

PADRÕES DE ANORMALIDADES DE REDES NEURAIS ESTRUTURAIS EM CRIANÇAS COM ENCEFALOPATIAS EPILÉPTICAS E DO DESENVOLVIMENTO DE ETIOLOGIA GENÉTICA

Palavras-Chave: epilepsia; encefalopatias epiléticas; neuroimagem; genética; exoma.

Autoras:

FERNANDA GERMANO DE AZEVEDO, FCM – UNICAMP

Prof^ª. Dr^ª. ANA CAROLINA COAN (orientadora), FCM - UNICAMP

INTRODUÇÃO:

As encefalopatias epiléticas e do desenvolvimento (EEDs) são condições nas quais crises epiléticas, em geral farmacoresistentes, ocorrem juntamente a alterações cognitivas ou comportamentais determinadas pela causa subjacente e/ou pelas descargas epileptiformes, ictais ou interictais [1]. Essas condições mais frequentemente se apresentam precocemente nos primeiros anos de vida, com lentificação ou regressão do desenvolvimento que irão evoluir com diferentes comorbidades cognitivas [2]. Esse comprometimento, por sua vez, pode ser devido à etiologia subjacente da síndrome, incluindo as causas genéticas, que tornam possível a definição das síndromes epiléticas de etiologia genética segundo fenótipos característicos e com implicações no tratamento e no prognóstico das crianças [3].

Estima-se que sejam relacionados a causas genéticas 80% dos casos de EEDs de início precoce para as quais se tenham excluído causas ambientais ou estruturais [4]. A análise genética nas EEDs, mais do que complemento ao diagnóstico, faz parte da compreensão da doença e traz implicações de tratamento e prognóstico, tanto da EED quanto de suas comorbidades características.

Inúmeros genes associados às EEDs já foram descritos, com destaque para *KCNT1*, *KCNQ2*, *KCNA2*, *ASXL3*, *MECP2*, *PROK2*, *STXBP1*, *NRXN2*, *CLCN4*, *SCN1A*, *SCN2A*, *SCN8A*, *STXBP1*, *CDKL5*. Apesar de múltiplos estudos a respeito das alterações estruturais cerebrais nas epilepsias em adultos, o conhecimento das alterações e a correlação destas com aspectos clínicos e etiológicos em crianças permanece escasso, com poucos estudos que descrevem as redes neurais específicas alteradas nas EEDs, e apresenta resultados conflitantes. Estudos mais recentes demonstraram correlação entre as alterações estruturais no cérebro de crianças com EEDs de causa genética e aspectos clínicos, como duração das crises [5], porém, com avanços mais aparentes nas epilepsias de

etiologia indeterminada, em crianças com epilepsias de início na primeira década de vida, crises farmacorresistentes e alterações comportamentais [6].

Dessa forma, o estudo das alterações estruturais das epilepsias pode colaborar para a construção de padrões de alterações de redes neurais a partir da associação entre o dano cerebral observado e dados clínicos, eletroencefalográficos e, principalmente, a causa subjacente da epilepsia. Para tanto, novos estudos em neuroimagem são fundamentais para que se entenda a relação entre as alterações estruturais características de cada tipo de epilepsia, sobretudo das EEDs, e a etiologia subjacente da doença.

OBJETIVOS:

Este trabalho possui como objetivo geral a avaliação dos padrões das alterações estruturais de substância branca (SB) e substância cinzenta (SC) no cérebro de crianças com EEDs de etiologia genética conhecida. Como objetivos específicos, tem-se a investigação de tais padrões, tanto para SB quanto para SC, bem como a avaliação da associação entre características clínicas e eletroencefalográficas e as alterações estruturais de SB e SC.

METODOLOGIA:

Tipo de estudo

Foi realizado um estudo transversal, observacional, retrospectivo.

Aspectos éticos

O estudo foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da UNICAMP. Todos os responsáveis e participantes da pesquisa foram instruídos sobre os procedimentos do estudo antes da inclusão no projeto. Termos de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) relativo a todos os sujeitos foram assinados antes da inclusão no estudo. Foi realizada busca ativa dos pacientes com diagnóstico de EED de etiologia genética e com exame de neuroimagem realizado no Hospital de Clínicas da UNICAMP (HC-UNICAMP), em seguimento no Ambulatório de Neurologia Infantil, que expressaram autorização para o uso dos exames de imagem no estudo.

Local da pesquisa

A pesquisa foi realizada nas dependências do Hospital de Clínicas da UNICAMP, incluindo as dependências do Laboratório de Neuroimagem (LNI).

Seleção e identificação dos indivíduos

Foram incluídos no estudo pacientes registrados no Hospital de Clínicas da UNICAMP (HC-UNICAMP), com diagnóstico clínico e eletroencefalográfico de EEDs e diagnóstico etiológico genético, em seguimento no Ambulatório de Neurologia Infantil da UNICAMP. Eram disponíveis os dados de 55 pacientes do Ambulatório de Neurologia Infantil, com diagnóstico de EED de etiologia genética, comprovada por exame de exoma realizado na instituição, sendo 15 pacientes com exames de neuroimagem realizados e disponíveis no Laboratório de Neuroimagem da UNICAMP (LNI-UNICAMP).

Critérios de inclusão: diagnóstico de EEDs; idade menor que 18 anos no momento da inclusão no estudo; exoma realizado no HC-UNICAMP; exame de neuroimagem por ressonância magnética (RM) no aparelho de 3 Tesla do HC-UNICAMP, já realizado e disponível para análise.

Critérios de exclusão: recusa em assinar o TCLE; pacientes com alterações detectadas visualmente nos exames de RM; diagnóstico concomitante de outras doenças neurológicas.

Coleta de dados

Os dados clínicos e os resultados de exames complementares dos pacientes participantes no estudo foram coletados nos respectivos prontuários do ambulatório de Neurologia Infantil do HC-UNICAMP. O diagnóstico de EED de causa genética será obtido retrospectivamente, a partir dos dados dos exames de exoma, realizados no HC-UNICAMP, dos pacientes incluídos no estudo e já disponíveis para análise.

Análise das imagens de RM

Foram selecionadas 11 sequências de RM ponderadas em T1, 3D, volumétricas, obtidas no HC-UNICAMP e disponíveis na base de dados do LNI-UNICAMP, para definição manual da comissura anterior, pré-processamento com o uso do programa SPM12 (*Statistical Parametric Mapping* – Welcome Department of Cognitive Neurology, <https://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>) e pós-processamento com análise volumétrica utilizando-se a técnica de *voxel based morphometry* (VBM), na qual as imagens foram analisadas segundo a quantidade de SB e SC.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada com a utilização do programa SPSS 24. Foi realizada análise individual, através da comparação de cada indivíduo participante com um grupo de controles saudáveis pareados para idade. As alterações foram classificadas em padrões: localizado ou difuso (para SB e SC); justacortical ou profundo (para SB); e pela distribuição anatômica. Com a análise estatística, eram esperadas diferenças significativas entre os dois grupos, sendo que os pacientes com EEDs de etiologia genética deveriam apresentar redes neurais com padrões característicos e relacionados à etiologia da EED.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Foram encontradas mutações nos genes *KCNT1*, *MECP2*, *NRXN2*, *CLCN4*, *SCN1A* e *STXBP1*. Atrofia cerebral foi observada em todos os pacientes. Atrofia de SB foi observada predominantemente em padrão difuso, tanto justacortical quanto superficial. Já atrofia de SC predominou em padrão localizado, com distribuição anatômica em lobos occipital e temporal direitos; transição frontotemporal; cuneus esquerdo; e cerebelo. Duas pacientes do sexo feminino, irmãs, com o mesmo gene mutado (*NRXN2*) apresentaram padrão semelhante de atrofia de SB e SC cerebral, nas regiões parietooccipitais. Outros dois pacientes, sem relação de parentesco, com fenótipos clínicos distintos, apesar da mesma mutação genética (gene *KCNT1*), apresentaram padrões de atrofia distintos.

Sendo assim, existem padrões de alterações de redes neurais estruturais específicos em crianças com EEDs de etiologia genética, com padrões de atrofia dependentes da mutação correspondente à causa subjacente da EED. A correlação entre as alterações cerebrais estruturais e a etiologia da epilepsia, incluindo as alterações volumétricas em SB e SC, foi previamente demonstrada em outros estudos, com limitações [5, 7, 8]. O presente estudo também apresenta limitações. Apesar do número expressivo de pacientes selecionados, o número de pacientes com imagem de RM disponível para análise foi limitado pela qualidade e pelas características das imagens, bem como pela idade dos participantes, que dificultou a comparação com controles saudáveis compatíveis. Além disso, as EEDs são condições raras, sobretudo diante de outras condições na infância e ao se analisar a etiologia genética, que possui difícil diagnóstico e difícil correlação entre etiologia, fenótipo e neuroimagem.

CONCLUSÕES:

As EEDs são condições nas quais alterações cognitivas ocorrem concomitantemente a crises epiléticas, o que pode gerar implicações no comportamento e nas funções socioadaptativas de crianças com essas condições. Dessa forma, é importante a definição da causa subjacente da EED, de modo a promover uma melhor definição dos fenótipos de cada tipo de EED, facilitando suas formas de tratamento, sobretudo nos casos de etiologia genética. Os padrões de anormalidades de redes neurais estruturais em crianças com EEDs de etiologia genética mostram-se associados aos genes causadores da encefalopatia. Tais crianças apresentam um padrão difuso de atrofia de SB e SC cerebrais, que inclui áreas relacionadas ao padrão comportamental e a funções socioadaptativas. Crianças parentes entre si, com o mesmo gene mutado, apresentam o mesmo padrão de alterações em exame de neuroimagem, enquanto crianças sem relação de parentesco, com o mesmo gene

mutado, apresentam padrões distintos de atrofia cerebral entre si. Em conclusão, o componente genético e suas variações pode influenciar as anormalidades cerebrais observadas em crianças com EEDs de etiologia genética e, conseqüentemente, impactar nas características clínicas e no tratamento desses pacientes.

BIBLIOGRAFIA:

- [1] Wirrell E, Tinuper P, Perucca E, Moshé SL. *Introduction to the epilepsy syndrome papers*. **Epilepsia**. 2022;63:1330–1332.
- [2] Specchio N, Wirrell EC, Scheffer IE, Nabbout R, Riney K, Samia P, et al. *International League Against Epilepsy classification and definition of epilepsy syndromes with onset in childhood: Position paper by the ILAE Task Force on Nosology and Definitions*. **Epilepsia**. 2022;63:1398–1442.
- [3] Wirrell EC, Nabbout R, Scheffer IE, Alsaadi T, Bogacz A, French JA, et al. *Methodology for classification and definition of epilepsy syndromes with list of syndromes: Report of the ILAE Task Force on Nosology and Definitions*. **Epilepsia**. 2022;63:1333–1348.
- [4] Morrison-Levy N, Borlot F, Jain P, Whitney R. *Early-Onset Developmental and Epileptic Encephalopathies of Infancy: An Overview of the Genetic Basis and Clinical Features*. In: **Pediatr Neurol**. 2021; 116: 85-94.
- [5] Fosi T, Chu C, Chong WK, et al. Quantitative magnetic resonance imaging evidence for altered structural remodeling of the temporal lobe in West syndrome. **Epilepsia**. 2015;56:608-16.
- [6] Ferreira LS; Seixá CM; Campos BM; Appenzeller; Cendes F; Coan AC. Structural Abnormalities in Patients with Epileptic Encephalopathies. AES 2017 Annual Meeting Abstract Database. AESnet.org.
- [7] Ferreira LS. *Alterações de neuroimagem estrutural em crianças com encefalopatia epiléptica de causa desconhecida*. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas - área de concentração em Neurologia) - Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2019.
- [8] Whelan CD, Altmann A, Botía JA, et al. Structural brain abnormalities in the common epilepsies assessed in a worldwide ENIGMA study. **Brain**. 2018;141:391–408.