

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA MOLECULAR

BRUNO SILVA COSTA

**Análise de fatores preditores de resultado na cirurgia da epilepsia  
refratária decorrente de esclerose do lobo temporal mesial**

Belo horizonte

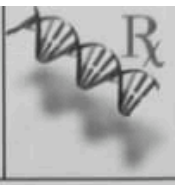
2019

Costa, Bruno Silva.  
C837a Análise de fatores preditores de resultado na cirurgia da epilepsia refratária decorrente de esclerose do lobo temporal mesial [manuscrito]. / Bruno Silva Costa. - - Belo Horizonte:2019.  
84 f.: il.

Orientador (a): Marco Aurélio Romano Silva.  
Área de concentração: Medicina Molecular.  
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Epilepsia do Lobo Frontal. 2. Epilepsia Resistente a Medicamentos/cirurgia. 3. Hipocampo/patologia. 4. Tomografia Computadorizada com Tomografia por Emissão de Pósitrons. 5. Doença Crônica. 6. Fatores de Risco. 7. Dissertação Acadêmica. I. Silva, Marco Aurélio Romano. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. III. Título.

NLM: WL 385



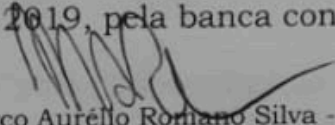
## FOLHA DE APROVAÇÃO

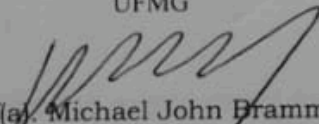
### ANÁLISE DE FATORES PREDITORES DE RESULTADO NA CIRURGIA DA EPILEPSIA REFRACTÁRIA DECORRENTE DE ESCLEROSE DO LOBO TEMPORAL MESIAL

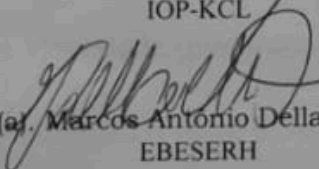
#### BRUNO SILVA COSTA

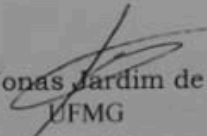
Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em MEDICINA MOLECULAR, como requisito para obtenção do grau de Doutor em MEDICINA MOLECULAR, área de concentração MEDICINA MOLECULAR.

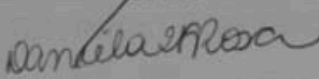
Aprovada em 16 de abril de 2019, pela banca constituída pelos membros:

  
Prof(a). Marco Aurélio Romano Silva - Orientador  
UFMG

  
Prof(a). Michael John Brammer  
IOP-KCL

  
Prof(a). Marcos Antonio Dellaretti Filho  
EBESERH

  
Prof(a). Jonas Jardim de Paula  
UFMG

  
Prof(a). Daniela Valadão Freitas Rosa  
UFMG

Belo Horizonte, 16 de abril de 2019.

BRUNO SILVA COSTA

**Análise de fatores preditores de resultado na cirurgia da epilepsia  
refratária decorrente de esclerose do lobo temporal mesial**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Molecular da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Medicina Molecular.

Orientador: Prof. Dr. Marco Aurélio Romano Silva

Belo horizonte

2019

## AGRADECIMENTOS

Esta tese de Doutorado foi fruto da colaboração entre duas instituições que são complementares em seu objetivo.

Na Santa Casa temos ênfase na assistência, sempre buscando a excelência e com grande número de atendimentos e cirurgias.

Na Medicina Molecular da UFMG temos a ciência e a pesquisa em sua forma completa.

Da cooperação entre estes dois mundos surgiu nossa tese de Doutorado.

Da Santa Casa tenho sempre a agradecer a toda a equipe, em especial a meus mentores, Dr. Carlos Batista, Dr. Gervásio e, especialmente, ao Dr. Atos, que me guiou, orientou e apoio no caminho da Neurocirurgia durante toda a sua vida.

Da Medicina Molecular agradeço a todos que me auxiliaram na orientação e andamento do projeto, em especial ao Prof. Marco Aurélio Romano Silva, meu orientador, Prof. Luiz Armando de Marco, de elevada sabedoria e dedicação à pesquisa, Profa. Daniela Valadão que fez um pouco de tudo para que o projeto seguisse apesar dos percalços, meu colega de pós graduação e agora Prof. Manuel Schutze que me apresentou ao Freesurfer.

Aos professores da pós-graduação, em especial aos Profs. Débora Miranda e Jonas Jardim pelo auxílio na qualificação.

Agradeço também ao Prof. Kehrlí, em Strasbourg, que me guiou nos primeiros passos da cirurgia da epilepsia.

A minha esposa Fernanda e filhas Mariana e Isabela que são meu esteio e objetivo maior de vida.

A meus pais e irmãos pela estrutura que me possibilitou chegar até aqui.

E por fim, aos pacientes que, na busca por uma vida melhor sem epilepsia, serviram como material de estudo para nossa pesquisa.

“Men think epilepsy divine, merely because they do not understand it. We will one day understand what causes it, and then cease to call it divine. And so it is with everything in the universe.”

Hipocrates 4000 AC

## Resumo

**COSTA, BS. Análise de fatores preditores de resultado na cirurgia da epilepsia refratária decorrente de esclerose do lobo temporal mesial.** 2019. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019.

A epilepsia é uma doença crônica, com grandes implicações na capacidade de trabalho e qualidade de vida dos portadores. Em cerca de 20 % dos epiléticos não conseguimos controle adequado com o uso das medicações disponíveis, mesmo em associação e altas doses.

Uma das formas de epilepsia mais frequentemente refratária à medicação é a epilepsia de lobo temporal mesial. Esta epilepsia é frequentemente associada a um defeito estrutural no hipocampo com perda neuronal caracterizada por esclerose. O tratamento cirúrgico com exérese do hipocampo anormal tem excelente resultado com controle da doença em cerca de 80 % dos casos. Porém 20 % dos pacientes são submetidos aos riscos do tratamento cirúrgico sem alcançarem o benefício esperado.

Estudos anátomo patológicos recentes mostram que existem padrões específicos de esclerose das subcamadas do hipocampo em epilepsia e que estes padrões têm respostas diferentes ao tratamento cirúrgico

A análise automatizada dos volumes das estruturas hipocampais é uma técnica em desenvolvimento com facilidade de realização, boa acurácia e reprodutibilidade. Através desta análise podemos dividir os pacientes em grupos específicos de esclerose hipocampal antes do procedimento cirúrgico e assim definir melhores candidatos ao procedimento.

O PET-CT demonstra o metabolismo através da captação de glicose marcada por radioisótopo. Quando aplicado no cérebro, o exame permite estimar a atividade neuronal e sináptica média entre o momento de administração do radiofármaco e o momento do exame

Na epilepsia de lobo temporal mesial, o PET-CT mostra hipometabolismo cerebral no lobo temporal esclerótico.

No presente estudo procuramos analisar os achados do PET-CT e compará-los com os padrões de esclerose hipocampal encontrados na análise volumétrica das subcamadas do hipocampo e sua relação com o resultado cirúrgico. Dois manuscritos são apresentados: A- Análise da atrofia das subcamadas do hipocampo e sua relação com o resultado cirúrgico. B- Avaliação dos resultados do PET-CT em epilepsia do lobo temporal e suas correlações com o resultado cirúrgico.

**Palavras-chave:** Epilepsia de lobo temporal, esclerose hipocampal, subcamadas do hipocampo, segmentação automatizada, PET-CT



## Abstract

**COSTA, BS. Analysis of predictive factors of outcome in refractory epilepsy surgery secondary to mesial temporal lobe sclerosis 2019.** Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019.

Epilepsy is a chronic disease, with significant implications on the work capacity and quality of life of the patients. In about 20% of people with epilepsy, we can not adequately control the use of the available medications, even in combination with high doses.

One of the forms of epilepsy most often refractory to medication is mesial temporal lobe epilepsy. This epilepsy is often associated with a structural defect in the hippocampus with neuronal loss characterized by sclerosis. Surgical treatment with abnormal hippocampal excision has excellent results with disease control in about 80% of the cases. However, 20% of the patients are submitted to the risks of surgical treatment without achieving the expected benefit.

Recent anatomic pathological studies show that there are specific patterns of sclerosis of the hippocampal sublayers in epilepsy and that these patterns have different responses to surgical treatment

Automated analysis of hippocampal structures volumes is a developing technique with ease of achievement, good accuracy and reproducibility. Through this analysis, we can divide the patients into specific groups of hippocampal sclerosis before the surgical procedure and thus define better candidates for the sue.

PET-CT demonstrates metabolism through the uptake of radioisotope-labeled glucose. When applied in the brain, the test allows estimating the neuronal and synaptic activity between the time of administration of the radiopharmaceutical and the moment of the examination

In mesial temporal lobe epilepsy, PET-CT shows cerebral hypometabolism in the sclerotic temporal lobe.

In the present study, we sought to analyze the findings of PET-CT and compare them with the hippocampal sclerosis patterns found in the volumetric analysis of the hippocampal sublayers and their relationship with the surgical outcome. Two manuscripts are presented: A- Analysis of hippocampal sublayer atrophy and its relation to surgical outcome. B- Evaluation of PET-CT results in temporal lobe epilepsy and its correlations with surgical outcome.

**Keywords:** Temporal lobe epilepsy, hippocampal sclerosis, hippocampal subfields, automated segmentation, PET-CT

## Lista de Figuras

<b>Figura 1</b>	RM 4,7 tesla de hipocampo excisado cirurgicamente.	4
<b>Figura 2</b>	Processamento inicial das imagens de RM no Freesurfer	13
<b>Figura 3</b>	Insuflação do cérebro no processamento das imagens de RM no Freesurfer	13
<b>Figura 4</b>	Transformação esférica para cálculo de volumes no Freesurfer	14
<b>Figura 5</b>	Análise visual do PET-CT coronal	15
<b>Figura 6</b>	Análise visual do PET axial	16
<b>Figura 7</b>	Análise automatizada do PET-CT através do CortexID	17
<b>Figura 8</b>	Comparison of means of the hippocampus and subfields volumes between the Hippocampal sclerosis side, non-sclerotic side and the control group.	31
<b>Figura 9</b>	Color table for Cortex ID regions. Brain in lateral and medial views	45
<b>Figura 10</b>	Comparison of Z-scores for all PET/CT regions in sclerotic and non-sclerotic sides. T-test for paired samples (sclerotic and non-sclerotic side) for all PET/CT regions	47

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1</b>	Tipos de esclerose hipocampal baseados na atrofia das subcamadas do hipocampo	5
<b>Tabela 2</b>	Inclusion criteria	32
<b>Tabela 3</b>	Demographic data of patients and controls	33
<b>Tabela 4</b>	Hippocampus and hippocampal subfields mean volume and standard deviation in HS side, non-HS side and controls	34
<b>Tabela 5</b>	Analysis of variance (ANOVA) for surgery outcome comparing demographic variables, hippocampus, and hippocampal subfields volumes.	35
<b>Tabela 6</b>	Crosstab comparing hippocampal sclerosis and PET hypometabolism by side.	41
<b>Tabela 7</b>	Crosstab comparing PET/CT agreement with MRI and seizure freedom	42
<b>Tabela 8</b>	Correlation between age, years of epilepsy and Schooling and Temporal lobe hypometabolism on PET/CT	42
<b>Tabela 9</b>	Correlation between hippocampal subfields volumes and Temporal lobe metabolism on PET/CT in HS and non-HS sides.	43

**Lista de Abreviaturas e siglas**

18 FDG	Fluordesoxiglicose marcada com flúor-18
3D	Tridimensional
ANOVA	Analysis of variance (análise de variância)
CA	<i>cornus amonis</i>
CONEP	Comitê nacional de ética em pesquisa
CT	Computed tomography (tomografia computadorizada)
DG	Dentate girus (giro denteado)
ELTM	Epilepsia de lobo temporal mesial
ERC	Enthorhinal cortex (Córtex entorrinal)
FM-USP	Faculdade de Medicina da Universidade do Estado de São Paulo
HS	Hippocampal sclerosis (esclerose hipocampal)
ILAE	The international league against epilepsy (liga internacional contra a epilepsia)
INCT-MM	Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Medicina Molecular
MTLE	Mesial temporal lobe epilepsy (epilepsia de lobo temporal mesial)
MRI	Magnetic resonance imaging (ressonância magnética)
PET	Tomografia por emissão de pósitrons
PET-CT	Tomografia por emissão de pósitrons correlograda com tomografia computadorizada
RM	Ressonância magnética
SCMBH	Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte
SUB	Subiculum (subículo)

## Sumário

1	Introdução	1
1.1	Epilepsia	2
1.2	Subcamadas do hipocampo	3
1.3	Tipos de atrofia do hipocampo	4
2	Objetivos	6
2.1	Analisar a volumetria hipocampal e sua correlação com o resultado cirúrgico	7
2.2	Analisar os achados do FDG PET-SCAN e correlaciona-los com os resultados cirúrgicos.	7
3	Material e Métodos	9
3.1	Neuroimunologia, Genômica Funcional e Neuroimagem	10
3.2	Análise da volumetria por RM no lobo temporal	12
3.3	Imagens por PET/CT	14
3.3.1	Análise visual	14
3.3.2	Análise automatizada	16
4	Manuscritos	18
4.1	Title	19
4.1.2	Abstract	19
4.1.3	Keywords	19
4.1.4	Taxonomy	19
4.1.5	Corresponding Author	20
4.1.5.1	Corresponding Author's Institution	20
4.1.5.2	Order of Authors	20

4.1.6	Highlights	20
4.1.7	Introduction	21
4.1.8	Methods	22
4.1.8.1	Ethical statement	22
4.1.8.2	Participants	22
4.1.8.3	MRI acquisition and analysis	23
4.1.8.4	Surgical outcome	23
4.1.8.5	Data analysis	23
4.1.9	Results	24
4.1.9.1	Volumetric analyses of hippocampal subfields for MTLE-HS patients	24
4.1.10	Discussion	24
4.1.11	Conclusion	26
4.1.12	Acknowledgments	26
4.1.13	Disclosure	26
4.1.14	Bibliography	27
4.2	The role of PET/CT in pre-operative evaluation of mesial temporal lobe epilepsy and surgical outcome	
	Prediction	36
4.2.1	Introduction	36
4.2.2	Methods	37
4.2.2.1	Ethical statement	37
4.2.2.2	MRI	38

4.2.2.3	PET-SCAN	38
4.2.2.4	Statistical analysis	39
4.2.2.5	Visual analysis	39
4.2.2.6	Automated analysis (CortexID)	40
4.2.3	Results	40
4.2.3.1	Visual analysis	40
4.2.3.2	Automated analysis	43
4.2.4	Discussion	48
4.2.5	Conclusions	50
4.2.6	Bibliography	51
4.3	Discussão	54
4.3.1	Freesurfer	55
4.3.2	PET/CT	57
	Bibliografia	61
	Anexo 1	67
	Anexo 2	69



## **1. Introdução**

## 1.1. Epilepsia

A epilepsia é uma doença crônica, que atinge cerca de 50 milhões de pessoas no mundo, sendo 90% delas nos países em desenvolvimento (WHO, 2009). Caracteriza-se por crises epiléticas repetidas, causadas por atividade elétrica excessiva de um grupo limitado de neurônios, com potencial de propagação. As crises são controláveis com o uso de medicamentos antiepiléticos, entretanto, cerca de 30% dos pacientes apresentam persistência das crises a despeito do tratamento e apesar do progresso científico na compreensão dos mecanismos fisiopatológicos relacionados ao início, amplificação e propagação das crises no cérebro, e do grande número de medicamentos antiepiléticos disponíveis.

Uma forma específica de epilepsia, a epilepsia de lobo temporal mesial (ELTM), se caracteriza por crises conhecidas como parciais complexas. São crises com ruptura de contato, movimentos estereotipados frequentemente precedidos por sensações premonitórias como medo, sensação de estranheza (aura).

Esta forma de epilepsia é frequentemente associada a um defeito estrutural no hipocampo com perda neuronal caracterizada por esclerose.(ENGEL, 2011)

A epilepsia de lobo temporal é frequentemente refratária à medicação, com grande custo individual e coletivo por acometer adultos jovens, outrora saudáveis e que progressivamente se tornam incapazes para a vida profissional e social. (KALE, 1997)A epilepsia do lobo temporal normalmente se inicia na infância com crises convulsivas parciais complexas com automatismos e alteração do nível de consciência. (WIEBE *et al.*, 2001)

Estas crises tendem a se agravar progressivamente associando-se a déficit progressivo de memória recente.

O tratamento cirúrgico da epilepsia de lobo temporal através da ressecção do complexo amígdala-hipocampo mostrou-se eficaz no controle das crises convulsivas.(ENGEL, 1999)

Em estudo prospectivo publicado em 2001 Wiebe(WIEBE *et al.*, 2001) demonstra a superioridade do tratamento cirúrgico da epilepsia de lobo temporal com relação ao tratamento clínico.

Os avanços recentes no diagnóstico das epilepsias permitem uma maior acurácia na detecção da esclerose hipocampal e indicação cirúrgica mais precoce. Porém, apesar destes avanços, o índice de cura em pacientes portadores de esclerose hipocampal unilateral, sintomática chega a cerca de 75%. Ou seja, um quarto dos indivíduos submetidos ao tratamento cirúrgico não fica livre de crises(ENGEL, 2008). Estes pacientes são expostos aos riscos do procedimento sem um benefício adequado. Uma melhor seleção dos candidatos ao tratamento cirúrgico, evitando os pacientes que não terão resultado adequado reduziria riscos e custos desnecessários.

A definição de novos fatores preditores de bom resultado no tratamento cirúrgico visa proporcionar uma seleção adequada dos melhores candidatos ao tratamento cirúrgico.

Com esta definição podemos estratificar os candidatos à cirurgia baseados em expectativa de resultado, evitando-se morbidade desnecessária e reduzindo custos para o sistema de saúde.

## **1.2. Subcamadas do hipocampo**

A formação hipocampal é uma estrutura anatômica complexa subdividida em áreas anatômicas distintas, as subcamadas. Nomeadas *cornu ammonis* (CA) 1 a 4, giro denteado, fimbria, subículo, para subículo e córtex entorrinal(NA *et al.*, 2015). A figura 1 mostra um corte de RM de 4,7 Tesla do hipocampo de um dos pacientes do estudo.

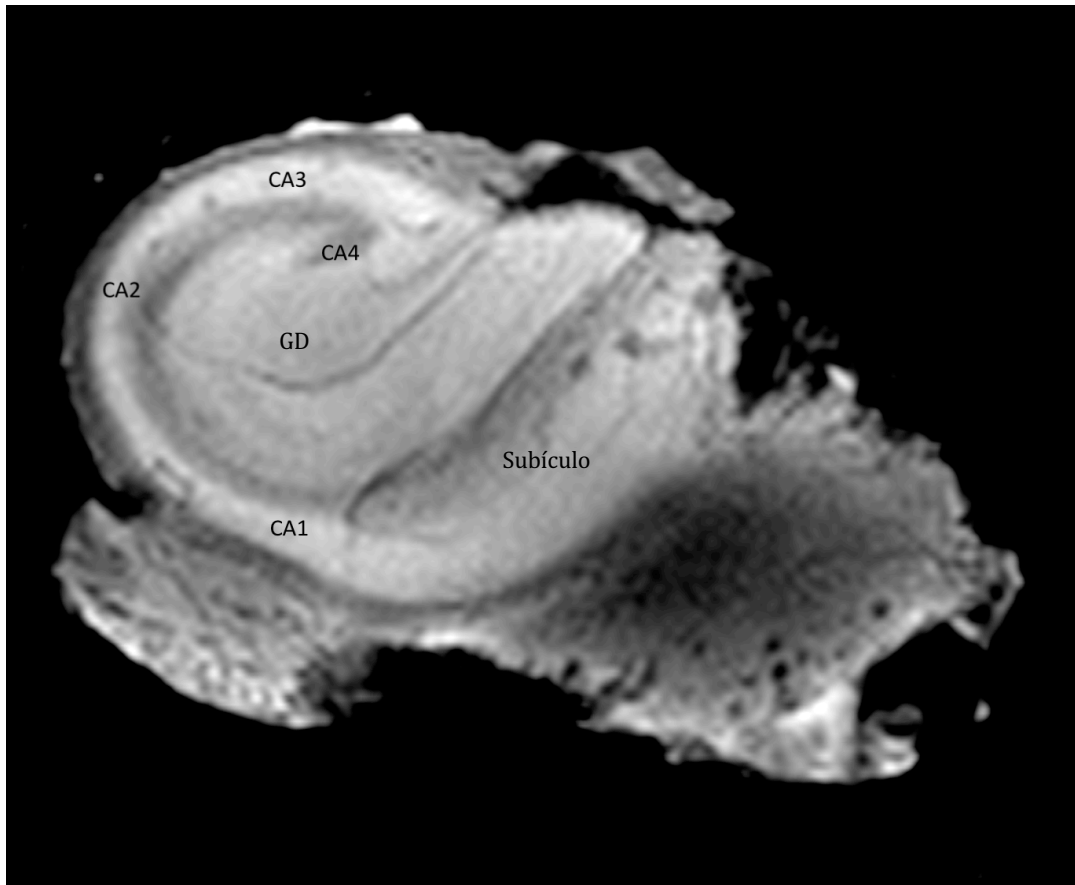


Figura 1: RM 4,7 tesla de hipocampo excisado cirurgicamente mostrando as subcamadas CA1 a CA4 do cornu da Amon, giro denteado (GD) e subículo.

A formação hipocampal é uma estrutura anatômica complexa subdividida em áreas anatômicas distintas, as subcamadas. Nomeadas *cornus amonis* (CA) 1 a 4, giro denteado, fimbria, subículo, para subículo e córtex entorrinal (NA *et al.*, 2015).

### 1.3. Tipos de atrofia do hipocampo

Uma classificação anatomopatológica recente identifica 3 subtipos de esclerose hipocampal baseados na perda neuronal nas camadas CA1, CA2, CA3 e CA4 do hipocampo (BLÜMCKE *et al.*, 2007; CENDES *et al.*, 2014). EH tipo 1 tem predomínio de atrofia em CA1 e CA4. EH tipo 2 tem atrofia predominante em CA1 apenas e o tipo 3 tem atrofia em CA4 (BLÜMCKE *et al.*, 2007) (Tabela 1).

Foi demonstrado também que o padrão de atrofia tipo 1 tem o melhor prognóstico em termo de controle de crises(NA *et al.*, 2015; THOM, 2014).

Tabela 1: Tipos de esclerose hipocampal baseados na atrofia das subcamadas do hipocampo.

	<b>HS ILAE tipo 1</b>	<b>HS ILAE tipo 2</b>	<b>HS ILAE tipo 3</b>
<b>CA1</b>	++	++	
<b>CA2</b>			
<b>CA3</b>			++
<b>CA4</b>	++		

++ mostra maior grau de atrofia.

A estratificação e mensuração das subcamadas do hipocampo pode ser feita através da volumetria automatizada do hipocampo utilizando-se cortes de ressonâncias magnética (RM) volumétrica(FISCHL, 2012; FISCHL *et al.*, 2002; 2004; IGLESIAS *et al.*, 2015; VAN LEEMPUT *et al.*, 2008; 2009). Isto nos permitiria definir o tipo de esclerose hipocampal antes do procedimento, criando um novo preditor de resultado.

A tomografia por emissão de pósitrons (PET) permite a análise *in vivo* do metabolismo cerebral. A combinação do PET com tomografia computadorizada (PET/CT) nos fornece imagens anatômicas com mais alta resolução do que o PET isolado consegue mostrar(GRIFFETH, 2005). Em epilepsia, o metabolismo cerebral da glicose foi estudado extensivamente utilizando-se o marcador radioativo 18-fluorodeoxglicose (18FDG)(DUNCAN, 1999).

O PET/CT tem sido usado na localização do foco epilético. Tipicamente, existe uma redução da captação de 18FDG (hipometabolismo) no lobo temporal acometido durante o período interictal(MURO; KARIS, 2014; SALAMON *et al.*, 2008).

Não existem estudos correlacionando os achados do PET/CT com os volumes do hipocampo e suas subcamadas.

## **2. Objetivos**

### **2.1. Analisar a volumetria hipocampal e sua correlação com o resultado cirúrgico.**

Determinar, através de software automatizado (Freesurfer), o volume do hipocampo e de outras estruturas cerebrais no pré-operatório e correlacionar estes achados com os resultados cirúrgicos. A ressonância magnética anatômica proporciona a medida quantitativa de estruturas cerebrais através da análise do volume de estruturas cerebrais. Estas medidas podem ser utilizadas para estudarmos a neurobiologia de várias patologias. A córtex cerebral pode ser dividida em regiões distintas a partir dos sulcos cerebrais analisados de maneira automatizada no software Freesurfer (DESTRIEUX *et al.*, 2010; FISCHL *et al.*, 2004).

A medida do hipocampo através do software Freesurfer foi validada em estudo comparativo com a delimitação e definição manual do volume (TAE *et al.*, 2008) em pacientes com depressão.

A análise do resultado cirúrgico é feita pela avaliação clínica de crises residuais através das escalas de Engel (DURNFORD *et al.*, 2011), validada e sensível para a estratificação do resultado cirúrgico.

### **2.2. Analisar os achados do FDG PET-SCAN e correlaciona-los com os resultados cirúrgicos.**

O PET SCAN pré-operatório em pacientes com epilepsia de lobo temporal por esclerose hipocampal mostra uma alteração metabólica com redução da captação de glicose no lobo temporal afetado. Questiona-se se o hipometabolismo focal está relacionado a uma resposta às crises convulsivas

ou se trata de uma lesão cerebral difusa mais ampla. A correlação entre o hipometabolismo e os resultados cirúrgicos ainda não está bem estabelecida na literatura.

As imagens do PET SCAN foram processadas e os resultados comparados com as escalas de avaliação pós cirúrgicas.



### **3. Material e Métodos**

### 3.1. Neuroimunologia, Genômica Funcional e Neuroimagem

Este projeto de doutorado é um ramo do projeto “Neuroimunologia, Genômica Funcional e Neuroimagem: uma abordagem integrada no estudo da fisiopatologia e tratamento da Epilepsia Refratária”, do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Medicina Molecular – INCT-MM, realizado em parceria com grupo de pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade do Estado de São Paulo – FM-USP e serviço de neurocirurgia da Santa Casa de BH que se propõe a estudar a epilepsia refratária usando a imagem associada a métodos de biologia molecular e celular.

Os pacientes foram avaliados na Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte (SCMBH), usando protocolos aprovados pelo Comitê de Ética (Brazilian Ethical Committee- CIOMS/OMS, Geneva, 1982 e 1983) do HC-FMUSP, CAPPesq No. 251/05.

Foram selecionados, de maneira prospectiva, 104 pacientes portadores de epilepsia de lobo temporal e portadores de esclerose hipocampal unilateral pertencentes ao ambulatório de cirurgia da epilepsia da Santa Casa de BH.

O fluxo de avaliação dos pacientes seguiu a sequência mostrada a seguir:

A - Inicialmente, uma avaliação com neurologista especializado em epilepsia com ajuste de medicação até a definição de refratariedade ao tratamento medicamentoso habitual.

B- A avaliação neurológica da semiologia das crises sugere epilepsia do lobo temporal

C- Foi realizado o vídeo EEG. Durante o procedimento foi confirmada a semiologia das crises e o padrão eletroencefalográfico ictal e Interictal com confirmação do diagnóstico de ELTM unilateral.

D- A RM 3 tesla com protocolo específico para demonstrar a esclerose unilateral do hipocampo concordante com o foco ictal visto no vídeo EEG.

E- Avaliação neuropsicológica com teste de memória e linguagem quantificando as alterações de função de lobo temporal.

F- Tratamento cirúrgico com o seguinte protocolo:

- a. Esclerose hipocampal esquerda: amigdalotomia hipocampectomia seletiva via giro temporal média conforme descrito por Niemeyer(OLIVIER, 2000)
- b. Esclerose hipocampal direita: lobectomia temporal direita de 4 a 6 cm associada a amigdalotomia hipocampectomia segundo técnica de Spencer. (SPENCER, D D *et al.*, 1984)

Cinquenta e nove pacientes foram submetidos a PET SCAN com fludexglicose em pré-operatório.

O estudo foi realizado no período de março de 2011 a março de 2017. Foram selecionados 104 pacientes. Destes 86 preencheram os critérios de inclusão. 16 pacientes foram excluídos do estudo pelas seguintes razões:

- A- RM foram do protocolo padrão em 7 pacientes.
- B- Presença de outra lesão associada a esclerose hipocampal em 5 pacientes.
- C- Recusa ao procedimento cirúrgico em 3 pacientes.
- D- Perda de seguimento em 1 paciente.

Todos pacientes incluídos no estudo foram submetidos a tratamento cirúrgico no hospital Santa Casa de BH pelo mesmo cirurgião seguindo o mesmo protocolo cirúrgico já descrito.

Foram retiradas amostras das seguintes estruturas para análise: Giro parahipocampal, giro denteado, córtex, amígdala, além de uma peça com todo o corpo do hipocampo em bloco. Estas amostras estão disponíveis para análises e foram objeto de outro braço do projeto de pesquisa com a análise de citocinas pró inflamatórias, em trabalho já publicado. (ROSA *et al.*, 2016)

Todos pacientes foram avaliados ambulatorialmente por pelo menos 1 ano em pós-operatório.

Foi realizada a medida de volume automatizada de estruturas cerebrais através do software de livre acesso Freesurfer versão 6.0. (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>)(DALE; SERENO, 1993; FISCHL, 2012; FISCHL *et al.*, 2002; 2004; JOVICICH *et al.*, 2009).

### **3.2. Análise da volumetria por RM no lobo temporal**

Todos Pacientes realizaram RM de alto campo 3 Tesla (Philips (Achieve Dual 3.0 T, Philips Medical Systems, Holanda) ou GE (Signa 3.0 T, GE Healthcare, Reino Unido) em uma protocolo que incluía uma sequência volumétrica em T1 com cortes de 1mm em uma matriz 256/256.

O volume do hipocampo foi obtido de maneira automatizada utilizando-se o software Freesurfer em uma workstation Macintosh conforme descrito por Fischl(FISCHL *et al.*, 2002; 2004). As imagens da aquisição volumétrica com espessura de corte de 1mm são processadas sendo que cada voxel recebe uma etiqueta anatômica baseada em uma estimativa probabilística.

O volume hipocampal é subdividido em 8 regiões anatômicas distintas (Pré subículo, subículo, CA1, CA2, CA3, CA4, fimbria e fissura hipocampal) que foram analisadas individualmente.

O hipocampo foi segmentado automaticamente em subcamadas *cornus amonis* (CA) 1 a 4, giro denteado, fimbria, subículo, para subículo e córtex entorrinal(VAN LEEMPUT *et al.*, 2008).

Foi criado um grupo controle com 10 voluntários não portadores de afecções cerebrais que foram submetidos ao mesmo protocolo de RM.

A análise automatizada segue o seguinte fluxo:

- A- O volume encefálico é comparado a um atlas anatômico com definição das estruturas cerebrais.

- B- As imagens T1 são processadas com separação de substância branca e cinzenta voxel a voxel baseado na intensidade de sinal. (Figura 2)
- C- O volume encefálico é inflado com a projeção dos sulcos sendo levada a superfície. (Figura 3)
- D- Uma projeção esférica é criada para cálculo dos volumes das estruturas cerebrais. (Figura 4)



Figura 2. A – Supressão das estruturas ósseas da RM em corte axial. B – Separação da substância branca. C -Aplicação do atlas anatômico.

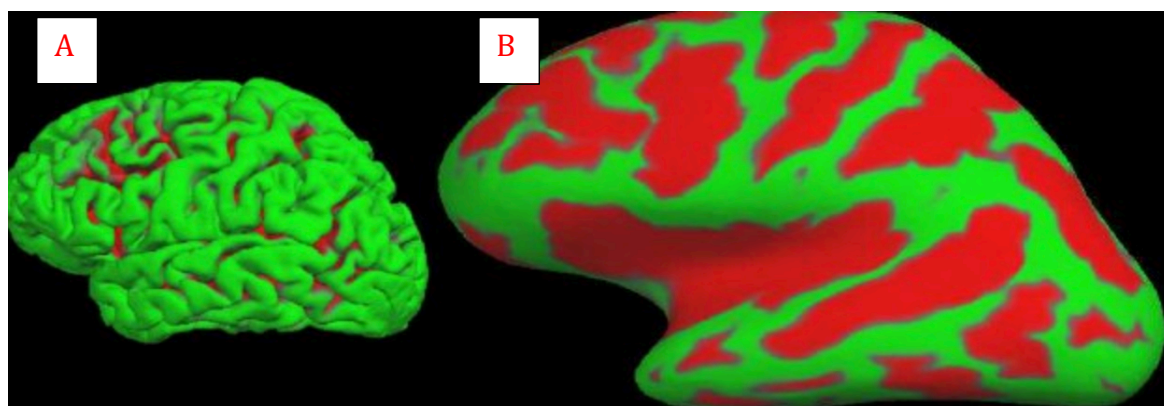


Figura 3. A - Superfície pial. B – Superfície inflada. Em verde os giros, em vermelho os sulcos.

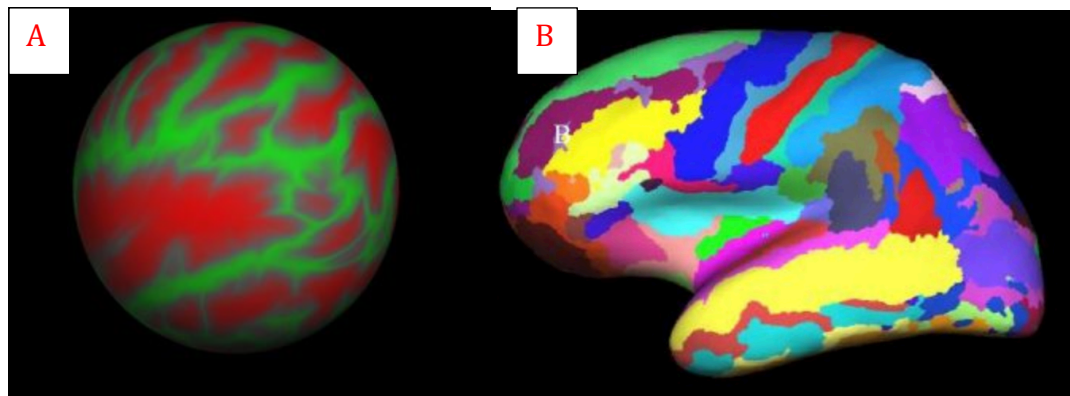


Figura 4. A – Transformação esférica para cálculo de volumes. B – Atlas aplicado à superfície inflada

### 3.3. Imagens por PET/CT

Imagens de FDG-PET foram obtidas em um aparelho de PET/CT GE Discovery 690 em 61 pacientes. Uma varredura Interictal de emissão e transmissão (3D) foi realizada após administração intravenosa de 15mCi de deoxiglicose marcada com flúor-18 ( $^{18}\text{F}$ FDG).

Após a injeção de de  $^{18}\text{F}$ FDG os indivíduos foram submetidos a uma hora de varredura dinâmica de PET consistindo de quadros seriados e coletas de sangue arterial para definir a função de marcação para  $^{18}\text{F}$ FDG, usando-se um programa computadorizado de amostragem.

Os resultados do FDG PET SCAN foram processados por análise visual e automatizada (comparação de z-scores por software Cortex-id) de padrões de captação e comparados com os dados de volume hipocampal.

#### 3.3.1. Análise visual

A análise visual foi realizada de maneira cega pelo autor do trabalho utilizando o software de processamento de imagens DICOM Horos com reconstrução das imagens nos planos axial, coronal e sagital utilizando a tabela de consulta de cores (CLUT) JET (figuras 5e 6).

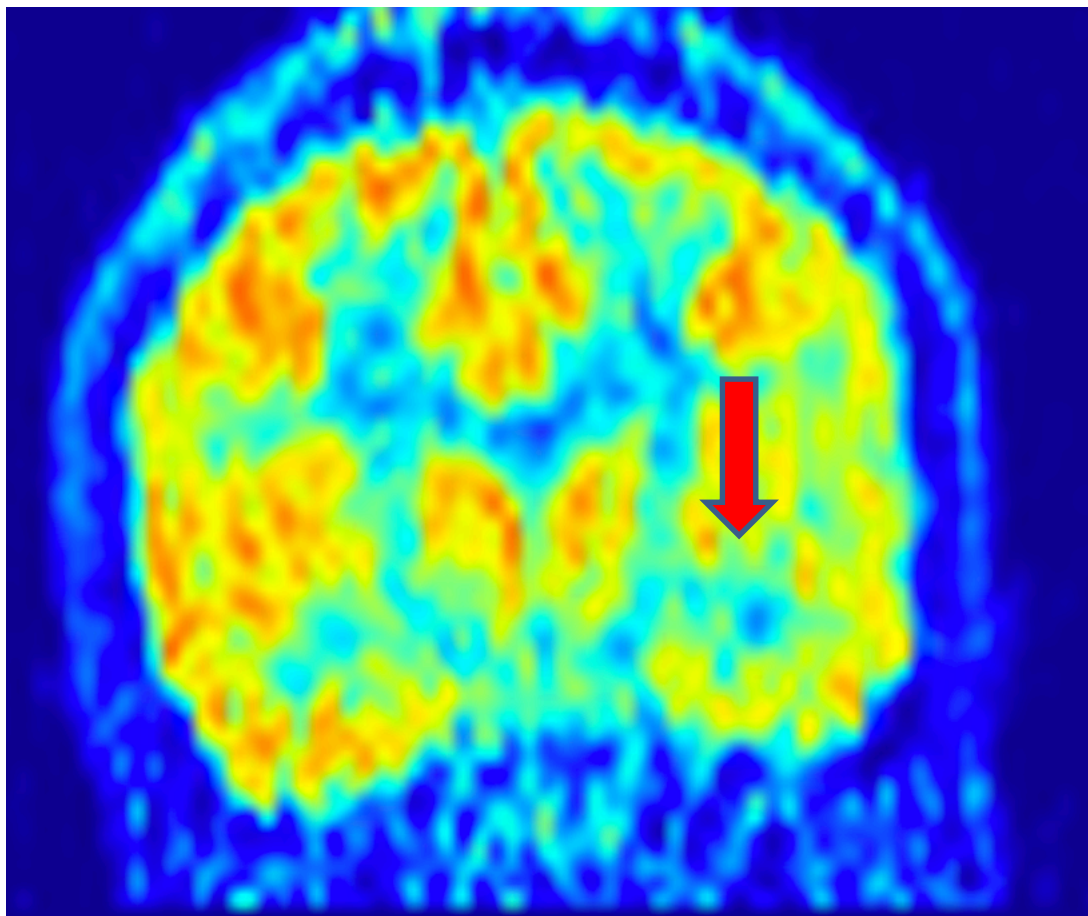


Figura 5.

Hipoperfusão difusa temporal Esquerda (seta) no PET FDG com Tabela de cores JET

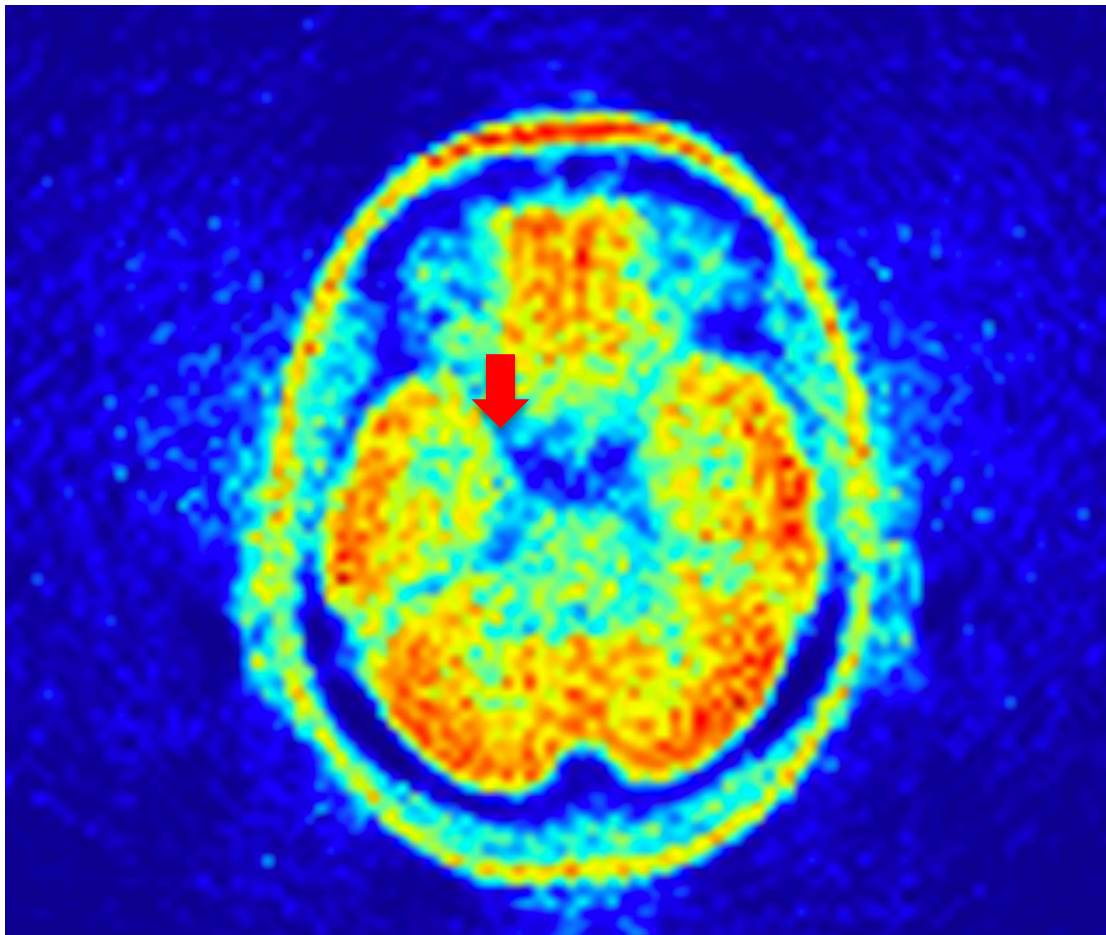


Figura 5: PET FDG em corte axial mostrando padrão localizado de hipoperfusão em temporal mesial direito (seta)

### 3.3.2. Análise automatizada

A análise automatizada foi realizada com a utilização do software CortexID Suite (GE Healthcare). O software analisa a captação de 18-FDG em diversas regiões cerebrais e cria um mapa de cores comparando as regiões com um banco de dados de valores normais de captação. Os valores são expressos em z-scores com relação ao banco de dados de normais. Não é feita



comparação entre os 2 hemisférios e sim entre cada região e o banco de dados de valores normais pareados por idade.

O software CortexID conta com um banco de dados de 140 pacientes saudáveis e fornece as diferenças em desvios padrão (z-score) entre estes controles e o paciente do estudo. (FINNSSON *et al.*, 2018)

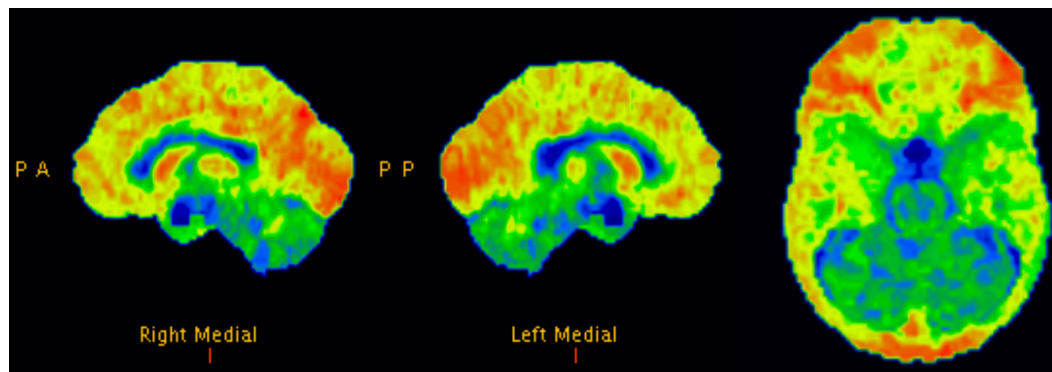


Figura 7.

Mapa de perfusão do PET após reconstrução comparado com banco de dados de valores normais. Zscore: Temporal direito: -0,70. Temporal esquerdo: 0,88



## **4.1 Title**

Automated evaluation of hippocampal subfields volumes in mesial temporal lobe epilepsy and its relationship to the surgical outcome.

### **4.1.2 Abstract**

The International League Against Epilepsy (ILAE) classification system for hippocampal sclerosis (HS) is based on location and extent of hippocampal neuron loss. Specific subgroups have a better surgical prognosis. Automated hippocampal subfields segmentation and volume measure could be obtained from high field MRI and used to pre- operatively classify the patients in ILAE subgroups to define best candidates for surgery. This prospective study included 86 MTLE patients, candidates to surgical treatment and ten healthy volunteers. Volumetric analysis of the hippocampal sublayers was performed through the Freesurfer software, using 3 Teslas volumetric T1 weighted MRI. We correlated the hippocampal subfields measures with the seizure control after one year from surgery. Volume loss in Cornu Amonis (CA) 1 and 4 were related to better surgical outcome after one year. Atrophy in CA 2 and CA 3 did not improve the prognosis. These results are in agreement with the ILAE classification of hippocampal subfields sclerosis.

### **4.1.3 Keywords**

temporal lobe epileps; hippocampal subfields; automated segmentation; Freesurfer; hippocampal sclerosis.

### **4.1.4 Taxonomy**

Mesial Temporal Lobe Epilepsy, Hippocampus, Neuroscience Clinical Research

#### **4.1.5 Corresponding Author**

Bruno Silva Costa

##### **4.1.5.1 Corresponding Author's Institution**

Santa Casa Hospital BH

##### **4.1.5.2 Order of Authors**

Bruno Silva Costa, Maria do Carmo Vasconcelos Santos, Daniela Valadao Rosa, Manuel Schütze, Debora Miranda, Marco Aurélio Romano-Silva

#### **4.1.6 Highlights**

- The sclerotic hippocampus and hippocampal subfields have significant lower volumes than non-sclerotic hippocampus.
- The non-sclerotic hippocampus and its subfields volumes in MTLE patients are significantly lower than in healthy controls.
- CA1 and CA4 atrophy are associated with better prognosis.
- CA2-3 volume loss is not associated with prognosis.
- Freesurfer software preoperative hippocampal subfields volume analysis can help to define the best surgical candidates.

#### 4.1.7 Introduction

Epilepsy is a serious health problem that involves people regardless of age, race, and socioeconomic backgrounds. Epilepsy has a prevalence of 5 to 10 per 1000 population in North America.(Wiebe et al., 2001) In underdeveloped countries, epilepsy is more prevalent reaching 12 to 20 per 1000. (Gomes et al., 2002; Sander, 2003)

Mesial temporal lobe epilepsy (MTLE) secondary to hippocampal sclerosis (HS) is the most common focal, drug-resistant epilepsy syndrome. The hippocampus is a highly complex structure, including CA1–CA4 subfields, dentate gyrus (DG), fimbria, subiculum (SUB), parasubiculum, and entorhinal cortex (ERC)(Na et al., 2015).

A recent pathological classification identifies three HS subtypes according to patterns of neural loss in CA1, CA2, CA3, and CA4. (Cendes et al., 2014; Kwan et al., 2010) Three types of HS were classified. HS ILAE type 1 refers to severe neuronal cell loss and gliosis predominantly in the CA1 and CA4 regions; HS ILAE type 2 shows predominant neuronal cell loss and gliosis in the CA1 region, and HS ILAE type 3 presents predominant neuronal cell loss and gliosis in the CA4 region. HS subtypes have different clinical courses and surgical outcomes with better results in type 1 (Na et al., 2015; Thom, 2014).

Surgical techniques have improved the treatment of epilepsy to such an extent that some experts now suggest that physicians should offer surgery early to patients with surgically remediable epileptic syndromes instead of waiting for years until multiple anticonvulsant drugs have failed (Lee, 2014). Among the patients with refractory MTLE-HS, only 8% are cured with the best clinical treatment while 60 % become free of seizures with surgery (Wiebe et al., 2001) Thus, research efforts to uncover predictors to seizure freedom are required to help define which patients will benefit the most from surgery of MTLE-HS. Ultimately, we sought to use variations of hippocampal subfield volume as a predictor for MTLE resolution through surgery. To

this end, we used the Freesurfer, a suite of applications for cortical parcellation and automatized volumetric measure of brain structures. Freesurfer's fully automatic algorithm allows for multi-atlas-based labeling of hippocampal subfields and adjacent cortical subregions also using high-resolution weighted images.

#### **4.1.8 Methods**

##### **4.1.8.1 Ethical statement**

All patients signed an informed consent, and the study was conducted following the Declaration of Helsinki. The national ethics board approved the study (CAAE number 01364012.9.0000.5149).

##### **4.1.8.2 Participants**

The study was conducted between June 2013 and June 2016. We prospectively recruited 103 patients with TLE secondary to HS at the epilepsy surgery unit in Santa Casa Hospital and ten volunteers without any signal of neurological illness or epilepsy. All patients were seen by an epilepsy specialist for medical therapy adjustments and met the criteria for refractory epilepsy established by ILAE (Kwan et al., 2010). Before surgery, patients performed a Video-EEG, neuropsychological tests for temporal lobe function and at least one 3 Teslas MRI with sagittal 1mm volumetric acquisition. The control group composed of ten healthy volunteers performed a 3 Teslas MRI to estimate the average volumes of hippocampal structures. Table 1 shows the inclusion criteria.

Patients with inadequate MRI protocol (n=8) and with dual lesions (n=5) were excluded from the study. Three patients refused surgery after being selected as good candidates for it and one deceased before one year of follow up (pulmonary embolus). This study presents the results of the remaining 86 patients. All of them had unilateral hippocampal

sclerosis in MRI, video-EEG with ictal discharges starting in the sclerotic side and refractory focal epilepsy with impaired awareness.

We also investigated clinical data including gender, age, years of seizures and schooling as seen in table 2.

#### **4.1.8.3 MRI acquisition and analysis**

All patients performed a 3 Teslas high field (Philips (Achieve Dual 3.0 T, Philips Medical Systems, Netherlands) or GE (Signa 3.0 T, GE Healthcare, United Kingdom). The protocol included a volumetric T1 weighted sequence with 1 mm cuts in a 256/256 matrix.

The FreeSurfer software ver.6.0 (Athinoula A. Martinos Center for Biomedical Imaging at Massachusetts General Hospital, Boston USA) (Fischl, 2012; Iglesias et al., 2015; Van Leemput et al., 2009) was used to evaluate the volumes of hippocampal subregions (Iglesias et al., 2015). We used the longitudinal pipeline of Freesurfer v6.0 with the “hipposubfields” flag. No manual adjustments were applied. This validated method is widely used in clinical research (Marizzoni et al., 2015). We measured the volumes of CA1, CA2–CA3, CA4, granular cell field of the dentate gyrus, and whole hippocampus. We compared the results obtained for the affected and normal hippocampus and those obtained for both hippocampi of 10 healthy controls.

#### **4.1.8.4 Surgical outcome**

The surgical results were evaluated one year after the surgery using the Engel classification of epilepsy surgery outcome(Engel, n.d.).

#### **4.1.8.5 Data analysis**

SPSS 24 software (IBM Corporation) was used for data analysis. We compared the HS and non-HS (sclerotic and normal sides) subfields in MTLE-HS patients and control individuals using the Student t-test. We also performed an analysis of variance (ANOVA) using the side of HS, age at surgery, schooling, years of epilepsy, and surgical outcome. Before doing the ANOVA, we checked that all variables had homogeneous variances using the Levine test. The level of statistical significance was set at 0.05.

#### **4.1.9 Results**

Eighty-six HS cases (45 female) were included. Patients age varied from 15 to 57 years ( $36.5 \pm 11.08$ ), with a mean epilepsy duration of 24.24 years. Complete seizure freedom was achieved by 47 (54.65%) with good outcome (Engel's classification 1 and 2) in 63 (82.56%) patients one year after surgery.

##### **4.1.9.1 Volumetric analyses of hippocampal subfields for MTLE-HS patients**

Table 3 presents the hippocampal subfield volumes calculated with the FreeSurfer ver.6.0. In all subfields volumes, a significant difference was found between the HS side and non-HS side. In addition, all MTLE subfields volumes, HS and non-HS sides, were significantly smaller than the control group. Figure 1 presents hippocampal subfields means graphics with a 95% confidence interval.

Table 4 presents the analysis of variance (ANOVA) for the surgical outcome. We considered two groups in the surgical outcome: completely free of seizures (Engel class 1A) and not free of seizures during the follow-up period of one year after surgery. We used CA1, CA2-CA3, CA4, DG, and whole hippocampus volumes in the HS and non-HS sides, age, years of epilepsy, and schooling as dependent variables and freedom of seizures as a factor. The ANOVA results showed that only the HS side subfields CA1, CA4, DG, and whole hippocampus were associated with the surgical outcome. The



epidemiological variables age, years of epilepsy, HS side, and schooling did not affect the outcome in this series.

#### **4.1.10 Discussion**

Surgery for MTLE-HS can lead to significant complications in 4% of surgeries (Mathon et al., 2017), although mortality is rare (Georgiadis et al., 2013). After surgery, 20-40% of patients do not become seizure free (Wiebe et al., 2001) and are therefore exposed to operation risks without rearing the aimed results. Further understanding the reasons underlying these adverse outcomes may avoid subjecting the patients to unnecessary surgical stress and the associated costs. Moreover, research on this topic may contribute to improving surgical results on these refractory patients.

We found that age, years of epilepsy, side of sclerosis and education do not correlate with prognosis. However, the reduction in CA1, CA4, and DG volumes strongly predict a good outcome.

Another relevant finding is that the HS and non-HS sides present significantly lower volumes than controls, suggesting that the disease also affects the non-HS side. Also, our volumetric analysis confirmed that the HS side is significantly smaller than the non-HS side. However, the volume of non-HS subfields did not affect surgical outcomes. This pattern of asymptomatic bilateral atrophy was seen in other studies, but we could not link it to surgical results. (Keller et al., 2007; Keller and Roberts, 2008)

Even though epilepsy surgery is performed in multiple centers around the world, outcome data are scarce. Some authors issues in reasons of failed MTLE surgeries (Salanova et al., 2002; Siegel et al., 2004). Previous studies have suggested that predictors of poor outcome in MTLE-HS include bilateral discharges on EEG, incomplete resection, early seizures recurrence (Holmes et al., 1999; Wyler et al., 1989; Wyllie et al., 1998). However, these studies have statistical shortcomings due to the small series analyzed.

The international league against epilepsy (ILAE) defined a hippocampal subfields classifications and its relationship to the surgical outcome with the classical pattern (CA1 and CA4 predominant atrophy ) associated with better prognosis (Blümcke et al., 2007; Jardim et al., 2016; Kwan et al., 2010).

In our series, we found that CA1, CA4, and DG but not CA2-CA3 volume reduction is associated with better prognosis. This finding corroborates pathological studies in hippocampal subfields atrophy (Jardim et al., 2016; Kwan et al., 2010). Although neuronal loss and volume reduction are not the same, the reduction of volume is due to the neuronal loss, but we do not have studies that correlate the depopulation of neurons with the volumetric reduction. Our findings suggest that we can, pre-operatively, define the type of hippocampal sclerosis based on the ILAE classification with automated volumetry and predict a better surgical prognosis.

#### **4.1.11 Conclusion**

Automated evaluation of the hippocampus performed by freesurfer software is an effective way to evaluate the hippocampal sclerosis patterns to define the surgical outcome. The association of CA1 and CA4 sclerosis and better surgical outcome is consistent with pathological studies. (Blümcke et al., 2007) Further studies are needed to try to define the cut-off points for hippocampal sublayer atrophy and to attempt to define HS subtypes preoperatively, but we have a new field to work in predictors for best outcomes in epilepsy surgery using MRI automated volumetric measure software.

#### **4.1.12 Acknowledgments**

We kindly thank Unicooper científica for their support in reviewing this manuscript.

#### 4.1.13 Disclosure

None of the authors has any conflict of interest to disclose.

#### 4.1.14 Bibliography

- Blümcke, I., Pauli, E., Clusmann, H., Schramm, J., Becker, A., Elger, C., Merschhemke, M., Meencke, H.-J., Lehmann, T., Deimling, von, A., Scheiwe, C., Zentner, J., Volk, B., Romstöck, J., Stefan, H., Hildebrandt, M., 2007. A new clinico-pathological classification system for mesial temporal sclerosis. *Acta Neuropathol* 113, 235–244. doi:10.1007/s00401-006-0187-0
- Cendes, F., Sakamoto, A.C., Spreafico, R., Bingaman, W., Becker, A.J., 2014. Epilepsies associated with hippocampal sclerosis. *Acta Neuropathol* 128, 21–37. doi:10.1007/s00401-014-1292-0
- Engel, J., Jr, n.d. *Surgical treatment of the epilepsies*, 2nd ed. Raven Press, New York.
- Fischl, B., 2012. FreeSurfer. *NeuroImage* 62, 774–781. doi:10.1016/j.neuroimage.2012.01.021
- Georgiadis, I., Kapsalaki, E.Z., Fountas, K.N., 2013. Temporal lobe resective surgery for medically intractable epilepsy: a review of complications and side effects. *Epilepsy Research and Treatment* 2013, 752195. doi:10.1155/2013/752195

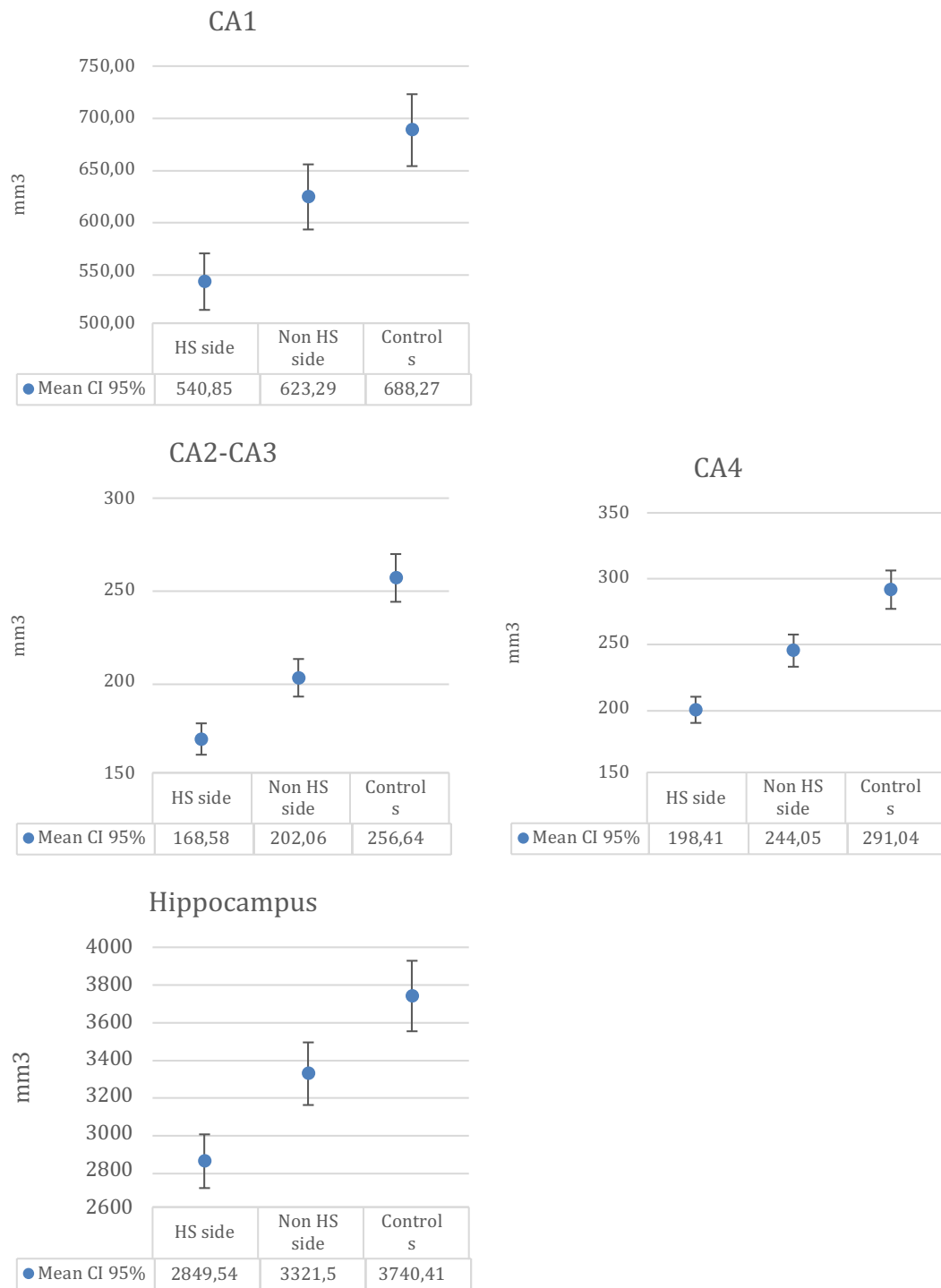
- Gomes, M.D.M., Zeitoune, R.G., Kropf, L.A.L., Beeck Ed, E.D.S.V., 2002. A house-to-house survey of epileptic seizures in an urban community of Rio de Janeiro, Brazil. *Arq Neuropsiquiatr* 60, 708–711.
- Holmes, M.D., Wilensky, A.J., Ojemann, L.M., Ojemann, G.A., 1999. Predicting outcome following reoperation for medically intractable epilepsy. *Seizure: European Journal of Epilepsy* 8, 103–106. doi:10.1053/seiz.1998.0256
- Iglesias, J.E., Augustinack, J.C., Nguyen, K., Player, C.M., 2015. A computational atlas of the hippocampal formation using ex vivo, ultra-high resolution MRI: application to adaptive segmentation of in vivo MRI. *NeuroImage* 115, 117–137. doi:10.1016/j.neuroimage.2015.04.042
- Jardim, A.P., Corso, J.T., Garcia, M.T.F.C., Gaça, L.B., Comper, S.M., Lancellotti, C.L.P., Centeno, R.S., Júnior, H.C., Cavalheiro, E.A., Scorza, C.A., Yacubian, E.M.T., 2016. Hippocampal atrophy on MRI is predictive of histopathological patterns and surgical prognosis in mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *Epilepsy Res* 128, 169–175. doi:10.1016/j.epilepsyres.2016.10.014
- Keller, S.S., Cresswell, P., Denby, C., Wiesmann, U., Eldridge, P., Baker, G., Roberts, N., 2007. Persistent seizures following left temporal lobe surgery are associated with posterior and bilateral structural and functional brain abnormalities. *Epilepsy Res* 74, 131–139. doi:10.1016/j.epilepsyres.2007.02.005
- Keller, S.S., Roberts, N., 2008. Voxel-based morphometry of temporal lobe epilepsy: An introduction and review of the literature. *Epilepsia* 49, 741–757. doi:10.1111/j.1528-1167.2007.01485.x
- Kwan, P., Arzimanoglou, A., Berg, A.T., Brodie, M.J., Allen Hauser, W., Mathern, G., Moshé, S.L., Perucca, E., Wiebe, S., French, J., 2010. Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia* 51, 1069–1077. doi:10.1111/j.1528-1167.2009.02397.x
- Lee, S.K., 2014. Treatment strategy for the patient with hippocampal sclerosis who failed to the first antiepileptic drug. *J Epilepsy Res* 4, 1–6.

- Marizzoni, M., Antelmi, L., Bosch, B., Bartrés-Faz, D., Müller, B.W., Wiltfang, J., Fiedler, U., Roccatagliata, L., Picco, A., Nobili, F., Blin, O., Bombois, S., Lopes, R., Sein, J., Ranjeva, J.-P., Didic, M., Gros-Dagnac, H., Payoux, P., Zoccatelli, G., Alessandrini, F., Beltramello, A., Bargalló, N., Ferretti, A., Caulo, M., Aiello, M., Cavaliere, C., Soricelli, A., Salvadori, N., Parnetti, L., Tarducci, R., Floridi, P., Tsolaki, M., Constantinidis, M., Drevelegas, A., Rossini, P.M., Marra, C., Hoffmann, K.-T., Hensch, T., Schönknecht, P., Kuijjer, J.P., Visser, P.J., Barkhof, F., Bordet, R., Frisoni, G.B., Jovicich, J., the PharmaCog Consortium, 2015. Longitudinal reproducibility of automatically segmented hippocampal subfields: A multisite European 3T study on healthy elderly. *Hum. Brain Mapp.* 36, 3516–3527. doi:10.1002/hbm.22859
- Mathon, B., Navarro, V., Bielle, F., Nguyen-Michel, V.-H., Carpentier, A., Baulac, M., Cornu, P., Adam, C., Dupont, S., Clemenceau, S., 2017. Complications After Surgery for Mesial Temporal Lobe Epilepsy Associated with Hippocampal Sclerosis. *World Neurosurg* 102, 639–650.e2. doi:10.1016/j.wneu.2017.03.128
- Na, M., Ge, H., Shi, C., Shen, H., Wang, Y., Pu, S., Liu, L., Wang, H., Xie, C., Zhu, M., Wang, J., Shi, C., Lin, Z., 2015. Long-term seizure outcome for international consensus classification of hippocampal sclerosis: a survival analysis. *Seizure* 25, 141–146. doi:10.1016/j.seizure.2014.10.006
- Salanova, V., Markand, O., Worth, R., 2002. Temporal lobe epilepsy surgery: outcome, complications, and late mortality rate in 215 patients. *Epilepsia* 43, 170–174.
- Sander, J.W., 2003. The epidemiology of epilepsy revisited. *Curr Opin Neurol* 16, 165–170. doi:10.1097/01.wco.0000063766.15877.8e
- Siegel, A.M., Cascino, G.D., Meyer, F.B., McClelland, R.L., So, E.L., Marsh, W.R., Scheithauer, B.W., Sharbrough, F.W., 2004. Resective reoperation for failed epilepsy surgery: Seizure outcome in 64 patients. *American Academy of Neurology* 63, 2298–2302. doi:10.1212/01.WNL.0000147476.86575.A7
- Thom, M., 2014. Review: Hippocampal sclerosis in epilepsy: a neuropathology review. *Neuropathol Appl Neurobiol* 40, 520–543. doi:10.1111/nan.12150

- Van Leemput, K., Bakkour, A., Benner, T., Wiggins, G., Wald, L.L., Augustinack, J., Dickerson, B.C., Golland, P., Fischl, B., 2009. Automated segmentation of hippocampal subfields from ultra-high resolution in vivo MRI. *Hippocampus* 19, 549–557. doi:10.1002/hipo.20615
- Wiebe, S., Blume, W.T., Girvin, J.P., Eliasziw, M., Effectiveness and Efficiency of Surgery for Temporal Lobe Epilepsy Study Group, 2001. A randomized, controlled trial of surgery for temporal-lobe epilepsy. *N Engl J Med* 345, 311–318. doi:10.1056/NEJM200108023450501
- Wyler, A.R., Hermann, B.P., Richey, E.T., 1989. Results of reoperation for failed epilepsy surgery. *J Neurosurg* 71, 815–819. doi:10.3171/jns.1989.71.6.0815
- Wyllie, E., Comair, Y.G., Kotagal, P., Bulacio, J., Bingaman, W., Ruggieri, P., 1998. Seizure outcome after epilepsy surgery in children and adolescents. *Ann Neurol* 44, 740–748. doi:10.1002/ana.410440507

Figure1:

Comparison of means of the hippocampus and subfields volumes between the Hippocampal sclerosis side, non-sclerotic side and the control group.



CI 95% : Error bar with 95% confidence interval. HS: Hippocampal sclerosis; CA: *Cornu amonnis*

Table 1: Inclusion criteria

- 1- Refractory temporal lobe epilepsy
- 2- Unilateral hippocampal sclerosis on MRI
- 3- Volumetric 1 millimeter slice thickness T1 MRI
- 4- Video EEG with ictal onset on the same side as MRI
- 5- Absence of dual lesions



Table 2. Demographic data of patients and controls

	Patients	Controls
n	86	10
Sex (Females/Males)	F 45/M 41	F 5/M 5
Age (Mean/SD)	36.5 (11.08)	29.6 (8.38)
Years of Schooling (Mean/SD)	9.42 (3.62)	19.3 (3.86)
Years of epilepsy (Mean/SD)	24.24 (12.68)	-
Size of HS (Right/Left)	41/45	

SD: Standard Deviation, HS: Hippocampal sclerosis

Table 3: Hippocampus and hippocampal subfields mean volume and standard deviation in HS side, non-HS side and controls.

T test between HS side and non-HS side and controls and non-HS side

	<b>HS side</b>	<b>Non-HS side</b>	<b>Controls</b>	<b>T test HS/ non-HS p</b>	<b>T test Controls/ non-HS p</b>
	<b>Mean (SD)</b>	<b>Mean (SD)</b>	<b>Mean (SD)</b>	<b>p</b>	<b>p</b>
<b>CA1</b>	540.85 (114.80)	623.29 (113.46)	688.27 (75.70)	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>
<b>CA2- CA3</b>	168.58 (43.47)	202.06 (43.82)	256.64 (45.40)	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>
<b>C4</b>	198.41 (51.09)	244.05 (48.03)	291.04 (37.65)	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>
<b>DG</b>	233.40 (59.51)	284.82 (56.06)	291.00 (36.70)	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>
<b>Hippocampus</b>	2849.54 (565.55)	3321.50 (575.46)	3740.41 (404.25)	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>

Measurements were done by FreeSurfer version.6.0. All values in mm<sup>3</sup>

CA: *cornu ammonis*; HS: hippocampal subfields, Hippocampus: whole hippocampus volume;  
SD: Standard deviation.

Statistical analysis was performed using the Student -t test and considered significant if  $p < 0.05$ .

Table 4:

Analysis of variance (ANOVA) for surgery outcome comparing demographic variables, hippocampus, and hippocampal subfields volumes.

Variables		Mean in years (SD)	Results	
			F	P value
Age		36.40 (11.08)	.008	.929
Years of epilepsy		24.35 (12.64)	.017	.896
Schooling		9.33 (3.62)	.018	.894
HS side			.057	.812
Subfields volumes	<b>Non-HS side</b>			
	CA1		.282	.597
	CA2- CA3		.369	.545
	C4		.211	.648
	whole hippocampus		.810	.371
	<b>HS side</b>			
	CA1		7.371	<b>.008*</b>
	CA2- CA3		3.321	.072
	C4		6.628	<b>.012*</b>
	whole hippocampus		5.565	<b>.021*</b>

CA: *cornus ammonis*, SD: Standard deviation. \*shows significant p values  $p < 0.05$ .

## **4.2 The role of PET/CT in pre-operative evaluation of mesial temporal lobe epilepsy and surgical outcome prediction**

Bruno Silva Costa, Maria do Carmo Vasconcelos Santos, Daniela Valadão Rosa, Manuel Schütze, Debora Miranda, Marco Aurélio Romano-Silva

### **4.2.1 Introduction**

Mesial temporal lobe epilepsy (MTLE) represents the most common form of focal epilepsy that is refractory to medical treatment in adults. MTLE associated with hippocampal sclerosis (HS) is the most common focal, drug-resistant epilepsy syndrome.

Positron emission tomography (PET) allows the in vivo study of cerebral metabolic processes. Combined PET and computed tomography scan (PET/CT) Provides higher-resolution, anatomic information that PET alone cannot provide(1).

In epilepsy, cerebral glucose metabolism has been studied extensively using 18F-fluorodeoxyglucose (18FDG)(2)

PET/CT has been used for a long time in the localization of epileptic foci. It is a versatile nuclear method capable of providing dynamic information regarding

both local and general metabolism in the brain. Analysis of glucose metabolism using  $^{18}\text{F}$ -FDG is the most commonly used PET technique. The characteristic finding in epilepsy is a regional reduction in glucose uptake (hypometabolism) during the interictal state. (3,4). Many of the HS MTLE patients have prominent focal or regional hypometabolism on [ $^{18}\text{F}$ ]fluorodeoxyglucose-PET ([ $^{18}\text{F}$ ]FDG-PET) scans(5). The underlying pathophysiological basis for the hypometabolism seen in patients with TLE is still unresolved(6). [ $^{18}\text{F}$ -FDG PET has shown a high correlation with MRI-identified HS for the lateralization of the epileptogenic zone. However, opposite to MRI findings, the PET shows a diffuse hypometabolism that spread to all temporal lobe(7)

In this article, we present a series of 59 MTLE patients with MRI volumetric analysis from hippocampal structures and PET/CT and compare the imaging findings with the surgical outcome.

We compare the degree of hippocampal volume reduction, years of epilepsy, age with PET findings and surgical results.

Ultimately, we sought to analyze PET and MRI findings to find predictors for MTLE resolution thorough surgery.

## **4.2.2 Methods**

### **4.2.2.1 Ethical statement**

All patients signed written informed consent, and the study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki. The national ethics board approved this study.

We recruited prospectively 103 patients with TLE secondary to HS at the epilepsy surgery unit in Santa Casa Hospital. We obtained PET/CT and MRI with automated volumetric studies in 60 subjects.

#### **4.2.2.2 MRI**

The patients were submitted to a 3 Tesla MRI with sagittal 1mm volumetric acquisition (Philips Achieva Dual 3.0 T, Philips Medical Systems, Netherlands or GE Signa 3.0 T, GE Healthcare, United Kingdom).

FreeSurfer software ver.6.0 (Athinoula A. Martinos Center for Biomedical Imaging at Massachusetts General Hospital, Boston USA) (8-10) was used for evaluation of hippocampal subregions volumes(11). We used the longitudinal pipeline of Freesurfer v6.0 with the “hipposubfields” flag. No manual adjustments were applied. This validated method is widely used in clinical research(12). We measured the volumes of CA1, CA2–CA3, CA4, granular cell field of the dentate gyrus (DG), and whole hippocampus.

#### **4.2.2.3 PET-SCAN**

A GE Discovery 690 PET/CT scanner with image resolution of 9mm was used. After 10 mCi of <sup>18</sup>F-FDG, inter-racial PET was obtained. Following a 30min uptake period, scanning was performed primarily in the transaxial plane

obtaining 47 slices of 3.27 mm thickness parallel to the orbito-meatal plane. The data were then processed to acquire coronal slices.

Automated evaluation of results with CortexID software (GE Healthcare) was used for this study.

The CortexID (GE Healthcare) software compares several brain structures with a database of 140 healthy individuals matched by age. The results are presented as standard deviations of the mean of average values (Z-scores). A color brain model is generated from these results.

The software does not make direct comparisons between the two sides. It compares each side with the database of healthy subjects and provides the standard deviation through the z-score.

#### **4.2.2.4 Statistical analysis**

Analyses were performed using SPSS software (ver. 24.0). A p-value  $\leq 0.05$  was considered significant.

#### **4.2.2.5**

##### **Visual analysis**

Using crosstabs and Fischer exact test we compared freedom of seizures and 18-FDG uptake (no hypometabolism, concordant and discordant hypometabolism). For our comparisons of hypometabolism, years from first seizure, hippocampal subfields atrophy and freedom of seizures 1 year after surgery, we performed analysis of variance (ANOVA) using hippocampal

subfields volumes (CA1, CA2-3, CA4, DG) in both HE and non-HE sides, age, Schooling, years of epilepsy, side of sclerosis and age.), which was calculated by each targeted software of the analysis.

#### **4.2.2.6 Automated analysis (CortexID)**

Using T-test for paired samples, we compared all regions in HE and non-HE sides.

We performed analysis of variance (ANOVA) in all regions, in both HE and non-HE sides, and comparing global 18FDG uptake, left and right sides uptake.

### **4.2.3 Results**

In this series of 59 patients, 32 (54.2 %) remained free of seizures during the first year of post-surgical follow up.

Good seizure control (Engel score 1 and 2) was achieved in 50 patients (84.7%).

#### **4.2.3.1 Visual Analysis**

Fifty-two subjects (88.1%) showed temporal hypometabolism in PET/CT, concordant with MRI hippocampal sclerosis side. In 4 patients (6.71%) PET/CT showed no hypometabolism, and in 3 patients (5.8%) we found contralateral hypometabolism. Taking into account the total number of patients, PET / CT effectively localized hippocampal sclerosis in 52 (88.1%) of the 59 cases (Table 1).



Table 1: Crosstab comparing hippocampal sclerosis and PET hypometabolism by side.

PET Hypometabolism						
		Right	Left	ND	Total	PET/MRI agreement
Hippocampal sclerosis	Right	25	2	2	29	86.2 %
	Left	1	27	2	30	90.0 %
Total		26	29	4		88.1 %

ND: undefined

Comparing the PET/CT agreement with HS seen on MRI and the seizure freedom we founded that in the concordant group we had 57.7 % of seizure freedom against 28.6 % in the non-concordant or no hypometabolism group (Table 2).

Despite the percentage difference between the groups, statistical analysis using Fisher's exact test showed no significant difference between PET results and seizure freedom. ( $p= 0.148$ ).

Table 2: Crosstab comparing PET/CT agreement with MRI and seizure freedom

<b>Temporal18-FDG hypometabolism</b>	<b>Seizure free</b>	<b>Not seizure free</b>	<b>Total (% seizure free)</b>	<b>P</b>
<b>Concordant</b>	30	22	52 (57.7%)	0,148
<b>Non-concordant or absent</b>	2	5	7 (28.6%)	

P: Fisher's Exact Test, non-significant.

We compared demographic data (age, years of epilepsy and schooling) to the presence of concordance in hypometabolism on PET/CT and MRI using analysis of variance (ANOVA). We did not find significant differences between the analyzed groups as seen in Table 3.

Table 3: Correlation between age, years of epilepsy and Schooling and Temporal lobe hypometabolism on PET/CT

<b>Temporal lobe18FDG uptake</b>		<b>Age</b>	<b>Years of epilepsy</b>	<b>Schooling</b>
<b>Concordant hypometabolism N= 52</b>	<b>Mean</b>	36.06	25.04	9.27
	<b>(SD)</b>	(11.11)	(12.49)	(3.45)
<b>Non-concordant or absent hypometabolism N= 7</b>	<b>Mean</b>	34.00	26.00	8.57
	<b>(SD)</b>	(11.90)	(12.33)	(4.72)
<b>ANOVA (analysis of variance)</b>	<b>F</b>	.208	.036	.225
	<b>Sig.</b>	<b>.650</b>	<b>.850</b>	<b>.637</b>

Concordant/discordant metabolism: the relationship between hypometabolism and MRI findings. Sig.: Significance; SD: Standard deviation

We also analyzed possible correlations between the PET/CT metabolism patterns and the volumes of the hippocampal CA1, CA2, CA2, CA4, CA4 subfields, and the total hippocampal volume, both on the sclerotic and normal

sides (Table 4). No significant differences were found between the evaluated groups.

Table 4: Correlation between hippocampal subfields volumes and Temporal lobe metabolism on PET/CT in HS and non-HS sides.

Temporal lobe 18FDG Uptake			hippocampal subfields volumes in mm <sup>3</sup>			
			CA1	CA2-CA3	CA4	Whole hippocampus
Non-concordant or absent hypometabolism (N=7)	HS	Mean (SD)	593,56 (128.64)	193.72 (37.74)	223.15 (50.31)	593,56 (128.64)
	Non-HS	Mean (SD)	580.62 (173.53)	188.50 (60.50)	224.59 (67.80)	3116.97 (745.62)
Concordant hypometabolism (N=52)	HS	Mean (SD)	540.80 (119.97)	168.34 (47.82)	200.39 (52.60)	2648.67 (581.28)
	Non-HS	Mean (SD)	615.13 (105.88)	200.66 (44.13)	241.92 (46.82)	3293.30 (572.12)
ANOVA (analysis of variance)	Non-HS	F	.557	.429	.757	.546
		Sig.	<b>.459</b>	<b>.515</b>	<b>.388</b>	<b>.463</b>
	HS	F	1.175	1.870	1,165	1.092
		Sig.	<b>.284</b>	<b>.184</b>	<b>.285</b>	<b>.301</b>

Concordant/disc Non-concordant or absent hypometabolism: the relationship between hypometabolism and MRI findings; SD: standard deviation; Non-HS: side without HS.; HS: side with HS; Sig.: Significance.

#### 4.2.3.2 Automated analysis

Through the CortexID software, we obtained Z-score values for 13 different

encephalic regions, in addition to a global brain mean. PET/CT imaging is processed in a fully automated manner by comparing the <sup>18</sup>F-FDG uptake intensity values with a database of average values in subjects with matched ages.

Figure 1: Color table for Cortex ID regions. Brain in lateral and medial views.

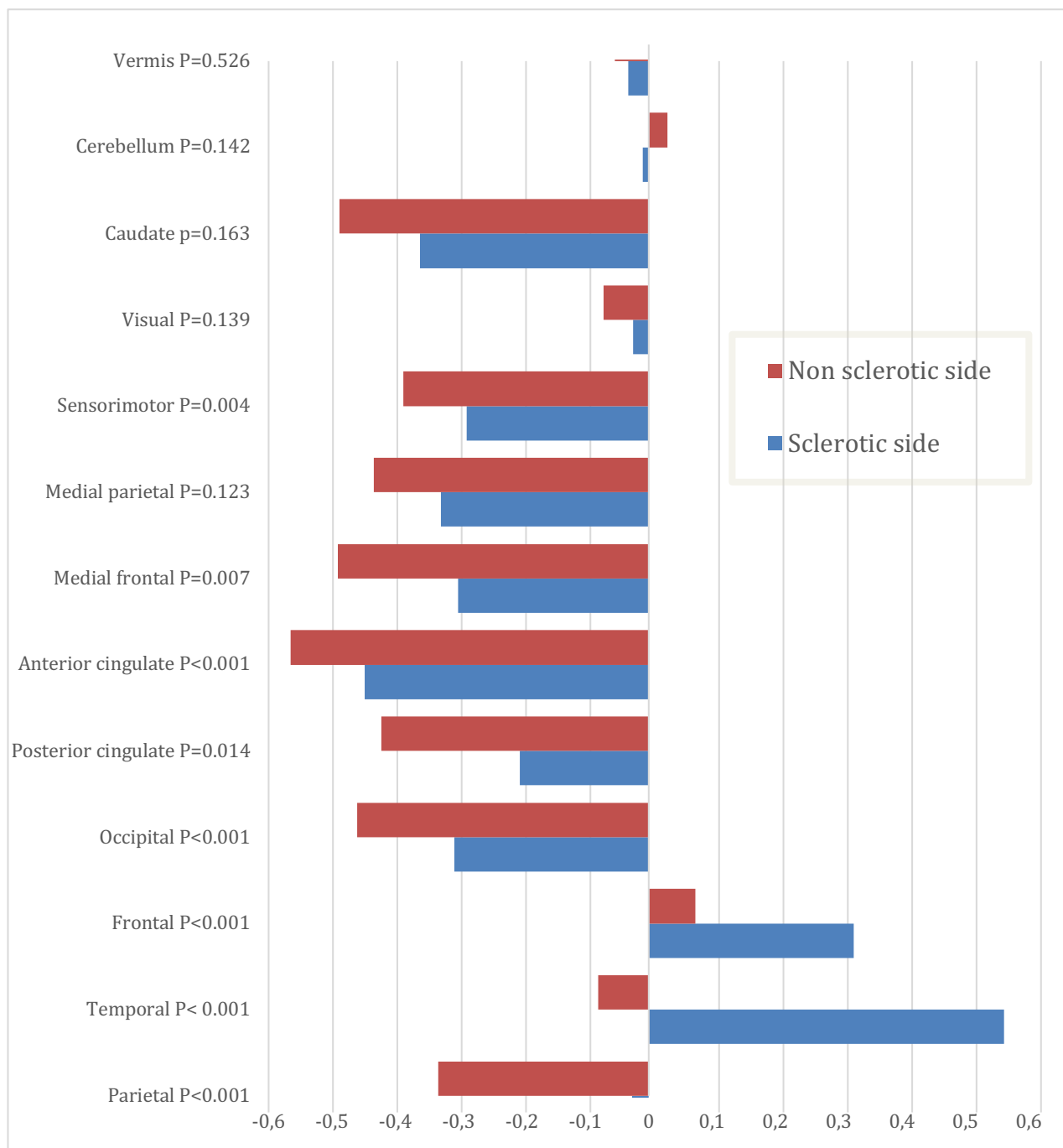


	Frontal		Visual		Medial Frontal
	Sensorimotor		Temporal		Medial Parietal
	Parietal		Cerebellum		Anterior Cingulate
	Occipital		Vermis		Posterior Cingulate

The T-test of paired samples shows that there was a significant difference between the HE side and the non-HE side in all the evaluated regions, except for the cerebellum, vermis, medial parietal, caudate and visual cortex (Chart 1).

When comparing the results of Z-scores of the cortex-id with the side of sclerosis, we observed that the sclerotic side presents Z-score means larger than the healthy side in most cases. We would expect to see hypometabolism on the side of hippocampal sclerosis as observed in visual analysis.

Chart 1: Comparison of Z-scores for all PET/CT regions in sclerotic and non-sclerotic sides. T-test for paired samples (sclerotic and non-sclerotic side) for all PET/CT regions.



The sclerotic sides have a higher Z-scores except for the cerebellum. P value shows results of T-test between pairs Sclerotic and non-sclerotic sides for all PET/CT regions. Vermis, cerebellum, caudate, visual cortex and medial parietal don't show significant differences.

Statistical analyses were also carried out to correlate PET/CT findings with the surgical outcome. The ANOVA test comparing Z-Scores between sclerotic sides did not show any correlation with seizure freedom.

#### **4.2.4 Discussion**

PET/CT is a technique that provides metabolic information on live tissue by analysis of glucose uptake. Interictal F-18 FDG PET-CT is a well-established tool to identify the hypometabolism in the region of the seizure origin. In some studies, reported sensitivities of PET for MTLE were 87-90%.(13-15)

MRI is the imaging procedure of choice in the investigation of patients with epilepsy. It's an exact method in detecting structural abnormalities in patients with MTLE. EEG recordings are the base of epilepsy diagnosis notwithstanding its relatively low accuracy. (13,14)

PET/CT PET has an important role in the study of epilepsy because through it we study the cellular metabolism and evaluate the neural networks involved in epileptogenesis. (16) The low availability, high cost, and low spatial resolution make it difficult to spread PET/CT as a diagnostic tool for MTLE patients. Many studies focus on PET/CT as a valuable tool in MRI negative MTLE as it is based not in structural but metabolism changes. (17-20)

In this study, we compared the results of pre-operative PET/CT in a prospective



series with the one-year surgical outcome and sought to find a relationship between PET/CT abnormalities and hippocampal subfields volumes determined by visual and automated volumetric analysis of high-resolution MRI.

We found in the visual analysis that PET/CT correctly diagnosed MTLE in 52 patients (88.1%), concordant with literature(21). Only 3 (5,1%) patients had contralateral hypometabolism, and 4 (6.7%) had no lateralizing findings.

Some authors find predictive value in PET/CT for long term surgical outcome, The positive factor was hypometabolism in mesial temporal regions, and they observed a poorer outcome in the presence of extratemporal hypometabolism. (17,22,23)

Despite a trend towards better surgical results in the concordant PET / CT group with 57.7% of seizure freedom against 28.6% in the non-concordant group, there was no significant difference between the values in the Fisher exact test with  $P=0.148$  (Table 2).

We also used ANOVA to study variance of epidemiological variables and hippocampal subfields volumes in sclerotic and non-sclerotic sides searching for any factor related to surgical outcome (table 3). We couldn't find any difference in this statistical analysis.

The automated analysis by Cortex-ID was not useful in defining the lateralization of hippocampal sclerosis or to predict a good outcome.

Despite showing statistically different values between the sclerotic and normal sides, the Z-score values point to a hypermetabolism on the sclerotic side, contrary to what was expected.

Cortex-id has its primary use in the analysis of bilateral hippocampal sclerosis in patients with Alzheimer's disease. In this group of patients, bilateral hippocampal atrophy predominates over diffuse cerebral atrophy(24,25).

Hence, the need for comparison with a database of healthy patients with age pairing to elicit the predominance of hippocampal sclerosis.

#### **4.2.5 Conclusions**

PET/CT remains a valuable tool in the pre-operative assessment of MTLE, but its main value is in cases of MTLE with negative MRI. Analysis of extratemporal alterations can also help to predict outcome from surgery. In standard cases with concordant and MRI, clinic, and EEG findings, PET/CT has limited utility.

The automated analysis by Cortex-ID was not useful in defining the lateralization of hippocampal sclerosis. The inconsistent findings of a tendency to hyper-metabolism on the side of hippocampal sclerosis are not supported in the literature. Since a direct comparison between the hippocampal sclerosis side and the healthy side is not made, Cortex-ID was not useful in the preoperative analysis of patients with hippocampal sclerosis and in the prediction of good surgical outcome.

#### 4.2.6 Bibliography

1. Griffeth LK. Use of PET/CT scanning in cancer patients: technical and practical considerations. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*. 2005 Oct;18(4):321–30.
2. Duncan JS. Positron emission tomography receptor studies. *Adv Neurol*. 1999;79:893–9.
3. Muro GJ, Karis JP. *Neuroimaging in Temporal Lobe Epilepsy*. *CNS Spectr*. Cambridge University Press; 2014 Nov 7;2(07):31–42.
4. Lee KK, Salamon N. [18F] Fluorodeoxyglucose-Positron-Emission Tomography and MR Imaging Coregistration for Presurgical Evaluation of Medically Refractory Epilepsy. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2009 Nov 13;30(10):1811–6.
5. Chan TLH, Romsa J, Steven DA, Burneo JG. *Refractory Epilepsy: The Role of Positron Emission Tomography*. *Can J Neurol Sci*. Cambridge University Press; 2018 Jan;45(1):30–4.
6. Garibotto V, Picard F. *Nuclear Medicine Imaging in Epilepsy*. *Epileptologie*. 2013;30:109–21.
7. Sarikaya I. PET studies in epilepsy. *Am J Nucl Med Mol Imaging*. 2015;5(5):416–30.
8. Fischl B. FreeSurfer. *NeuroImage*. 2012 Aug;62(2):774–81.
9. Van Leemput K, Bakkour A, Benner T, Wiggins G, Wald LL, Augustinack J, et al. Automated segmentation of hippocampal subfields from ultra-high resolution in vivo MRI. Wang L, Yushkevich P, Dickerson B, editors. *Hippocampus*. 2009 Jun;19(6):549–57.
10. Iglesias JE, Augustinack JC, Nguyen K, Player CM. A computational atlas of the hippocampal formation using ex vivo, ultra-high resolution MRI: application to adaptive segmentation of in vivo MRI. *NeuroImage*. Elsevier B.V; 2015;115(C):117–37.
11. Iglesias JE, Augustinack JC, Nguyen K, Player CM, Player A, Wright M, et al. A computational atlas of the hippocampal formation using ex vivo, ultra-high resolution MRI: Application to adaptive segmentation of in vivo MRI. *NeuroImage*. 2015 Jul;115:117–37.
12. Marizzoni M, Antelmi L, Bosch B, Bartrés-Faz D, Müller BW, Wiltfang J, et al. Longitudinal reproducibility of automatically segmented hippocampal subfields: A multisite European 3T study on healthy elderly. *Hum Brain Mapp*. 2015 Jun 3;36(9):3516–27.

13. Sarikaya I. PET studies in epilepsy. *Am J Nucl Med Mol Imaging*. 2015;5(5):416–30.
14. Spencer SS. The relative contributions of MRI, SPECT, and PET imaging in epilepsy. *Epilepsia*. 1994;35 Suppl 6:S72–89.
15. Drzezga A, Arnold S, Minoshima S, Noachtar S, Szecsi J, Winkler P, et al. 18F-FDG PET studies in patients with extratemporal and temporal epilepsy: evaluation of an observer-independent analysis. *Journal of Nuclear Medicine*. 1999 May;40(5):737–46.
16. Chassoux F, Artiges E, Semah F, Desarnaud S, Laurent A, Landre E, et al. Determinants of brain metabolism changes in mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*. 2016 Jun;57(6):907–19.
17. Willmann O, Wennberg R, May T, Woermann FG, Pohlmann-Eden B. The contribution of 18F-FDG PET in preoperative epilepsy surgery evaluation for patients with temporal lobe epilepsy. *Seizure*. 2007 Sep;16(6):509–20.
18. Carne RP, Cook MJ, MacGregor LR, Kilpatrick CJ, Hicks RJ, O'Brien TJ. "Magnetic Resonance Imaging Negative Positron Emission Tomography Positive" Temporal Lobe Epilepsy: FDG-PET Pattern Differs from Mesial Temporal Lobe Epilepsy. *Mol Imaging Biol*. 2006 Dec 19;9(1):32–42.
19. Chassoux F, Rodrigo S, Semah F, Beuvon F, Landre E, Devaux B, et al. FDG-PET improves surgical outcome in negative MRI Taylor-type focal cortical dysplasias. *Neurology*. American Academy of Neurology; 2010 Dec 14;75(24):2168–75.
20. Kumar A, Chugani HT. The Role of Radionuclide Imaging in Epilepsy, Part 1: Sporadic Temporal and Extratemporal Lobe Epilepsy. *J Nucl Med Technol*. 2017 Mar;45(1):14–21.
21. Sarikaya I. PET studies in epilepsy. *Am J Nucl Med Mol Imaging*. 2015;5(5):416–30.
22. Chassoux F, Artiges E, Semah F, Laurent A, Landre E, Turak B, et al. 18F-FDG-PET patterns of surgical success and failure in mesial temporal lobe epilepsy. *American Academy of Neurology*. 2017 Mar 13;88(11):1045–53.
23. Higo T, Sugano H, Nakajima M, Karagiozov K, Iimura Y, Suzuki M, et al. The predictive value of FDG-PET with 3D-SSP for surgical outcomes in patients with temporal lobe epilepsy. *Seizure*. 2016 Oct;41:127–33.
24. Mosconi L, Tsui WH, Herholz K, Pupi A, Drzezga A, Lucignani G, et al. Multicenter standardized 18F-FDG PET diagnosis of mild cognitive impairment, Alzheimer's disease, and other dementias. *Journal of Nuclear Medicine*. Society of Nuclear Medicine; 2008 Mar;49(3):390–8.

25. Sabuncu MR. The Dynamics of Cortical and Hippocampal Atrophy in Alzheimer Disease. *Archives of Neurology*. 2011 Aug 8;68(8):1040–15.



A presente tese de Doutorado tem como objetivo buscar fatores prognósticos para o bom resultado cirúrgico através da análise automatizada de RM e de avaliação de PET/CT pré-operatórios.

A epilepsia de lobo temporal mesial é patologia de difícil tratamento clínico. A cirurgia com a exérese das estruturais temporais mesiais (amígdala e hipocampo) tem bom resultado no controle das crises com cerca de 70 % dos pacientes livres de crises(LANGFITT; WIEBE, 2008; WIEBE *et al.*, 2001).

Porém, um grupo significativo de pacientes não obtém os benefícios do tratamento cirúrgico.

Os avanços do diagnóstico por imagem e das técnicas de monitoramento invasivo nos permitiram melhorar as indicações cirúrgicas e compreender as falhas do tratamento cirúrgico.

Mesmo assim, se faz necessária a busca por fatores preditores de resultado para reduzirmos o número de tratamentos inefetivos que geram riscos para o paciente e sobrecarregam o sistema de saúde.

Para tentarmos reduzir o viés de diferentes técnicas e habilidade individual dos cirurgiões, todos os pacientes do estudo foram operados pelo mesmo cirurgião seguindo um mesmo protocolo de cirurgia:

- A- Pacientes com esclerose hipocampal direita foram submetidos a lobectomia temporal de cerca de 6 centímetros associada amígdalo hipocampectomia seguindo a técnica proposta por Spencer(SPENCER, D D *et al.*, 1984).
- B- Pacientes com esclerose hipocampal a esquerda foram submetidos a acesso através do giro temporal média e exérese seletiva de amígdala e hipocampo seguindo a técnica descrita por Niemeyer. (NIEMEYER, 1958)

#### **4.3.1 Freesurfer**

A análise automatizada da RM com identificação e cálculo de volume das estruturas temporais mesiais é uma nova maneira de analisarmos os exames de

imagem pré-operatórios e identificarmos fatores prognósticos para bom resultado.

A suíte de aplicativos Freesurfer é uma das maneiras de se realizar uma análise automatizada de imagens de RM. Ela nos fornece um mapeamento das estruturas cerebrais com medida de volume destas estruturas. De especial interesse é a análise do hipocampo com divisão e volumetria das suas subcamadas.

As vantagens do Freesurfer são:

- A- Software gratuito, sem necessidade de licenças pagas.
- B- Processo totalmente automatizado sem necessidade de interferência ou adequação manual do processo.
- C- Multiplataforma. Funciona em Linux e Mac OS.
- D- Diversas publicações atestam a confiabilidade e reprodutibilidade do processo (FISCHL, 2012; KHAN; WANG; BEG, 2008; MARIZZONI *et al.*, 2015).
- E- Não necessita de uma estação de trabalho de alta performance.

As principais críticas à análise pelo Freesurfer são inerentes a possíveis falhas por protocolos inadequados de RM com 1,5 Tesla e pelo modelo de segmentação das subcamadas do hipocampo (GEERLINGS, 2014). A questão da segmentação das subcamadas do hipocampo foi melhorada de maneira importante na versão 6.0 do Freesurfer, utilizada neste trabalho (IGLESIAS *et al.*, 2015).

O anexo 1 mostra a sequência completa do Freesurfer utilizada nesta tese.

A Liga internacional contra a epilepsia (ILAE) recentemente adotou uma classificação anatomopatológica dividindo os portadores de epilepsia de lobo temporal em subgrupos de tipos de esclerose pela análise anatomopatológica das subcamadas do hipocampo (BLÜMCKE *et al.*, 2007; 2013). Trabalhos posteriores mostraram que existe um melhor resultado cirúrgico nas escleroses tipo 1 (predomínio de atrofia em CA1 e CA4) (NA *et al.*, 2015).

Baseado nestes trabalhos procuramos desenvolver uma análise pré-operatória que pudesse nos fornecer dados da atrofia das subcamadas do hipocampo de maneira semelhante aos estudos anatomopatológicos e assim predizer um melhor resultado cirúrgico.



A análise de nossa série mostrou quem, em nosso grupo de 86 pacientes, o resultado cirúrgico foi influenciado pela maior atrofia em CA1 e CA4,

Estes dados, pré-cirúrgicos, corroboram os trabalhos com avaliação de espécimes de hipocampo em pós-operatório(NA *et al.*, 2015).

O presente estudo demonstrou esta correlação sem, contudo, estabelecermos um nível de esclerose a partir da qual teríamos melhor resultado em controle de crises.

A comparação dos volumes das subcamadas do hipocampo com dados demográficos ( idade, tempo de crises, anos de escolaridade) não mostrou alterações significativas. Estes dados não mostraram utilidade na avaliação de preditores de sucesso cirúrgico.

Na literatura, existem evidências classe IA de que a cirurgia precoce traria melhores resultados no controle de crises, além de reduzir o risco causado pelas crises frequentes(LANGFITT; WIEBE, 2008). Em nossa série, a idade dos pacientes variou entre 15 e 57 anos, média 36,4 anos, e um tempo média de epilepsia até a cirurgia de 24,3 anos.

Este longo tempo de epilepsia até a opção para o tratamento reflete a dificuldade no acesso aos serviços de saúde terciários em nosso país. A superioridade do tratamento cirúrgico sobre o tratamento medicamentoso da epilepsia de lobo temporal mesial é bem definida(WIEBE *et al.*, 2001). Em países desenvolvidos também encontramos dificuldades na referência destes pacientes para cirurgia, com uma média de até 20 anos de epilepsia até o encaminhamento para cirurgia. Esta demora, muitas vezes é ligada a incompreensão sobre os critérios de refratariedade medicamentosa e temor dos riscos do procedimento(BERG; KELLY, 2006).

#### **4.3.2 PET/CT**

A tomografia por emissão de pósitrons (PET) permite o estudo in vivo de processos metabólicos cerebrais. A combinação do PET e tomografia

computadorizada (PET / CT) fornece informações anatômicas de maior resolução que a PET isoladamente não pode fornecer (GRIFFETH, 2005).

Na epilepsia, o metabolismo da glicose cerebral tem sido estudado extensivamente usando 18F-fluorodesoxiglicose. (18FDG). (DRZEZGA *et al.*, 1999)

O PET / CT tem sido utilizado há muito tempo na localização de focos epiléticos. É um método nuclear versátil capaz de fornecer informações dinâmicas sobre o metabolismo local e geral no cérebro. A análise do metabolismo da glicose usando 18F-FDG é a técnica PET mais comumente utilizada. O achado característico na epilepsia é uma redução regional na captação de glicose (hipometabolismo) durante o estado Interictal (LEE; SALAMON, 2009; MURO; KARIS, 2014). Muitos dos pacientes com esclerose hipocampal têm hipometabolismo focal ou regional proeminente em exames de [18F] fluorodesoxiglicose-PET (CHAN *et al.*, 2018). A base fisiopatológica subjacente para o hipometabolismo visto em pacientes com ELT ainda não foi bem definida (GARIBOTTO; PICARD, 2013). O PET 18F-FDG mostrou uma alta correlação com esclerose hipocampal identificada por RM para a lateralização da zona epileptogênica. No entanto, ao contrário dos achados de ressonância magnética, seletivos para estruturas temporais mesiais, o PET mostra um hipometabolismo difuso que se espalha para todo o lobo temporal (SARIKAYA, 2015a).

Na análise do PET/CT, buscamos avaliar a relação dos achados da análise visual com os resultados da cirurgia, procurando definir padrões que pudessem ajudar na predição de resultado.

O anexo 2 mostra o protocolo completo utilizado para realização do PET/CT.

Avaliamos também a análise automatizada do PET/CT com a utilização da suíte CortexID (GE Healthcare) compara a perfusão pelo 18FDG em diversas estruturas cerebrais com um banco de dados de 140 indivíduos saudáveis, pareados por idade. Os resultados são apresentados como desvio padrão da média dos valores (Z-scores). O software gera um modelo colorido para análise visual dos resultados, além de fornecer os valores de Z-score de todas as estruturas em ambos os lados do cérebro. O CortexID não faz comparação direta entre os lados

do cérebro. Ele compara os lados isoladamente com seu banco de dados e fornece o desvio padrão com relação aos valores de indivíduos saudáveis.

A análise visual do PET/CT recebe críticas pelos vieses de análise e reprodutibilidade individual, apesar de trabalhos mostrarem boa acurácia (HIGO *et al.*, 2016).

Poucos artigos publicados relatam o uso do CortexID na avaliação de resultados de PET/CT (FINNSSON *et al.*, 2018; JOSEPHS *et al.*, 2012). Nestes trabalhos, o CortexID foi utilizado para análise semi quantitativa do metabolismo de glicose em uma região cerebral comparada com a média global. Não há relatos da utilização do software para avaliação entre a mesma estrutura nos dois lados do cérebro.

Nosso objetivo ao utilizar o CortexID foi buscar uma nova ferramenta para análise automatizada do metabolismo da glicose no PET.

A análise visual mostrou Hipometabolismo temporal ipsilateral à esclerose hipocampal em 52 dos 59 pacientes (88,1%). Em 3 pacientes (5,1%) o hipometabolismo foi contralateral e em 4 (6,7%) não houve hipometabolismo temporal.

O índice de concordância do PET/CT com a esclerose hipocampal é comparável com a literatura. (DRZEZGA *et al.*, 1999; KUMAR; CHUGANI, 2017; SARIKAYA, 2015b; SPENCER, S S, 1994)

Quando tentamos analisar a relação entre a concordância do metabolismo e um melhor controle de crises após a cirurgia, encontramos uma tendência favorável no grupo do PET/CT concordante, com 57,7 % contra 28,6% de bom resultado no grupo não concordante ou sem hipometabolismo. Porém este valor não alcançou significância estatística ( $P=0,148$ ), talvez pelo pequeno número de pacientes (7) no grupo não concordante ou sem hipometabolismo.

Não encontramos relação entre a análise visual do PET/CT e idade, tempo de crise e escolaridade dos pacientes.

A avaliação pelo CortexID mostrou resultados conflitantes. Os resultados mostraram uma diferença significativa entre estruturas semelhantes nos lados com e sem esclerose hipocampal. Porém em todas as estruturas, com exceção do cerebelo, encontramos um maior metabolismo do 18-FDG no lado esclerótico. Especificamente no lobo temporal, os valores foram superiores inclusive à média de pacientes sadios.

O CortexID não se mostrou uma ferramenta adequada, dentro do que realizamos, para a análise de diferenças entre os lobos temporais no mesmo paciente.

Resta agora buscar outras alternativas para análise automatizada dos resultados de PET/CT.



1. BERG, Anne T; KELLY, Molly M. Defining intractability: comparisons among published definitions. **Epilepsia** v. 47, n. 2, p. 431–436 , fev. 2006.
2. BLÜMCKE, Ingmar *et al.* A new clinico-pathological classification system for mesial temporal sclerosis. **Acta neuropathologica** v. 113, n. 3, p. 235–244 , 13 jan. 2007.
3. BLÜMCKE, Ingmar *et al.* International consensus classification of hippocampal sclerosis in temporal lobe epilepsy: a Task Force report from the ILAE Commission on Diagnostic Methods. **Epilepsia** v. 54, n. 7, p. 1315–1329 , jul. 2013.
4. CENDES, Fernando *et al.* Epilepsies associated with hippocampal sclerosis. **Acta neuropathologica** v. 128, n. 1, p. 21–37 , 14 maio 2014.
5. CHAN, Tommy L H *et al.* Refractory Epilepsy: The Role of Positron Emission Tomography. **The Canadian journal of neurological sciences. Le journal canadien des sciences neurologiques** v. 45, n. 1, p. 30–34 , jan. 2018.
6. DALE, A M; SERENO, M I. Improved Localizadon of Cortical Activity by Combining EEG and MEG with MRI Cortical Surface Reconstruction: A Linear Approach. **Journal of cognitive neuroscience** v. 5, n. 2, p. 162–176 , 1993.
7. DESTRIEUX, Christophe *et al.* Automatic parcellation of human cortical gyri and sulci using standard anatomical nomenclature. **NeuroImage** v. 53, n. 1, p. 1–15 , 15 out. 2010.
8. DRZEZGA, A *et al.* 18F-FDG PET studies in patients with extratemporal and temporal epilepsy: evaluation of an observer-independent analysis. **Journal of Nuclear Medicine** v. 40, n. 5, p. 737–746 , maio 1999.
9. DUNCAN, J S. Positron emission tomography receptor studies. **Advances in neurology** v. 79, p. 893–899 , 1999.
10. DURNFORD, Andrew J *et al.* Very good inter-rater reliability of Engel and ILAE epilepsy surgery outcome classifications in a series of 76

- patients. **Seizure: European Journal of Epilepsy** v. 20, n. 10, p. 809–812 , 1 dez. 2011.
11. ENGEL, J. The timing of surgical intervention for mesial temporal lobe epilepsy: a plan for a randomized clinical trial. **Archives of Neurology** v. 56, n. 11, p. 1338–1341 , nov. 1999.
  12. ENGEL, Jerome. Surgical treatment for epilepsy: too little, too late? **JAMA: The Journal of the American Medical Association** v. 300, n. 21, p. 2548–2550 , 3 dez. 2008.
  13. ENGEL, Jerome. The etiologic classification of epilepsy. **Epilepsia** v. 52, n. 6, p. 1195–7; discussion 1205–9 , jun. 2011.
  14. FINNSSON, Johannes *et al.* Glucose metabolism in the brain in LMNB1-related autosomal dominant leukodystrophy. **Acta Neurologica Scandinavica** v. 139, n. 2, p. 135–142 , 25 set. 2018.
  15. FISCHL, Bruce. FreeSurfer. **NeuroImage** v. 62, n. 2, p. 774–781 , ago. 2012.
  16. FISCHL, Bruce *et al.* Automatically parcellating the human cerebral cortex. **Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)** v. 14, n. 1, p. 11–22 , jan. 2004.
  17. FISCHL, Bruce *et al.* Whole Brain Segmentation: Neurotechnique Automated Labeling of Neuroanatomical Structures in the Human Brain. **Neuron** v. 33, n. 3, p. 341–355 , 31 jan. 2002.
  18. GARIBOTTO, V; PICARD, F. Nuclear Medicine Imaging in Epilepsy. **Epileptologie** v. 30, p. 109–121 , 2013.0323326277.
  19. GEERLINGS, Mirjam I. A critical appraisal of the hippocampal subfield segmentation package in FreeSurfer. p. 1–3 , 20 set. 2014.
  20. GRIFFETH, Landis K. Use of PET/CT scanning in cancer patients: technical and practical considerations. **Proceedings (Baylor University. Medical Center)** v. 18, n. 4, p. 321–330 , out. 2005.
  21. HIGO, Takuma *et al.* The predictive value of FDG-PET with 3D-SSP for surgical outcomes in patients with temporal lobe epilepsy. **Seizure** v. 41, p. 127–133 , out. 2016.
  22. IGLESIAS, Juan Eugenio *et al.* A computational atlas of the hippocampal formation using ex vivo , ultra-high resolution MRI:

- Application to adaptive segmentation of in vivo MRI. **NeuroImage** v. 115, p. 117–137 , jul. 2015.
23. JOSEPHS, Keith A *et al.* Characterizing a neurodegenerative syndrome: primary progressive apraxia of speech. **Brain** v. 135, n. 5, p. 1522–1536 , 1 mar. 2012.
24. JOVICICH, Jorge *et al.* MRI-derived measurements of human subcortical, ventricular and intracranial brain volumes: Reliability effects of scan sessions, acquisition sequences, data analyses, scanner upgrade, scanner vendors and field strengths. **NeuroImage** v. 46, n. 1, p. 177–192 , 15 maio 2009.
25. KALE, R. Bringing epilepsy out of the shadows. **BMJ (Clinical research ed.)** v. 315, n. 7099, p. 2–3 , 5 jul. 1997.
26. KHAN, Ali R; WANG, Lei; BEG, Mirza Faisal. FreeSurfer-initiated fully-automated subcortical brain segmentation in MRI using Large Deformation Diffeomorphic Metric Mapping. **NeuroImage** v. 41, n. 3, p. 735–746 , jul. 2008.
27. KUMAR, Ajay; CHUGANI, Harry T. The Role of Radionuclide Imaging in Epilepsy, Part 1: Sporadic Temporal and Extratemporal Lobe Epilepsy. **Journal of nuclear medicine technology** v. 45, n. 1, p. 14–21 , mar. 2017.
28. LANGFITT, John T; WIEBE, Samuel. Early surgical treatment for epilepsy. **Current opinion in neurology** v. 21, n. 2, p. 179–183 , 1 abr. 2008.
29. LEE, K K; SALAMON, N. [18F] Fluorodeoxyglucose-Positron-Emission Tomography and MR Imaging Coregistration for Presurgical Evaluation of Medically Refractory Epilepsy. **AJNR American journal of neuroradiology** v. 30, n. 10, p. 1811–1816 , 13 nov. 2009.
30. MARIZZONI, Moira *et al.* Longitudinal reproducibility of automatically segmented hippocampal subfields: A multisite European 3T study on healthy elderly. **Human Brain Mapping** v. 36, n. 9, p. 3516–3527 , 3 jun. 2015.
31. MURO, Gerard J; KARIS, John P. Neuroimaging in Temporal Lobe Epilepsy. **CNS Spectrums** v. 2, n. 07, p. 31–42 , 7 nov. 2014.



32. NA, Meng *et al.* Long-term seizure outcome for international consensus classification of hippocampal sclerosis: a survival analysis. **Seizure** v. 25, p. 141–146 , fev. 2015.
33. NIEMEYER, Paulo. The transventricular amygdalohippocampectomy in temporal lobe epilepsy. In: BALDWIN, M; BAILEY, P (Eds.). **Temporal Lobe Epilepsy**. Springfield, IL: Charles C Thomas, 1958. p. 461–482.
34. OLIVIER, A. Transcortical selective amygdalohippocampectomy in temporal lobe epilepsy. **The Canadian journal of neurological sciences. Le journal canadien des sciences neurologiques** v. 27 Suppl 1, p. S68–76; discussion S92–6 , maio 2000.
35. ROSA, Daniela Valadão *et al.* Circulating CD4 and CD8 T cells expressing pro-inflammatory cytokines in a cohort of mesial temporal lobe epilepsy patients with hippocampal sclerosis. **Epilepsy research** v. 120, p. 1–6 , 1 fev. 2016.
36. SALAMON, N *et al.* FDG-PET/MRI coregistration improves detection of cortical dysplasia in patients with epilepsy. **Neurology** v. 71, n. 20, p. 1594–1601 , 11 nov. 2008.
37. SARIKAYA, Ismet. PET studies in epilepsy. **American journal of nuclear medicine and molecular imaging** v. 5, n. 5, p. 416–430 , 2015a.
38. SARIKAYA, Ismet. PET studies in epilepsy. **American journal of nuclear medicine and molecular imaging** v. 5, n. 5, p. 416–430 , 2015b.
39. SPENCER, D D *et al.* Access to the posterior medial temporal lobe structures in the surgical treatment of temporal lobe epilepsy. **Neurosurgery** v. 15, n. 5, p. 667–671 , nov. 1984.
40. SPENCER, S S. The relative contributions of MRI, SPECT, and PET imaging in epilepsy. **Epilepsia** v. 35 Suppl 6, p. S72–89 , 1994.
41. TAE, Woo Suk *et al.* Validation of hippocampal volumes measured using a manual method and two automated methods (FreeSurfer and IBASPM) in chronic major depressive disorder. **Neuroradiology** v. 50, n. 7, p. 569–581 , jul. 2008.

42. THOM, Maria. Review: Hippocampal sclerosis in epilepsy: a neuropathology review. **Neuropathology and applied neurobiology** v. 40, n. 5, p. 520–543 , ago. 2014.
43. VAN LEEMPUT, Koen *et al.* Automated segmentation of hippocampal subfields from ultra-high resolution in vivo MRI. **Hippocampus** v. 19, n. 6, p. 549–557 , jun. 2009.
44. VAN LEEMPUT, Koen *et al.* Model-based segmentation of hippocampal subfields in ultra-high resolution in vivo MRI. **Medical image computing and computer-assisted intervention : MICCAI ... International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention** v. 11, n. Pt 1, p. 235–243 , 2008.
45. WIEBE, S *et al.* A randomized, controlled trial of surgery for temporal-lobe epilepsy. **New England Journal of Medicine** v. 345, n. 5, p. 311–318 , 2 ago. 2001.

## Anexo 1. Fluxo de instalação e utilização do software Freesurfer

Pré requisitos para o Freesurfer:

- Sistema operacional: Linux, macOS
- Processor com pelo menos 2GHz
- Recomendado 8GB de memória RAM
- Espaço em disco para o software 10GB:
- Espaço para cada paciente analisado: 300MB

Link para download Linux:

[https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/pub/dist/freesurfer/6.0.0/freesurfer-Linux-centos6\\_x86\\_64-stable-pub-v6.0.0.tar.gz](https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/pub/dist/freesurfer/6.0.0/freesurfer-Linux-centos6_x86_64-stable-pub-v6.0.0.tar.gz)

Link para download Mac

<https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/pub/dist/freesurfer/6.0.0/freesurfer-Darwin-OSX-stable-pub-v6.0.0.dmg>

Após a instalação deve ser feito o registro gratuito no link:

<https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/registration.html>

Utilizando o Terminal do Mac digitamos os seguintes comandos:

```
export FREESURFER_HOME=/Applications/Freesurfer (enter)
source $FREESURFER_HOME/SetUpFreeSurfer.sh
```

Esta resposta indica que a instalação foi bem sucedida:

```
Setting up environment for FreeSurfer/FS-FAST (and FSL)
FREESURFER_HOME /usr/local/freesurfer
FSFAST_HOME     /usr/local/freesurfer/fsfast
FSF_OUTPUT_FORMAT nii
SUBJECTS_DIR    /usr/local/freesurfer/subjects
MNI_DIR         /usr/local/freesurfer/mni
```

Para transformarmos as imagens DICOM em Nii para utilização no Freesurfer utilizamos o seguinte comando.

```
Mri_convert (diretório das imagens DICOM)/(diretório para o arquivo nii)
```

Para realizarmos a análise digitamos o seguinte comando no Terminal:

```
recon-all -s (nome do arquivo com as imagens Nii) -all -hippo-subfields
```

```
Mri_convert (diretório das imagens DICOM)/(diretório para o arquivo nii)
```

Após cerca de 11 h de processamento os dados de volume são salvos na pasta aonde estão os exames nii do paciente em um arquivo com o seguinte nome:

**aseg.stats.**

Este arquivo é tipo CSV sendo aberto em softwares de planilhas.

Os dados de subcamadas do hipocampo são salvos em 2 arquivos de texto na mesma pasta, com dados de direita e esquerda:

***rh.hippoSfVolumes-T1.v10.txt***

***lh.hippoSfVolumes-T1.v10.txt***

## Anexo 2. Protocolo de aquisição de imagens $^{18}\text{F}$ -FDG PET cerebrais

### Instruções ao paciente

1. a) Jejum de 6 horas com ingestão abundante de água.
2. b) Evitar ingestão de cafeína, álcool ou medicamentos que possam afetar o metabolismo cerebral. Medicamentos de uso regular (exceto hipoglicemiantes orais) devem ser ingeridos com água.

### Pré-exame

1. a) Anamnese e orientações sobre a rotina do exame PET.
2. b) Acomodação do paciente em poltrona reclinável localizada em “box de ativação” individual com iluminação reduzida e mínimos estímulos auditivos.
3. c) Colocação de cânula intravenosa em antebraço acoplada a um *tree-way* e bolsa de cloreto de sódio 0,9% com infusão lenta (15-30gts/min).
4. d) Medida da glicemia sanguínea. Se valores maiores que 200mg/dL, administração de insulina regular intravenosa e postergação da administração de FDG.
5. e) Orientação ao paciente para relaxar, evitar grandes movimentos, conversar, ler ou usar dispositivos móveis.
6. f) Paciente em repouso pelo menos 30 minutos previamente à administração do FDG.
7. g) Administração de 10mCi/kg (370MBq/kg) de  $^{18}\text{F}$ -FDG no *tree-way*, seguida da infusão livre de cloreto de sódio 0,9%.
8. h) Período de captação de 50 minutos.
9. i) Esvaziamento da bexiga logo antes do exame.

### Exame PET/CT

1. a) Posicionamento do paciente na maca do PET/CT modelo Discovery 690 (GE Healthcare, Millwalke, EUA)
2. b) Orientação para permanecer imóvel durante todo o exame.

3. c) Aquisição de 10 minutos, através do modo tridimensional, incluindo todo o encéfalo.
4. d) Reconstrução da imagens PET em matriz 192x192 pixels, utilizando o algoritmo OSEM (*Ordered Subsets Expectation Maximization*), com 2 iterações e 20 subsets.

Este protocolo foi elaborado com base no *Society of Nuclear Medicine Procedure Guideline for FDG PET Brain Imaging v1.0* (WAXMAN et al., 2009).