mas também pelas características clínicas envolvidas, como padrão de recorrência das crises, causas, idade de início dos eventos epiléticos, presença ou não de ocorrência na família do paciente, padrões eletroencefalográficos e também pelo prognóstico da doença (ENGEL, J.J. e SHIELDS, W.D., 1997).

Uma vez que as crises epiléticas podem ser resultado de descargas paroxísticas, excessivas e sincrônicas de uma população neuronal, suas manifestações clínicas dependem direta ou indiretamente do tipo e da localização do grupo neuronal envolvido (TALAIRACH, J. e TOURNOUX, P., 1988).

Desta forma, a disfunção temporária de um conjunto de neurônios de parte restrita do encéfalo é classificada como focal, enquanto que quando provenientes de uma área mais extensa, abrangendo simultaneamente os dois hemisférios cerebrais, como generalizada (GUERREIRO, C.A.M. et al., 2000). Além disso, durante as crises focais, quando há preservação da consciência, pode-se denominá-la como uma crise epilética simples, porém, quando há alteração do nível de consciência, atribuímos à denominação de complexa (FERNANDES, M.J.S., 2013). A Liga Internacional contra a Epilepsia (ILAE, do inglês *International League Against Epilepsy*) introduziu um esquema (classificação das epilepsias, síndromes epiléticas e distúrbios relacionados) que é atualmente muito utilizado na tentativa de sistematizar os diferentes tipos de epilepsia (DREIFUSS, F.E., 1997; ALEXANDER, A.L. et al., 2007; BERG, A.T. et al., 2010; ALEXANDER, A.L. et al., 2011).

A epilepsia abrange um grupo complexo de doenças cuja principal característica é a manifestação de crises epiléticas espontâneas e recorrentes (GUERREIRO, C.A.M. et al., 2000; MAKRIS, N. et al., 2005).

### **1.3. EPIDEMIOLOGIA**

A epilepsia é uma doença neurológica associada a uma significativa taxa de morbidade e mortalidade (OTTE, W.M. et al., 2012). Estima-se que entre 60 e 100 milhões de pessoas sejam acometidos pela epilepsia o que a torna a condição neurológica crônica grave mais comum no mundo (SONG, S.K. et al., 2002; FISHER, R.S. et al., 2014; WHO, 2015).

A epilepsia tem prevalência, quando ajustada para a idade do indivíduo, em países desenvolvidos, de 4 a 8 por 1000 habitantes (HAUSER, W.A., 1992; CATANI, M. et al., 2003). De 3% a 5% das crianças deverão ter um eventual episódio de convulsão febril nos primeiros cinco anos de vida; 30% dessas terão mais episódios de convulsão febril das quais 3% a 6% irão desenvolver epilepsia (GOVINDAN, R.M. et al., 2008).

As crises epiléticas parciais compõem cerca de 50% a 70% de todas as epilepsias e são refratárias ao tratamento medicamentoso em até 60% dos pacientes (ANNEGERS, J.F. et al., 1996; BLUME, W.T. et al., 2001; ENGEL, J., 2001; MOHANRAJ, R. e BRODIE, M.J., 2005).

### **1.4. EPILEPSIA LOBO TEMPORAL MESIAL (ELTM)**

Dentre as epilepsias focais, a epilepsia de lobo temporal é a síndrome epilética mais frequentemente diagnosticada em adultos e é subdividida em mesial e neocortical (lateral). A epilepsia do lobo temporal mesial (ELTM) é

definida como a epilepsia focal mais frequente em adultos (70%) e seu substrato patológico mais comum é a esclerose hipocampal (EH), caracterizada por diferentes graus de comprometimento de estruturas adjacentes, em consequência de perda neuronal e gliose hipocampal no exame histopatológico (HAUSER, W.A., 1992).

A ELTM também pode ser secundária a lesões estruturais diversas como tumores, displasias corticais focais ou até mesmo alterações vasculares. Portanto, é regularmente considerada doença complexa uma vez que danos cerebrais podem ser responsáveis por parte do fenótipo clínico. Relatos de casos familiares apontam para a importância do fator genético (KOBAYASHI, E. et al., 2003; OTTE, W.M. et al., 2012). Desta forma, tal condição justifica em parte, o fato de que cerca de 20% dos pacientes com diagnóstico de ELTM apresentam exames imagem, como o de ressonância magnética, normais (CARNE, R.P. et al., 2004).

### **1.5. CLÍNICA E ELETROENCEFALOGRAFIA (EEG) DA ELTM**

As crises epilépticas focais são manifestações clínicas frequentemente verificadas em pacientes com ELTM e, diretamente associadas à esclerose hipocampal mesial (BABB, T.L. e BROWN, W.J., 1987).

As crises sem perda de consciência são em geral, reportadas pelos pacientes como uma sensação epigástrica ascendente e que podem ou não, estar associadas à dor, opressão ou, frio na região epigástrica ou torácica; além disso há relatos de sensações dismnésticas como *deja vu* ou *jamais vu*, ou ainda sensações de medo, estado de sonho, alterações emocionais, afetivas e de sensopercepção. As manifestações autônomas também podem

ser observadas nesses pacientes, como piloereção, palpitações, dilatação das pupilas, sudorese, náusea e palidez (WIESER, H.G. et al., 1993; WIESER, H.G. et al., 2000; ANDRADE-VALENÇA, L.P.A. et al., 2006).

Durante as crises, a perda da consciência também podem ser observadas com frequência nos pacientes como ELTM os quais apresentam, em menor ou maior grau, redução à reatividade e reponsividade aos estímulos do ambiente como a fixação do olhar, a parada das atividades, o automatismos oroalimentares; além disso, em casos mais severos, na fase pos-ictal, pode-se verificar algum comprometimento de linguagem e/ou cognição (ANDRADE-VALENÇA, L.P.A. et al., 2006).

O EEG de escalpo dos pacientes com ELTM, pode-se observar a presença de “atividades epileptiformes”, definida por pontas (espéculas) e/ou ondas agudas e complexos ponta-onda distribuidas nas regiões temporais anterior, seguidas ou não de onda lenta com eletronegatividade e amplitude máxima em eletrodos correspondentes às áreas temporais médio-basais (PEDLEY, T.A., 1992). Comumente definidos como grafo-elementos esteriotipados, os elementos ponta e ondas curtas são perfeitamente distintos da atividade de fundo vigente, frequentemente associados a atividade lenta (MISULIS, K.E., 1993).

A atividade EEG ictal de escalpo pode se manifestar com um padrão rítmico de uma atividade por ondas teta, delta, alfa ou beta e de crescimento gradual da amplitude e redução da frequência (RISINGER, M.W. et al., 1989). Kanner & Jones (1997) demonstraram que em 5% dos casos observados apresentaram atenuação da voltagem laterizada como manifestação ictal, no entanto, o padrão rítmico das ondas teta e delta apresenta-se mais frequentes

no início ictal em pacientes com pontas interictais unilaterais (PATARAYA, E. et al., 1998).

### **1.6. ELTM ASSOCIADO À ESCLEROSE HIPOCAMPAL**

A esclerose hipocampal é o substrato patológico mais comum da ELTM e descrita, histopatologicamente, por uma grande perda das células piramidais do CA1 (corno de Ammon 1) e CA3 (corno de Ammon 3) e neurônios da região polimórfica do giro denteado (PoDG ou hilo) (GLOOR, P., 1991; SLOVITER, R.S., 2005).

Desta maneira, a epileptogênese da EH é atribuída à perda de neurônios específicos do hipocampo e a reorganização sináptica dos elementos celulares sobreviventes nesta região. Assim, como resultado desse processo pode-se verificar uma hipersincronização e hiperexcitabilidade, fatores esses responsáveis pela manifestação das crises (SLOVITER, R.S., 2005).

Apesar da relação entre EH e ELTM já estar consolidada na literatura, o mecanismo para o desenvolvimento da esclerose hipocampal ainda não foi completamente esclarecido; uma das hipóteses é de que a EH estaria associada a uma história prévia de injúria inicial, como possíveis crises epilépticas ocorridas em fases precoces do desenvolvimento cerebral humano e portanto, a esclerose mesial seria provavelmente o resultado de algum evento ocorrido no passado, e não a sua consequência (PENFIELD, W. e BALDWIN, M., 1952; MATHERN, G.W. et al., 2002; WIESER, H.G., 2004).

No entanto, mecanismo exato através do qual uma crise epiléptica conduziria a morte celular ainda não está completamente esclarecido. A

liberação de substâncias excitatórias em grandes quantidades na fenda sináptica, como o glutamato, poderia ocasionar hiperexcitabilidade neuronal, resultando na morte celular e assim, explicar o fato de que determinadas áreas cerebrais apresentarem maior susceptibilidade à lesão, como hipocampo e neocórtex temporal pois, possuem maior quantidade de terminações nervosas excitatórias (AUER, R.N. e SIESJO, B.K., 1988; OLNEY, J.W. et al., 1988). Estima-se que cerca de 70% dos pacientes com ELTM apresentem EH (CASCINO, G.D. et al., 1991). No entanto, a incidência exata de pacientes com EH é desconhecida, pois apenas nos casos com crises refratárias é realizada a ressecção cirúrgica de estruturas anatômicas na região temporal mesial e, portanto passível de confirmação histopatológica (KOBAYASHI, E. et al., 2001).

### **1.7. NEUROIMAGEM DA ELTM COM ESCLEROSE HIPOCAMPAL**

O diagnóstico da EH pode ser feito pela análise de exames de imagem de RM específicos, permitindo a detecção *in vivo* da EH e a confirmação do diagnóstico da ELTM.

Nos exames de RM, a esclerose hipocampal, é melhor visualizada a partir de imagens ponderadas em T1 e/ou o aumento de sinal nas imagens ponderadas T2 uma vez que a perda de volume e da estrutura interna do hipocampo são mais evidentes (CENDES, F. et al., 1993; VAN PAESSCHEN, W. et al., 1997). Assim, a redução do volume hipocampal nas imagens ponderadas de RM em T1, é correlacionada à perda neuronal da EH (VAN PAESSCHEN, W. et al., 1995). No entanto, a relação entre o hipersinal em imagens de RM em T2 e a EH, apesar de ainda não ser bem compreendida

histopatologicamente, se deve ao aumento de água livre no tecido. (VAN PAESSCHEN, W. et al., 1995; BERNASCONI, A. et al., 2000).

### **1.8. IMAGEM POR TENSOR DE DIFUSÃO (DTI)**

A Imagem por Tensor de Difusão (DTI, do inglês *Diffusion Tensor Imaging*) é uma técnica, baseada nos princípios dos exames de RM, capaz de fornecer informações sobre a integridade estrutural da substância branca cerebral, por meio da determinação da magnitude e direção da difusão das moléculas de água.

A sequência de DTI trabalha com a mensuração da tendência do movimento aleatório das moléculas de água, em um dado meio, geralmente limitado pelas membranas celulares no cérebro. Na substância branca cerebral, a difusão é direcional (anisotrópica) ao longo das fibras, uma vez que as moléculas se movem com maior facilidade paralelamente aos tratos quando comparado ao seu movimento perpendicular (RITTNER, L. e LOTUFO, R.A., 2010).

Assim, dispendo destas características, a sequência DTI pode ser usada para avaliar indiretamente a integridade do microambiente axonal por meio da avaliação da difusão das moléculas de água e sua direção em um espaço tridimensional (WIDJAJA, E. et al., 2007).

A tractografia permite identificar a orientação predominante das fibras em um voxel da imagem a partir do alinhamento com direção dominante do movimento da água no eixo principal do tensor de difusão (LE BIHAN, D. et al., 2001). Portanto, faz-se possível acompanhar o caminho percorrido pelos

tratos neuronais (substancia branca) e gerar um mapa anatômico *in vivo* e não invasivo (RITTNER, L. e LOTUFO, R.A., 2010).

No DTI, cada voxel da imagem contém um tensor, que descreve matematicamente a magnitude e direção (anisotropia) do movimento de moléculas de água em um espaço tridimensional. Cada tensor é representado por uma elipsoide cuja orientação é caracterizada por três vetores próprios (autovetores) e cuja forma é caracterizada por três valores próprios (autovalores) (BASSER, P.J., 1995; RITTNER, L. e LOTUFO, R.A., 2010).

Os autovetores representam os três eixos ortogonais (X, Y, Z) de um elipsoide. O maior autovetor indica a direção da difusão máxima, que por sua vez está associado com a orientação do feixe de fibras nervosas. Os autovalores representam o grau de difusão nessas três direções, determinando o tamanho e a forma da elipsoide que corresponde por sua vez ao tensor de difusão propriamente dito.

O maior autovalor refere-se ao índice de difusão longitudinal o qual está relacionado à intensidade da difusão da água ao longo das fibras axonais. Os demais autovalores (menor valor) representam a intensidade da difusão da água sobre os eixos mutuamente perpendiculares às fibras e denominados como difusão axial (AD) e radial (RD). Todas essas propriedades do tensor de difusão são utilizadas para os cálculos dos mapas de traço do tensor de difusão e mapas de orientação (ENGELHARDT, E. e MOREIRA, D.M., 2008).

Recentemente foi demonstrado que há evidente correlação entre a técnica de DTI *in vivo* e a histologia em humanos o que permite garantir a

qualidade do uso dessa metodologia como marcador não invasivo para a caracterização da substância branca (CONCHA, L. et al., 2010).

Desta maneira, a presença de alterações na AD demonstram a perda da integridade axonal (THOMALLA, G. et al., 2004). Entretanto, alterações na RD remetem a alterações de mielinização (SONG, S.K. et al., 2002; SONG, S.K. et al., 2003).

Assim, informações quanto à microestrutura tissular foram avaliadas a partir da derivação da DTI em dois parâmetros: difusão média (MD, do inglês *Mean Diffusivity*) e a anisotropia fraccional (FA, do inglês *Fractional Anisotropy*).

A MD é a medida de difusão numa direção não co-linear ou de difusão livre e que implica na perda da anisotropia. Tal fenômeno reflete-se no aumento da difusão livre da água e, portanto, num aumento da MD. Em contrapartida, a anisotropia fraccional (FA) é a medida de difusão anisotrópica da água a partir da magnitude do tensor de difusão e representa a orientação do eixo dos feixes de fibras ao longo do qual as moléculas de água se movem de modo preferencial.

Assim, partindo-se de um meio puramente isotrópico, FA = zero, que uma vez crescente tenderia ao valor máximo de um ou seja, o valor zero representaria a difusão isotrópica e o valor um, a difusão anisotrópica. Portanto, valores crescentes de FA relacionam-se com o grau de mielinização e de densidade axonal. A perda da difusão anisotrópica poderia então ser relacionada à anormalidades dentro da microestrutura tissular, oferecendo informação quanto sua integridade estrutural (BASSER, P.J. et al., 2000;

MELHEM, E.R. et al., 2002; BASSER, P.J., 2003; SETSU, W. et al., 2004; LITTLE, D.M. e HOLLOWAY, R.G., 2007).

Desta forma, cada voxel da imagem latente o tensor de difusão origina dois importantes parâmetros: primeiro, a magnitude de difusão anisotrópica e, segundo, a orientação da difusão máxima. Uma vez dispondo dessas informações, a tractografia os processa por meio de algoritmos permitindo que o trajeto da substância branca (fibra) seja rastreado voxel a voxel (BASSER, P.J. et al., 2000; POUPON, C. et al., 2000; MORI, S. e VAN ZIJL, P.C.M., 2002).

### **1.9. DTI NA EPILEPSIA DE LOBO TEMPORAL MESIAL**

Apesar da associação da ELTM e EH, existe crescente número de evidências apontando para a presença de anormalidades fora do sistema amigdaló-hipocámpal. Os estudos utilizando DTI nestes pacientes têm contribuído para este conceito. Entretanto, a relação entre as anormalidades, na substância branca, crises e as comorbidades na ELTM permanecem sem resposta (GROSS, D.W., 2011).

O primeiro relato de redução da FA em pacientes com ELMT foi observado na cápsula externa e no corpo caloso em estudo comparativo com indivíduos controle (ARFANAKIS, K. et al., 2002). Desde esta primeira investigação, várias outras demonstraram anormalidades difusas em pacientes com ELTM (GROSS, D.W., 2011). Estas alterações foram descritas no fórnix e no giro do cíngulo (CONCHA, L. et al., 2005); na substância branca do lobo temporal (THIVARD, L. et al., 2005); na cápsula externa e joelho do corpo caloso (GROSS, D.W. et al., 2006); na substância branca do lobo

temporal e difusamente (FOCKE, N.K. et al., 2008); no esplênio do corpo caloso (KIM, H. et al., 2008); nos fascículos uncinado e arqueado (LIN, J.J. et al., 2008); nos fascículos uncinado, arqueado, longitudinal inferior e no trato cortico-espinhal (GOVINDAN, R.M. et al., 2008); na substância branca do lobo temporal e aumento da MD no cíngulo (NILSSON, D. et al., 2008); e finalmente no fórnix, cíngulo, cápsula externa e no corpo caloso (CONCHA, L. et al., 2009).

A localização das anormalidades destes estudos é bastante heterogênea. Provavelmente, isto reflete as diferenças nas populações estudadas e nas técnicas de análise das imagens. De modo geral, as alterações observadas na análise de DTI em pacientes com ELTM estão predominantemente localizadas de forma ipsilateral a EH e apresentam padrão centrífugo (CONCHA, L. et al., 2012; OTTE, W.M. et al., 2012).

A etiologia destas alterações permanece indeterminada. A principal hipótese é que estas alterações podem representar efeito secundário às crises repetidas. Estudos em animais e clínico-patológicos em pacientes submetidos ao tratamento cirúrgico da ELTM sugerem que o aumento da MD e a redução da FA refletem redução da densidade axonal (aumento do espaço extra-axonal) devido a axônios de menor calibre e anormalidades nas bainhas de mielina dos axônios remanescentes (RODRÍGUEZ-CRUCES, R. e CONCHA, L., 2015). Neste sentido, um estudo com 38 pacientes refratários e 48 pacientes com bom controle das crises demonstrou redução significativa de FA na substância cinzenta dos lobos temporais sugerindo que esta técnica pode ser um indicativo de refratariedade na ELTM e, portanto, resultante do maior número de crises (LABATE, A. et al., 2015).

Técnicas quantitativas de comparação voxel à voxel são comumente empregadas na análise de neuroimagem e nas investigações da ELTM. Nesta forma de análise, grupos de indivíduos podem ser diretamente comparados. O emprego de metodologias distintas é comumente destacado como um dos responsáveis pelos diferentes resultados. Um dos maiores problemas relacionados a esta forma de comparação entre grupos de imagem é o alinhamento. A técnica mais utilizada, com o objetivo de superar esta deficiência na normalização, é a estatística espacial baseada em tratos (TBSS, do inglês *Tract-Based Spatial Statistics*) (SMITH, S.M. et al., 2006). Nesta técnica, os mapas de difusão são projetados em um esqueleto que representa todos os tratos de cada indivíduo no estudo (SMITH, S.M. et al., 2006). Entretanto, mesmo esta metodologia apresenta limitações, principalmente, relacionadas ao direcionamento dos tratos que não são levados em consideração (BACH, M. et al., 2014). Uma das formas de contornar o problema e minimizar estas limitações baseia-se na utilização de tensores para a normalização das imagens (KEIHANINEJAD, S. et al., 2013).

Outra forma de comparação voxel à voxel amplamente utilizada é a comparação direta dos mapas de difusão. Geralmente, o programa SPM (*Statistical Parametric Mapping*, [www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/](http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/)) é utilizado (FRISTON, K. et al., 2006). Entretanto, esta metodologia também apresenta problemas, sobretudo relacionados ao alinhamento e, posteriormente, à suavização das imagens, necessários para a análise estatística (ABE, O. et al., 2010).

Portanto, permanece pouco clara a influência destes métodos nos resultados da avaliação por DTI em pacientes com ELTM. Mais ainda, a

maioria dos estudos limita a investigação aos mapas de MD e FA. Deste modo, um padrão típico de anormalidades na análise das imagens de DTI permanece indefinido e poderia ter bastante utilidade na prática clínica e para o conhecimento da fisiopatologia da ELTM.

## 2. OBJETIVOS

O objetivo do estudo foi avaliar a aplicabilidade da sequencia de DTI na detecção de microalterações estruturais da substancia branca de pacientes com epilepsia de lobo temporal mesial (ELTM).

Objetivos específicos:

- Analisar as mudanças na microestrutura tissular por meio da quantificação da difusão e orientação das moléculas de água no tecido cerebral.
- Utilizar a anisotropia fracionada (FA), a difusão média (MD), a difusão radial (RD) e a difusão axial (AD) para comparação quanto à integridade da substância branca entre pacientes e os indivíduos do grupo controle.
- Explorar as diferenças entre duas metodologias de análise voxel à voxel de imagens, VBM e TBSS, comparando um grupo de pacientes com ELTM com indivíduos do grupo controle.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. ASPÉCTOS ÉTICOS**

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (Parecer # 855.433) da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB) – UNESP (ANEXO A).

Todos os sujeitos envolvidos foram devidamente informados sobre os detalhes do projeto bem como de seus objetivos. Uma vez aceita a participação, foi solicitado o preenchimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO B). Cada indivíduo recebeu duas vias do TCLE, uma foi assinada e devolvida ao grupo de pesquisadores e outra, do paciente, para seus arquivos pessoais e futuro contato, caso necessário.

#### **3.2. CASUÍSTICA**

##### **3.2.1. Grupo amostral**

As avaliações se iniciaram pela triagem dos pacientes que procuravam os serviços do Ambulatório de Epilepsia do Hospital de Clínicas (HC) da FMB. Aqueles que apresentaram diagnóstico positivo para ELTM, baseado na história clínica e no exame neurológico foram convidados a participar da pesquisa. Os pacientes foram submetidos ao EEG de rotina para investigação. Uma vez selecionados e, dispostos em participar do projeto, os indivíduos foram encaminhados para o exame de RM.

##### **3.2.1.1. Critérios de inclusão**

- a) Pacientes com diagnóstico de ELTM (BERG, A.T. et al., 2010);
- b) Desejo de participar da presente pesquisa;

- c) Ausência de contraindicações para realização do exame de RM.

#### **3.2.1.2. Critérios de exclusão**

- a) Desejo de sair do estudo;
- b) Indivíduos que durante a investigação apresentaram diagnóstico de outros tipos de epilepsia ou crises não epiléticas;
- c) Indivíduos com dupla patologia;
- d) Indivíduos sem atrofia hipocampal;
- e) Contraindicações para realização do exame de RM.

#### **3.2.2. Grupo controle**

Por meio de um convite, 36 indivíduos da comunidade local, uma vez interessados em participar do grupo controle, foram submetidos aos mesmos critérios de avaliação neurológica utilizados nos pacientes com epilepsia. Todas as triagens e seleção foram realizadas por um neurologista clínico.

##### **3.2.2.1. Critérios de inclusão**

- a) Desejo de participar da presente pesquisa;
- b) Ausência de contraindicações para realização do exame de RM;
- c) Ausência de história clínica de epilepsia e outras patologias do Sistema Nervoso Central (SNC).

##### **3.2.2.2. Critérios de exclusão**

- a) Desejo de sair do estudo;
- b) Indivíduos que durante a investigação apresentem diagnóstico de epilepsia;

- c) Indivíduos com alguma patologia do SNC;
- d) Contraindicações para realização do exame de RM.

### **3.3. INVESTIGAÇÃO DA EPILEPSIA**

#### **3.3.1. Eletroencefalograma interictal**

O EEG interictal foi registrado por 20 minutos utilizando aparelho da marca Nihon-Kohden (Japão) de 32 canais, com montagem internacional 10-20, incluindo dois eletrodos adicionais para melhor cobertura das regiões temporais e eletrocardiograma para facilitar a visualização de artefatos. A leitura e interpretação dos exames foram realizados por neurologistas pesquisadores deste projeto.

#### **3.3.2. Ressonância magnética**

O exame de RM foi realizado a partir do equipamento da marca Siemens Healthcare (Alemanha), modelo MAGNETOM® Verio 3T (Tesla), disponível no setor de diagnóstico por imagem do Hospital de Clínicas de Botucatu – FMB – Unesp. A bobina de crânio de 12 canais foi utilizada seguindo um protocolo elaborado especificamente para a investigação de ELTM.

#### **3.3.3. Neuroimagem**

Toda a casuística deste trabalho foi submetida a exames de neuroimagem os quais foram avaliados por um neurologista clínico especialista em epilepsia e um radiologista, independentes, que emitiram

laudos atestando o diagnóstico a partir de análise visual qualitativa das imagens de RM especificamente adquiridas para este fim.

As análises empregadas tiveram como objetivo específico de verificar a estrutura do hipocampo e observar a presença de assimetrias, alterações de tamanho e de orientação espacial e, alterações de sinal buscando a presença do substrato patológico mais comum descrito na literatura, a esclerose hipocampal.

#### **3.3.4. Aquisição e análise das imagens**

Os exames de ressonância magnética realizados cobriram aquisições nos planos coronal, sagital e axial do cérebro, além de aquisição em 3D (três dimensões) – volumétrica, para a reconstrução *a posteriori* das imagens em qualquer plano ou inclinação.

Os parâmetros de imagem para as diferentes aquisições foram:

1. Gradiente Eco Volumétrica ponderada em T1 *MPRAGE (Magnetization prepared Rapid Gradient Echo)* com voxels isotrópicos de 1 mm, adquiridos no plano sagital com 1 mm de espessura; ângulo de excitação 9°; TR (tempo de repetição), 2300 ms; TE (tempo de excitação), 2,47 ms; TI (tempo de inversão), 1100 ms; matriz, 256x256 e FOV 256 mm.
2. Axial FLAIR (*Fluid Attenuated Inversion Recovery*) com 4,0 mm de espessura; ângulo de excitação 150°; TR, 9000 ms; TE, 80 ms; TI, 2500 ms; matriz, 208x256 e FOV 220 mm.

3. Volumétrica ponderada em T2 *single shot* com voxels isotrópicos de 1 mm de espessura, adquiridos no plano sagital; TR, 2800 ms; TE, 489 ms; matriz, 256x256 e FOV 256 mm.
4. Coronal T2 perpendicular ao eixo longo do hipocampo com 2,2 mm de espessura; ângulo de excitação 120°; TR, 4000 ms; TE, 135 ms; matriz, 230x256 e FOV 180 mm.
5. Coronal T1 *STIR* perpendicular ao eixo longo do hipocampo com 2,2 mm de espessura; ângulo de excitação 150°; TR, 2100 ms; TE, 9,5 ms; TI, 499 ms; matriz, 230x256 e FOV 180 mm.
6. Coronal T2 *STIR* perpendicular ao eixo longo do hipocampo com 2,2 mm de espessura; ângulo de excitação 150°; TR, 4300 ms; TE, 74 ms; matriz, 128x128; FOV 180 mm.
7. Difusão (DTI) com 2,0 mm de espessura; ângulo de excitação 150°; TR, 9100 ms; TE, 96 ms; TI, 200 ms; matriz, 230x256; FOV 230 mm; 12 direções de gradientes; NEX de 4.

### **3.4. PÓS-PROCESSAMENTOS**

#### **3.4.1. Obtenção de dados estruturais**

O programa Freesurfer (versão 5.3) (DALE, A.M. et al., 1999; FISCHL, B.; SERENO, M.I. e DALE, A.M., 1999), com arquitetura de processamento a partir de algoritmos padrão, foi utilizado para a volumetria dos hipocampos e a obtenção dos volumes intracranianos totais, a partir das imagens volumétricas adquiridas dos pacientes.

A partir destes arquivos de imagens o programa, automaticamente, inicia uma série de etapas como: correções para artefatos de movimentos,

remoção de tecidos extra-cerebrais, normalização das imagens no espaço de Talairach (TALAIRACH, J. e TOURNOUX, P., 1988), segmentação das estruturas corticais e por fim, a modelagem dos limites entre substância cinzenta e branca (FISCHL, B.;SERENO, M.I.;TOOTELL, R.B.H.; et al., 1999; FISCHL, B. et al., 2004).

Os volumes obtidos em unidades de milímetros cúbicos foram normalizados de acordo com o volume intracraniano total e padronizados em relação ao volume dos indivíduos do grupo controle. O índice de assimetria foi calculado com base no volume hipocampal normalizado padrão. Resultados acima ou abaixo de dois desvios-padrão foram considerados como anormais.

#### **3.4.2. Obtenção dos mapas de difusão**

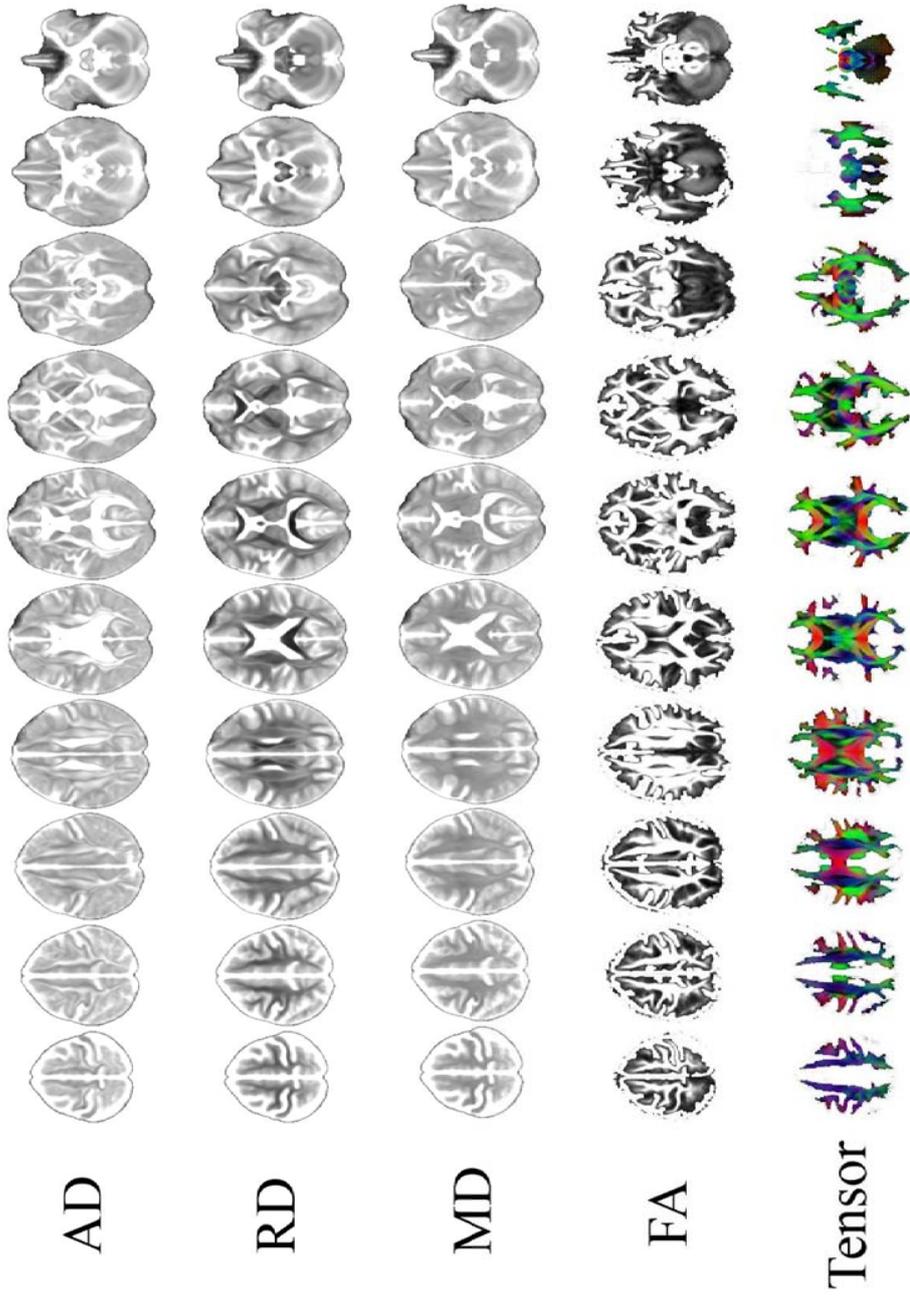
As imagens uma vez adquiridas foram convertidas, com o auxílio do programa MRICron (RORDEN, C. e BRETT, M., 2000), para o formato NIfTI (*Neuroimaging Informatics Technology Initiative*) que permite o armazenamento dos dados volumétricos de RM. Além disso, o mesmo aplicativo foi adequado para extração de informações críticas relacionadas aos gradientes de direção e aos valores  $b_0$  (zero).

As imagens de DTI foram processadas pelo programa FSL (disponível para download em: [www.fmrib.ox.ac.uk/fsl](http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl)) (SMITH, S.M. et al., 2004; WOOLRICH, M.W. et al., 2009; JENKINSON, M. et al., 2012). Nesta fase, este programa foi responsável por eliminar correntes parasitas possivelmente introduzidas durante o processo de aquisição das imagens e assim corrigi-las. Os diversos parâmetros de difusão foram processados, calculados e armazenados.

### 3.4.3. Criação do *template* e alinhamento

A normalização das imagens foi realizada com o auxílio do programa DTI-TK ([www.nitrc.org/projects/dtitk/](http://www.nitrc.org/projects/dtitk/)) (KEIHANINEJAD, S. et al., 2013). Este aplicativo disponibiliza um algoritmo para o registro de imagens de maneira a permitir o alinhamento dos tratos de substância branca combinado a orientação das fibras em cada voxel (KEIHANINEJAD, S. et al., 2013).

O *template* específico para este trabalho foi desenvolvido a partir de rígido alinhamento das imagens a um atlas inicial, seguido do alinhamento linear *affine* e por fim do alinhamento difeomórfico composto por seis iterações. O atlas inicial foi um *template* criado a partir de 550 indivíduos normais com idades entre 20 e 80 anos (ZHANG, H. et al., 2010a). Após a construção deste *template* específico, o mesmo foi registrado no espaço padrão do ICBM-152 (*International Consortium for Brain Mapping* – Montreal Neurological Institute – MNI) utilizando um atlas específico (ZHANG, S. et al., 2011). Finalmente, os campos de deformação obtidos para criação do *template* específico e transformação para o espaço padrão foram aplicados às imagens de cada um dos sujeitos da pesquisa. Por fim, as imagens de DTI alinharam-se no espaço padrão, com voxels isotrópicos de 1 mm que permitiram a extração de mapas individuais e médios dos parâmetros AD, RD, MD e FA (Figura 1).



**Figura 1.** Representação dos mapas médios de difusão axial (AD), radial (RD), média (MD) e anisotropia fracionada (FA) desenvolvidos a partir do *template*.

#### **3.4.4. Morfometria baseada em voxel (VBM)**

Nesta etapa das análises foram utilizados o aplicativo MATLAB® (MATrix LABoratory) (SCANLON, C. et al., 2013) e o programa SPM12 (AHMADI, M.E. et al., 2009).

As análises baseadas em voxels permitem comparações entre imagens no entanto, para que isso fosse possível e adequado, os mapas de difusão alinhados foram suavizados com um filtro gaussiano de 8 mm FWHM (*Full Width at Half Maximum*) de forma a reduzir a variação e distribuir a intensidade dos voxels de forma normal (FRISTON, K. et al., 2006).

Comparações entre pacientes com ELTM e indivíduos do grupo controle foram feitas pelo método *Full Factorial* para detectar áreas de aumento ou redução dos quatro parâmetros investigados. Idade, sexo e volume intracraniano total foram introduzidos nas análises como covariáveis e o nível de significância adotado foi  $p < 0,05$  corrigido para múltiplas comparações (*Family-Wise Error*).

#### **3.4.5. Estatística espacial baseada em tratos (TBSS)**

A partir do programa FSL e tendo como base imagens de FA, os tratos de substância branca foram projetados em um único esqueleto médio para todos os indivíduos (pacientes e controles) da pesquisa seguido da projeção individualizada de todos os mapas de FA (SMITH, S.M. et al., 2006).

Comparações entre pacientes com ELTM e indivíduos do grupo controle foram realizadas tendo como base o modelo linear generalizado com 5000 permutações, para a identificação de áreas de aumento ou redução dos quatro parâmetros investigados. Idade, sexo e

volume intracraniano total foram introduzidos na análise como covariáveis e o nível de significância adotado foi  $p < 0,05$  corrigido para múltiplas comparações (*Family-Wise Error* e *Threshold-Free Cluster Enhancement*).

#### **3.4.6. Análise específica de tratos e fascículos**

Dispondo dos mapas prévios, estes foram transformados em voxels isotrópicos de 2 mm os quais serviram de arquivos de entrada para o programa DTI-TK. A partir disso, uma amostra da substância branca e também de atributos específicos de cada um dos quatro mapas de difusão, correspondentes, a alguns tratos foram obtidos de todos os indivíduos. Assim, para cada um desses valores, obteve-se uma média que foi projetada em um modelo medial (duas dimensões) de forma a representar o trato tridimensional (ZHANG, H. et al., 2010a).

Comparações entre pacientes com ELTM e indivíduos do grupo controles foram feitas através da aplicação de um modelo linear generalizado com 5000 permutações, em busca por áreas de aumento ou de redução dos quatro parâmetros investigados. Idade, sexo e volume intracraniano total foram introduzidos na análise como covariáveis e o nível de significância adotado foi  $p < 0,05$  corrigido para múltiplas comparações (*Family-Wise Error*).

## **4. RESULTADOS**

### **4.1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E DE EEG**

#### **4.1.1. Características clínicas**

Neste trabalho foram avaliados ao todo 60 indivíduos dentre os quais 36 saudáveis (18 mulheres, média de idade de  $33 \pm 11$  anos, 21 – 57), como grupo controle e, 24 pacientes com diagnóstico de ELTM (16 mulheres, média de idade de  $42 \pm 12$  anos, 20 – 68), como grupo amostral. A média de idade para o início das crises epiléticas foi de  $10 \pm 9$  anos (1 – 42); no período da realização dos exames de RM a média da frequência de crises foi de  $5 \pm 5$  por mês (0 – 20) e, a média do número de medicações utilizadas entre os pacientes foi de  $2 \pm 0,6$  (1 – 3), (Tabela 1).

#### **4.1.2. EEG**

A avaliação do EEG interictal apontou que dentre os 24 pacientes com ELTM, nove apresentaram atividade epileptiforme temporal anterior esquerda, sete à direita e quatro bilateral. Dos restantes, dois pacientes apresentaram exames normais, um com atividade de base e por fim, um paciente não realizou o exame previsto (Tabela 1).

### **4.2. CARACTERÍSTICAS DE NEUROIMAGEM**

A avaliação das neuroimagens dos 24 pacientes com ELTM revelou que 10 pacientes apresentaram EH à esquerda, 11 à direita e por fim os três restantes, bilateralmente, porém com predomínio à esquerda. Estes achados foram confirmados pelos dados de volumetria (Tabela 1, Figura 2).

A média de volume dos hipocampos direito para os indivíduos do grupo controle foi de  $4412 \pm 362$  (3682 – 5268) e, de  $3550 \pm 626$  (2442 – 4469)  $\text{mm}^3$  para os pacientes com diagnóstico de ELTM. Em paralelo, a média de volume dos hipocampos esquerdo para os indivíduos do grupo controle foi de  $4315 \pm 363$  (3428 – 4961) e, de  $3336 \pm 848$  (2205 – 4633)  $\text{mm}^3$  para os pacientes com diagnóstico de ELTM. Após a normalização desses dados, obteve-se a média do z - score de  $-1,4 \pm 2,2$  (-5,2 – 3) para os hipocampos direito e,  $-2,1 \pm 2,7$  (-6,7 – 2,8) para os hipocampos esquerdo. Além disso, a média do índice de assimetria foi de  $1,1 \pm 5,6$  (-9,4 – 9,1). As características clínicas do EEG e da neuroimagem estão resumidas na tabela 1 e na figura 2.

**Tabela 1.** Características clínicas, eletroencefalográficas e de neuroimagem de 24 pacientes com epilepsia de lobo temporal mesial.

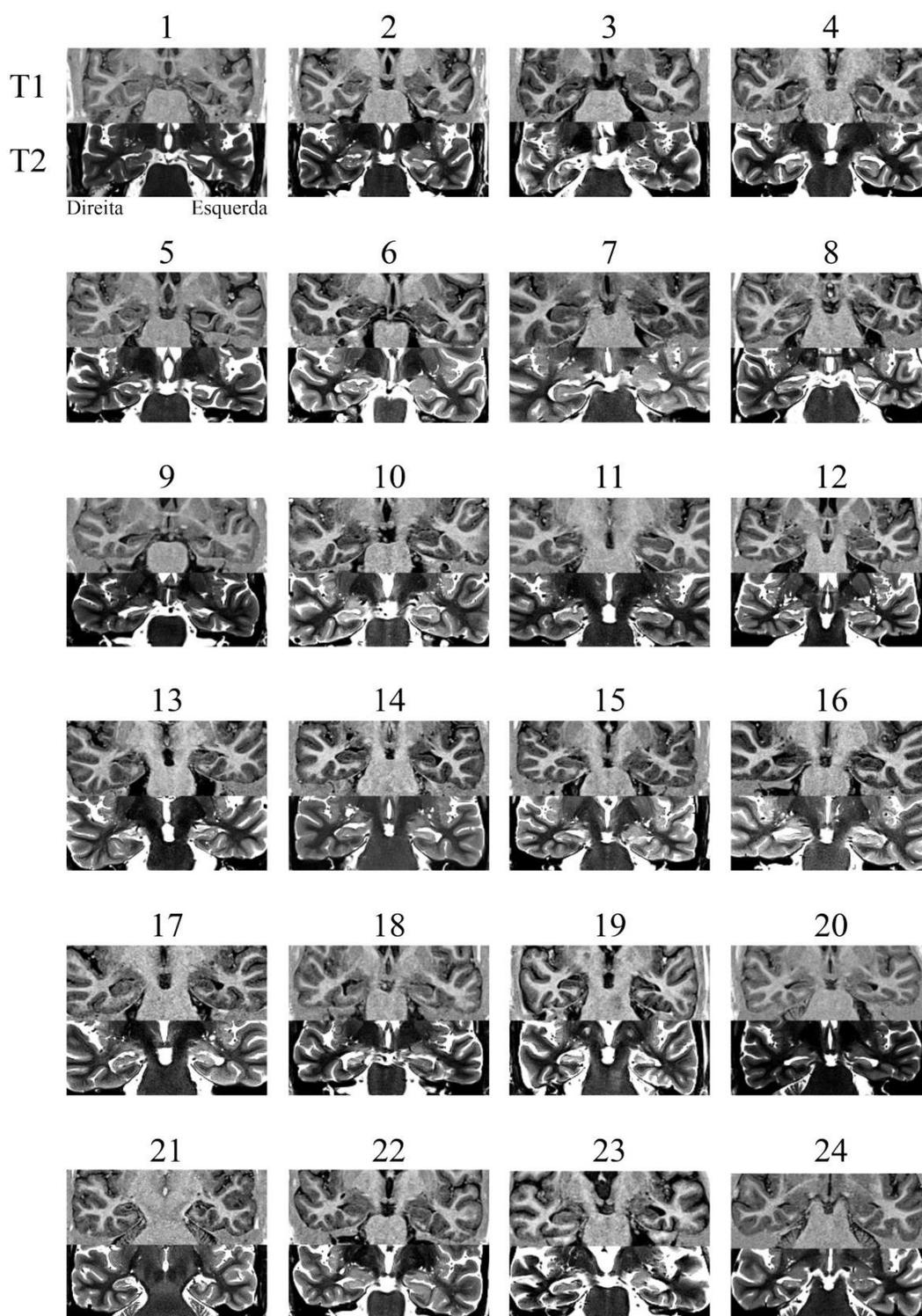
N	EH	Primeira	Freq/ mês	Medicações	EEG	Idade (anos)	Sexo	Vol HD	z HD	Vol HE	z HE	z IA
01	E	8	0	CBZ 1200, LMT 100, CLB 60	Normal	52	M	3766	0,8	2422	-4,3	9,1
02	E	25	3	LMT 300, CLB 20	Esquerda	58	H	3894	-0,3	2866	-3,8	6,2
03	D	1	2	TPM 300, FNT 300	Direita, Alentecimento	43	M	2911	-3,2	4213	1,6	-8,6
04	D	11	2	OXC 2100, AV 1000, CLB20	Bilateral	33	H	2809	-4,1	3700	-1,1	-6,5
05	E	12	2	LMT 450, CLB 40	Esquerda	28	M	3919	-0,4	2532	-5,2	9,0
06	E	10	4	CLB 20, FNB 50, CBZ 1000	Esquerda	37	M	4469	1,4	3907	-0,1	2,5
07	E	7	3	CBZ 1000	Alentecimento	22	M	4122	1,2	2805	-3,5	7,9
08	E	3	3	FNT 300, CLB 10	Esquerda	58	H	4153	3,0	2749	-2,4	8,5
09	B	2	0	CBZ 1200, CLB 10	Direita	49	M	2489	-4,4	2411	-5,0	0,2
10	D	17	8	CBZ 600, CLB 20	Direita	26	H	3846	-2,6	4248	-1,4	-2,7
11	D	10	4	CBZ 1200	Direita	39	M	3814	-2,0	4633	0,8	-4,8
12	D	13	6	CBZ 600, LMT 400	Direita	61	M	3629	-1,3	4600	2,5	-5,7

n: Número dos pacientes; EH: Esclerose hipocampal (D – Direita, E – Esquerda, B – Bilateral); Primeira: Idade da primeira crise em anos; Freq/mês: número estimado de crises mensais; Medicações: Dose diária em miligramas dos fármacos antiepiléticos em uso na época da aquisição da ressonância magnética (CBZ – Carbamazepina, LMT – Lamotrigina, CLB – Clonazepam, TPM – Topiramato, FNT – Fenitoína, OXC – Oxcarbazepina, AV – Ácido Valpróico, FNB – Fenobarbital); EEG: resultado do exame com indicação da lateralização da atividade epileptiforme; Idade: em anos; Vol HD: volume do hipocampo direito (não normalizado) em milímetros cúbicos; z HD: z – escore do hipocampo direito; Vol HE: volume do hipocampo esquerdo (não normalizado) em milímetros cúbicos; z HE: z – escore do hipocampo esquerdo; z IA: z – escore do índice de assimetria.

**Tabela 1.** Características clínicas, eletroencefalográficas e de neuroimagem de 24 pacientes com epilepsia de lobo temporal mesial (continuação).

N	EH	Primeira	Freq/ mês	Medicações	EEG	Idade (anos)	Sexo	Vol HD	z HD	Vol HE	z HE	z IA
13	D	28	20	CBZ 1200, CLB 20	Direita	42	M	4133	-0,8	4405	0,3	-2,0
14	E	10	4	CBZ 1200, CLB 40	Esquerda	39	M	4392	0,7	2884	-4,2	8,6
15	E	10	2	FNB 100, CBZ 400	Esquerda	41	H	4304	0,9	3349	-2,2	5,0
16	D	12	20	CBZ 400, CLB 40, TPM 400	Direita	37	M	3110	-3,9	3967	-1,2	-5,8
17	E	5	12	CBZ 1200, CLB 20	Esquerda	37	M	3353	-1,0	2372	-4,9	7,1
18	D	21	10	CBZ 200, CBL 60	Bilateral	40	M	3017	-3,5	4494	1,7	-9,2
19	B	7	1	TPM 125, CLB 10	Bilateral	60	M	2918	-3,9	2205	-6,7	5,6
20	B	5	4	CBZ 1200	Esquerda	43	M	2442	-4,9	2231	-6,1	1,5
21	E	2	2	CBZ 600, FNT 200, FNB 100	-	43	H	3899	-0,6	2503	-5,4	9,1
22	D	42	8	CBZ 1000	Bilateral	58	M	3420	-1,2	3852	0,6	-3,1
23	E	7	-	CBZ 1000	Esquerda	68	H	3818	-1,5	2835	-4,7	6,0
24	D	4	3	CBZ 1200, CLB 20	Normal	20	H	2577	-5,2	3888	-1,1	-9,4

n: Número dos pacientes; EH: Esclerose hipocampal (D – Direita, E – Esquerda, B – Bilateral); Primeira: Idade da primeira crise em anos; Freq/mês: número estimado de crises mensais; Medicações: Dose diária em miligramas dos fármacos antiepiléticos em uso na época da aquisição da ressonância magnética (CBZ – Carbamazepina, LMT – Lamotrigina, CLB – Clonazepam, TPM – Topiramato, FNT – Fenitoína, OXC – Oxcarbazepina, AV – Ácido Valpróico, FNB – Fenobarbital); EEG: resultado do exame com indicação da lateralização da atividade epileptiforme; Idade: em anos; Vol HD: volume do hipocampo direito (não normalizado) em milímetros cúbicos; z HD: z – escore do hipocampo direito; Vol HE: volume do hipocampo esquerdo (não normalizado) em milímetros cúbicos; z HE: z – escore do hipocampo esquerdo; z IA: z – escore do índice de assimetria.



**Figura 2.** Achados de ressonância magnética de 24 pacientes com epilepsia de lobo temporal medial. Os números indicam os pacientes. Para cada indivíduo, estão demonstrados cortes coronais nas sequências T1 (superior) e T2 (inferior) em orientação radiológica incluindo a porção anterior do hipocampo.

### **4.3. ANÁLISE DE VBM**

#### **4.3.1. Comparação Difusão Axial (AD)**

Foi obtido um *cluster* com aumento de AD nos pacientes (Tabela 2, Figura 3), com volume de 290 mm<sup>3</sup> localizado no giro parahipocampal direito (x = 31, y = -18, z = -24; valor de T = 6,11; Z = 5,32; p = 0,001). Não foram observadas áreas de redução da AD nos pacientes.

#### **4.3.2. Comparação Difusão Radial (RD)**

Foram obtidos dois *clusters* principais com aumento de RD nos pacientes (Tabela 2, Figura 3), o maior com volume de 758 mm<sup>3</sup> localizado no giro parahipocampal direito (x = 28, y = -16, z = -25; valor de T = 6,65; Z = 5,67; p < 0,0001). Não foram observadas áreas de redução da RD nos pacientes.

#### **4.3.3. Comparação Difusão Média (MD)**

Foram obtidos dois *clusters* com aumento de MD nos pacientes (Tabela 2, Figura 3), o de maior volume com 595 mm<sup>3</sup> localizado no giro parahipocampal direito (x = 29, y = -17, z = -24; valor de T = 6,52; Z = 5,59; p < 0,0001). Não foram observadas áreas de redução da MD nos pacientes

#### **4.3.4. Comparação Anisotropia Fracionada (FA)**

Com esta técnica foram obtidos cinco *clusters* com redução de FA nos pacientes (Tabela 2, Figura 3), o de maior volume com 719 mm<sup>3</sup> localizado no lobo temporal esquerdo envolvendo os fascículos fronto-occipital inferior, radiação talâmica e longitudinal inferior (x = -33, y = -11, z = -13; valor de T = 6,44; Z = 5,54; p < 0,0001). Não foram observadas áreas de aumento de FA nos pacientes.

**Tabela 2.** Resultados da comparação voxel à voxel realizada por meio do programa SPM12 dos mapas de difusão axial (AD), radial (RD), média (MD) e anisotropia fracionada (FA) de pacientes com epilepsia de lobo temporal mesial e indivíduos controles.

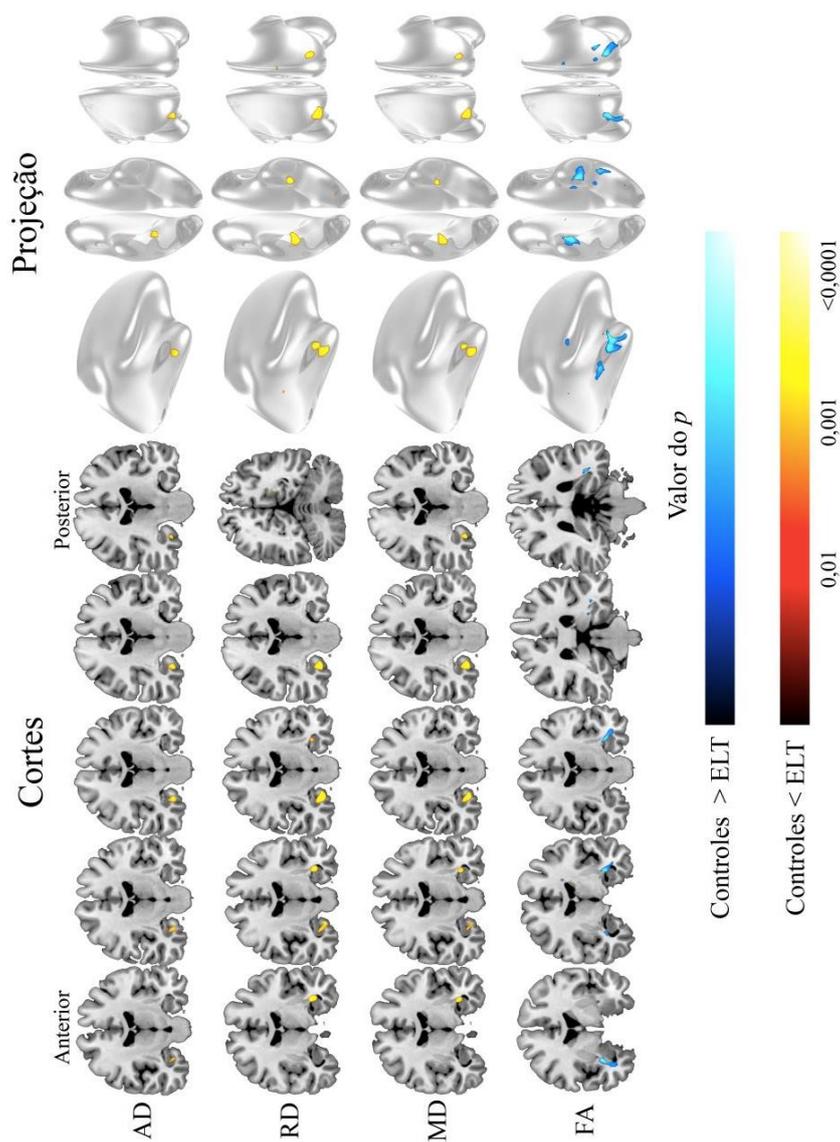
Parâmetro	Volume (mm <sup>3</sup> )	Valor de <i>p</i>	Coordenadas	Localização	
				Talairach	JHU
AD	290	0,001	31, -18, -24	Parahipocampal	Cingulo direito (hipocampo)
	758	<0,0001	28, -16, -25	Parahipocampal	Cingulo direito (hipocampo)
RD	344	<0,0001	-34, -10, -15	Lobo temporal	Fronto-occipital inferior
					Uncinado
MD	595	<0,0001	29, -17, -24	Parahipocampal	Longitudinal inferior esquerdo
					Cingulo direito (hipocampo)
FA	187	0,003	-32, -10, -15	Parahipocampal	Longitudinal inferior
					Radiação talâmica anterior esquerda
FA	719	<0,0001	-33, -11, -13	Lobo temporal	Fronto-occipital inferior
					Radiação talâmica anterior
FA	624	<0,0001	34, -3, -15	Sub-lobar	Longitudinal inferior esquerdo
					Inferior fronto-occipital direito

Localização de acordo com as coordenadas no espaço do Montreal Neurological Institute (MNI; x, y, z) com as estruturas identificadas no atlas de Talairach & Tournoux e no *Johns Hopkins University (JHU) white-matter tractography atlas* (MORI, S. et al., 2005).

**Tabela 2.** Resultados da comparação voxel à voxel realizada por meio do programa SPM12 dos mapas de difusão axial (AD), radial (RD), média (MD) e anisotropia fracionada (FA) de pacientes com epilepsia de lobo temporal mesial e indivíduos controles (*continuação*).

Parâmetro	Volume (mm <sup>3</sup> )	Valor de <i>p</i>	Coordenadas	Localização	
				Talairach	JHU
FA	234	0,001	-40, -33, -3	Lobo temporal	Fronto-occipital inferior
					Longitudinal inferior
	57	0,011	-22, -6, 32	Lobo frontal	Longitudinal superior esquerdo
					Longitudinal superior esquerdo
	51	0,012	-26, -28, -2	Sub-lobar	Longitudinal inferior
					Radiação talâmica anterior esquerda

Localização de acordo com as coordenadas no espaço do Montreal Neurological Institute (MNI; x, y, z) com as estruturas identificadas no atlas de Talairach & Tournoux e no *Johns Hopkins University (JHU) white-matter tractography atlas* (MORI, S. et al., 2005).



**Figura 3.** Resultados da comparação voxel à voxel realizada por meio do programa SPM12 dos mapas de difusão axial (AD), radial (RD), média (MD) e anisotropia fracionada (FA) dos pacientes com epilepsia de lobo temporal mesial e indivíduos controles. Os resultados (áreas coloridas) estão codificados de acordo com o valor do  $p$  (escalas na porção inferior da figura) e sobrepostos em cortes coronais de um *template* anatômico (cortes) ou de um modelo tridimensional inflado do cérebro (projeção – todas as áreas significativas). A orientação é radiológica.

#### **4.4. ANÁLISE DE TBSS**

##### **4.4.1. Comparação Difusão Axial (AD)**

Foi obtido um *cluster* com aumento de AD nos pacientes (tabela 3, figura 4), com volume de 423 mm<sup>3</sup> localizado no giro temporal superior esquerdo envolvendo os fascículos longitudinal inferior, uncinado e fronto-occipital inferior ( $x = -39, y = 7, z = -30; p = 0,028$ ). Não foram observadas áreas de redução da AD nos pacientes.

##### **4.4.2. Comparação Difusão Radial (RD)**

Foram obtidos dois *clusters* principais com aumento de RD nos pacientes (Tabela 3, Figura 4), o maior com volume de 1132 mm<sup>3</sup> localizado no lobo temporal esquerdo envolvendo a radiação talâmica anterior, fascículos longitudinal inferior e fronto-occipital inferior ( $x = -38, y = -10, z = -19; p = 0,001$ ). Não foram observadas áreas de redução da RD nos pacientes.

##### **4.4.3. Comparação Difusão Média (MD)**

Foram obtidos dois *clusters* com aumento de MD nos pacientes (Tabela 3, Figura 4), o de maior volume com 254 mm<sup>3</sup> localizado no uncus direito envolvendo o fascículo longitudinal inferior ( $x = 28, y = 4, z = -35; p = 0,008$ ). Não foram observadas áreas de redução da MD nos pacientes.

##### **4.4.4. Comparação Anisotropia Fracionada (FA)**

Com esta técnica obtivemos quatro *clusters* com redução de FA nos pacientes (Tabela 3, Figura 4), o de maior volume com 17581 mm<sup>3</sup> localizado no lobo temporal esquerdo envolvendo principalmente o fascículo longitudinal

inferior ( $x = -39$ ,  $y = -5$ ,  $z = -36$ ;  $p < 0,001$ ). Não foram observadas áreas de aumento de FA nos pacientes.

**Tabela 3.** Resultados da comparação voxel à voxel realizada por meio de *Tract-Based Spatial Statistics* (TBSS) dos mapas de difusão axial (AD), radial (RD), média (MD) e anisotropia fracionada (FA) de pacientes com epilepsia de lobo temporal mesial e indivíduos controles.

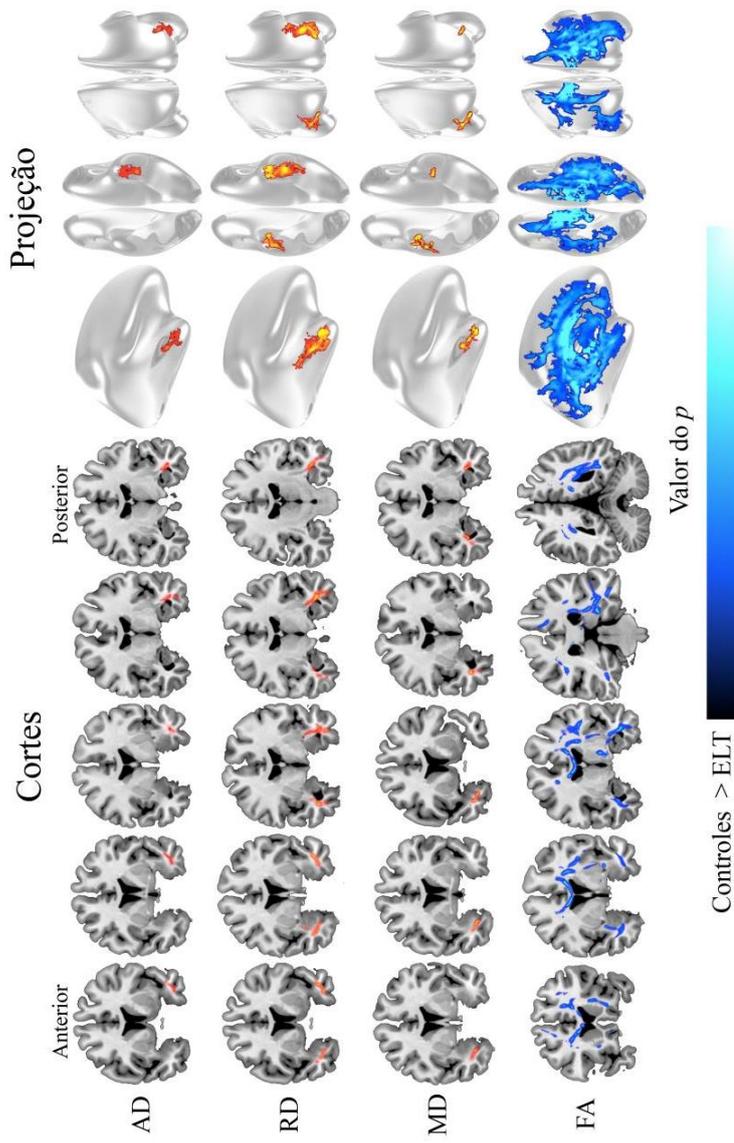
Parâmetro	Volume (mm <sup>3</sup> )	Valor de p	Coordenadas	Localização		
				Talairach	JHU	
AD	423	0,028	-39, 7, -30	Temporal superior	Longitudinal inferior	
					Uncinado	
RD	1132	0,001	-38, -10, -19		Fronto-occipital inferior esquerdo	
					Radiação talâmica anterior	
					Lobo temporal	Longitudinal inferior
					Tronco-occipital inferior esquerdo	
	412	0,001	28, 4, -35	Uncus	Longitudinal inferior direito	
					Longitudinal inferior direito	
MD	69	0,009	-42, -7, -22	Uncus	Longitudinal inferior direito	
					Inferior longitudinal	
				Lobo temporal	Uncinado	
					Longitudinal superior	
					Fronto-occipital inferior esquerdo	

Localização de acordo com as coordenadas no espaço do Montreal Neurological Institute (MNI; x, y, z) com as estruturas identificadas no atlas de Talairach & Tournoux e no *Johns Hopkins University (JHU) white-matter tractography atlas* (MORI, S. et al., 2005).

**Tabela 3.** Resultados da comparação voxel à voxel realizada por meio de *Tract-Based Spatial Statistics* (TBSS) dos mapas de difusão axial (AD), radial (RD), média (MD) e anisotropia fracionada (FA) de pacientes com epilepsia de lobo temporal mesial e indivíduos controles (*continuação*).

Parâmetro	Volume (mm <sup>3</sup> )	Valor de p	Coordenadas	Localização	
				Talairach	JHU
FA	17581	<0,001	-39, -5, -36	Lobo temporal	Longitudinal inferior esquerdo
	1332	<0,001	42, -3, -35	Temporal médio	Longitudinal inferior esquerdo
	523	0,001	39, -40, 18	Temporal superior	Longitudinal superior direito
					Fronto-occipital inferior
					Longitudinal inferior
					Longitudinal superior
					Fórceps maior direito

Localização de acordo com as coordenadas no espaço do Montreal Neurological Institute (MNI; x, y, z) com as estruturas identificadas no atlas de Talairach & Tournoux e no *Johns Hopkins University (JHU) white-matter tractography atlas* (MORI, S. et al., 2005).



**Figura 4.** Resultado da comparação voxel à voxel realizada por meio de *Tract-Based Spatial Statistics* (TBSS) dos mapas de difusão axial (AD), radial (RD), média (MD) e anisotropia fracionada (FA) dos pacientes com epilepsia de lobo temporal mesial e indivíduos controles. Os resultados (áreas coloridas) estão codificados de acordo com o valor do  $p$  (escalas na porção inferior da figura) e sobrepostos em cortes coronais de um *template* anatómico (cortes) ou de um modelo tridimensional inflado do cérebro (projeção – todas as áreas). A orientação é radiológica.

A tabela 4 resume as principais estruturas localizadas por meio das duas técnicas de análise voxel à voxel de acordo com o *Johns Hopkins University (JHU) white-matter tractography atlas* (MORI, S. et al., 2005). Com base nestes resultados foram selecionados os principais tratos para a análise específica.

**Tabela 4.** Principais fascículos e tratos obtidos por meio da comparação voxel à voxel utilizando as técnicas baseada no SPM12 (VBM) e a estatística espacial baseada em tratos (TBSS).

<b>Estrutura</b>	<b>VBM</b>	<b>TBSS</b>	<b>Total</b>	<b>Porcentagem (%)</b>
Longitudinal inferior	5	8	13	34,2
Fronto-occipital inferior	4	4	8	21,1
Longitudinal superior	2	3	5	13,2
Uncinado	2	2	4	10,5
Radiação talâmica anterior	3	1	4	10,5
Cíngulo (hipocampo)	3	0	3	7,9
Fórceps maior	0	1	1	2,6
<b>Total</b>	<b>19</b>	<b>19</b>	<b>38</b>	<b>100,0</b>

O atlas utilizado foi o *Johns Hopkins University (JHU) white-matter tractography atlas* que identificou probabilisticamente 20 estruturas entre 28 indivíduos (MORI, S. et al., 2005)

#### **4.5. ANÁLISE ESPECÍFICA DE TRATOS**

Esta análise também mostrou aumento de AD, RD e MD e redução de FA nos pacientes com ELTM. As maiores áreas de alteração foram observadas para os parâmetros RD (5442 mm<sup>2</sup>) e MD (5496 mm<sup>2</sup>). Os principais fascículos alterados foram o fronto-occipital-inferior (7214 mm<sup>2</sup>) e o longitudinal inferior (3064 mm<sup>2</sup>). Não foram observadas áreas de redução de AD, RD e MD e aumento de FA nos pacientes. As tabelas 5, 6 e a figura 5 demonstram estes achados.

**Tabela 5.** Resultado da análise específica de tratos e fascículos obtidas a partir da comparação entre pacientes e indivíduos controle para cada um dos quatro mapas de difusão.

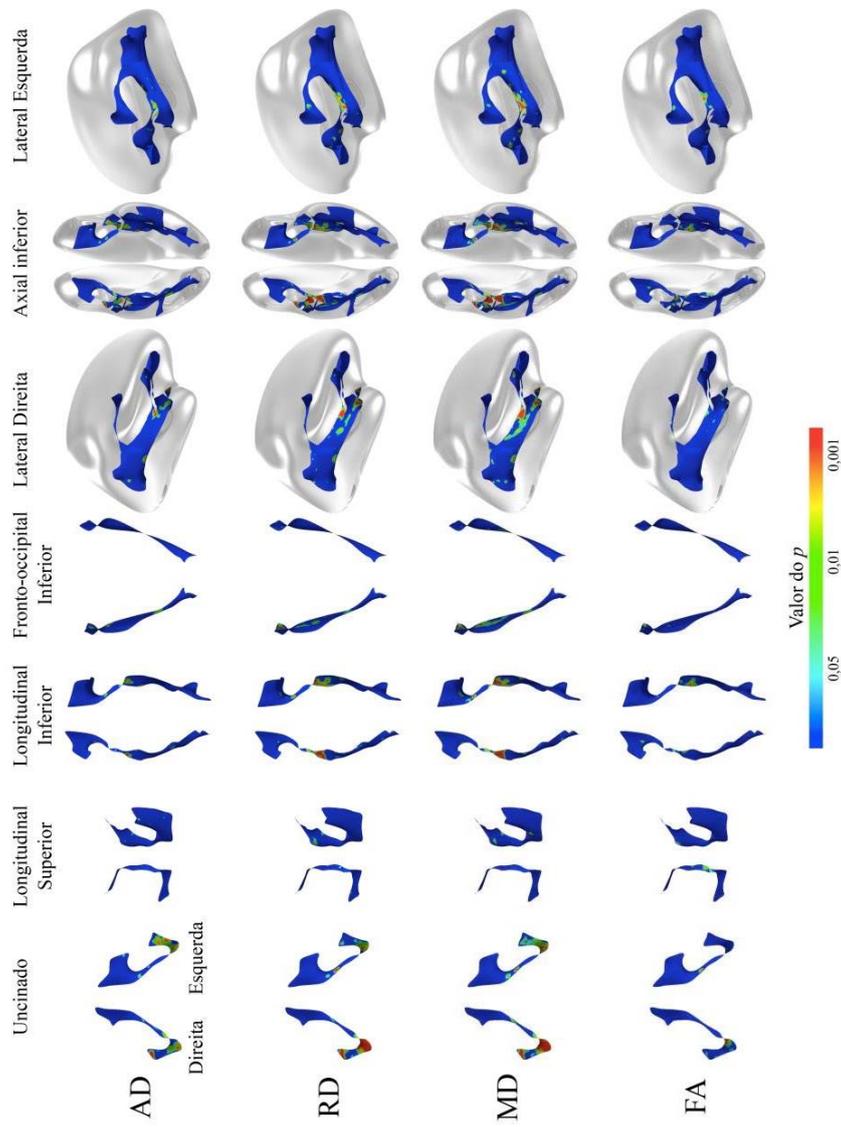
Parâmetro	Localização	Hemisfério	Área (mm <sup>2</sup> )	T médio	Valor de p
AD	Fronto-occipital inferior	E	645	2,49	0,002
	Uncinado	E	316	2,88	0,002
		D	319	2,58	0,0012
RD	Longitudinal inferior	E	217	1,87	0,044
		D	813	2,17	0,003
	Fronto-occipital inferior	E	1108	2,87	0,001
		D	637	1,87	0,008
	Longitudinal superior	E	419	2,08	0,007
		D	300	1,81	0,024
Uncinado	E	301	2,45	0,005	
	D	425	3,03	<0,0001	
MD	Longitudinal inferior	D	949	2,18	0,005
		D	369	2,03	0,043
	Fronto-occipital inferior	E	1006	2,96	0,002
		D	781	2,1	0,004
	Longitudinal superior	D	1132	2,89	0,007
		E	496	1,89	0,003
Uncinado	E	322	2,67	0,003	
	D	441	2,98	<0,0001	
FA	Longitudinal inferior	D	291	1,83	0,032
	Fronto-occipital inferior	E	864	2,41	0,0006
		D	244	2,54	0,04
	Longitudinal superior	E	259	2,13	0,022
	Uncinado	D	180	2,77	0,017

D – direita; E – esquerda; AD- difusão axial; RD – difusão radial; MD – difusão média; FA – anisotropia fracionada.

**Tabela 6.** Áreas de alteração de acordo com os fascículos e parâmetros investigados. Resultado obtido por meio da comparação específica para cada fascículo entre pacientes e indivíduos controle.

<b>Fascículo</b>	<b>AD (mm<sup>2</sup>)</b>	<b>RD (mm<sup>2</sup>)</b>	<b>MD (mm<sup>2</sup>)</b>	<b>FA (mm<sup>2</sup>)</b>	<b>Total (mm<sup>2</sup>)</b>	<b>Porcentagem (%)</b>
Longitudinal inferior		1455	1318	291	3064	21,8
Fronto-occipital inferior	645	2542	2919	1108	7214	51,3
Longitudinal superior		719	496	259	1474	10,5
Uncinado	635	726	763	180	2304	16,4
Total	1280	5442	5496	1838	14056	100,0

AD- difusão axial; RD – difusão radial; MD – difusão media; FA – anisotropia fracionada.



**Figura 5.** Resultado da análise específica de tratos e fascículos obtidas por meio da comparação tridimensional entre os modelos dos fascículos analisando os mapas de difusão axial (AD), radial (RD), média (MD) e anisotropia fracionada (FA) dos pacientes com epilepsia de lobo temporal mesial e indivíduos controles. Os resultados (áreas coloridas) estão codificados de acordo com o valor do  $p$  (escalas na porção inferior da figura) e sobrepostos nos modelos tridimensionais dos fascículos.

## 5. DISCUSSÃO

Nesta investigação, observamos padrões distintos de anormalidades de difusão em pacientes com ELTM variando de acordo com a técnica de análise das imagens e o parâmetro de difusão utilizado. Nas comparações voxel à voxel, FA e RD foram os parâmetros que mostraram maiores volumes de anormalidades portanto deveriam ser utilizados rotineiramente na investigação de alterações na difusão em pacientes com ELTM.

A maioria das investigações de pacientes com ELTM utiliza os parâmetros de FA e MD. RD é adquirida pelo cálculo de  $(\lambda_2 + \lambda_3)/2$  e a AD é o autovetor  $\lambda_1$ . As anormalidades obtidas nas comparações foram mais frequentemente observadas (em ordem decrescente) nos parâmetros de FA, RD, MD e AD na análise de VBM e FA, RD, AD e MD, no TBSS. Quando realizado a análise específica dos tratos, a ordem decrescente obtida foi diferente: MD, RD, FA e AD.

Para maximizar a especificidade de análise dos exames de difusão, o uso de múltiplos parâmetros é recomendado. A FA é altamente sensível a alterações microestruturais mas não muito específica para o tipo de alteração (axial ou radial) (ALEXANDER, A.L. et al., 2007). O AD avalia a função axonal ao passo que o RD está mais associado a desmielinização, inflamação com edema e infiltração por macrófagos (SONG, S.K. et al., 2002; ALEXANDER, A.L. et al., 2011). Nas comparações realizadas no presente estudo, o AD foi o parâmetro que mostrou um menor número de alterações. Por outro lado, RD foi o segundo parâmetro mais alterado em todos os métodos utilizados. Este achado pode indicar uma doença ativa em concordância com investigações

anátomo-patológicas em pacientes submetidos ao tratamento cirúrgico (CRESPEL, A. et al., 2002).

As anormalidades foram predominantemente observadas nos fascículos longitudinal inferior e superior, fronto-occipital inferior e uncinado. Estes fascículos, apresentam distribuição difusa com orientação axial intrahemisférica.

O fascículo longitudinal inferior é considerado uma conexão entre o lobo temporal anterior e o occipital (CATANI, M. et al., 2003). Um segundo importante trato ligando estas regiões é o fascículo fronto-occipital inferior. Este último percorre em posição medial e superior as vias ópticas e espacialmente se superpõe ao fascículo longitudinal inferior (ASHTARI, M., 2012). O fascículo fronto-occipital inferior é considerado uma via direta conectando as regiões occipital, temporal posterior e áreas orbito-frontais. Por outro lado, o fascículo longitudinal inferior seria uma via indireta conectando áreas semelhantes e anteriormente se fundindo com o fascículo uncinado para prover informações ao córtex orbito-frontal (ASHTARI, M., 2012).

O fascículo longitudinal superior apresenta quatro subdivisões: I – localizado na substância branca da porção superior dos lobos frontais e parietais; II - é o maior componente e ocupa a porção central da substância branca sobre a insula; III - é situado na substância branca do lobo parietal e opérculo frontal e, finalmente, IV - compreende o fascículo arqueado que se origina na na porção caudal do giro temporal superior (MAKRIS, N. et al., 2005). As suas funções variam de acordo com estas subdivisões (MAKRIS, N. et al., 2005).

Finalmente, o fascículo uncinado está situado lateralmente ao hipocampo e a amígdala. Junto com o fascículo fronto-occipital e a radiação óptica, compõe a haste temporal. Esta haste é uma ponte de substância branca que liga os lobos temporal e frontal. Constitui importante via para difusão de tumores, infecções e crises epiléticas (KIER, E.L. et al., 2004).

Os achados, observados aqui indicam importante comprometimento da substância branca do lobo temporal com alterações nos fascículos que percorrem esta região de forma inter-relacionada. Os resultados da análise específica dos tratos demonstram este envolvimento com predomínio das alterações na topografia da haste temporal e envolvendo em 90% dos casos os fascículos fronto-occipital inferior, longitudinal inferior e uncinado.

Nos pacientes com ELTM, as anormalidades de substância branca são encontradas na região temporal e extra-temporal com um padrão centrífugo (GROSS, D.W., 2011; OTTE, W.M. et al., 2012). Existem estudos sugerindo que pacientes com EH apresentam anormalidades mais difusas do que pacientes com RM normal (SCANLON, C. et al., 2013). Além disso, pacientes com EH à esquerda também apresentam maior tendência a presença de anormalidades difusas (AHMADI, M.E. et al., 2009). Entretanto, esta diferença relacionada a lateralização não é um achado uniforme (RODRÍGUEZ-CRUCES, R. e CONCHA, L., 2015).

A população investigada neste estudo foi heterogênea. O achado comum, e principal critério de inclusão, entre os pacientes foi a presença da EH. A maioria dos pacientes apresentava atrofia unilateral mas pacientes com atrofia bilateral também foram incluídos. Este detalhe pode ser um fator confundidor para os achados localizados fora do sistema amigdal-

hipocampal e para avaliação dos efeitos de lateralidade. Por outro lado, esta análise mais ampla tem como vantagem refletir o efeito real neste grupo de pacientes. De forma interessante, foi possível observar um maior e mais difuso comprometimento no hemisfério cerebral esquerdo apoiando um comprometimento mais amplo em pacientes com ELTM e EH à esquerda.

As anormalidades na substância branca podem ser observadas em até 63% dos pacientes submetidos ao tratamento cirúrgico (KASPER, B.S. et al., 1999; RODRÍGUEZ-CRUCES, R. e CONCHA, L., 2015). As anormalidades histológicas mais frequentemente descritas são: gliose da substância branca, neurônios heterotópicos na substância branca, borramento entre os limites da substância branca / cinzenta e anormalidades axonais e mielínicas (RODRÍGUEZ-CRUCES, R. e CONCHA, L., 2015). A redução da densidade axonal é bastante consistente e o aumento do espaço extra-celular leva ao aumento da MD e redução da FA (RODRÍGUEZ-CRUCES, R. e CONCHA, L., 2015).

A comparação voxel à voxel apresenta como principais vantagens a interação mínima do operador (especialmente quando comparado a segmentação manual) reduzindo o viés e o tempo de processamento. Estas técnicas permitem a comparação de todo o cérebro constituindo uma importante ferramenta exploratória. A VBM foi inicialmente desenvolvida para análise longitudinal de alterações da substância cinzenta. Esta forma de análise é altamente sensível a erros de registro das imagens podendo gerar resultados falsos positivos (ASHBURNER, J. e FRISTON, K.J., 2000; BOOKSTEIN, F.L., 2001). Na tentativa de contornar estas dificuldades relacionadas a normalização, o TBSS foi desenvolvido (SMITH, S.M. et al.,

2006). O princípio desta metodologia é a projeção de todos os voxels de FA na localização mais próxima em um esqueleto dos tratos de substância branca (SMITH, S.M. et al., 2006). Apesar disso, o TBSS ainda assim apresenta alguns problemas sobretudo relacionados ao registro das imagens e a projeção dos voxels de forma simplificada em um esqueleto (SCHWARZ, C.G. et al., 2014). O registro de imagens de DTI baseado nos tensores como utilizado aqui (ZHANG, H. et al., 2010b; KEIHANINEJAD, S. et al., 2013) melhoram consideravelmente a acurácia dos resultados.

Permanece ainda pouco claro qual metodologia de análise voxel à voxel utilizando um registro de imagens otimizado é o melhor para investigação de pacientes com ELTM. Ainda existem múltiplas variáveis metodológicas que interferem nos resultados. Entre elas destacam-se a aquisição das imagens e os procedimentos de normalização. A normalização constitui uma etapa crítica que deve ser feita de forma cuidadosa, utilizando um *template* da população estudada e com verificação dos resultados finais.

O VBM mostrou resultados mais restritos ao lobo temporal. Estes achados podem ser relacionados a utilização do *Family-Wise Error* na análise estatística para correção para múltiplas comparações. Estudos indicam que esta técnica pode omitir resultados verdadeiramente positivos (HENLEY, S.M.D. et al., 2010). O TBSS também utiliza esta técnica de correção sendo que este efeito pode ser minimizado por uma variação deste método implementada no programa (*Threshold-Free Cluster Enhancement*). Portanto, utilizando o TBSS, foram observadas áreas extensas de anormalidades sobretudo com o parâmetro FA. Este achado demonstra as anormalidades difusas relacionadas a ELTM.

Um dos pontos fracos deste estudo foi a aquisição de um número de difusão relativamente restrito. No entanto, as quatro sequencias obtidas, o uso de uma bobina de 12 canais e as imagens isotrópicas de 2 mm garantiram uma boa qualidade de imagens.

## **6. CONCLUSÃO**

Há evidência de microalterações estruturais de substância branca em pacientes com ELTM.

Os dois métodos utilizados, VBM e TBSS, demonstraram resultados semelhantes e que se complementaram em determinados pontos de forma a reforçar os achados.

A técnica de VBM detectou anormalidades mais restritas ao lobo temporal. Alterações mais frequentes foram observadas nos parâmetros de FA e RD, justificando o uso de múltiplos parâmetros na investigação de pacientes com ELTM.

Foi possível observar um predomínio de alterações haste temporal, porém alterações mais difusas também foram detectadas bem como maior comprometimento no lado esquerdo.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, O. et al. Voxel-based analysis of the diffusion tensor. **Neuroradiology**, v. 52, n. 8, p. 699-710, 2010.

AHMADI, M.E. et al. Side matters: Diffusion Tensor Imaging Tractography in left and right temporal lobe epilepsy. **AJNR. American journal of neuroradiology**, v. 30, n. 9, p. 1740-1747, 2009.

ALEXANDER, A.L. et al. Characterization of cerebral white matter properties using quantitative magnetic resonance imaging stains. **Brain Connect**, v. 1, n. 6, p. 423-46, 2011.

ALEXANDER, A.L. et al. Diffusion tensor imaging of the brain. **Neurotherapeutics**, v. 4, n. 3, p. 316-29, 2007.

AM, K.; J C, J. When do sphenoidal eletrodes yield adicional data to that obtained with Antero-temporal electrodes? **Eletroencephalogr Clin Neurophysiol**, n. 102, p. 12-19, 1997.

ANDRADE-VALENÇA, L.P.A. et al. Epilepsia do lobo temporal mesial associada à esclerose hipocampal. **Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology**, v. 12, n. 1, p. 31-36, 2006.

ANNEGERS, J.F.; ROCCA, W.A.; HAUSER, W.A. Causes of epilepsy: contributions of the Rochester Epidemiology Project. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 71, n. 6, p. 570-575, 1996.

ARFANAKIS, K. et al. Diffusion tensor MRI in temporal lobe epilepsy. **Magnetic Resonance Imaging**, v. 20, n. 7, p. 511-519, 2002.

ASHBURNER, J.; FRISTON, K.J. Voxel-Based Morphometry - The methods. **NeuroImage**, v. 11, n. 6, p. 805-821, 2000.

ASHTARI, M. Anatomy and functional role of the inferior longitudinal fasciculus: a search that has just begun. **Developmental Medicine & Child Neurology**, v. 54, n. 1, p. 6-7, 2012.

AUER, R.N.; SIESJO, B.K. Biological differences between ischemia, hypoglycemia, and epilepsy. **Annals of Neurology**, v. 24, n. 6, p. 699-707, 1988.

BABB, T.L.; BROWN, W.J. **Pathological findings in epilepsy**. New York: 1987.

BACH, M. et al. Methodological considerations on tract-based spatial statistics (TBSS). **NeuroImage**, v. 100, p. 358-369, 2014.

BASSER, P.J. Inferring microstructural features and the physiological state of tissues from diffusion-weighted images. **NMR in Biomedicine**, v. 8, n. 7-8, p. 333-44, 1995.

BASSER, P.J. Diffusion and diffusion tensor MR imaging. In: ATLAS, S. W. (Ed.). **Magnetic Resonance Imaging of the Brain and Spine**. 3th. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkens, v.1, 2003. p.1478-1479.

BASSER, P.J. et al. In vivo fiber tractography using DT-MRI data. **Magnetic Resonance in Medicine**, v. 44, n. 4, p. 625-632, 2000.

BERG, A.T. et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: Report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005–2009. **Epilepsia**, v. 51, n. 4, p. 676-685, 2010.

BERNASCONI, A. et al. T2 relaxometry can lateralize mesial temporal lobe epilepsy in patients with normal MRI. **NeuroImage**, v. 12, n. 6, p. 739-746, 2000.

BLUME, W.T. et al. Glossary of descriptive terminology for ictal semiology: report of the ILAE task force on classification and terminology. **Epilepsia**, v. 42, n. 9, p. 1212-1218, 2001.

BOOKSTEIN, F.L. “Voxel-Based Morphometry” should not be used with imperfectly registered images. **NeuroImage**, v. 14, n. 6, p. 1454-1462, 2001.

BRIGGS, S.W.; GALANOPOULOU, A.S. Altered GABA signaling in early life epilepsies. **Neural Plasticity**, v. 2011, p. 16, 2011.

CARNE, R.P. et al. MRI-negative PET-positive temporal lobe epilepsy: a distinct surgically remediable syndrome. **Brain**, v. 127, n. 10, p. 2276-2285, 2004-10-01 00:00:00 2004.

CASCINO, G.D. et al. Magnetic resonance imaging–based volume studies in temporal lobe epilepsy: pathological correlations. **Annals of Neurology**, v. 30, n. 1, p. 31-36, 1991.

CATANI, M. et al. Occipito-temporal connections in the human brain. **Brain**, v. 126, n. 9, p. 2093-2107, 2003.

CENDES, F. et al. Early childhood prolonged febrile convulsions, atrophy and sclerosis of mesial structures, and temporal lobe epilepsy: an MRI volumetric study. **Neurology**, v. 43, n. 6, p. 1083, 1993.

CONCHA, L. et al. White-matter diffusion abnormalities in temporal-lobe epilepsy with and without mesial temporal sclerosis. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 80, n. 3, p. 312-319, 2009.

CONCHA, L.; BEAULIEU, C.; GROSS, D.W. Bilateral limbic diffusion abnormalities in unilateral temporal lobe epilepsy. **Annals of Neurology**, v. 57, n. 2, p. 188-196, 2005.

CONCHA, L. et al. Spatial patterns of water diffusion along white matter tracts in temporal lobe epilepsy. **Neurology**, v. 79, n. 5, p. 455-62, 2012.

CONCHA, L. et al. In vivo diffusion tensor imaging and histopathology of the fimbria-fornix in temporal lobe epilepsy. **The Journal of Neuroscience**, v. 30, n. 3, p. 996-1002, 2010.

CRESPEL, A. et al. Inflammatory reactions in human medial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. **Brain Research**, v. 952, n. 2, p. 159-169, 2002.

DALE, A.M.; FISCHL, B.; SERENO, M.I. Cortical surface-based analysis: I. segmentation and surface reconstruction. **NeuroImage**, v. 9, n. 2, p. 179-194, 1999.

DREIFUSS, F.E. Classification of epileptic seizures. In: ENGEL, J. J. e PEDLEY, T. A. (Ed.). **Epilepsy: A comprehensive textbook**. Philadelphia: Lippincott-Raven, v.1, 1997. cap. 44, p.517-524.

ENGEL, J. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE task force on classification and terminology. **Epilepsia**, v. 42, n. 6, p. 796-803, 2001.

ENGEL, J.J.; SHIELDS, W.D. Surgically remediable syndromes. In: ENGEL, J. J. e PEDDLEY, T. A. (Ed.). **Epilepsy: a comprehensive textbook**. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997. p.1687-96.

ENGELHARDT, E.; MOREIRA, D.M. A substância branca cerebral. localização dos principais feixes com anisotropia fracionada direcional. **Revista Brasileira de Neurologia**, v. 44, n. 2, p. 19-34, 2008.

FERNANDES, J.G.; SANDER, J.W.A.S. **Epidemiologia e historia natural das epilepsias**. São Paulo: Lemos Editorial, 1998.

FERNANDES, M.J.S. **Epilepsia do lobo temporal: mecanismos e perspectivas**. Estudos Avançados. 27 2013.

FISCHL, B.; SERENO, M.I.; DALE, A.M. Cortical surface-based analysis: II: inflation, flattening, and a surface-based coordinate system. **NeuroImage**, v. 9, n. 2, p. 195-207, 1999.

FISCHL, B. et al. High-resolution intersubject averaging and a coordinate system for the cortical surface. **Human Brain Mapping**, v. 8, n. 4, p. 272-284, 1999.

FISCHL, B. et al. Automatically Parcellating the Human Cerebral Cortex. **Cerebral Cortex**, v. 14, n. 1, p. 11-22, January 1, 2004 2004.

FISHER, R.S. et al. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. **Epilepsia**, v. 55, n. 4, p. 475-82, 2014.

FOCKE, N.K. et al. Voxel-based diffusion tensor imaging in patients with mesial temporal lobe epilepsy and hippocampal sclerosis. **NeuroImage**, v. 40, n. 2, p. 728-737, 2008.

FRISTON, K. et al. Bayesian estimation of evoked and induced responses. **Hum Brain Mapp**, v. 27, n. 9, p. 722-35, Sep 2006.

GLOOR, P. Mesial temporal sclerosis: historical background and an overview from a modern perspective. In: LUDERS, H. O. (Ed.). **Epilepsy Surgery**. New York: Raven Press, 1991. p.6889-6903.

GOVINDAN, R.M. et al. Diffusion tensor analysis of temporal and extra-temporal lobe tracts in temporal lobe epilepsy. **Epilepsy Research**, v. 80, n. 1, p. 30-41, 2008.

GROSS, D.W. Diffusion tensor imaging in temporal lobe epilepsy. **Epilepsia**, v. 52, p. 32-34, 2011.

GROSS, D.W.; CONCHA, L.; BEAULIEU, C. Extratemporal white matter abnormalities in mesial temporal lobe epilepsy demonstrated with diffusion tensor imaging. **Epilepsia**, v. 47, n. 8, p. 1360-1363, 2006.

GUERREIRO, C.A.M.; GUERREIRO, M.M. **Epilepsia: o paciente ótimamente controlado**. São Paulo: Lemos Editorial, 1999.

GUERREIRO, C.A.M. et al. Epilepsia: considerações gerais. In: (Ed.). 3th. São Paulo: Lemos Editorial, 2000.

HAUSER, W.A. The natural history of temporal lobe epilepsy. In: LUDERS, H. O. (Ed.). **Epilepsy surgery**. New York: Raven Press, 1992. p.133-141.

HENLEY, S.M.D. et al. Pitfalls in the use of voxel-based morphometry as a biomarker: examples from Huntington disease. **American Journal of Neuroradiology**, v. 31, n. 4, p. 711-719, 2010.

JENKINSON, M. et al. FSL. **Neuroimage**, v. 62, n. 2, p. 782-90, 2012.

KASPER, B.S. et al. Temporal lobe microdysgenesis in epilepsy versus control brains. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**, v. 58, n. 1, p. 22-28, 1999.

KEIHANINEJAD, S. et al. An unbiased longitudinal analysis framework for tracking white matter changes using diffusion tensor imaging with application to Alzheimer's disease. **NeuroImage**, v. 72, p. 153-163, 2013.

KIER, E.L. et al. MR Imaging of the temporal stem: anatomic dissection tractography of the uncinate fasciculus, inferior occipitofrontal fasciculus, and meyer's loop of the optic radiation. **American Journal of Neuroradiology**, v. 25, n. 5, p. 677-691, 2004.

KIM, H. et al. Secondary white matter degeneration of the corpus callosum in patients with intractable temporal lobe epilepsy: a diffusion tensor imaging study. **Epilepsy Research**, v. 81, n. 2-3, p. 136-142, 2008.

KOBAYASHI, E. et al. Hippocampal atrophy and T2-weighted signal changes in familial mesial temporal lobe epilepsy. **Neurology**, v. 60, n. 3, p. 405-409, February 11, 2003 2003.

KOBAYASHI, E. et al. Seizure outcome and hippocampal atrophy in familial mesial temporal lobe epilepsy. **Neurology**, v. 56, n. 2, p. 166-172, 2001.

LABATE, A. et al. Neuro-anatomical differences among epileptic and non-epileptic déjà-vu. **Cortex**, v. 64, n. 0, p. 1-7, 2015.

LE BIHAN, D. et al. Diffusion tensor imaging: concepts and applications. **Journal of Magnetic Resonance Imaging**, v. 13, n. 4, p. 534-546, 2001.

LIN, J.J. et al. Vulnerability of the frontal-temporal connections in temporal lobe epilepsy. **Epilepsy Research**, v. 82, n. 2-3, p. 162-170, 2008.

LITTLE, D.M.; HOLLOWAY, R.G. Diffusion tensor imaging: scientific advance, clinical tool, or just a pretty picture? **Neurology**, v. 2, n. 68, p. 9-10, 2007.

MAKRIS, N. et al. Segmentation of subcomponents within the superior longitudinal fascicle in humans: a quantitative, in Vivo, DT-MRI Study. **Cerebral Cortex**, v. 15, n. 6, p. 854-869, 2005.

MATHERN, G.W. et al. Hippocampal neuron damage in human epilepsy: Meyer's hypothesis revisited. **Prog Brain Res**, v. 135, p. 237-51, 2002.

MELHEM, E.R. et al. Diffusion tensor MR Imaging of the brain and white matter tractography. **American Journal of Roentgenology**, v. 178, n. 1, p. 3-16, 2002.

MISULIS, K.E. Physiological Basis of Electroencephalography. In: E.MISULIS, K. (Ed.). **Essentials of Clinical Neurophysiology**: Butterworth-Heinemann, 1993. p.59-65.

MOHANRAJ, R.; BRODIE, M.J. Outcomes in newly diagnosed localization-related epilepsies. **European Journal of Epilepsy**, v. 14, n. 5, p. 318-323, 2005.

MORI, S.; VAN ZIJL, P.C.M. Fiber tracking: principles and strategies – a technical review. **NMR in Biomedicine**, v. 15, n. 7-8, p. 468-480, 2002.

MORI, S. et al. **MRI atlas of human white matter**. Am Soc Neuroradiology, 2005.

NILSSON, D. et al. Bilateral diffusion tensor abnormalities of temporal lobe and cingulate gyrus white matter in children with temporal lobe epilepsy. **Epilepsy Research**, v. 81, n. 2–3, p. 128-135, 2008.

OLNEY, J.W.; DEGUBAREFF, T.; SLOVITER, R.S. Biological differences between ischemia, hypoglycemia, and epilepsy. **Ann Neurol**, v. 24, p. 699-707, 1988.

OTTE, W.M. et al. A meta-analysis of white matter changes in temporal lobe epilepsy as studied with diffusion tensor imaging. **Epilepsia**, v. 53, n. 4, p. 659-667, 2012.

PATARAYA, E.; LURGER, S.; SERLES, W. Ictal scalp EEG in unilateral mesial temporal lobe epilepsy. **Epilepsia**, v. 6, n. 39, p. 608-614, 1998.

PEDLEY, T.A. **EEG in the Evaluation of Seizures and Epilepsy in Adults**. Syllabus, Clinical EEG Course. San Diego, CA. 1992

PENFIELD, W.; BALDWIN, M. Temporal lobe seizures and the technic of subtotal temporal lobectomy. **Annals of Surgery**, v. 136, n. 4, p. 625-634, 1952.

POUPON, C. et al. Regularization of diffusion-based direction maps for the tracking of brain white matter fascicles. **NeuroImage**, v. 12, n. 2, p. 184-195, 2000.

RISINGER, M.W. et al. Ictal localization of temporal lobe seizures with scalp/sphenoidal recordings. **Neurology**, v. 39, n. 10, p. 1288-93, Oct 1989.

RITTNER, L.; LOTUFO, R.A. **Processamento de imagens de tensores de difusão**. Neurociências e Epilepsia. 2: 81-85 p. 2010.

RODRÍGUEZ-CRUCES, R.; CONCHA, L. White matter in temporal lobe epilepsy: clinico-pathological correlates of water diffusion abnormalities. **Quantitative Imaging in Medicine and Surgery**, v. 5, n. 2, p. 264-278, 2015.

RORDEN, C.; BRETT, M. Stereotaxic display of brain lesions. **Behavioural Neurology**, v. 12, n. 4, p. 191-200, 2000.

SCANLON, C. et al. Grey and white matter abnormalities in temporal lobe epilepsy with and without mesial temporal sclerosis. **Journal of Neurology**, v. 260, n. 9, p. 2320-2329, 2013.

SCHWARZ, C.G. et al. Improved DTI registration allows voxel-based analysis that outperforms Tract-Based Spatial Statistics. **NeuroImage**, v. 94, p. 65-78, 2014.

SETSU, W. et al. Fiber tract-based atlas of human white matter anatomy. **Radiology**, v. 230, n. 1, p. 77-87, 2004.

SLOVITER, R.S. The neurobiology of temporal lobe epilepsy: too much information, not enough knowledge. **Comptes Rendus Biologies**, v. 328, n. 2, p. 143-53, 2005.

SMITH, S.M. et al. Tract-based spatial statistics: Voxelwise analysis of multi-subject diffusion data. **NeuroImage**, v. 31, n. 4, p. 1487-1505, 2006.

SMITH, S.M. et al. Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. **Neuroimage**, v. 23 Suppl 1, p. S208-19, 2004.

SONG, S.K. et al. Diffusion tensor imaging detects and differentiates axon and myelin degeneration in mouse optic nerve after retinal ischemia. **NeuroImage**, v. 20, n. 3, p. 1714-1722, 2003.

SONG, S.K. et al. Dysmyelination revealed through MRI as Increased radial (but unchanged axial) diffusion of water. **NeuroImage**, v. 17, n. 3, p. 1429-1436, 2002.

TALAIRACH, J.; TOURNOUX, P. **Co-planar stereotaxic atlas of the human brain : 3-dimensional proportional system**. 1 st Edition. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1988.

THIVARD, L. et al. Diffusion tensor imaging in medial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. **NeuroImage**, v. 28, n. 3, p. 682-690, 2005.

THOMALLA, G. et al. Diffusion tensor imaging detects early Wallerian degeneration of the pyramidal tract after ischemic stroke. **NeuroImage**, v. 22, n. 4, p. 1767-1774, 2004.

VAN PAESSCHEN, W. et al. The spectrum of hippocampal sclerosis: a quantitative magnetic resonance imaging study. **Annals of Neurology**, v. 41, n. 1, p. 41-51, 1997.

VAN PAESSCHEN, W. et al. Quantitative hippocampal MRI and intractable temporal lobe epilepsy. **Neurology**, v. 45, n. 12, p. 2233-2240, 1995.

WHO. **Epilepsy**. CENTRE, M. Geneva: WHO - Media centre 2015.

WIDJAJA, E. et al. Evaluation of subcortical white matter and deep white matter tracts in malformations of cortical development. **Epilepsia**, v. 48, n. 8, p. 1460-1469, 2007.

WIESER, H.G. Mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. **Epilepsia**, v. 45, n. 6, p. 695-714, 2004.

WIESER, H.G. et al. Surgically Remediable Temporal Lobe Syndromes. In: JR., E. J. (Ed.). **Surgical Treatment of Epilepsies**. 2ed. New York: Raven Press, 1993. p.49-63.

WIESER, H.G. et al. Mesial temporal lobe epilepsy syndrome with hippocampal and amygdala sclerosis. In: JM, O.;CE, P., et al (Ed.). **Intractable Focal Epilepsy**. 1ed. London: W.B.SAUNDERS, 2000. p.131-158.

WOOLRICH, M.W. et al. Bayesian analysis of neuroimaging data in FSL. **Neuroimage**, v. 45, n. 1 Suppl, p. S173-86, Mar 2009.

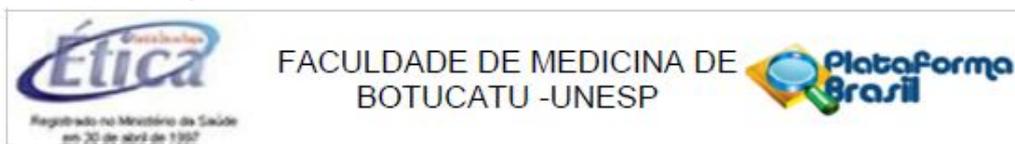
ZHANG, H. et al. A computational white matter atlas for aging with surface-based representation of fasciculi. In: (Ed.). **Biomedical Image Registration**: Springer, 2010a. p.83-90.

ZHANG, H. et al. A computational white matter atlas for aging with surface-based representation of fasciculi. In: (Ed.). **Biomedical Image Registration**: Springer, 2010b.

ZHANG, S. et al. Enhanced ICBM diffusion tensor template of the human brain. **NeuroImage**, v. 54, n. 2, p. 974-984, 2011.

## 8. ANEXOS

### 8.1. APROVAÇÕES DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



FACULDADE DE MEDICINA DE  
BOTUCATU -UNESP

#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Imagem por Tensor de Difusão na Epilepsia de Lobo Temporal Mesial.

**Pesquisador:** Patrícia Sanches

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 36616914.4.0000.5411

**Instituição Proponente:** Faculdade de Medicina de Botucatu/UNESP

**Patrocinador Principal:** FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 855.433

**Data da Relatoria:** 02/11/2014

##### Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto que faz parte de um projeto de pesquisa maior (Título: Investigação das epilepsias focais utilizando análise quantitativa do vídeoencefalograma e da neuroimagem; Protocolo CEP: 4192-2012; Data de aprovação: 07/05/2012).

O presente estudo irá analisar informações já coletadas por meio de Ressonância Magnética (RM) de 40 pacientes com epilepsia de lobo temporal mesial - ELTM e de 40 indivíduos controles voluntários selecionados junto à comunidade local sem antecedentes de patologias neurológicas. A técnica de Imagem por Tensor de Difusão (DTI), a ser utilizada, pode fornecer informações sobre a integridade estrutural da substância branca por meio da medição da difusão da água, permitindo caracterizar a estrutura dos feixes de substância branca, a partir da determinação da magnitude e direção da difusão das moléculas de água.

A mensuração das características da substância branca vai apontar os mecanismos biológicos que determinam a correlação, já apontada em literatura, entre a Esclerose Hipocampal (EH), frequentemente associada ao quadro de epilepsia de lobo temporal mesial - ELTM, uma vez que essa correlação é presente em 50% a 70% dos pacientes.

**Metodologia (Síntese):** A partir das imagens de RM, anteriormente obtidas dos pacientes com ELTM e do grupo controle, a análise visual qualitativa dos exames de RM será feita de forma cega por

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1608

CEP: 18.618-970

E-mail: capellup@fmb.unesp.br



FACULDADE DE MEDICINA DE  
BOTUCATU -UNESP



Continuação do Parecer: 855.433

dois investigadores independentes com experiência em neuroimagem e epilepsia. As imagens serão processadas, tratadas estatisticamente e analisadas utilizando-se de programas e softwares específicos. Os resultados serão trabalhados para múltiplas comparações. As comparações serão realizadas por meio de inferências diretas entre os tratos desenhados a partir do processamento prévio. A análise estatística também levará em conta as múltiplas comparações. Finalmente, os achados serão interpretados e relacionados de forma qualitativa.

Sujeitos da Pesquisa: Serão utilizadas imagens de 80 sujeitos de pesquisa que foi realizada em 2013, sendo 40 com epilepsia e 40 do grupo controle.

Patrocinador Principal: Fapesp. Custo estimado em R\$ 19.299,00, sendo R\$ 12.000,00 de Software para pós processamento de imagens, R\$ 6.799,00 para aquisição de computador de alto desempenho e R\$ 500,00 de materiais de escritório.

Critério de Inclusão: prejudicado

Critério de Exclusão: prejudicado

Pesquisadora: Patrícia Sanches. Orientador Luiz Eduardo Betting.

#### **Objetivo da Pesquisa:**

Quantificar microalterações estruturais de substância branca, por meio de imagens cerebrais de ressonância magnética em pacientes com ELTM quando comparados com indivíduos sem antecedentes de patologias neurológicas, por meio da mensuração das frações de anisotropia (FA), fazendo-se a investigação das imagens de tensor de difusão (DTI). De forma mais específica, as técnicas TBSS (Tract-Based Spatial Statistics) e de comparação voxel-a-voxel serão utilizadas e confrontadas em indivíduos com ELMT sendo 20 pacientes com EH à esquerda e 20 pacientes com EH à direita. Achados do EEG interictal também serão relacionados com as alterações de DTI.

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos: Não há riscos, já que se trata de análise de imagens cerebrais de ressonância magnética.

Benefícios: Contribuição para adoção de medidas preventivas e de diagnóstico precoce contra a epilepsia. Deste modo, o melhor conhecimento da fisiopatologia da doença é fundamental para um tratamento adequado e, portanto uma significativa melhora na condição de vida dos doentes

#### **Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Todos os itens e informações necessárias à avaliação ética foram descritos adequadamente e foram apresentados os termos e declarações exigidos. Foi anexado documento atualizado

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Telefone: (14)3880-1808

CEP: 18.618-970

Município: BOTUCATU

E-mail: capellup@fmb.unesp.br



FACULDADE DE MEDICINA DE  
BOTUCATU -UNESP



Continuação do Parecer: 855.433

"Informações Básicas do Projeto" idêntico ao Projeto de Pesquisa. Dessa forma, a pendência apontada no parecer de 20/10/2014 foi solucionada.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Todos os termos, declarações e autorizações foram apresentados. Quanto ao TCLE, há solicitação de sua dispensa por se tratar de pesquisa utilizando-se de resultados de exames aos quais os sujeitos de pesquisa foram submetidos para "pesquisa-mãe", realizada em 2012.

É pertinente a dispensa de TCLE.

**Recomendações:**

Sem recomendações.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

O primeiro Parecer deste Projeto é de 06/10/2014 e o segundo, de 20/10/2014.

Este estudo faz parte de um Projeto Maior, aprovado por este CEP em 07 de maio de 2012, cujo protocolo CEP 4192/2012 foi emitido pelo sistema anterior de cadastro de Pesquisa (SIPE), cujo título é: "Investigações das Epilepsias Focais Utilizando Análise Quantitativa do Videoencefalograma e da Neuroimagem.

Projeto de Pesquisa bem elaborado e tema relevante cujo desfecho pode contribuir nos processos terapêuticos e em diagnóstico precoce. A metodologia mostra-se adequada aos objetivos propostos e não há riscos, uma vez que não há sujeitos de pesquisa envolvidos. Está adequado no que preceitua a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

Há solicitação de dispensa do TCLE, plenamente pertinente. A pendência apontada foi solucionada conforme descrito no item acima e dessa forma o projeto pode ser aprovado sem necessidade de envio ao Conep.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Projeto de pesquisa APROVADO, deliberado em reunião do CEP de 03 de Novembro de 2014, sem necessidade de envio à CONEP.

Solicitamos aos pesquisadores que apresentem ao CEP o "Relatório Final de Atividades" ao final do estudo.

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Telefone: (14)3880-1608

Município: BOTUCATU

CEP: 18.618-070

E-mail: capellup@fmb.unesp.br



FACULDADE DE MEDICINA DE  
BOTUCATU -UNESP



Continuação do Parecer: 855.433

BOTUCATU, 03 de Novembro de 2014

---

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

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Município: BOTUCATU

CEP: 18.618-970

Telefone: (14)3880-1808

E-mail: [capellup@fmb.unesp.br](mailto:capellup@fmb.unesp.br)

Página 04 de 04



Universidade Estadual Paulista  
Faculdade de Medicina de Botucatu



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, 07 de maio de 2012

Of. 190/2012

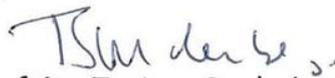
Ilustríssimo Senhor  
Prof. Dr. Luiz Eduardo Betting  
Departamento de Neurologia, Psicologia e Psiquiatria da  
Faculdade de Medicina de Botucatu

Prezado Dr. Luiz Eduardo,

Informo que o Projeto de Pesquisa (Protocolo CEP 4192-2012) Investigação das epilepsias focais utilizando análise quantitativa do vídeoencefalograma e da neuroimagem, a ser conduzido por Vossa Senhoria, recebeu do relator parecer favorável, aprovado em reunião de 07/05/2012.

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

Atenciosamente,

  
Prof. Dr. Trajano Sardenberg  
Coordenador do CEP

## 8.2. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - PACIENTES



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Campus de Botucatu



### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

#### **Título do Protocolo de Pesquisa: INVESTIGAÇÃO DAS EPILEPSIAS FOCAIS UTILIZANDO ANÁLISE QUANTITATIVA DO VÍDEO-ELETROENCEFALOGRAMA E DA 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 48 meses. A epilepsia é uma doença cerebral que leva a crises epilépticas (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. No caso de crises frequentes e incontroláveis com remédio, um exame de vídeo-eletroencefalograma que filma as crises apresentadas pelo senhor será realizado.

Em seguida, 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 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. 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.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Campus de Botucatu



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

Patrícia Sanches / Prof. Dr. Luiz Eduardo Betting: (14) 3811 6260

e-mail: [lebetting@hotmail.com](mailto:lebetting@hotmail.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. Serão realizadas duas cópias e eu me comprometo a fornecer uma cópia desse formulário de consentimento ao participante ou responsável.

---

Nome do pesquisador

---

Assinatura do pesquisador

data

### 8.3. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - GRUPO CONTROLE



#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

##### **Título do Protocolo de Pesquisa: INVESTIGAÇÃO DAS EPILEPSIAS FOCAIS UTILIZANDO ANÁLISE QUANTITATIVA DO VÍDEO- ELETROENCEFALOGRAMA E DA 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 48 meses. A epilepsia é uma doença cerebral que leva a crises epilépticas (convulsivas) e tem diversas causas.

O senhor (a) será submetido a 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 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. 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.

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 futuramente.

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

Patrícia Sanches / Prof. Dr. Luiz Eduardo Betting: (14) 3811 6260  
e-mail: [lebetting@hotmail.com](mailto:lebetting@hotmail.com)

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



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
Campus de Botucatu



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. Serão realizadas duas cópias e eu me comprometo a fornecer uma cópia desse formulário de consentimento ao participante ou responsável.

\_\_\_\_\_  
Nome do pesquisador

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador

\_\_\_\_\_  
data