CELI SANTOS ANDRADE

**Espectroscopia de fósforo
por ressonância magnética em
malformações do desenvolvimento cortical**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Programa de: Radiologia

Orientadora: Profa. Dra. Claudia da Costa Leite

São Paulo

2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Andrade, Celi Santos

Espectroscopia de fósforo por ressonância magnética em malformações do desenvolvimento cortical / Celi Santos Andrade.-- São Paulo, 2011.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Radiologia.

Orientadora: Claudia da Costa Leite.

Descritores: 1.Metabolismo 2.Epilepsia 3.Fosfolipídios 4.pH 5.Magnésio
6.Membrana celular

USP/FM/DBD-242/11

***"A vida se encolhe ou se expande
proporcionalmente à coragem de cada um".***

Anaïs Nin (1903-1977)

Dedicatória

À minha amada e querida mãe, **Iraildes**, pelo exemplo de vida, perseverança e dedicação, minha eterna admiração e orgulho. Ao meu pai, **Luiz Alberto**, meu melhor e mais fiel amigo, pelo amor incondicional e por sempre participar ativamente da minha vida. Vocês são o meu maior tesouro, o meu primeiro e maior exemplo de sucesso, o alicerce da minha vida, fonte inesgotável da minha força e coragem.

Ao meu irmão **Luidi** e ao meu sobrinho **Luca**, por eternizarem a felicidade da minha infância.

Ao meu amigo e companheiro, **Daniel**, por recheiar a minha vida de amor e alegrias.

Obrigada por tudo. Amo vocês, profundamente.

Agradecimientos

À minha orientadora, **Profa. Dra. Claudia da Costa Leite**, por quem tenho enorme admiração e respeito, agradeço o apoio, amizade, e por me ajudar a trilhar a minha carreira acadêmica e profissional. É um grande privilégio e uma honra ser sua aluna.

À **Dra. Maria Concepción García Otaduy**, pelos ensinamentos científicos, dedicação e paciência. Sem a sua ajuda, este trabalho não teria sido possível.

Ao **Prof. Dr. Giovanni Guido Cerri**, pela oportunidade de desenvolver esta tese.

À **Dra. Kette Dualibi Ramos Valente**, por encaminhar os seus pacientes e por suas valiosas contribuições clínicas.

Ao **Dr. Leandro Tavares Lucato**, por me inspirar na vida neurorradiológica e pelo estímulo nos meus primeiros momentos no HC-FMUSP.

Aos colegas de trabalho e especialmente aos meus chefes do Instituto do Câncer do Estado de São Paulo, **Dr. Marcos Roberto de Menezes**, e do Centro de Diagnósticos Brasil, **Dr. Carlos Henrique Longo** e **Dra. Flavia Kortas Kalil Issa Cevasco**, por apoiarem as minhas atividades acadêmicas.

À **Dra. Miriam Harumi Tsunemi**, pela importante assessoria estatística.

Aos meus queridos pais, **Iraíldes** e **Luiz**, por propiciarem as condições necessárias para o meu crescimento pessoal e profissional, na logística não só deste trabalho, mas de toda a minha vida.

Aos meus estimados avós, **Graciano**, **Matilde** e **Fortunata** ("*in memoriam*"), e **Paulo José**, que, de perto ou de longe, sempre torceram por mim.

Ao meu irmão **Luidi**, aos meus tios e a todos os meus familiares e amigos, por me apoiarem e compreenderem a minha ausência em alguns momentos.

Ao meu precioso namorado, **Dr. Daniel Guimarães de Moraes**, por tornar os meus dias mais leves e divertidos, fazendo tudo parecer mais simples e agradável.

Às colegas de pós-graduação e amigas, **Dra. Eun Park** e **Dra. Katarina Lyra**, por compartilharem as desafios desta "fosfórica" jornada.

A toda a equipe do Setor de Ressonância Magnética do Instituto de Radiologia do HC-FMUSP, em especial aos biomédicos, pela colaboração, e por terem tornado a execução deste trabalho mais fácil e prazerosa.

Às secretárias da Pós-Graduação, **Lia** e **Elisângela**, pela inestimável ajuda.

Aos voluntários, pacientes com epilepsia e seus familiares, pela confiança e honrosa participação neste trabalho.

À FAPESP, CAPES e CNPq, pelo suporte financeiro.

Normalização adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2a ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

	página
Lista de abreviaturas	xiii
Lista de símbolos	xv
Lista de figuras	xvi
Lista de tabelas	xx
Resumo	xxi
<i>Summary</i>	xxiii
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	6
3 REVISÃO DA LITERATURA	8
3.1 Embriologia	9
3.2 Classificação das MDC	13
3.2.1 Displasia cortical	15
3.2.2 Hemimegalencefalia	19
3.2.3 Heterotopia periventricular e subcortical	22
3.2.4 Heterotopia em banda e lissencefalia	25
3.2.5 Polimicrogiria	27
3.2.6 Esquizencefalia	30
3.3 Técnicas avançadas de RM na avaliação das MDC	33
3.4 Espectroscopia de fósforo	38
3.4.1 Aspectos técnicos	38
3.4.2 Metabólitos avaliados	49
3.4.3 Aplicações	58
4 CASUÍSTICA E MÉTODOS	64
4.1 Casuística	65
4.2 Métodos	69

4.2.1	Ressonância magnética convencional	69
4.2.1.1	Aquisição	69
4.2.2	Espectroscopia de fósforo	70
4.2.2.1	Aquisição	70
4.2.2.2	Processamento	73
5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	78
6	RESULTADOS	80
6.1	Análise da lesão	81
6.2	Análise do parênquima aparentemente normal	85
7	DISCUSSÃO	89
8	CONCLUSÕES	104
9	ANEXOS	106
10	REFERÊNCIAS	139

Listas

ABREVIATURAS

ATP	adenosina trifosfato
ATP _t	adenosina trifosfato total
AMARES	<i>advanced method for accurate, robust and efficient spectral fitting</i>
FA	anisotropia fracionada
ADC	coeficiente de difusão aparente
Co	colina
Cr	creatina
DC	displasia cortical
EEG	eletroencefalograma
³¹ P-ERM	espectroscopia de fósforo por ressonância magnética
¹ H-ERM	espectroscopia de prótons por ressonância magnética
FFE	<i>fast field echo</i>
FOV	<i>field of view</i>
FLAIR	<i>fluid-attenuated inversion recovery</i>
Pi	fosfato inorgânico
PC	fosfocolina
PCr	fosfocreatina
PDE	fosfodiéster
PE	fosfoetanolamina
PME	fosfomonoéster
³¹ P	fósforo
FID	<i>free induction decay</i>
GPC	glicerofosfocolina
GPE	glicerofosfoetanolamina

ISIS	<i>image selected in vivo spectroscopy</i>
DTI	imagem por tensor de difusão
MRUI	<i>Magnetic Resonance user-interface</i>
MPRAGE	<i>magnetization prepared rapid gradient echo</i>
MDC	malformação do desenvolvimento cortical
Mg ²⁺	magnésio
NAA	N-acetil aspartato
nOe	<i>nuclear Overhauser enhancement</i>
ppm	partes por milhão
PRESS	<i>point resolved spectroscopy</i>
pH	potencial hidrogeniônico
¹ H	próton
RBW	<i>receiver bandwidth</i> , frequência de amostragem
RM	ressonância magnética
SAR	<i>specific absorption rate</i>
SPGR	<i>spoiled gradient recalled echo</i>
STEAM	<i>stimulated echo acquisition mode</i>
SWI	<i>susceptibility weighted imaging</i>
TE	tempo de eco
TI	tempo de inversão
TR	tempo de repetição
TC	tomografia computadorizada
SPECT	tomografia computadorizada por emissão de fóton único
PET	tomografia por emissão de pósitron
DNET	tumor neuroepitelial disembríoplásico
voxel	<i>volume element</i> , elemento volumétrico

SÍMBOLOS

α	alfa
β	beta
cm^3	centímetro cúbico
γ	gama
Hz	hertz
=	igual
>	maior
MHz	megahertz
<	menor
μs	microsegundo
mHz	milihertz
mm^3	milímetro cúbico
ms	milissegundo
M	molar
%	porcentagem
T	Tesla

FIGURAS

- Figura 1 -** Desenho esquemático ilustrando a migração neuronal cortical orientada por fibras radiais ao longo do tempo. Os neurônios (em verde) são originados na zona ventricular e migram ao longo das células gliais radiais (em laranja) até as camadas mais superficiais. A placa cortical é estabelecida num padrão centrípeto, de modo que os neurônios gerados por último (em tons mais escuros de verde) se destinam às camadas mais superficiais, ultrapassando os neurônios mais precoces que ocupam as camadas mais profundas (em tons mais claros de verde). A zona marginal inclui células de Cajal-Retzius (em vermelho), importantes em estágios mais tardios do desenvolvimento. Adaptado da referência Bielas et al, 2004..... 11
- Figura 2 -** Displasia cortical. Imagens de RM em 3 Tesla exibem uma área focal de espessamento cortical discreto com borramento da interface entre as substâncias branca e cinzenta no lobo frontal esquerdo (setas), nas imagens axiais ponderadas em T1 FFE (*fast field echo*) (**A**) e FLAIR (*fluid-attenuated inversion recovery*) (**B**), em que também se observa hipersinal na substância branca subjacente 18
- Figura 3 -** Hemimegalencefalia. Imagem axial ponderada em T2 FSE (*fast spin echo*) (**A**) exhibe o hemisfério cerebral direito aumentado de volume. A imagem 3D SPGR (*spoiled gradient recalled echo*) reformatada no plano coronal (**B**) também exhibe espessamento cortical homolateral, com sulcos rasos e notável assimetria ventricular 21
- Figura 4 -** Heterotopia. (**A**) Sequência volumétrica T1 FFE (*fast field echo*) com reconstrução em cortes finos de 1 mm de espessura no plano axial exhibe nódulos de substância cinzenta heterotópica adjacentes ao ventrículo lateral direito (seta). (**B**) Imagem T1 SPGR (*spoiled gradient recalled echo*) exhibe os nódulos heterotópicos em localização subcortical no hemisfério cerebral esquerdo de outro paciente. Também é possível notar redução do volume de substância branca e afilamento do córtex sobrejacente 24

- Figura 5 -** (A) Heterotopia em banda. Imagem ponderada em T2 no plano coronal exibe uma faixa de substância cinzenta nos lobos frontal e temporal (pontas de setas), conferindo aspecto de "duplo córtex". (B) Lissencefalia. Imagem de RM no plano axial pesada em T1 de um outro paciente mostra superfície cerebral lisa, com ausência de sulcos na região posterior (agiria) e poucos sulcos rasos anteriormente, com giros espessos e largos (paquigiria). Figura A gentilmente cedida pelo Dr. Fábio Eduardo Fernandes da Silva 26
- Figura 6 -** Polimicrogria perisylviana. Imagem axial volumétrica T1-FFE (*fast field echo*) em aparelho de 3 Tesla (A), com reformatações nos planos coronal (B) e sagital (C) exibem opérculo displásico e incompleto, com polimicrogria circundando as fissuras sylvianas. Estas, por sua vez, estão alargadas e orientadas verticalmente, estendendo-se até os lobos parietais, de forma bem evidente no plano sagital 30
- Figura 7 -** (A) Esquizencefalia de lábios abertos. Imagem ponderada em T1 no plano coronal exibe fenda transcortical, que se estende desde a superfície do ventrículo lateral direito até o espaço subaracnoide periencefálico (seta), revestida por polimicrogria ao longo de suas bordas. Há também polimicrogria à esquerda (cabeça de seta). (B) Esquizencefalia de lábios fechados. Imagem pesada em T1 no plano axial exibe indentação ("mamilo") no ventrículo lateral direito (cabeça de seta), em continuidade com fenda de lábios fechados, revestida por polimicrogria 32
- Figura 8 -** Ampliação da região de interesse do espectro de ^{31}P -ERM evidencia, da esquerda para a direita: fosfomonoésteres (PME), fosfato inorgânico (Pi), fosfodiésteres (PDE) e fosfocreatina (PCr). (A) espectro sem e (B) com o uso de *decoupling* e *nuclear Overhauser enhancement* (nOe), através de irradiação pelo canal de ^1H . Pode ser observado como os picos de PME e PDE, marcados com as setas no espectro A, afinam e aumentam no espectro B, evidenciando, na região do PDE, a presença de glicerofosfocolina (GPC) e glicerofosfoetanolamina (GPE) 46
- Figura 9 -** Curva de ^{31}P -ERM com identificação dos picos para os seguintes metabólitos, da esquerda para a direita: PME (fosfomonoésteres), Pi (fosfato inorgânico), PDE (fosfodiésteres), PCr (fosfocreatina), e γ -, α - e β - ATP (adenosina trifosfato) 50

Figura 10 -	Representação esquemática da síntese do ATP (adenosina trifosfato) a partir da reação catalisada pela CK (creatinoquinase), que usa como substrato a PCr (fosfocreatina) e gera como subproduto a Cr (creatina). A síntese também decorre da atividade mitocondrial pela reação de fosforilação oxidativa mediada pela ATP-sintase, e em menor extensão por mecanismo de glicólise. O ATP, por sua vez, é degradado pela enzima ATPase, produzindo ADP (adenosina difosfato) e Pi (fosfato inorgânico). Adaptado da referência Manuel et al, 2010	52
Figura 11 -	(A) Fotomicrografia eletrônica da membrana plasmática de uma célula humana vista em secção transversa. Desenhos esquemáticos bidimensionais (B) e tridimensionais (C) da membrana celular, formada por uma dupla camada de fosfolipídios, onde estão imersas moléculas de proteínas envolvidas na sinalização e transporte de íons. Adaptado de Alberts et al, 2002	54
Figura 12 -	Ilustração da escala do pH, variando em tons de vermelho (acidez) a azul (alcalinidade). Os íons H^+ estão desenhados na cor vermelha e as bases OH^- estão representadas em círculos azuis, à direita. À esquerda, está a concentração de íons H^+ . Adaptado da referência Lodish et al, 2000	56
Figura 13 -	Gráfico representativo da distribuição dos 37 pacientes nos principais subgrupos de malformações do desenvolvimento cortical (MDC) incluídos no estudo. As legendas e rótulos de cores estão à direita do gráfico	67
Figura 14 -	Bobina de duplo-canal $^{31}P/^1H$ de cabeça tipo gaiola (AIRI, Cleveland, USA), utilizada na fase metabólica do exame para realização de ^{31}P -ERM	71
Figura 15 -	Programação do exame em um paciente com uma extensa área de displasia cortical no hemisfério cerebral direito. Posicionamento da grade de ^{31}P -ERM nas imagens multiplanares ponderadas em T1-FFE, com uma matriz <i>multivoxel</i> , constituída por 6 cortes, 7 colunas e 8 linhas (caixa laranja), de acordo com referenciais anatômicos (centrada no plano mediosagital com angulação orbitomeatal). A caixa verde menor centrada na imagem corresponde à área de <i>shimming</i> . As barras de saturação azuis foram posicionadas para evitar artefatos de sobreposição das imagens sobre o volume de interesse	72

- Figura 16 -** Escolha dos voxels (em amarelo) no controle (**A**) e no paciente (**B**) sobre a grade de ^{31}P -ERM (em vermelho). No controle (**A**), o voxel foi sempre escolhido no córtex frontoparietal parassagital (voxel 192). Neste paciente (caso 14), com heterotopia subcortical e periventricular bilateral nos lobos frontal e parietal, mais extensa à direita nos demais cortes (não mostrados), foi escolhido um voxel mais representativo da lesão (**B**) 74
- Figura 17 -** Escolha dos voxels sobre a grade de ^{31}P -ERM (em vermelho) para avaliação do parênquima aparentemente normal. Imagens de um indivíduo controle (**A** e **B**) exibem os voxels nas cinco regiões cerebrais escolhidas (em amarelo): nucleocapsular direita (142), nucleocapsular esquerda (144), córtex frontoparietal parassagital (192), centro semioval direito (198) e centro semioval esquerdo (200)..... 75
- Figura 18 -** Curvas espectrais obtidas após a convergência espectral e etapas de pós-processamento utilizando o programa MRUI. As curvas correspondem, de baixo para cima, ao espectro original, curva estimada, ajustes individuais para cada metabólito, e curva residual (diferença entre a curva original e os componentes individuais) 76
- Figura 19 -** Gráfico representativo dos valores médios de pH (potencial hidrogeniônico) nas três categorias principais de malformações do desenvolvimento cortical (MDC) e nos controles. As legendas e rótulos de cores são exibidos na coluna à direita 82
- Figura 20 -** Gráficos *box-plot*. Comparações da média dos valores de pH (potencial hidrogeniônico) no parênquima aparentemente normal, nos seguintes locais: (**A**) voxel 192, córtex frontoparietal parassagital; (**B**) voxel 198, região nucleocapsular direita; e (**C**) voxel 200, região nucleocapsular esquerda. 0 = grupo-controle; 1 = displasia cortical e hemimegalencefalia; 2 = heterotopia; 3 = polimicrogiria e esquizencefalia. Em todos os gráficos, houve diferença significativa entre os subgrupos de pacientes comparativamente ao grupo-controle, sem sobreposição de valores 88

TABELAS

Tabela 1 -	Classificação das malformações do desenvolvimento cortical	14
Tabela 2 -	Terminologia e classificação das displasias corticais (DC)	16
Tabela 3 -	Características com relação ao sinal de RM dos núcleos de hidrogênio (^1H) e fósforo (^{31}P)	41
Tabela 4 -	Resumo dos metabólitos identificados na ^{31}P -ERM, a posição no espectro em partes por milhão (ppm) e a função na fisiologia cerebral	58
Tabela 5 -	Características demográficas dos grupos de pacientes e controles	68
Tabela 6 -	Resultados da comparação dos valores de pH e Mg^{2+} entre as lesões dos pacientes com MDC e o grupo-controle. Valor de p significativo em vermelho	81
Tabela 7 -	Resultados da relação entre o tempo da última convulsão e os valores de pH e Mg^{2+} nas lesões dos pacientes com MDC	83
Tabela 8 -	Resultados da comparação dos valores dos fosfatos de alta energia entre as lesões dos pacientes com MDC e o grupo-controle	84
Tabela 9 -	Resultados da comparação dos valores dos fosfolipídios de membranas entre as lesões dos pacientes com MDC e o grupo-controle. Valor de p significativo em vermelho, e com tendência à significância estatística em azul	85
Tabela 10 -	Resultados da comparação dos valores de pH entre os pacientes com MDC e o grupo-controle em cinco regiões cerebrais com parênquima aparentemente normal. Valor de p significativo em vermelho	86

Resumo

Andrade CS. *Espectroscopia de fósforo por ressonância magnética em malformações do desenvolvimento cortical* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2011. 158p.

INTRODUÇÃO: As malformações do desenvolvimento cortical (MDC) resultam de distúrbios no dinâmico processo de corticogênese cerebral e são importante causa de epilepsia grave, atraso do desenvolvimento, déficits motores e cognitivos. O papel do metabolismo na epilepsia humana tem sido extensamente debatido, e há inúmeras evidências que apontam para disfunções bioenergéticas como fatores-chave na ictogênese. Distúrbios metabólicos foram identificados nas malformações corticais com outras modalidades de neuroimagem, tais como a espectroscopia de prótons por ressonância magnética. Para o nosso conhecimento, entretanto, o metabolismo de fósforo em pacientes com epilepsia secundária a MDC não foi extensamente investigado até o momento. **OBJETIVOS:** O objetivo deste estudo foi avaliar o metabolismo de fosfolípidios *in vivo* em uma série de pacientes com epilepsia e MDC. **MÉTODO:** Trinta e sete pacientes com MDC e 31 voluntários foram estudados usando espectroscopia de fósforo por ressonância magnética (^{31}P -ERM) tridimensional em aparelho de 3,0 Tesla. Os voxels nas lesões foram comparados ao córtex frontoparietal dos controles (volumes efetivos de $12,5\text{ cm}^3$). O parênquima aparentemente normal foi avaliado em voxels homólogos de pacientes e controles, abrangendo cinco regiões cerebrais: regiões nucleocapsulares direita e esquerda, córtex frontoparietal parassagital, e centros semiovais direito e esquerdo. Foram utilizados métodos de quantificação para ajustar os dados no domínio do tempo para as seguintes ressonâncias: fosfoetanolamina (PE), fosfocolina (PC), glicerofosfoetanolamina (GPE), glicerofosfocolina (GPC), fosfato inorgânico (Pi), fosfocreatina (PCr), e α -, β - e γ -adenosina trifosfato (ATP). Também foram calculados o ATP total ($\text{ATP}_t = \alpha + \beta + \gamma\text{-ATP}$), fosfodiésteres ($\text{PDE} = \text{GPC} + \text{GPE}$), fosfomonoésteres ($\text{PME} = \text{PE} + \text{PC}$), e as razões PME/PDE , PCr/ATP_t , e PCr/Pi . O magnésio (Mg^{2+}) e os níveis de pH foram calculados com base nos desvios químicos da PCr, Pi, e β -ATP. **RESULTADOS:** Comparativamente aos controles, e assumindo um valor de $p < 0,05$ estatisticamente significativo, as lesões apresentaram redução dos valores de pH e aumento de Mg^{2+} . Também foram encontrados redução significativa de GPC e PDE, e aumento da relação PME/PDE nas MDC. O parênquima aparentemente normal também demonstrou redução dos valores de pH no córtex frontoparietal e no centro semioval bilateral. As diferenças nos valores de pH, tanto nas lesões como no parênquima aparentemente normal, permaneceram estatisticamente significativas nos subgrupos individuais de MDC (displasia cortical ou hemimegalencefalia; heterotopia; polimicrogiria e/ou esquizefalia). Não houve correlação entre o tempo da última convulsão e as alterações do pH. **CONCLUSÕES:** O Mg^{2+} e o pH são parâmetros muito importantes na regulação bioenergética e estão envolvidos em múltiplas vias da atividade elétrica cerebral. Nossos dados corroboram a ideia de que distúrbios metabólicos ocorrem nas lesões focais de MDC, com propagação para áreas remotas aparentemente normais. As anormalidades de GPC, PDE, e da razão PME/PDE sugerem que há deficiências na renovação das membranas celulares nas lesões dos pacientes com epilepsia e MDC.

Descritores: Metabolismo, Epilepsia, Fosfolípidios, pH, Magnésio, Membrana celular

Summary

Andrade CS. *Phosphorus magnetic resonance spectroscopy in malformations of cortical development* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2011. 158p.

INTRODUCTION: Malformations of cortical development (MCD) result from disruptions in the dynamic process of cerebral corticogenesis and are important causes of severe epilepsy, neurodevelopmental delay, motor deficits and cognitive impairment. Metabolism in human epilepsy has been intensely debated, and there are several evidences pointing to brain bioenergetic disturbances as key factors in ictogenesis. Metabolic impairments in cortical malformations have been identified with other neuroimaging tools, such as proton magnetic resonance spectroscopy. To our knowledge, however, phosphorus metabolism in epilepsy caused by MCD has not been thoroughly investigated hitherto. **OBJECTIVES:** The aim of this study was to evaluate phospholipids metabolism *in vivo* in a series of patients with epilepsy and MCD. **METHODS:** Thirty-seven patients with MCD and 31 control subjects were studied using three-dimensional phosphorus magnetic resonance spectroscopy (^{31}P -MRS) at a 3.0 T scanner. The voxels in the lesions were compared to the frontoparietal cortex of the control subjects (the effective volumes were 12.5 cm^3). Normal appearing parenchyma was evaluated in homologous voxels of patients and controls encompassing five cerebral regions: right and left nucleocapsular regions, midline frontoparietal cortex and right and left semioval centers. Quantification methods were applied to fit the time-domain data to the following resonances: phosphoethanolamine (PE), phosphocholine (PC), glycerophosphoethanolamine (GPE), glycerophosphocholine (GPC), inorganic phosphate (Pi), phosphocreatine (PCr), and α -, β -, and γ -adenosine triphosphate (ATP). We also estimated the total ATP ($\text{ATP}_t = \alpha + \beta + \gamma\text{-ATP}$), phosphodiesteres (PDE=GPC+GPE), phosphomonoesters (PME=PE+PC), and the PME/PDE, PCr/ATP_t, and PCr/Pi ratios. The magnesium (Mg^{2+}) levels and pH were calculated based on PCr, Pi, and β -ATP chemical shifts. **RESULTS:** Compared to controls and assuming that a p-value < 0.05 indicates significance, the MCD lesions exhibited lower pH values and higher Mg^{2+} levels. The lesions also presented significant reduction of GPC and PDE, and an increased PME/PDE ratio. The otherwise normal appearing parenchyma also demonstrated lower pH values in the frontoparietal cortex and bilateral *centrum semiovale*. The differences in pH values, both in the lesions and in the normal appearing parenchyma, remained statistically significant in individual subgroups of MCD (hemimegalencephaly or cortical dysplasia; heterotopia; polymicrogyria and/or schizencephaly). There was no correlation between the time of the last seizure and the pH abnormalities. **CONCLUSIONS:** Mg^{2+} and pH are very important in the regulation of bioenergetics and are involved in many electrical activity pathways in the brain. Our data support the idea that metabolic impairments occur in the lesions of MCD, with propagation to remote normal appearing parenchyma. The GPC, PDE, and PME/PDE abnormalities suggest that there are membrane turnover disturbances in MCD lesions.

Descriptors: Metabolism, Epilepsy, Phospholipids, pH, Magnesium, Cell membrane

1 Introdução

A característica clínica mais marcante e comum às malformações do desenvolvimento cortical (MDC) é a notável associação clínica com epilepsia. Estima-se que as MDC sejam responsáveis por 20% de todos os casos de epilepsia e, em alguns casos de lesões extensas, tais como hemimegalencefalia, as convulsões podem ocorrer em até 70 a 90% dos pacientes afetados. Mesmo pequenas malformações focais, tais como heterotopia ou displasia cortical, estão associadas a convulsões clinicamente intratáveis (Crino et al., 2002). Até 40% das crianças com epilepsia refratária possuem uma malformação cortical (Kuzniecky, 1994).

A epilepsia é uma condição complexa caracterizada por atividade elétrica anormal, capaz de determinar fenômeno clínico, as crises epiléticas. A epilepsia acomete 0,4 a 2,0% da população mundial e cerca de 30% dos pacientes com convulsões parciais são resistentes a drogas antiepiléticas. As consequências econômicas são grandes, uma vez que 60% dos pacientes necessitam de medicação regular e aproximadamente 10% necessitam de cuidados institucionais (Vattipally e Bronen, 2004; Kuzniecky e Jackson, 2005). A epilepsia refratária é um problema médico, social e econômico não apenas para o indivíduo afetado, mas para toda a comunidade. O problema socioeconômico gerado é ainda maior, porém subestimado devido à subnotificação de desemprego e discriminação (Jennum et al., 2011).

As MDC resultam de distúrbios no complexo processo de corticogênese cerebral e são importante causa não apenas de epilepsia

grave, mas também podem determinar atraso do desenvolvimento, déficits motores e graus variáveis de disfunção cognitiva (de Wit et al., 2008).

A ressonância magnética (RM) é uma ferramenta essencial na avaliação de pacientes com epilepsia refratária, e avanços crescentes nas técnicas de diagnóstico por imagem têm aumentado a capacidade de detecção das lesões e possibilitado caracterização cada vez mais detalhada de seus aspectos estruturais. Adicionalmente, estudos mais modernos de neuroimagem têm fornecido informações elucidativas sobre o microambiente e os distúrbios metabólicos no foco epileptogênico, assim como de seus efeitos mais generalizados (Colombo et al., 2003; Sisodiya, 2004).

Estudos de espectroscopia de prótons por RM (^1H -ERM) demonstraram padrões metabólicos anormais em pacientes com MDC, caracterizados predominantemente por redução dos níveis de N-acetil aspartato (NAA), não somente na lesão, mas também no parênquima perilesional ou contralateral de aspecto normal à RM convencional (Kuzniecky et al., 1997; Li et al., 1998; Mueller et al., 2005; Leite et al., 2007). Estudos de perfusão por RM e tomografia por emissão de pósitrons (PET) também demonstraram metabolismo alterado e fluxo sanguíneo anormal em alguns tipos específicos de MDC (Lee et al., 1994; Widjaja et al., 2007).

A espectroscopia de fósforo por RM (^{31}P -ERM) é um meio de avaliação não-invasiva do estado bioenergético, de metabólitos osmóticos e do *turnover* de membranas no cérebro humano, através de medidas do pH

intracelular, magnésio (Mg^{2+}), fosfatos de alta energia e componentes da membrana (Mason et al., 1998; Barker et al., 1999; Manuel et al., 2010).

A ^{31}P -ERM tem sido utilizada na investigação de uma variedade de doenças cerebrais de diversas etiologias, tais como: neoplásicas (Arnold et al., 1991; Maintz et al., 2002), isquêmicas (Levine et al., 1992; Helpert et al., 1993), ou desmielinizantes (Husted et al., 1994; Steen et al., 2008).

Há também estudos de ^{31}P -ERM em epilepsia do lobo temporal que indicam que as anormalidades metabólicas poderiam ajudar a lateralizar o foco epileptogênico (der Grond et al., 1998; Pan et al., 2005). Adicionalmente, há evidências de reversibilidade das alterações com algumas intervenções específicas (Pan et al., 1999; Hetherington et al., 2002). Contudo, até o momento, não há trabalhos direcionados à investigação do metabolismo em pacientes com epilepsia causadas por MDC com a técnica de ^{31}P -ERM.

As MDC são lesões aberrantes e complexas, associadas a mecanismos eletrofisiológicos anômalos e emaranhadas redes de conexão funcional (Battaglia et al., 2009; Duchowny, 2009; Barkovich, 2010a). Parece intuitivo que as MDC apresentem anormalidades nos processos de produção energética e no metabolismo de fosfolípidios, mas ainda não se sabe em que extensão e de que forma estes mecanismos regulatórios agiriam nestes pacientes.

Os distúrbios metabólicos estão relacionados à ictogênese, embora não se conheçam com exatidão as vias de conexão entre o estado energético cerebral e o disparo das crises convulsivas, bem como a sua propagação para áreas remotas (Pan et al., 2008).

O propósito deste estudo foi investigar o metabolismo *in vivo* numa grande série de pacientes com MDC através de ^{31}P -ERM com técnica *multivoxel* tridimensional. Para isto, foram realizados exames estruturais e metabólicos em pacientes com MDC e em indivíduos sadios pareados por sexo, idade e nível educacional. Os valores de pH intracelular, concentração de Mg^{2+} , fosfatos de alta energia e fosfolipídios de membranas foram obtidos com métodos avançados de quantificação, tanto nas lesões como no parênquima aparentemente normal. Também foram avaliadas anormalidades específicas em subgrupos individuais de MDC, bem como a relação entre o tempo das últimas crises epiléticas e os valores de alguns parâmetros.

A avaliação neuroquímica desenvolvida neste trabalho pode ajudar a entender os modelos biomatemáticos do metabolismo cerebral em pacientes com MDC. Este estudo favorece um maior conhecimento dos mecanismos biológicos intrínsecos destas lesões altamente epileptogênicas, esperando contribuir para um melhor entendimento da epilepsia em seres humanos através da elucidação de suas bases bioquímicas e funcionais.

2 *Objetivos*

1. Avaliar o perfil metabólico e bioquímico das lesões de pacientes com malformações do desenvolvimento cortical e epilepsia, através de técnica de ^{31}P -ERM tridimensional e quantificação dos fosfatos de alta energia, fosfolipídios de membranas, pH intracelular e magnésio, comparativamente ao grupo de controles;
2. Avaliar o perfil metabólico e bioquímico do parênquima aparentemente normal nas regiões nucleocapsulares direita e esquerda, centros semiovais direito e esquerdo, e córtex frontoparietal parassagital de pacientes com malformações do desenvolvimento cortical e epilepsia, comparativamente ao grupo de controles;
3. Determinar as características do pH nas lesões e no parênquima aparentemente normal nos três principais subgrupos de malformações: displasia cortical e hemimegalencefalia; heterotopia; e polimicrogiria e esquizefalia.

3 *Revisão da literatura*

3.1 EMBRIOLOGIA

O cérebro humano é uma das estruturas biológicas mais extraordinárias e complexas já descritas e estudadas. A formação do córtex cerebral é orquestrada de maneira sistemática e organizada, e ao mesmo tempo tão rebuscada, com envolvimento de múltiplos mecanismos moleculares, cascatas de sinalização e expressão precisa de genes (Valiente e Marín, 2010), que surpreende não serem mais frequentes as malformações cerebrais estruturais e os distúrbios funcionais.

A descrição da fibra radial glial data do século XIX, com importantes repercussões sobre a história da neurociência (Bergmann, 1857¹ apud Bentivoglio e Mazzarello, 1999). A princípio, pensava-se que as células radiais gliais serviam apenas como um guia de orientação para a migração neuronal. Contudo, tem se tornado cada vez mais evidente que tais células são também verdadeiros precursores que podem se dividir e originar células pós-mitóticas e outras progenitoras (Bystron et al., 2008).

O ponto fundamental que rege o desenvolvimento cortical é que os neurônios originam-se em locais remotos daqueles em que futuramente irão se localizar, migrando por distâncias substanciais até alcançarem a sua posição final no córtex cerebral. Porque as distâncias de migração são relativamente maiores, aliadas ao padrão de organização altamente

¹ Bergmann, E. Notiz über einige Strukturverhältnisse des Cerebellum und Rückenmarks. Zeitschrift für rationelle Medizin, Neue Folge. 1857; 8:360-4.

complexo, o neocórtex parece mais suscetível a malformações comparativamente a outras estruturas, tais como o olho e a medula espinhal (Bielas et al., 2004).

O tubo neural que irá formar o neuroeixo fecha-se muito precocemente na embriogênese. Seguem-se a condensação local, expansão e diverticulação, desencadeados por expressão compartimentalizada de genes e eventos celulares. Rostralmente, as vesículas telencefálicas formam-se e originam os hemisférios cerebrais (Sisodiya, 2004).

Os neurônios têm origem nas células da camada subependimária da parede dos ventrículos, a chamada matriz germinal. As células da matriz germinal com diferenciação neuronal (neuroblastos), quando maduras, iniciam um processo de migração. A migração dos neurônios da região periventricular para os núcleos profundos e para a superfície do córtex cerebral é orientada pelas fibras radiais a partir da 8ª semana de gestação. Os núcleos e o córtex cerebelar também são formados neste mesmo período. A migração ocorre de maneira ordenada, de modo que primeiro migram as células que irão formar a camada I do córtex, e depois migram as células que irão formar as camadas VI, V, IV, III e II (Figura 1).

Mais recentemente, também foram descritas outras formas de migração neuronal, tais como o modelo tangencial, em que neurônios podem migrar por grandes distâncias ao longo das zonas intermediárias, na

dependência da expressão de moléculas de adesão específicas (Britanova et al., 2006; Bystron et al., 2008).

Figura 1 - Desenho esquemático ilustrando a migração neuronal cortical orientada por fibras radiais ao longo do tempo. Os neurônios (em verde) são originados na zona ventricular e migram ao longo das células gliais radiais (em laranja) até as camadas mais superficiais. A placa cortical é estabelecida num padrão centrípeto, de modo que os neurônios gerados por último (em tons mais escuros de verde) se destinam às camadas mais superficiais, ultrapassando os neurônios mais precoces que ocupam as camadas mais profundas (em tons mais claros de verde). A zona marginal inclui células de Cajal-Retzius (em vermelho), importantes em estágios mais tardios do desenvolvimento. Adaptado da referência Bielas et al, 2004

Após estarem organizados nas diversas camadas, os neurônios separam-se das fibras radiais e iniciam a formação e crescimento dos dendritos e das sinapses. As fibras radiais separam-se dos neurônios após a migração e dão origem às células gliais. A maior parte do processo de migração neuronal ocorre ao redor da 16ª semana de gestação, porém, acredita-se que este processo só termine por volta do 5º mês de vida (Crino et al., 2002; Kubo e Nakajima, 2002).

As conexões corticais formam-se muito precocemente, e continuam a se desenvolver num mecanismo intrincado que leva ao desenvolvimento das substâncias cinzenta e branca. A maturação dos neurônios inicia-se antes do término da migração e inclui a formação e crescimento dos dendritos, desenvolvimento da excitabilidade e polaridade da membrana neuronal, sinaptogênese, síntese de neurotransmissores e mielinização dos axônios. As colaterais dos axônios, os ramos dendríticos e as sinapses que são formadas em excesso sofrem, posteriormente, degeneração seletiva (Raymond et al., 1995). Acredita-se que os neurônios diferenciam-se em diversos tipos morfológicos dependendo, especialmente, da fase embriológica em que foram gerados (Kanold e Luhmann, 2010).

A sulcação e giração cerebrais estão diretamente relacionadas com a migração neuronal, sendo responsáveis pelo aumento da superfície cortical, sem aumento de seu volume. Tais processos também se estendem ao período pós-natal, até ao redor do final do primeiro ano de vida. Embora a organização do córtex seja relativamente semelhante em todos os

mamíferos, é a enorme expansão da área de superfície cortical em associação à sofisticada citoarquitetura hexalaminar que formam o substrato para o desenvolvimento de funções corticais complexas e elaboradas, distinguindo o ser humano das demais espécies (Kriegstein et al., 2006; Rakic, 2009).

Distúrbios nas diversas vias moleculares que regulam estes complexos mecanismos podem ter uma base genética, embora fatores exógenos, tais como infecções por citomegalovírus, insultos tóxicos e vasculares durante a gestação também possam ocasionar alguns tipos de MDC; são a natureza e o momento do insulto em relação ao processo de desenvolvimento que determinam o tipo de malformação (Barkovich, 2010a).

3.2 CLASSIFICAÇÃO DAS MDC

O estudo e a classificação das MDC são complicadas pelo fato que duas malformações nunca são virtualmente idênticas e de que frequentemente diferentes subtipos de malformações coexistem num mesmo paciente (Wieck et al., 2005; Andrade e Leite, 2011). De fato, as MDC apresentam um grande espectro de alterações histomorfológicas, apresentações clínicas heterogêneas e manifestações neurorradiológicas altamente variáveis, o que torna o estudo deste grupo de doenças ainda mais intrigante e desafiador.

Tabela 1 - Classificação das malformações do desenvolvimento cortical**I - Malformações relacionadas à proliferação ou apoptose neuronal ou glial**

A. Redução da proliferação/ aumento da apoptose ou aumento da proliferação/ redução da apoptose com alteração do volume cerebral

1. Microcefalia com córtex normal a afilado
2. Microlissencefalia (microcefalia extrema com córtex espesso)
3. Microcefalia com extensa polimicrogiria

4. Macrocefalia

B. Proliferação anormal (tipos celulares anormais)

1. Não-neoplásicos
 - a. Hamartomas corticais da esclerose tuberosa
 - b. Displasia cortical com células "em balão"
 - c. Hemimegalencefalia
2. Neoplásicos
 - a. DNET (tumor neuroepitelial disembríoplásico)
 - b. Ganglioglioma
 - c. Gangliocitoma

II - Malformações relacionadas à migração neuronal anormal

A. Espectro lissencefalia/ heterotopia subcortical em banda

B. Complexo lissencefalia "em paralelepípedo"/ síndromes de distrofia muscular congênita

C. Heterotopia

1. Subependimária (periventricular)
2. Subcortical (diferente de heterotopia em banda)
3. Glioneuronal marginal

III - Malformações relacionadas à organização cortical anormal (incluindo migração neuronal tardia)

A. Polimicrogiria e esquizefalia

1. Síndromes de polimicrogiria bilaterais
2. Esquizefalia (polimicrogiria com fendas)
3. Polimicrogiria ou esquizefalia como parte de síndromes de anomalias congênitas múltiplas/ retardo mental

B. Displasia cortical sem células "em balão"

C. Microdisgenesia

IV - Malformações sem outras classificações

A. Malformações secundárias a erros inatos do metabolismo

1. Desordens do metabolismo mitocondrial e do piruvato
 2. Distúrbios peroxissomais
- B. Outras malformações não classificadas

Nota: Adaptado de Barkovich et al, 2005

A classificação mais utilizada, de Barkovich e colaboradores (Tabela 1), baseia-se em 3 processos embriológicos da corticogênese: proliferação e diferenciação neuronais e eventual apoptose; migração neuronal; e organização cortical (Barkovich et al., 2005; Colombo et al., 2009). Estas categorias não devem ser encaradas como processos sequenciais distintos, mas sim como etapas dinâmicas, com sobreposição temporal, que resultam finalmente na formação cerebral, baseando-se a classificação na fase mais precoce em que a anormalidade ocorre, em conjunto com achados patológicos, genéticos e de imagem (de Wit et al., 2008).

Abordaremos mais detalhadamente os principais tipos de malformações corticais: displasia cortical, hemimegalencefalia, heterotopia, lissencefalia, polimicrogiria, e esquizencefalia.

3.2.1 DISPLASIA CORTICAL

O grande interesse na displasia cortical (DC) é reflexo da severidade da epilepsia causada e da elevada frequência com que este distúrbio é abordado cirurgicamente (Sisodiya, 2004; Chamberlain et al., 2009).

Em 2004, Palmini e colaboradores publicaram um consenso sobre a terminologia e classificação das DC. Uma nova classificação baseada em dados histopatológicos, em conjunto com dados clínicos e de imagem foi

recentemente elaborada e publicada (Tabela 2) por uma comissão especializada da Liga Internacional de Epilepsia (Blümcke et al, 2011).

Tabela 2 - Terminologia e classificação das displasias corticais (DC)

Displasia cortical focal tipo I (isolada)

Tipo Ia: DC com LC radial anormal

Tipo Ib: DC com LC tangencial anormal

Tipo Ic: DC com LC radial e tangencial anormais

Displasia cortical focal tipo II (isolada)

Tipo IIa: DC com neurônios dismórficos

Tipo IIb: DC com neurônios dismórficos e células "em balão"

Displasia cortical focal tipo III (associada a lesão principal)

Tipo IIIa: LC anormal no lobo temporal com esclerose hipocampal

Tipo IIIb: LC anormal adjacente a tumor glial ou neuroglial

Tipo IIIc: LC anormal adjacente a malformação vascular

Tipo IIId: LC anormal adjacente a qualquer outra lesão adquirida

Nota: LC: laminação cortical. Adaptado de Blümcke et al, 2011

A DC é uma importante causa de epilepsia refratária, não-familiar, não-sindrômica, de início precoce na infância. Não há características ao exame físico que apontem para o diagnóstico, apesar de relatos de alguns achados associados, tais como *nevus* epidérmico linear (Sisodiya, 2004).

A epilepsia causada por DC usualmente é refratária ao tratamento medicamentoso. As DC são importante causa de epilepsia focal motora ou epilepsia parcial contínua, que pode ameaçar a vida, de tal forma que o tratamento cirúrgico é uma modalidade terapêutica a ser considerada em alguns destes pacientes, apesar de resultados nem sempre satisfatórios (Colombo et al., 2003; Kuzniecky e Jackson, 2005).

Os pesquisadores identificaram uma variedade de anormalidades, tanto citológicas – neurônios piramidais gigantes, neurônios displásicos desorganizados, células “em balão” (grandes células redondas com citoplasma eosinofílico lembrando um balão) – quanto organizacionais: laminação desordenada, agrupamento de neurônios em excesso na substância branca, causando borramento da interface entre a substância branca e a cinzenta (Sisodiya et al., 2009; Blümcke et al., 2011). Evidências de estudos *in vitro* demonstraram que os neurônios citomegálicos são as células primariamente epileptogênicas, enquanto que as células “em balão” são inativas eletrofisiologicamente (Mathern et al., 2000; Duchowny, 2009).

As DC provavelmente não são uma entidade única. De fato, a aparência histológica não é uniforme, com variação de fenótipos moleculares, componentes citológicos, desordens organizacionais, alterações genéticas, mecanismos de ativação e aparência à RM (D’Arcangelo, 2009; Jensen, 2009).

As DC são caracterizadas à RM como áreas de espessamento cortical com intensidade de sinal anormal, borramento da interface entre as substâncias branca e cinzenta, algumas vezes com anormalidades de sinal na substância branca subjacente, geralmente caracterizadas por hipersinal em T2 e FLAIR e hipossinal em T1 (Figura 2), com o aspecto de “cauda cuneiforme” com distribuição radial a partir da superfície do ventrículo - displasia “transmanto”. Outras características são atrofia da substância

branca, um sulco profundo, e alargamento dos giros adjacentes à DC (Leite et al., 2008; Madan e Grant, 2009; Sisodiya et al., 2009).

Figura 2 - Displasia cortical. Imagens de RM em 3 Tesla exibem uma área focal de espessamento cortical discreto com borramento da interface entre as substâncias branca e cinzenta no lobo frontal esquerdo (setas), nas imagens axiais ponderadas em T1 FFE (*fast field echo*) (**A**) e FLAIR (*fluid-attenuated inversion recovery*) (**B**), em que também se observa hipersinal na substância branca subjacente

Estas alterações nem sempre estão presentes em conjunto, nem são patognomônicas isoladamente. A DC usualmente é encontrada em topografia frontal ou temporal, apesar de poder ocorrer em qualquer localização. Ao eletroencefalograma (EEG), pode haver alterações ictais particulares. A investigação pré-cirúrgica detalhada é mandatória, já que a DC pode estar em áreas eloquentes do córtex e a zona epileptogênica pode ser mais extensa do que a lesão identificada à RM. Por estas razões, EEG intracraniano, eletrocorticografia e testes de medicina nuclear, tal como a

tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT), podem ser necessários (Knake et al., 2006; Knowlton, 2008; Colombo et al., 2009).

Por vezes, tumores superficiais neuronais ou neurogliais, como o tumor neuroepitelial disembríoplasico (DNET), o ganglioglioma e o glioma de baixo grau podem constituir uma consideração pertinente no diagnóstico diferencial, especialmente em casos menos típicos. Estas lesões também podem estar associadas à DC num mesmo paciente.

3.2.2 HEMIMEGALENCEFALIA

A hemimegalencefalia, ou megalencefalia unilateral, relaciona-se ao crescimento hamartomatoso excessivo de todo ou de parte de um hemisfério cerebral, com defeitos na proliferação neuronal, migração e organização cortical (Manoranjan e Provias, 2010).

Os indivíduos afetados tipicamente têm macrocefalia ao nascimento e infância, e podem se apresentar precocemente com epilepsia refratária, atraso no desenvolvimento neuropsicomotor e hemiparesia. No outro extremo do espectro, os casos mais leves podem apresentar crises epiléticas discretas, com controle clínico simples. O cérebro pode ser afetado isoladamente, ou pode haver hipertrofia de parte ou de todo o hemicorpo homolateral (Civardi et al., 2009; Guerreiro, 2009).

Algumas síndromes associadas são: a neurofibromatose tipo I, esclerose tuberosa, síndrome do *nevus* epidérmico, síndrome de Proteus, hipomelanose de Ito, síndrome de Klippel-Trenaunay-Weber, alopecia focal e o DNET (Guerrini et al., 2003; Crino, 2009).

Hemisferectomia anatômica ou funcional podem estar indicadas se a epilepsia for clinicamente intratável e o hemisfério contralateral for normal ou com anormalidades menores (Hallbook et al., 2010). A transferência de funções para o hemisfério contralateral é maior em crianças mais jovens, por conta da plasticidade neuronal.

A organização laminar cortical é anormal, com presença de neurônios gigantes no córtex e na substância branca subjacente. Estudos histopatológicos usualmente demonstram achados semelhantes aos observados nas displasias corticais, com presença de células “em balão” em 50% dos casos (Guerrini et al., 2003; Blümcke et al., 2009).

A RM pode demonstrar aumento moderado a acentuado do hemisfério cerebral, com aumento do volume da substância branca, que pode apresentar em alguns casos intensidade de sinal anormal. Há geralmente espessamento cortical, com sulcos rasos, de configuração agírica/paquigírica. Há indiferenciação da interface entre as substâncias branca e cinzenta. O ventrículo lateral do lado afetado é usualmente alargado, proporcionalmente ao aumento hemisférico, com formato irregular

(Figura 3). Contudo, em alguns poucos casos, o ventrículo homolateral pode ser menor (Barkovich e Raybaud, 2004; Kuzniecky e Jackson, 2005).

Figura 3 - Hemimegalencefalia. Imagem axial ponderada em T2 FSE (*fast spin echo*) (**A**) exibe o hemisfério cerebral direito aumentado de volume. A imagem 3D SPGR (*spoiled gradient recalled echo*) reformatada no plano coronal (**B**) também exibe espessamento cortical homolateral, com sulcos rasos e notável assimetria ventricular

A principal pista para o diagnóstico de hemimegalencefalia unilateral é o aumento do ventrículo lateral do lado afetado, ao contrário do que é observado nas lesões infiltrativas ou com efeito expansivo, que comprimem e deslocam o sistema ventricular. Na hemimegalencefalia também há frequentemente associação com outras MDC, tais como polimicrogiria e lissencefalia (Barkovich e Raybaud, 2004).

3.2.3 HETEROTOPIA SUBCORTICAL E PERIVENTRICULAR

A heterotopia, uma das MDC mais comumente reveladas na RM, ocorre quando neurônios originários de uma localização periventricular falham em migrar, deixando nódulos ou faixas de neurônios heterotópicos, adjacentes à linha ependimária ou em topografia subcortical.

A heterotopia nodular periventricular é mais frequente em mulheres, durante ou após a segunda década de vida, que se apresenta com epilepsia, refratária ou não ao tratamento medicamentoso. Usualmente não há déficit cognitivo e raramente associam-se distúrbios fora do sistema nervoso central, tais como ducto arterioso patente, vasculopatia ou coagulopatia (Sisodiya, 2004).

A maioria dos casos de heterotopia nodular periventricular familiar afeta predominantemente mulheres e são causados por mutações no gene *FLNA*. Contudo, mutações neste gene também podem causar heterotopia periventricular esporádica em mulheres, assim como casos esporádicos e familiares em homens. Outros genes também parecem estar envolvidos, tais como *DCX*, *ARFGEF2* e um *locus* no cromossomo 5p (Guerrini e Marini, 2006).

A heterotopia nodular periventricular pode associar-se a esclerose mesial temporal (*dual pathology*). Nestes casos, a ressecção cirúrgica do

hipocampo afetado invariavelmente não traz benefícios e deve ser evitada (Sisodiya, 2004).

Os pacientes com heterotopia nodular periventricular associada a outras MDC, comparativamente àqueles com heterotopia periventricular isolada, apresentam evolução clínica mais grave, com crises epiléticas mais frequentes, falha no tratamento medicamentoso e maior associação com retardo mental. A extensão e a distribuição dos nódulos subependimários contraindicam cirurgia na maioria dos casos. Apenas alguns pacientes foram tratados cirurgicamente, com resultados variáveis (Sisodiya, 2004; Wieck et al., 2005).

Os nódulos de substância cinzenta heterotópica também podem ocorrer em localização subcortical na substância branca (heterotopia focal subcortical), com distorção da morfologia do ventrículo, uni ou bilateralmente. Há redução do volume da substância branca e afilamento do córtex subjacente. Nestes casos, déficits clínicos e cognitivos mais extensos podem estar presentes (Sisodiya, 2004; Walker et al., 2009).

Estudos histopatológicos exibem neurônios isolados ou em conglomerados heterotópicos, com morfologia normal, porém sem conexões sinápticas adequadas. A base fisiopatológica não é completamente entendida e parece que os nódulos de substância cinzenta são intrinsecamente epileptogênicos (Sisodiya, 2004).

O diagnóstico por imagem é usualmente fácil, demonstrando tecido periventricular ou subcortical com isossinal à substância cinzenta em todas as sequências avaliadas (Figura 4), que não sofre realce após a injeção endovenosa do meio de contraste paramagnético. A identificação do sinal semelhante ao da substância cinzenta em todas as sequências de RM é a chave para o diagnóstico correto (de Wit et al., 2008).

Figura 4 - Heterotopia. (A) Sequência volumétrica T1 FFE (*fast field echo*) com reconstrução em cortes finos de 1 mm de espessura no plano axial exibe nódulos de substância cinzenta heterotópica adjacentes ao ventrículo lateral direito (seta). (B) Imagem T1 SPGR (*spoiled gradient recalled echo*) exibe os nódulos heterotópicos em localização subcortical no hemisfério cerebral esquerdo de outro paciente. Também é possível notar redução do volume de substância branca e afilamento do córtex sobrejacente

3.2.4 HETEROTOPIA EM BANDA E LISSENCEFALIA

A heterotopia em banda e a lissencefalia constituem um espectro de doenças raras que podem causar epilepsia grave, retardo mental e morte precoce. No entanto, a RM tem demonstrado que muitos pacientes sobrevivem até a vida adulta (Sisodiya, 2004).

Na lissencefalia, a migração de todos os neurônios é severamente afetada e a superfície cerebral é lisa, com desorganização cortical e redução do volume da substância branca. O termo agiria define a ausência completa de giros na superfície cerebral e é sinônimo de lissencefalia completa. A paquigiria representa poucos giros largos e espessos, com sulcos rasos, e corresponde à lissencefalia incompleta (Barkovich, 2004).

Na heterotopia em banda, faixas de substância cinzenta são encontradas na região subcortical e são separadas do córtex por fina camada de substância branca interposta. A espessura das bandas varia entre os pacientes e também ao longo do eixo fronto-occipital num mesmo indivíduo. A espessura da banda também se relaciona à severidade do quadro clínico, sendo mais grave quando ocorrem faixas mais grossas de substância cinzenta (Barkovich et al., 1994).

Imagens de RM exibem aspecto característico de “duplo córtex” em casos de heterotopia em banda, com indefinição da interface entre as

substâncias branca e cinzenta. Na lissencefalia, a superfície cortical é lisa; os giros podem ser escassos e planos (paquigiria) ou ausentes (agiria). Nestes casos, pode-se observar também opercularização incompleta, com fissuras sylvianas rasas e verticalizadas (Figura 5).

Figura 5 - (A) Heterotopia em banda. Imagem ponderada em T2 no plano coronal exibe uma faixa de substância cinzenta nos lobos frontal e temporal (pontas de setas), conferindo aspecto de "duplo córtex". (B) Lissencefalia. Imagem de RM no plano axial pesada em T1 de um outro paciente mostra superfície cerebral lisa, com ausência de sulcos na região posterior (agiria) e poucos sulcos rasos anteriormente, com giros espessos e largos (paquigiria). Figura A gentilmente cedida pelo Dr. Fábio Eduardo Fernandes da Silva

Estudos em famílias que apresentam algumas pessoas com heterotopia subcortical em banda e outras com lissencefalia levaram à descoberta de novos genes, *DCX* no cromossomo X e *LIS1* no cromossomo 17. Mutações em quaisquer destes genes podem levar a um destes distúrbios ou combinações deles, em homens ou mulheres. Outros genes

também parecem envolvidos na geração deste fenótipo, tais como *YWHAE*, *ARX*, *TUBA1A* e *RELN* (de Wit et al., 2008).

A lissencefalia pode ocorrer isoladamente ou como parte de outras síndromes. As malformações corticais “em paralelepípedo” (“*cobblestone*”) estão essencialmente relacionadas às síndromes de distrofias musculares, clinicamente heterogêneas, porém geralmente manifestando-se com hipotonia ao nascimento, fraqueza muscular generalizada e contraturas articulares em graus variáveis. O diagnóstico pode ser obtido por biópsia muscular, além de achados característicos no sistema nervoso central aos métodos de imagem. Os três principais distúrbios deste grupo são a síndrome de Walker-Warburg, a distrofia óculo-cérebro-muscular, e a distrofia muscular congênita de Fukuyama (Barkovich, 2004).

3.2.5 POLIMICROGIRIA

Polimicrogria é a presença de número excessivo de pequenos giros anormais que produzem uma superfície cortical irregular. A polimicrogria pode se apresentar clinicamente com epilepsia, atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, apraxia oromotora ou hemiparesia congênita (Leventer et al., 2010; Poduri et al., 2010).

Vários padrões de hereditariedade têm sido descritos. Uma mutação no *MECP2* foi encontrada num homem com síndrome perisylviana e encefalopatia neonatal grave, e várias ligações com diferentes regiões

cromossômicas também já foram descritas. Um estudo híbrido recente envolvendo genética e RM identificou o *PAX6* como um gene em que mutações podem ocasionar polimicrogiria unilateral (Sisodiya, 2004).

Diversas síndromes específicas têm sido descritas, sendo a principal delas a polimicrogiria perisylviana bilateral, caracterizada clinicamente por uma combinação de paralisia pseudobulbar, tetraparesia espástica, dificuldade de aprendizagem e epilepsia. Algumas combinações específicas de heterotopia nodular periventricular com polimicrogiria sobrejacente também já foram descritas (Wieck et al., 2005; Leventer et al., 2010).

Também já foi descrita associação clínica com artrogripose congênita, e com algumas síndromes, tais como síndrome de Delleman, distrofia muscular congênita de Fukuyama, síndrome de Neu-Laxova, hipomelanose de Ito, síndrome de Aicardi e síndrome de di George (Barkovich e Raybaud, 2004; Poduri et al., 2010).

Por outro lado, o fato de haver tecido necrótico em meio ao córtex malformado, de que a maioria das alterações ocorre no território da artéria cerebral média, e da existência de polimicrogiria adjacente a bordas de porencefalia e esquizencefalia levam a crer que insultos hipóxico-isquêmicos possam, ao menos em alguns casos, estar relacionados à gênese da polimicrogiria. Pode também haver relação com infecções congênitas, como a causada pelo citomegalovírus (Barkovich e Raybaud, 2004).

Alguns modelos experimentais sugerem que a área epileptogênica estende-se muito além da anormalidade evidente no estudo de RM estrutural. A ressecção cirúrgica de uma área isolada raramente traz benefícios na epilepsia refratária (Sisodiya, 2004).

Ao menos dois principais tipos histológicos são reconhecidos: um córtex com organização simplificada, em quatro camadas (mais comum) e outro sem camadas; contudo, existem vários tipos histológicos intermediários e estes dois tipos principais podem coexistir em áreas adjacentes (Guerrini e Marini, 2006).

As imagens de RM podem mostrar giração cortical excessiva, com aspecto de espessamento cortical e sulcos rasos, e irregularidade da interface branco-cinzenta (Figura 6). Esta entidade pode ser focal, multifocal ou difusa; unilateral ou bilateral; simétrica ou assimétrica (Jalin et al., 2009). Nos casos de síndrome perisylviana, há polimicrogiria circundando as porções operculares, com fissuras sylvianas alargadas e orientadas verticalmente, estendendo-se até os lobos parietais, bem avaliadas em reformatações no plano sagital (Poduri et al., 2010).

A polimicrogiria pode, em alguns contextos, simular paquigiria, uma vez que a giração cortical excessiva, quando muito pequena, simula um córtex espesso e de superfície lisa. Avanços nas técnicas de RM, em especial com a introdução de sequências volumétricas ponderadas em T1 com grande resolução espacial permitem reformatações multiplanares de

qualidade e tornam este diagnóstico mais acurado, com menor grau de dúvida no diferencial com a paquigiria (Barkovich, 2010b).

Figura 6 - Polimicrogria perisylviana. Imagem axial volumétrica T1-FFE (*fast field echo*) em aparelho de 3 Tesla (**A**), com reformatações nos planos coronal (**B**) e sagital (**C**) exibem opérculo displásico e incompleto, com polimicrogria circundando as fissuras sylvianas. Estas, por sua vez, estão alargadas e orientadas verticalmente, estendendo-se até os lobos parietais, de forma bem evidente no plano sagital

3.2.6 ESQUIZENCEFALIA

A esquizencefalia é definida pela presença de uma fenda transcortical, que se estende desde a superfície ventricular até a superfície pial, delineada por substância cinzenta, e frequentemente com polimicrogria ao longo de suas bordas.

A esquizencefalia pode associar-se a uma variedade de malformações, envolvendo o septo pelúcido, os nervos ópticos, o corpo caloso ou os hipocampos. A displasia septo-óptica (síndrome de De Morsier) deve ser considerada num paciente com esquizencefalia, hipoplasia do nervo óptico e ausência do septo pelúcido (Brakovich e Raybaud, 2004). Insulto vascular também tem sido cogitado na gênese desta malformação, assim como na da polimicrogiria, e talvez a severidade do insulto diferencie estas duas entidades, sendo mais grave no caso da esquizencefalia (Guerrini e Marini, 2006).

Pode haver um grande espectro de apresentações clínicas. Pacientes com fendas bilaterais usualmente têm microcefalia e severo atraso no desenvolvimento, com tetraparesia espástica, ao passo que pacientes com fendas unilaterais podem ter fenótipos clínicos muito menos graves (Granata et al., 2005). O tratamento cirúrgico tem sido proposto em casos de epilepsia clinicamente intratável, mas é raramente empregado.

Usualmente a fenda é revestida por substância cinzenta displásica, podendo haver áreas de polimicrogiria, paquigiria e nódulos de substância cinzenta heterotópicos (Mayoralas et al., 2010).

Imagens adquiridas por RM mostram uma fenda transcortical fechada (lábios fechados/ tipo I) ou aberta (lábios abertos/ tipo II), comunicando o ventrículo com o espaço subaracnóide periencefálico, revestida por substância cinzenta (Figura 7). A lesão pode ser uni ou bilateral (neste caso,

habitualmente simétricas em localização, mas não em tamanho). Na esquizencefalia de lábios fechados, a presença de uma indentação na faceependimária da malformação pode ser o achado mais significativo na direção do diagnóstico correto, o chamado “mamilo” (Guerrini et al., 2003).

Figura 7 - (A) Esquizencefalia de lábios abertos. Imagem ponderada em T1 no plano coronal exibe fenda transcortical, que se estende desde a superfície do ventrículo lateral direito até o espaço subaracnoide periencefálico (seta), revestida por polimicrogiria ao longo de suas bordas. Há também polimicrogiria à esquerda (cabeça de seta). (B) Esquizencefalia de lábios fechados. Imagem pesada em T1 no plano axial exibe indentação (“mamilo”) no ventrículo lateral direito (cabeça de seta), em continuidade com fenda de lábios fechados, revestida por polimicrogiria

O grande diferencial aqui é entre esquizencefalia de lábios abertos e a porencefalia. Ambas constituem lesões parenquimatosas com sinal semelhante ao do líquido, porém o tecido que reveste a cavidade é a chave

para o correto diagnóstico – ao se identificar o sinal semelhante ao da substância cinzenta, a possibilidade de esquizencefalia pode ser aventada de forma segura (Gedikbasi et al., 2009).

Resumidamente, o reconhecimento dos principais padrões de MDC em imagens de RM é a pedra angular no manejo clínico destes pacientes, e técnicas avançadas de RM podem ajudar a fazer o diagnóstico correto, levando a uma classificação mais precisa destas entidades complexas e altamente epileptogênicas, como será discutido a seguir.

3.3 TÉCNICAS AVANÇADAS DE RM NA AVALIAÇÃO DAS MDC

O estudo multiplanar por ressonância magnética de alta resolução constitui o método de escolha para o diagnóstico por imagem das MDC, pois permite excelente contraste entre a substância branca e a cinzenta, avaliação topográfica precisa do desenvolvimento dos giros e sulcos corticais, além da análise mais acurada da formação da substância branca e de seus estágios de mielinização. A tomografia computadorizada (TC) tem menor sensibilidade na detecção das MDC e pode deixar de fazer o diagnóstico em até 30% dos indivíduos afetados. Contudo, é importante reconhecer que as alterações tomográficas, embora mais sutis, são similares às encontradas em estudos de RM (Kuzniecky e Jackson, 2005).

A literatura recente demonstra que o incremento de resolução espacial com aumento da intensidade do campo magnético - mudando de 1,5 T para 3,0 T, 4,1 T, 7,0 T e mais, progressivamente - com subsequente aumento da relação sinal-ruído, pode potencialmente trazer mais detalhes anatômicos, aumentando a sensibilidade do estudo por RM das malformações cerebrais complexas. Avanços em tecnologia de bobinas multicanais têm aumentando a resolução e o contraste das imagens adquiridas, com ganhos máximos na superfície cortical, o que é especialmente útil na detecção de displasias corticais discretas (Madan e Grant, 2009).

Alguns avanços recentes em sequências de RM também podem melhorar a qualidade das imagens e podem ser úteis na caracterização de malformações cerebrais. A introdução de sequências volumétricas ponderadas em T1 com alta resolução espacial (SPGR – *spoiled gradient recalled echo*, MPRAGE – *magnetization prepared rapid gradient echo*), que permitem reformatações multiplanares, favorecem um diagnóstico mais preciso. Sequência FLAIR (*fluid-attenuation inversion recovery*) volumétrica em 3 Tesla pode ser bem sensível para caracterização de alterações na substância branca subjacente a malformações corticais (Madan e Grant, 2009). A sequência SWI (*susceptibility weighted imaging*), devido à sua alta resolução e contraste, tem grande potencial em delinear com mais precisão lesões corticais (Jensen, 2009).

Métodos assistidos por computador, tais como a morfometria baseada em *voxel*, reconstruções de superfície e técnicas de segmentação podem ajudar na detecção de lesões sutis, mas estas técnicas automatizadas ainda precisam vencer imprecisões intrínsecas e requerem comprovação de que podem ser úteis ao olho humano isoladamente em estudos prospectivos (Dale et al., 1999; Fischl et al., 1999; Bruggemann et al., 2009; Oliveira et al., 2010). Ainda assim, informações clínicas são absolutamente importantes em guiar a busca visual intensiva e demorada que é requerida na avaliação de volumes adquiridos com reformatações multiplanares milimétricas.

O diagnóstico pré-natal pode ainda ser feito através de rastreamento com a utilização de ultrassonografia fetal, mas a RM fetal tem apresentado um papel cada vez mais importante na detecção e caracterização de malformações fetais. Avanços em RM fetal com sequências de pulso rápidas, imagens paralelas, bobinas mais sofisticadas e ferramentas de correção de movimento têm otimizado a detecção intrauterina de malformações congênitas (Glenn e Barkovich, 2006a, b; Glenn, 2009).

Apesar da RM convencional com alta resolução espacial prontamente identificar o córtex malformado na maioria dos casos, pesquisas recentes começaram a investigar as alterações associadas da substância branca e da conectividade cerebral através das imagens por tensor de difusão (DTI) e tractografia (Lim et al., 2005). Eriksson et al. (2001) demonstraram redução do volume de substância branca nos hemisférios cerebrais afetados que contêm as MDC e que a substância branca frequentemente apresenta aumentos dos

coeficientes de difusão aparentes (ADC) e redução da anisotropia fracionada (FA).

Estas modalidades têm sido crescentemente utilizadas na caracterização de malformações cerebrais congênitas, determinando os padrões aberrantes de organização e conectividade cerebral subjacentes. Ainda mais, a utilidade prática das técnicas de tractografia pode ser aplicada no planejamento cirúrgico de pacientes com epilepsia refratária e MDC focais, pois pode determinar com mais exatidão a proximidade de tratos eloquentes de substância branca com a lesão. Isto possibilitaria maior precisão na avaliação do risco operatório e melhor planejamento da via de acesso cirúrgico. A complementação destas técnicas com ressonância magnética funcional e sistemas de neuronavegação pode potencialmente agregar eficiência no manejo cirúrgico e melhorar o prognóstico destes pacientes (Nucifora et al., 2007).

Estudos de neuroimagem funcional durante a última década têm levado também a um melhor entendimento sobre a fisiopatologia da epilepsia. Técnicas disponíveis incluem PET, SPECT, RM funcional e perfusão por RM. Imagens exibindo alterações no fluxo sanguíneo cerebral regional ao SPECT podem predizer a localização de um foco epileptogênico associado a uma malformação subjacente, o que pode ser particularmente útil na ausência de anormalidade estrutural evidente à RM. Estudos utilizando PET e RM funcional demonstraram córtex funcional localizado nas malformações, confirmando achados de EEG invasivo e alertando para o

extremo cuidado requerido quando a ressecção cirúrgica é contemplada (Cross, 2003). Apesar do amplo uso destas técnicas diagnósticas na avaliação pré-cirúrgica, há poucos trabalhos especificamente direcionados às MDC (Rastogi et al., 2008; Salamon et al., 2008).

Leite e colaboradores (2003, 2007), em estudo de espectroscopia de prótons por RM (^1H -ERM), demonstraram redução dos níveis de N-acetil aspartato/creatina (NAA/Cr) tanto nas MDC quanto no lado oposto aparentemente normal em pacientes com lesões unilaterais, alertando para o fato de que as anormalidades metabólicas nas MDC se estendem muito além das lesões focais evidenciadas em exames estruturais. Outros autores também demonstraram anormalidades metabólicas nas MDC, tais como redução de NAA e aumento de colina (Co), assim como na zona perilesional aparentemente normal, usualmente redução de NAA e Cr (Kuzniecky et al., 1997; Li et al., 1998; Mueller et al., 2005).

A espectroscopia de fósforo RM (^{31}P -ERM) é uma ferramenta que permite avaliação não invasiva do metabolismo energético e síntese de membranas no cérebro humano. Entretanto, até o momento, para o nosso conhecimento, não há trabalhos publicados na literatura deste método aplicado ao estudo das MDC. A seguir, revisaremos os principais aspectos técnicos desta modalidade e sua potencial utilidade na investigação de doenças cerebrais, com ênfase em epilepsia.

3.4 ESPECTROSCOPIA DE FÓSFORO

3.4.1 ASPECTOS TÉCNICOS

A espectroscopia por ressonância magnética (ERM) oferece a habilidade única de medir de maneira não invasiva, *ex vivo* ou *in vivo*, a composição química de tecidos biológicos, em estado normal ou patológico. Esta modalidade de exame vem sofrendo aperfeiçoamentos técnicos constantes nas últimas décadas, o que cada vez mais amplia o seu acesso e favorece o seu uso na rotina neurorradiológica (Viondury et al., 1994; Xu et al., 2008).

Cada núcleo apresenta um *spin* intrínseco, resultante do número ímpar de prótons ou nêutrons. Quando submetidos a um forte campo eletromagnético, existe alinhamento destes *spins* em orientação paralela ao campo aplicado. Ao ser aplicado um pulso de radiofrequência específico por alguns microssegundos (com a frequência de precessão característica para cada núcleo estudado), existe um desalinhamento do vetor total de magnetização. Quando o pulso de radiofrequência cessa, existe um realinhamento ao campo magnético, o qual gera um pequeno sinal elétrico, denominado *free induction decay* (FID). Este sinal é detectado pelas bobinas e, através de um cálculo matemático (transformada de Fourier), com

transformação do domínio do tempo para o domínio da frequência, adquire-se o gráfico espectral (Castillo et al., 1996; Kwock, 1998).

A frequência de precessão dos núcleos pode ser calculada pela equação de Larmor, sendo proporcional à intensidade do campo magnético e à constante giromagnética, que é específica para cada elemento químico ou isótopo. Os núcleos, entretanto, sofrem pequenos desvios químicos da frequência de precessão devido ao campo magnético gerado pelos elétrons adjacentes, sendo o fenômeno chamado de desvio químico (*chemical shift*). Cada metabólito apresenta, então, um desvio químico específico, mensurado em milihertz (mHz) ou em partes por milhão (ppm). A unidade mais utilizada é em ppm, uma vez que as frequências em mHz são reproduzidas em escalas muito pequenas, e porque a medida em ppm independe do campo magnético utilizado ou da sequência de pulso aplicada (Castillo et al., 1996).

O resultado deste processo não é uma imagem anatômica, porém um gráfico espectral, onde cada metabólito tem sua posição específica correspondente à variação da frequência de ressonância (desvio químico), expressa em ppm na escala horizontal, enquanto que no eixo vertical está representada a amplitude ou a integral da área do pico de cada metabólito, o que permite a sua quantificação relativa (Kwock, 1998; Xu et al., 2008).

Apesar da possibilidade de diferentes núcleos serem utilizados na avaliação do cérebro humano, tais como o carbono (^{13}C), lítio (^7Li), próton (^1H), sódio (^{23}Na), fósforo (^{31}P) e flúor (^{19}F), a ^1H -ERM ainda tem sido a mais

extensamente utilizada na prática clínica para a avaliação metabólica das doenças cerebrais (Christensen et al., 1999; Ross et al., 2003; Forester et al., 2009). Isto se deve a diversos fatores, tais como a abundância deste elemento no organismo, maior sensibilidade do próton em relação aos outros núcleos, e devido à possibilidade de realização da técnica com a mesma bobina utilizada para adquirir as imagens convencionais de RM (Kuzniecky, 2004).

Apesar de ainda pouco explorada, a espectroscopia de fósforo por ressonância magnética (^{31}P -ERM), por sua vez, fornece informações singulares e privilegiadas sobre o estado bioenergético, a composição da membrana celular, o pH tecidual, e a concentração de Mg^{2+} , que não podem ser obtidas com outras técnicas convencionais ou espectroscópicas.

Todavia, este método ainda não é muito disseminado no meio radiológico porque é preciso que o equipamento de RM esteja preparado para trabalhar na frequência de ressonância do ^{31}P , e também é necessária uma bobina específica para detecção do sinal do mesmo (Avdievich e Hetherington, 2007; Manuel et al., 2010). Além disso, conforme explicado a seguir, a aquisição da ^{31}P -ERM ainda é muito mais demorada, o que dificulta a sua realização nos dias atuais.

Conforme listado na Tabela 3, podemos observar que, à semelhança do núcleo de hidrogênio, o ^{31}P também representa um núcleo com *spin* nuclear de $\frac{1}{2}$ capaz de produzir um sinal de RM. No entanto, devido às

características físicas do núcleo de ^{31}P (por exemplo, maior massa), a razão giromagnética (indicadora do tamanho da interação entre o núcleo e o campo magnético do aparelho de RM), é aproximadamente 2,5 vezes menor do que para o núcleo de ^1H . Isto resulta numa frequência de ressonância menor - 51,7 MHz comparado com 127,7 MHz num campo de 3,0 T - e numa sensibilidade muito menor, de apenas 6,6% quando comparado ao sinal de ^1H (de Graaf, 1998).

Tabela 3 - Características com relação ao sinal de RM dos núcleos de hidrogênio (^1H) e fósforo (^{31}P)

Núcleo	<i>Spin</i> nuclear	Constante giromagnética [MHz/T]	Frequência de precessão em 3T [MHz]	Abundância natural do isótopo [%]	Sensibilidade relativa [%]
^1H	1/2	42,571	127,7	99,98	100
^{31}P	1/2	17,235	51,7	100	6,6

Nota: Adaptado da referência De Graaf, 1998

Estes fatores implicam que, para obter um espectro de ^{31}P de qualidade comparável aos espectros de ^1H , é necessário repetir a mesma aquisição repetidas vezes para poder aumentar a relação sinal-ruído do espectro, o que resulta num tempo de aquisição muito mais prolongado. Outro fator que aumenta o tempo de exame é o tempo de relaxamento longitudinal (T1) longo para a maioria dos metabólitos detectados no espectro de ^{31}P (Blenman et al., 2007). Contrariamente, o tempo de relaxamento transversal (T2) dos metabólitos detectados na ^{31}P -ERM é extremamente curto, o que exige trabalhar com tempos de eco (TE) de

aquisição muito curtos para poder manter ainda uma relação sinal-ruído do espectro razoável. Cabe destacar também que a concentração dos metabólitos de fósforo (1 a 4 mM) é menor do que a dos metabólitos detectados na ^1H -ERM, o que dificulta ainda mais a obtenção de um espectro com suficiente sinal (Lara et al., 1993; de Graaf, 1998).

A principal desvantagem de trabalhar com valores de TE muito curtos é que é possível detectar também o indesejado sinal proveniente de macromoléculas com T2 curto, que se sobrepõe ao sinal dos metabólitos de interesse, dificultando assim sua quantificação. Além disso, com o aumento do TE, devido ao grande desvio químico do ^{31}P , há maior defasagem entre as diferentes ressonâncias no espectro, o que deve ser corrigido com correção de fase de primeira ordem, que está relacionada à frequência de amostragem (RBW, *receiver bandwidth*). A escolha do RBW também é influenciada pelo curto T2 dos metabólitos. Embora um RBW de 3000 Hz seja suficiente para estudar toda a região do espectro de interesse, muitas vezes o RBW é aumentado até 6000 Hz para adequá-lo ao rápido decaimento T2. O benefício de se utilizar um RBW alto é que os problemas de perigo de aquecimento do tecido (determinado pelo *specific absorption rate*, SAR) são reduzidos (Goo, 2010; Goodwill e Conolly, 2010).

Devido ao curto tempo de relaxamento transversal (T2) dos metabólitos de ^{31}P , as técnicas comumente utilizadas para obtenção do espectro de ^1H baseadas na formação de um eco, como STEAM (modo de aquisição através de ecos estimulados - *stimulated echo acquisition mode*) e

PRESS (espectroscopia com resolução pontual - *point resolved spectroscopy*), não são recomendadas na aquisição do espectro de ^{31}P . Estas técnicas exigem um TE mínimo em torno de 8 a 20 ms, o que resultaria numa grande perda de sinal por causa do relaxamento transversal para a maioria dos metabólitos. Por este motivo, utilizam-se mais comumente as técnicas de ISIS (*image selected in vivo spectroscopy*) ou a de *pulse acquire* (aquisição direta do sinal do FID logo após o pulso de radiofrequência), que permitem a obtenção do sinal com TE mínimo em torno de 300 μs (Ordidge et al., 1986; Kegeles et al., 1998).

Na técnica de ISIS, a localização de um corte é realizada através da aquisição de dois FIDs, um gerado após aplicação de pulso de 180° seletivo para uma dimensão e o outro gerado sem a aplicação prévia deste pulso. A subtração destes dois sinais corresponde ao sinal de um único corte (1D-ISIS). Para a localização de um volume (3D-ISIS), é necessário a aquisição de 8 FIDs, cuja diferença será se o pulso seletivo de 180° numa determinada direção é aplicado ou não, o que resulta em 8 combinações diferentes. Na prática, em vez de se trabalhar com subtração posterior dos sinais, os mesmos são adquiridos com fases alternadas ("*phase cycling*"), e só o sinal de interesse é registrado (Lawry et al., 1989).

A desvantagem do ISIS é que, por se tratar de uma seleção do volume de interesse baseada na subtração de vários sinais, é muito sensível a artefatos de movimento, o que é ainda mais crítico na ^{31}P -ERM, cujos tempos de aquisição são mais longos. Também, como são utilizados pulsos

de inversão, a técnica se torna sensível ao T1 dos metabólitos, caso o TR não seja suficientemente longo para permitir completo relaxamento longitudinal de todos os metabólitos. No caso de ^{31}P -ERM em alto campo magnético (3,0 T ou superiores), a situação de incompleto relaxamento longitudinal é muito comum, por causa dos tempos T1 extremamente longos dos metabólitos. Por isto, fala-se em que o espectro ISIS sofre de efeitos de contaminação T1 (T1 *smearing*), que por sua vez dependem do T1 do metabólito em relação ao TR, da inomogeneidade do campo, e da ordem das combinações de pulsos seletivos aplicados (Burger et al., 1992).

Por outro lado, a técnica de *pulse acquire* permite apenas a seleção de um corte, e não a de um volume, motivo pelo qual não é indicada para o estudo de estruturas menores. No entanto, quando combinada com aquisição 2D ou 3D do espectro (aquisição de múltiplos volumes de interesse ou *voxels*), pode ser utilizada também para avaliação de volumes menores.

Os metabólitos apresentam-se na curva espectral como picos únicos, duplos, triplos ou múltiplos. O que gera a divisão de um sinal de ressonância em dois ou mais picos no espectro é a interação conhecida como acoplamento "J" (*"J" coupling*) entre núcleos adjacentes na mesma molécula. De acordo com a orientação do *spin* magnético vizinho (*spin* paralelo ou antiparalelo), o núcleo observado pode apresentar uma energia (frequência de ressonância) maior ou menor. Como a probabilidade do átomo vizinho estar paralelo ou antiparalelo é praticamente igual, o sinal de ressonância do

núcleo observado acaba sendo dividido equitativamente entre as duas energias (duas frequências de ressonância), efeito conhecido como "*J*" *splitting*. O resultado no espectro é que, em vez de um pico único, são observados dois picos com a metade de intensidade do que corresponderia ao pico original único. Ou seja, quando presente, o efeito de acoplamento "*J*" diminui o sinal de um metabólito, e acaba comprometendo a sensibilidade do espectro ao mesmo (Jensen et al., 2002).

O efeito do acoplamento "*J*" no espectro pode ser diminuído ou completamente cancelado, se durante a aquisição do sinal, o núcleo causador deste efeito for irradiado através de um segundo canal de radiofrequência. Esta técnica de irradiação por um segundo canal para reduzir o efeito de acoplamento "*J*" é conhecida como técnica de *decoupling* (Gonen et al., 1997).

A ^{31}P -ERM *in vivo* apresenta dois picos duplos e um pico triplo provenientes da molécula de ATP (Jung et al., 1997). No entanto, nesse caso o que está causando o acoplamento "*J*" é a interação de um núcleo de ^{31}P com outro núcleo de ^{31}P , o que impede diminuir este efeito através de *decoupling* na frequência de ^1H . No entanto, observa-se que a interação entre ^{31}P e ^1H nas mesmas moléculas, ou mesmo com a água adjacente, é grande o suficiente para causar um alargamento dos picos observados no espectro de ^{31}P . Este efeito é especialmente importante para os picos de fosfodiésteres (Figura 8), mas também pode ter efeito em menor intensidade sobre os outros picos (Arias-Mendoza et al., 1996; Potwarka et al., 1999).

Figura 8 - Ampliação da região de interesse do espectro de ^{31}P -ERM evidenciando, da esquerda para a direita: fosfomonoésteres (PME), fosfato inorgânico (Pi), fosfodiésteres (PDE) e fosfocreatina (PCr). **(A)** Espectro sem e **(B)** com o uso de *decoupling* e *nuclear Overhauser enhancement* (nOe), através de irradiação pelo canal de ^1H . Pode ser observado como os picos de PME e PDE, marcados com as setas no espectro **A**, afinam e aumentam no espectro **B**, evidenciando, na região do PDE, a presença de glicerofosfoetanolamina (GPE) e glicerofosfocolina (GPC)

O efeito de *decoupling* é ajustado através de dois parâmetros principais: o *offset* da frequência de irradiação pelo segundo canal (canal de ^1H); e a potência do pulso. Observando-se a estrutura dos metabólitos presentes no ^{31}P -ERM do cérebro, pode ser notado que para todas as moléculas, com exceção da fosfocreatina, o acoplamento ^{31}P - ^1H mais importante acontece sempre entre o átomo de fósforo e grupos de $-\text{O}-\text{CH}_2$, que no espectro de ^1H apresentam ressonância na faixa de 3,8 a 4,3 ppm. Por isto, o *offset* do pulso de *decoupling* deve ser ajustado para uma

frequência de cerca de 100 Hz num campo de 3,0 T (Govindaraju et al., 2000; Barker et al., 2001).

A potência do pulso de *decoupling* tem que ser suficientemente grande para gerar o efeito desejado. Na prática, muitas vezes, as limitações relacionam-se à potência por causa do limite do SAR, uma vez que é necessário irradiar durante todo o tempo da amostragem. Assim, as restrições vão ser maiores quanto maior o número de pontos amostrados (*number of points*), menor a frequência de amostragem (RBW), maior a potência do campo magnético, e menor o TR (Wang et al., 2007; Collins, 2009).

Através de irradiação prévia do núcleo de ^1H , é possível transferir parte da energia absorvida pelos núcleos de ^1H para os núcleos de ^{31}P , e com isto aumentar o sinal de base proveniente dos núcleos de ^{31}P . Este efeito é conhecido como *nuclear Overhauser enhancement* (nOe). A intensidade do sinal de base que pode ser aumentada depende da relação das constantes giromagnéticas do núcleo irradiado e do núcleo observado, dos tempos de relaxamento dos núcleos, e do método de irradiação utilizado. O efeito de nOe também se produz quando trabalhamos apenas com pulsos de *decoupling* (uma vez que os *spins* de ^1H absorvem energia que pode ser transferida para os *spins* de ^{31}P), e pode se converter em mais um fator de variação, comprometendo a reprodutibilidade do método (Beierbeck et al., 1976; Li et al., 1996; Weber-Fahr et al., 2003). Por isto, é recomendado que sempre que se aplique a técnica de *decoupling*, os

núcleos ^1H sejam irradiados antes da aquisição do espectro de ^{31}P , para causar um efeito de nOe maior e mais controlado (Figura 8).

As aquisições espectroscópicas se beneficiam do uso de campos magnéticos cada vez maiores, que aumentam a sensibilidade do exame e a resolução espectral, com incrementos no mínimo lineares da relação sinal-ruído. Por outro lado, também há um aumento das distorções do campo relacionados aos efeitos de susceptibilidade magnética, que podem ser minimizados com o procedimento de homogeneização (*shimming*), realizado na fase de preparação do exame com o objetivo de incrementar a homogeneidade do campo magnético (Juchem et al., 2006; Hetherington et al., 2006, 2010)

Para atingir uma resolução espacial que permita avaliação de múltiplas regiões do encéfalo e ofereça ainda suficiente razão sinal-ruído, o ideal é trabalhar com aquisição tridimensional (3D), com pulso de radiofrequência adiabático e não-seletivo, onde a codificação espacial é feita com aplicação de gradientes de codificação de fase. A grande limitação para atingir melhor resolução espacial com suficiente razão sinal-ruído é o tempo de exame. Num espectro 3D, o tempo de exame é dado pela matriz x número de cortes x TR x número de excitações (Gao et al., 2006; Blenman et al., 2007; Ulrich et al., 2007; Andronesi et al., 2010).

Em contrapartida, apesar da necessidade de ajustes em múltiplos parâmetros e dos desafios técnicos para a realização da ^{31}P -ERM, há

também vantagens desta modalidade de espectroscopia. Uma facilidade da ^{31}P -ERM, comparativamente à ^1H -ERM, é que por não apresentar sinal de água, não há necessidade da aplicação de métodos de saturação. A ressonância proveniente dos prótons da água cria dificuldades técnicas, já que o sinal da água chega a ser na ordem de milhares de vezes superior ao dos demais metabólitos (Castillo et al., 1996). Para a saturação da água ser satisfatória na ^1H -ERM, é necessário ter uma boa homogeneização do campo ao longo do volume estudado. Como na ^{31}P -ERM não é necessário saturar nenhum sinal, o volume a ser estudado pode ser um pouco inhomogêneo sem ainda comprometer o resultado do espectro. Com isto, também se torna mais fácil a realização de espectroscopia tridimensional.

Uma outra prerrogativa favorável da ^{31}P -ERM é que esta apresenta uma grande dispersão de desvio químico ("*chemical shift*"), em torno de 30 ppm (partes por milhão) ou 2000 Hz (3,0 T). Isto contribui para uma boa resolução espectral, com diferenciação satisfatória entre as diferentes ressonâncias no espectro e mais fácil identificação dos diversos metabólitos, descritos a seguir (Menuel et al., 2010).

3.4.2 METABÓLITOS AVALIADOS

O grande interesse na ^{31}P -ERM reside no papel que as moléculas fosforiladas desempenham na bioquímica cerebral, metabolismo energético,

e composição de membranas celulares. Três tipos principais de informações podem ser obtidos com este exame. A primeira está relacionada ao *pool* energético propriamente dito, com as ressonâncias de fosfocreatina (PCr), fosfato inorgânico (Pi) e os 3 isotopômeros de adenosina trifosfato (α -, β - e γ -ATP). Em seguida, os fosfolipídios, representados pelos fosfomonoésteres (PME) e fosfodiésteres (PDE), informam sobre a síntese e degradação da membrana celular, respectivamente. Por último, é possível calcular o valor do pH intracelular e a concentração de magnésio (Mg^{2+}) no volume explorado a partir do desvio químico da PCr, Pi e β -ATP (Kuzniecky, 2004). A Figura 9 exibe um espectro do encéfalo com identificação dos principais metabólitos.

Figura 9 - Curva de ^{31}P -ERM com identificação dos picos para os seguintes metabólitos, da esquerda para a direita: PME (fosfomonoésteres), Pi (fosfato inorgânico), PDE (fosfodiésteres), PCr (fosfocreatina), e γ -, α - e β - ATP (adenosina trifosfato)

O ATP é um nucleotídeo trifosfato composto por adenosina (adenina + ribose) e três grupamentos fosfato: gama, alfa e beta. A ^{31}P -ERM é capaz de distinguir estes isotopômeros na forma de 3 picos distintos: um "duplete" γ -ATP, um "duplete" α -ATP e um "triplete" β -ATP (Menuel et al., 2010).

O ATP, um composto de fosfato altamente energético, presente em todos os organismos vivos, é a principal fonte de energia imediatamente disponível para as diversas atividades e funções celulares. O ATP é principalmente sintetizado na mitocôndria (Figura 10) a partir da fosforilação oxidativa do ADP (adenosina difosfato) catalisada pela enzima ATP-sintase, em menor extensão por mecanismos de glicólise, além da síntese a partir da reação mediada pela creatinoquinase (Boyer, 1999). A maior parte da energia proveniente do ATP é utilizada para bombear sódio (Na^+) e potássio (K^+) através do canal Na^+-K^+ ATPase ("bomba" de sódio) nas membranas celulares, colaborando para manutenção dos gradientes iônicos transmembrana e mantendo os ciclos de neurotransmissores, que determinam a atividade eletrofisiológica sustentada e a sinalização celular no cérebro (Du et al., 2008).

Um estudo multimodal de neuroimagem em primatas indicou que a ^{31}P -ERM é um método confiável para estimar a síntese de ATP, quando comparado com espectroscopia de carbono por RM ou tomografia por emissão de pósitrons (PET) com a injeção de ^{18}F fluorodeoxiglicose (Chaumeil et al., 2009).

Figura 10 - Representação esquemática da síntese do ATP (adenosina trifosfato) a partir da reação catalisada pela CK (creatinoquinase), que usa como substrato a PCr (fosfocreatina) e gera como subproduto a Cr (creatina). A síntese também decorre da atividade mitocondrial pela reação de fosforilação oxidativa mediada pela ATP-sintase, e em menor extensão por mecanismo de glicólise. O ATP, por sua vez, é degradado pela enzima ATPase, produzindo ADP (adenosina difosfato) e Pi (fosfato inorgânico). Adaptado da referência Manuel et al, 2010

O pico da PCr é o mais proeminente do espectro de ^{31}P do encéfalo e ressoa em zero ppm, sendo, portanto, a referência para a localização dos demais metabólitos. A PCr é uma molécula rica em energia, abundante no cérebro, servindo como um tampão para manter um nível constante de ATP e atender à demanda energética através da reação catalisada pela creatinoquinase (Wu et al., 2007), como ilustrado na Figura 10.

Os PME refletem a atividade anabólica das membranas celulares e seus principais constituintes são a fosfoetanolamina (PE) e a fosfocolina (PC), precursores da síntese de membranas. Os PDE indicam, por sua vez, o catabolismo de membranas, e são constituídos pelos seus produtos de degradação, a glicerofosfoetanolamina (GPE) e a glicerofosfocolina (GPC). Os PDE são um produto da atividade de enzimas fosfolipases e são convertidas em PME pela atividade da enzima fosfodiesterase. A relação PME/PDE é um indicador do *turnover* de membranas celulares, sendo representativa das mudanças na dupla camada fosfolipídica (Komoroski et al., 2008; Puri e Treasaden, 2009).

A função e a plasticidade cerebrais são dramaticamente influenciadas pelas propriedades físicas e químicas da membrana neuronal. Esta membrana é formada por um dupla camada de fosfolipídios (Figura 11), onde estão imersos receptores, canais iônicos e outras proteínas envolvidas na transdução do sinal e na manutenção da homeostase celular (Alberts et al., 2002). A estrutura de membrana celular determina a sua fluidez, assim como o número, densidade e afinidade dos receptores que modulam os mecanismos de sinalização. Adicionalmente, os fosfolipídios atuam como um substrato para a síntese de mediadores intra e intercelulares, o que favorece ainda mais a sua relevância no mecanismo de neurotransmissão (Farooqui et al., 1992; Horrobin, 1998; Shioiri et al., 2000; Rapoport, 2001).

Figura 11 - (A) Fotomicrografia eletrônica da membrana plasmática de uma célula humana vista em secção transversa. Desenhos esquemáticos bidimensionais (B) e tridimensionais (C) da membrana celular, formada por uma dupla camada de fosfolipídios, onde estão imersas moléculas de proteínas envolvidas na sinalização e transporte de íons. Adaptado de Alberts et al, 2002

O pico de fosfato inorgânico (Pi) ressoa entre os picos de PME e PDE, e está diretamente envolvido na síntese de ATP (Figura 10).

O desvio químico do Pi em relação ao pico de PCr (denominado δ_1) é utilizado para calcular o pH intracelular, de acordo com a fórmula abaixo (Petroff et al., 1985² apud Barker et al., 1999):

$$pH = 6,77 + \log_{10} \frac{\delta_1 - 3,29}{5,68 - \delta_1}$$

² Petroff OAC, Prichard JW, Behar KL, Alger JR, Denhollander JA, Shulman RG. Cerebral intracellular pH by P-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Neurology*. 1985;35(6):781-8.

O pH, ou potencial hidrogeniônico, é um índice que indica a acidez, neutralidade ou alcalinidade de um meio ou solução, relacionada à concentração de íons hidrogênio (Berg et al., 2002).

Se a concentração de íons H^+ for equivalente à concentração de bases hidroxila (OH^-) numa solução, diz-se que o pH é neutro. Desta forma, em água pura, a 25 °C, tem-se que:

$$pH = -\log [H^+] = \log 1 \frac{1}{[H^+]}$$

$$[H^+] = [OH^-] = 10^{-7} M$$

$$pH = -\log 10^{-7} = 7,0$$

O pH neutro, portanto, equivale a 7. Quanto mais baixo este valor, maior a acidez de uma solução, ao passo que quanto mais alto o valor, maior a alcalinidade, variando a escala de 0 a 14 (Figura 12).

Matematicamente, o pH é uma grandeza físico-química calculada em logaritmo de base 10, como visto nas fórmulas acima. Desta forma, mesmo uma pequena variação decimal pode indicar uma grande mudança na concentração de íons H^+ . Ou seja, uma mudança de um ponto na escala (por exemplo, de 7 para 8) reflete um aumento logarítmico de 10, enquanto que uma mudança de dois pontos (por exemplo, de 7 para 9) reflete um incremento de 100 vezes mais (Lodish et al., 2000).

A modulação do pH no cérebro humano é uma combinação enigmática de incontáveis mecanismos osmóticos e metabólicos que estão relacionados primariamente ao transporte e difusão de íons, sistemas-tampão, atividade de anidrases carbônicas e consumo energético (Xiong et al., 2006; Petroff et al., 2008).

Figura 12 - Ilustração da escala do pH, variando em tons de vermelho (acidez) a azul (alcalinidade). Os íons H^+ estão desenhados na cor vermelha e as bases OH^- estão representadas em círculos azuis, à direita. À esquerda, está a concentração de íons H^+ . Adaptado da referência Lodish et al, 2000

O papel dos íons H^+ é marcante tanto em estados fisiológicos, quanto patológicos. A regulação do pH em células neuronais e gliais é complexa e envolve vias multidirecionais, havendo indícios de que perturbações nos

ciclos do glutamato e do cálcio têm efeitos recíprocos no pH intracelular (Chesler, 2003; Yermolaieva et al., 2004).

O magnésio (Mg^{2+}), um cátion intracelular abundante, é um cofator crítico em mais de 300 reações enzimáticas que permitem à célula realizar transduções de sinal e sintetizar macromoléculas. Consequentemente, variações na concentração do Mg^{2+} podem afetar mecanismos regulatórios críticos e causar anormalidades metabólicas diversas (Iotti et al., 1996).

O Mg^{2+} citosólico livre (pMg) pode ser estimado *in vivo* por ^{31}P -ERM a partir do desvio químico do β -ATP (δ_β), que por sua vez depende da fração de ATP total ligada ao Mg^{2+} (Halvorson et al., 1992, Barker et al., 1999). Matematicamente, tem-se que:

$$pMg = 4,24 - \log_{10} \frac{(\delta_\beta + 18,58)^{0,420}}{(-15,74 - \delta_\beta)^{0,840}}$$

A tabela 4 mostra, resumidamente, os principais metabólitos obtidos com a ^{31}P -ERM, indicando a posição em que são identificados na curva espectral e o papel que cada um deles desempenha no metabolismo cerebral.

Tabela 4 - Resumo dos metabólitos identificados na ^{31}P -ERM, a posição no espectro em partes por milhão (ppm) e a função na fisiologia cerebral

Metabólito	ppm	Papel
Fosfomonoésteres - PME Fosfoetanolamina - PE Fosfocolina - PC	+6,5	Anabolismo de membranas
Fosfato inorgânico - Pi	+4,9	pH intracelular
Fosfodiésteres - PDE Glicerofosfoetanolamina - GPE Glicerofosfocolina - GPC	+2,6	Catabolismo de membranas
Fosfocreatina - PCr	0	Metabolismo energético
γ -ATP	-2,7	Metabolismo energético
α -ATP	-7,8	
β -ATP	-16,3	Mg^{2+}

Nota: Adaptado da referência Manuel et al, 2010

3.4.3 APLICAÇÕES

A ^{31}P -ERM tem sido utilizada na avaliação bioquímica e metabólica do coração (Aussedat et al., 1992; Marseilles et al., 1996), fígado (Bowers et al., 1992; Zakian et al., 2005; Sharma et al., 2009), músculo esquelético (Kemp et al., 2007; van Elderen et al., 2009; Lim et al., 2010), e cérebro (Holtzman et al., 1996, 1998; Bischof et al., 2004), em modelos humanos e animais.

Na investigação do cérebro humano, em particular, esta técnica tem evidenciado algumas peculiaridades fisiológicas no padrão de distribuição dos metabólitos de ^{31}P . Foi identificado aumento de PCr e PCr/ATP na substância cinzenta comparativamente à substância branca em estudos de ^{31}P -ERM com segmentação tecidual e análise de regressão linear (Mason et al., 1998; Hetherington et al., 2001). Um outro estudo apontou diferenças significativas nos valores de PME e PDE, sendo maiores na substância branca comparativamente à substância cinzenta (Buchli et al., 1994). Por outro lado, não parece haver diferenças significativas nas medidas do Pi, do pH intracelular e da concentração de Mg^{2+} entre as substâncias branca e cinzenta (Buchli et al., 1994; Mason et al., 1998). Apesar de não haver trabalhos de comparações específicas da variação dos metabólitos em diferentes regiões cerebrais, a maioria dos autores assumem que a especificidade tecidual (substâncias branca versus cinzenta) é mais importante do que a topografia do tecido (por exemplo, lobo occipital versus lobo frontal). Também não há indícios de variações entre as substâncias cinzentas cortical ou profunda (Hetherington et al., 2001).

Diversos autores também encontraram diferenças significativas na quantificação de vários metabólitos entre o cerebelo e o cérebro, além de valores significativamente mais altos de PCr e ATP no músculo esquelético (Buchli et al., 1994; Doyle et al., 1997; Hetherington et al., 2001). Desta forma, a quantificação dos metabólitos no parênquima cerebral pode sofrer variação significativa se houver contaminação da região de interesse com as

estruturas adjacentes, devendo-se, portanto, evitar a mensuração nas áreas periféricas, que podem sofrer contaminação com osso e músculos extracranianos superficiais, bem como nas porções mais inferiores, para evitar contaminação pelo parênquima cerebelar (Hetherington et al., 2001).

Evidências de estudos em animais e humanos indicam que a mitocôndria sofre modificações funcionais e morfológicas progressivas com o processo de envelhecimento (Bertoni-Freddari et al., 2004a, b; Schapira, 2006). Os achados mais consistentes de estudos que avaliaram o efeito do envelhecimento sobre a quantificação dos metabólitos com a ^{31}P -ERM foram aumento dos níveis de PCr e redução do pH intracelular. Também foram relatados redução de PME e aumento de PDE, decerto refletindo redução da síntese e aumento da degradação de membranas (Murashita et al., 1999; Rae et al., 2003; Forester et al., 2010). Estes trabalhos se correlacionam com estudos de ^1H -ERM que evidenciaram redução com a idade dos níveis de NAA, molécula também sintetizada na mitocôndria (Kadota et al., 2001; Moreno-Torres et al., 2005).

Num estudo de 34 voluntários sadios, não houve diferenças significativas entre os sexos feminino e masculino para nenhum dos metabólitos cerebrais quantificados com a ^{31}P -ERM (Forester et al., 2010).

Como o cérebro humano é altamente dependente da produção de energia em relação aos demais órgãos, não surpreende que as alterações energéticas estejam relacionados a diversas doenças cerebrais. A ^{31}P -ERM

tem sido utilizada na investigação de uma variedade de distúrbios neuropatológicos: esclerose múltipla (Husted et al., 1994; Steen et al., 2008), isquemia cerebral (Laptook et al., 1989; Levine et al., 1992; Helpers et al., 1993), migrânea (Ramadan et al., 1989; Lodi et al., 2001; Boska et al., 2002), e afecções neurodegenerativas diversas, tais como doença de Parkinson (Barbiroli et al., 1999), doença de Huntington (Hoang et al., 1998), e doença de Alzheimer (Smith et al., 1993; Pettegrew et al., 2001).

A ^{31}P -ERM também foi utilizada em diversos trabalhos para a determinação do perfil metabólico de tumores cerebrais. Os resultados indicaram diversas modificações bioquímicas em tipos histológicos variados, tais como meningiomas, adenomas hipofisários e tumores gliais (Heindel et al., 1988; Hubesch et al., 1990; Arnold et al., 1991). Apesar de algumas especificidades, os resultados mais consistentes apontam para uma tendência a alcalinização nos tumores cerebrais, com aumentos significativos nas medidas do pH, inclusive nos gliomas de baixo grau (Maintz et al., 2002; Manuel et al., 2010).

Entretanto, é no campo de investigação das doenças neuropsiquiátricas que a ^{31}P -ERM tem desempenhado um papel mais relevante. De fato, acredita-se que a membrana fosfolipídica desempenhe um papel importante nas principais hipóteses determinísticas destas doenças (Horrobin, 1998; Keshavan et al., 2003; Rzanny et al., 2003). Os trabalhos revelaram uma variedade de alterações, relacionadas principalmente com os fosfolipídios de membrana e medidas do pH

intracelular, em transtornos neuropsiquiátricos variados, tais como a esquizofrenia (Jensen et al., 2006; Smesny et al., 2007; Komoroski et al., 2008), transtorno de atenção/hiperatividade (Stanley et al., 2006, 2008), depressão (Pettegrew et al., 2002; Rzanny et al., 2003), e transtorno bipolar (Hamakawa et al., 2004).

A epilepsia é uma outra área de grande relevância para a investigação da bioquímica e do metabolismo cerebrais. De fato, a epilepsia humana tem se tornado um vasto campo de interesse para o desenvolvimento de pesquisas neurocientíficas, devido à sua grande relevância clínica e social, aos desafios terapêuticos implicados e à complexidade da doença.

A maioria dos trabalhos de ^{31}P -ERM em epilepsia foram direcionados ao estudo da esclerose mesial temporal (EMT). Estudos iniciais mostraram incrementos significativos do pH intracelular e do Pi no lobo temporal ipsilateral em pacientes com EMT (Laxer et al., 1992; der Grond et al., 1998). Um outro estudo, entretanto, desenvolvido em 4,1 T, não demonstrou diferenças significativas dos valores de pH no foco epileptogênico de pacientes com EMT (Chu et al., 1996). Apesar de alguns resultados controversos e nas diferenças metodológicas das pesquisas desenvolvidas, acredita-se que a ^{31}P -ERM se torne uma potencial ferramenta para a lateralização do foco epileptogênico, no monitoramento de tratamentos clínicos, na definição da extensão da ressecção cirúrgica, além de predizer o resultado pós-operatório (Simor et al., 1997; Pan et al., 1999; Hetherington et al., 2002, 2004).

As MDC também representam importante causa de epilepsia em seres humanos, e, conforme já discutido, estudos de ^1H -ERM evidenciaram alterações metabólicas nas lesões e no parênquima aparentemente normal destes pacientes (Kuzniecky et al., 1997; Li et al., 1998; Leite et al., 2007). Entretanto, até o momento, não há relatos na literatura de estudos de ^{31}P -ERM na avaliação destas lesões complexas e altamente epileptogênicas. Neste cenário, foi desenvolvido o presente estudo de investigação do perfil metabólico e energético dos pacientes com epilepsia causada por MDC.

4 Casuística e Métodos

4.1 CASUÍSTICA

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética para análise de projetos de pesquisa (CAPPesq) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), e o consentimento informado livre e esclarecido para participação foi obtido em todos os casos (Anexos A e B).

Esta pesquisa é parte integrante (subprojeto 2) do programa CInAPCe (Cooperação Interinstitucional de Apoio a Pesquisas sobre o Cérebro), apoiado e financiado pela FAPESP 05/56464-9.

Foi realizado estudo prospectivo, controlado, no período de outubro de 2009 a outubro de 2010. Foram avaliados 43 pacientes no Setor de Ressonância Magnética do Instituto de Radiologia - HC-FMUSP, provenientes do ambulatório de epilepsia do Instituto de Psiquiatria e do Instituto Central deste hospital.

Os critérios de inclusão foram:

- Epilepsia com diagnóstico prévio de MDC por exame de TC ou RM;
- Ausência de contraindicações à realização de RM;
- Possibilidade de colaboração para exame de RM sem sedação, exceto se houvesse necessidade de novo exame com sedação para planejamento terapêutico (dois casos).

Foram excluídos oito pacientes: sete casos em que o diagnóstico por imagem não foi conclusivo para MDC, e um caso com protocolo diferente dos demais exames.

As imagens estruturais de RM dos 37 pacientes incluídos no estudo foram cuidadosamente avaliadas por dois médicos neurorradiologistas (C.S.A. e E.J.P.). Com base na classificação das MDC mais comumente empregada (de Barkovich, 2005), os pacientes foram então subsequentemente agrupados em três categorias principais (Figura 13):

- 1 - Displasia cortical ou hemimegalencefalia (n=10; 27,0%)
- 2 - Heterotopia subcortical, em banda ou periventricular (n=14; 37,8%)
- 3 - Polimicrogiria e/ou esquizefalia (n=13; 35,1%)

Alguns pacientes apresentaram malformações mistas e complexas, mas apenas uma malformação mais representativa foi escolhida para o propósito de classificação e análise espectral.

Dezenove pacientes apresentaram envolvimento unilateral (51,3%) e oito relataram convulsões nas últimas 24 horas que precederam o exame (21,6%).

Os principais dados demográficos e achados de imagem dos pacientes estão apresentados pormenorizadamente no Anexo C.

Figura 13 - Gráfico representativo da distribuição dos 37 pacientes nos principais subgrupos de malformações do desenvolvimento cortical (MDC) incluídos no estudo. As legendas e rótulos de cores estão à direita do gráfico

Neste mesmo período de um ano, foram examinados com o mesmo protocolo 35 voluntários sadios sem história de distúrbios neurológicos pregressos e sem contraindicações ao exame de RM. Foram excluídos do grupo-controle quatro indivíduos com achados incidentais de imagem (um caso de ventriculomegalia, um caso de aneurisma de artéria cerebral anterior, um caso de gliose do lobo frontal, e um caso de lesão cerebelar inespecífica). Todos estes pacientes foram encaminhados para avaliação e tratamento em ambulatórios especializados do HC-FMUSP.

O perfil demográfico dos controles é apresentado no anexo D.

Os grupos de pacientes e controles foram pareados por idade, sexo e nível educacional (Tabela 5).

Tabela 5 - Características demográficas dos grupos de pacientes e controles

Características	Pacientes (n = 37)	Controles (n = 31)
Idade*		
Média	29,5	28,8
Variação	9 - 55	11 - 57
Sexo		
Feminino	20 (54,1%)	19 (61,3%)
Masculino	17 (45,9%)	12 (38,7%)
Nível educacional**	9,4	11

Nota: Medido em *anos de idade e **número de anos estudados do ensino fundamental à universidade

As normas de segurança estabelecidas no Serviço para realização de exames de RM foram seguidas em todos os casos. Foram adotados como critérios de exclusão para todos os indivíduos quaisquer contraindicações absolutas para a realização de estudo de RM, tais como uso de marcapasso, implante coclear ou clipe de aneurisma. Também não foi realizado o exame de uma voluntária com possibilidade de gestação, nem de um voluntário cujo peso excedeu o limite máximo recomendado pelo fabricante do aparelho de RM.

4.2 MÉTODOS

Todos os exames de RM foram realizados em aparelho de alto campo magnético - 3,0 Tesla (Philips, Best, The Netherlands), em duas fases:

- 1) Fase estrutural (RM convencional)
- 2) Fase metabólica (espectroscopia de fósforo)

Os indivíduos foram instruídos a permanecer com a cabeça imóvel durante a realização do exame e um sistema de contenção leve (fita adesiva na frente e almofadas laterais) foi aplicado para contribuir para a imobilização do segmento cefálico durante todo o tempo de aquisição das imagens, sem causar desconforto.

4.2.1 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA CONVENCIONAL

4.2.1.1 AQUISIÇÃO

Esta primeira etapa do protocolo foi realizada com a bobina de ^1H de cabeça de 8 canais (Philips, Best, The Netherlands).

Foi obtida sequência T1 FFE (*fast field echo*) tridimensional no plano sagital, com os seguintes parâmetros: TR (tempo de repetição) = 7 ms, TE

(tempo de eco) = 3,2 ms, TI (tempo de inversão) = 900 ms, *flip angle* = 8° e resolução isotrópica de 1 mm³.

A sequência FLAIR (*fluid-attenuated inversion recovery*) foi adquirida no plano axial, com os seguintes parâmetros: TR = 11.000 ms, TE = 130 ms, TI = 2.800 ms e espessura do corte de 4,5 mm.

As lesões dos pacientes foram identificadas e classificadas com base nestas imagens anatômicas. Os exames estruturais dos controles foram também avaliados para identificação de eventuais achados incidentais de imagem.

4.2.2 ESPECTROSCOPIA DE FÓSFORO

4.2.2.1 AQUISIÇÃO

A fase metabólica do protocolo foi realizada com a bobina de duplo-canal ³¹P/¹H de cabeça tipo gaiola (AIRI, Cleveland, EUA), mostrada na Figura 14.

Figura 14 - Bobina de duplo-canal $^{31}\text{P}/^1\text{H}$ de cabeça tipo gaiola (AIRI, Cleveland, USA), utilizada na fase metabólica do exame para realização de ^{31}P -ERM

Uma sequência axial T1-FFE (*fast field echo*) foi obtida com TR = 7,6 ms, TE = 3,7 ms, *flip angle* = 8° e resolução isotrópica de 1 mm^3 , com reconstruções nos planos sagital e coronal. Estas imagens foram utilizadas para o posicionamento da grade de espectroscopia, centrada no plano mediosagital e com angulação orbitomeatal (Figura 15). Estes referenciais anatômicos garantiram localização consistente dos *voxels* entre os indivíduos estudados.

A ^{31}P -ERM foi adquirida com uma sequência *chemical shift imaging* tridimensional (3D-CSI), com TR = 5.090 ms, TE = 0,31 ms, FOV (*field of view*) = 175, 200, 120 mm (esquerda-direita, anterior-posterior e superior-inferior, respectivamente), *bandwidth* = 6.000 Hz e número de pontos =

1.024. Um procedimento de *shimming* automático foi realizado para minimizar inhomogeneidades do campo magnético. O valor máximo de *shimming* aceito para o exame foi de 35 Hz.

Figura 15 - Programação do exame em um paciente com uma extensa área de displasia cortical no hemisfério cerebral direito. Posicionamento da grade de ^{31}P -ERM nas imagens multiplanares ponderadas em T1-FFE, com uma matriz *multivoxel*, constituída por 6 cortes, 7 colunas e 8 linhas (caixa laranja), de acordo com referenciais anatômicos (centrada no plano mediosagital com angulação orbitomeatal). A caixa verde menor centrada na imagem corresponde à área de *shimming*. As barras de saturação azuis foram posicionadas para evitar artefatos de sobreposição das imagens sobre o volume de interesse

Uma sequência de aquisição de pulso foi obtida com pulso de radiofrequência adiabático e técnica de *broadband decoupling*, com *power factor* = 0,4 e *offset* = 100 Hz. Uma grade com múltiplos volumes de interesse (*multivoxel*) de 6 cortes, 7 coluna e 8 linhas incluiu todo o volume do encéfalo supratentorial em todos os indivíduos (Figura 15). Os *voxels*

individuais mediram 25 x 25 x 20 mm, com volumes nominais efetivos de 12,5 cm³.

Foi realizada uma sequência rápida de baixa resolução ponderada em T1 no plano axial (TR = 9,4 ms, TE = 4,6 ms, *flip angle* = 8°, espessura do corte = 6 mm) ao final do exame para assegurar que os indivíduos não moveram a cabeça durante a aquisição das sequências prévias.

O exame completo teve uma duração total de cerca de 56 minutos, sendo 11 minutos para a RM convencional e 45 minutos para a segunda fase (incluindo 36 minutos para aquisição da ³¹P-ERM), tendo sido bem tolerado por todos os indivíduos estudados.

4.2.2.2 PROCESSAMENTO

Para cada paciente, foi escolhido um único volume de interesse (*voxel*) dentro da lesão mais visível e representativa da malformação, porém sempre evitando os *voxels* nos cortes mais superiores próximos ao vértice craniano, bem como os *voxels* mais inferiores próximos à base do crânio. Também não foram selecionados *voxels* até 5 cm distantes das margens laterais da matriz para evitar contaminação pela calota óssea e músculos extracranianos.

Para a comparação com as lesões dos pacientes, foi escolhido em todos os indivíduos do grupo-controle um voxel no córtex frontoparietal parassagital (voxel 192). A numeração dos voxels foi obtida a partir da contagem progressiva com início no corte mais inferior. Tanto os voxels representativos das lesões nos pacientes como os voxels selecionados para comparação nos controles foram constituídos predominantemente de substância cinzenta (Figura 16).

Figura 16 - Escolha dos voxels (em amarelo) no controle (A) e no paciente (B) sobre a grade de ^{31}P -ERM (em vermelho). No controle (A), o voxel foi sempre escolhido no córtex frontoparietal parassagital (voxel 192). Neste paciente (caso 14), com heterotopia subcortical e periventricular bilateral nos lobos frontal e parietal, mais extensa à direita nos demais cortes (não mostrados), foi escolhido um voxel mais representativo da lesão (B)

A análise do parênquima aparentemente normal foi feita em 5 regiões cerebrais: região nucleocapsular direita, região nucleocapsular esquerda, córtex frontoparietal parassagital, centro semioval direito e centro semioval

esquerdo (*voxels* 142, 144, 192, 198 e 200, respectivamente). Foram excluídos nos pacientes os *voxels* que contivessem lesão. Nos controles, foram selecionados *voxels* homólogos para comparação (Figura 17).

Figura 17 - Escolha dos *voxels* sobre a grade de ^{31}P -ERM (em vermelho) para avaliação do parênquima aparentemente normal. Imagens de um indivíduo controle (**A** e **B**) exibem os *voxels* nas cinco regiões cerebrais escolhidas (em amarelo): nucleocapsular direita (142), nucleocapsular esquerda (144), córtex frontoparietal parassagital (192), centro semioval direito (198) e centro semioval esquerdo (200)

Os dados brutos da ^{31}P -ERM dos *voxels* selecionados foram processados *offline* com o *software* de domínio público MRUI (*Magnetic Resonance user-interface*) (Naressi et al., 2001). Para a análise, foi utilizado um método avançado de quantificação dos dados espectrais no domínio do tempo, denominado algoritmo AMARES - *advanced method for accurate, robust and efficient spectral fitting* (Vanhamme et al., 1997).

As etapas de pós-processamento incluíram anulação (*truncation*) dos dois primeiros pontos de dados, que foram descartados para reduzir os efeitos de distorção da linha de base produzidos pelos componentes de macromoléculas. Conhecimento prévio (*prior knowledge*) foi estabelecido para manter os parâmetros físicos constantes: limites de larguras de pico, desvios químicos e acoplamento "J" (Hamilton et al., 2003b). Correções de ordem-zero e ordem-primeira foram aplicadas para convergência espectral da curva. A qualidade desta etapa foi verificada pela ausência de sinais residuais (Figura 18). As etapas automáticas foram idênticas para todos os *voxels*, tanto de pacientes como de controles.

Figura 18 - Curvas espectrais obtidas após a convergência espectral e etapas de pós-processamento utilizando o programa MRUI. As curvas correspondem, de baixo para cima, ao espectro original, curva estimada, ajustes individuais para cada metabólito, e espectro residual (diferença entre a curva original e os componentes individuais)

O valor absoluto de cada metabólito foi quantificado, e as amplitudes foram divididas pela soma dos valores de todos os metabólitos. Os picos dos seguintes metabólitos foram identificados: fosfoetanolamina (PE), fosfocolina (PC), glicerofosfocolina (GPC), glicerofosfoetanolamina (GPE), fosfato inorgânico (Pi), fosfocreatina (PCr), e α -, β -, e γ -adenosina trifosfato (ATP). Também foram calculados o valor de ATP total (ATP_t, soma de α -, β -, e γ -ATP), fosfomonoésteres (PME, soma de PE e PC), e fosfodiésteres (PDE, soma de GPE e GPC), assim como as relações PME/PDE, PCr/ATP_t e PCr/Pi.

Com base nos algoritmos matemáticos previamente descritos, os valores de pH foram obtidos usando a diferença do desvio químico entre as ressonâncias do Pi e PCr. Os níveis de Mg^{2+} foram calculados a partir do desvio químico entre o β -ATP e a PCr (Iotti et al., 1996; Barker et al., 1999; Iotti e Malucelli, 2008).

Todos os voxels foram contados e selecionados pela pesquisadora executante deste trabalho (C.S.A.), que também acompanhou pessoalmente a realização de todos os exames. A quantificação dos dados foi feita por uma física experiente em processamento espectral (M. C. G. O.) e por uma médica neurorradiologista (C.S.A.) treinada para o uso do programa.

5 Análise Estatística

As comparações das medidas centrais dos dados entre os grupos de pacientes e controles foram feitas com teste paramétrico *t* de *Student* e teste não-paramétrico de Mann-Whitney. O teste *t* foi aplicado para as medidas cuja suposição de normalidade não foi rejeitada. Caso contrário, utilizou-se o teste de Mann-Whitney.

Para a avaliação do pH em subgrupos de MDC, foram utilizados a análise de variâncias corrigidas para medidas repetidas (ANOVA) e o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Os testes paramétrico de Dunnett e não-paramétrico de Dunn foram aplicados para análise dos valores de pH nas três categorias individuais de MDC.

Um valor de probabilidade $p < 0,05$ (nível de significância de 5%) foi considerado estatisticamente significativo em todas as comparações.

A relação entre o tempo da última crise epilética e os valores de pH e Mg^{2+} foi realizada com os testes de correlação de Spearman e de Pearson, respectivamente.

As análises estatísticas foram realizadas com a versão 17.0.1 do *software* SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL).

6 Resultados

6.1 ANÁLISE DA LESÃO

Para a análise da lesão, foram incluídos 37 pacientes com MDC e 31 controles. Foi realizada análise das medidas centrais dos resultados da quantificação do pH, concentração de Mg^{2+} , fosfatos de alta energia e fosfolipídios de membrana nos voxels escolhidos sobre a lesão (Anexo E1), comparativamente aos voxels no córtex frontoparietal parassagital dos controles (Anexo F1).

A Tabela 6 mostra os resultados para as medidas do pH intracelular e concentração de Mg^{2+} . As áreas afetadas por MDC tiveram valores significativamente menores de pH e maiores de Mg^{2+} ($p < 0,001$ e $p = 0,018$, respectivamente).

Tabela 6 - Resultados da comparação dos valores de pH e Mg^{2+} entre as lesões dos pacientes com MDC e o grupo-controle. Valor de p significativo em vermelho

pH e Mg^{2+}	Pacientes (n = 37)		Controles (n = 31)		Valor de p
	Média	DP	Média	DP	
pH	7,001	0,041	7,087	0,048	$p < 0,001^*$
Mg^{2+}	0,145	0,035	0,126	0,029	$p = 0,018^{**}$

Nota: DP = desvio-padrão; pH: potencial hidrogeniônico; Mg^{2+} : magnésio; valor de p obtido com o *teste de Mann-Whitney e com o **teste t de Student

As médias dos valores de pH também foram calculadas nas três categorias principais de MDC (Figura 19): 6,993 no subgrupo de displasia cortical e hemimegalencefalia (n =10); 7,008 no subgrupo de heterotopia (n = 14); e 6,996 no subgrupo de esquizecefalia e polimicrogiria (n = 13). A diferença do valor de pH permaneceu significativa ($p < 0,001$) em comparações múltiplas (teste de Kruskal-Wallis) e de subgrupos individuais (teste de Dunn) nas 3 categorias principais de lesões, comparativamente ao grupo-controle.

Figura 19 - Gráfico representativo dos valores médios de pH (potencial hidrogeniônico) nas três categorias principais de malformações do desenvolvimento cortical (MDC) e nos controles. As legendas e rótulos de cores são exibidos na coluna à direita

Também foi estudada a influência do tempo da última crise epiléptica sobre os valores de pH e Mg^{2+} . Os pacientes que relataram convulsão nas 24 horas precedentes ao exame de RM ($n = 8$) foram separados do grupo de pacientes em que a crise epiléptica mais recente havia sido há mais de 24 horas do exame ($n = 29$). Não houve correlação entre o tempo da crise epiléptica e os valores de pH e Mg^{2+} , conforme calculado com os testes de Spearman ($r = 0,014$; $p > 0,05$) e de Pearson ($r = 0,068$; $p > 0,05$), respectivamente (Tabela 7).

Tabela 7 - Resultados da relação entre o tempo da última convulsão e os valores de pH e Mg^{2+} nas lesões dos pacientes com MDC

pH e Mg^{2+}	r	Valor de p
pH	0,008	0,964*
Mg^{2+}	0,068	0,691**

Nota: pH: potencial hidrogeniônico; Mg^{2+} : magnésio; valores de r obtidos com o *teste de Spearman e com o **teste de Pearson

A Tabela 8 exibe os resultados para as comparações dos fosfatos de alta energia. Não houve diferenças estatisticamente significativas para as medidas absolutas dos metabólitos (PCr, Pi, ATP_t), nem para as relações PCr/ATP_t e PCr/Pi.

Tabela 8 - Resultados da comparação dos valores dos fosfatos de alta energia entre as lesões dos pacientes com MDC e o grupo-controle

Metabólitos e razões	Pacientes (n = 37)		Controles (n = 31)		Valor de <i>p</i>
	Média	DP	Média	DP	
PCr	0,197	0,021	0,190	0,020	<i>p</i> = 0,114
Pi	0,090	0,015	0,085	0,013	<i>p</i> = 0,181
ATP_t	0,297	0,032	0,294	0,030	<i>p</i> = 0,652
PCr/ATP_t	0,675	0,129	0,658	0,133	<i>p</i> = 0,599
PCr/Pi	2,276	0,569	2,298	0,510	<i>p</i> = 0,871

Nota: DP = desvio-padrão; PCr: fosfocreatina; Pi: fosfato inorgânico; ATP_t: adenosina trifosfato total; valores de *p* obtido com o teste *t* de *Student*

A Tabela 9 exibe os resultados das comparações de fosfolipídios de membranas entre os pacientes e os controles. Houve redução dos valores de GPC (*p* = 0,003) e PDE (*p* = 0,003) nas lesões dos pacientes, comparativamente aos controles. O GPE, também um componente do PDE, foi menor nos pacientes, com diferença marginalmente significativa (*p* = 0,062). A razão PME/PDE, um índice que reflete o *turnover* de membranas, estava aumentado nas MDC (*p* = 0,036).

Tabela 9 - Resultados da comparação dos valores dos fosfolipídios de membranas entre as lesões dos pacientes com MDC e o grupo-controle. Valor de p significativo em vermelho, e com tendência à significância estatística em azul

Metabólitos e razões	Pacientes (n = 37)		Controles (n = 31)		Valor de p
	Média	DP	Média	DP	
PE	0,133	0,024	0,127	0,020	$p = 0,255$
PC	0,046	0,014	0,049	0,009	$p = 0,205$
GPE	0,080	0,016	0,087	0,012	$p = 0,062$
GPC	0,121	0,016	0,133	0,016	$p = 0,003$
PME	0,179	0,024	0,176	0,024	$p = 0,638$
PDE	0,201	0,027	0,220	0,023	$p = 0,003$
PME/PDE	0,907	0,184	0,815	0,171	$p = 0,036$

Nota: DP = desvio-padrão; PE: fosfoetanolamina, PC: fosfocolina; GPE: glicerofosfoetanolamina; GPC: glicerofosfocolina; PME: fosfomonoéster, PDE: fosfodiéster; valores de p obtidos com o teste t de *Student*

6.2 ANÁLISE DO PARÊNQUIMA APARENTEMENTE NORMAL

A análise do parênquima aparentemente normal foi feita em cinco regiões cerebrais homólogas em pacientes e controles: região nucleocapsular direita (voxel/ 142), região nucleocapsular esquerda (voxel/ 144), córtex frontoparietal parassagital (voxel/ 192), centro semioval direito (voxel/ 198), e centro semioval esquerdo (voxel/ 200). Os resultados da

quantificação dos metabólitos estão apresentados nos Anexos E2 a E6 (grupo de pacientes) e nos Anexos F1 a F5 (grupo de controles). Foram excluídos da análise os voxels nos pacientes que apresentaram lesões.

Não houve diferenças significativas para nenhum dos metabólitos, tampouco para as medidas de pH intracelular e Mg^{2+} nas regiões nucleocapsulares direita ou esquerda. Foi encontrada uma diferença significativa dos valores de pH no parênquima aparentemente normal no córtex frontoparietal parassagital e nos centros semiovais direito e esquerdo dos pacientes, comparativamente aos controles (Tabela 10).

Tabela 10 - Resultados da comparação dos valores de pH entre os pacientes com MDC e o grupo-controle em cinco regiões cerebrais com parênquima aparentemente normal. Valor de *p* significativo em vermelho

Voxel	Pacientes (n = 37)		Controles (n = 31)		Valor de <i>p</i>
	Média	DP	Média	DP	
142	6,914	0,033	7,007	0,046	<i>p</i> = 0,621
144	7,011	0,040	6,995	0,043	<i>p</i> = 0,170
192	6,985	0,022	7,087	0,048	<i>p</i> < 0,001*
198	7,004	0,029	7,096	0,042	<i>p</i> < 0,001
200	6,995	0,030	7,088	0,045	<i>p</i> < 0,001

Nota: DP = desvio-padrão; pH: potencial hidrogeniônico; voxel/ 142: região nucleocapsular direita; voxel/ 144: região nucleocapsular esquerda; voxel/ 192: córtex frontoparietal parassagital; voxel/ 198: centro semioval direito; voxel/ 200: centro semioval esquerdo. Valor de *p* obtido com o *teste de Mann-Whitney, demais valores de *p* obtidos com o teste *t* de Student

Para a análise do pH, também foram utilizados os testes ANOVA e Kruskal-Wallis para múltiplos subgrupos, e os testes de Dunnett e Dunn em categorias individuais de MDC: subgrupo 1 - displasia cortical e hemimegalencefalia (n=10); subgrupo 2 - heterotopia (n = 14); e subgrupo 3 - esquizefalia e polimicrogiria (n = 13). As diferenças dos valores de pH permaneceram com nível de significância menor que 5% ($p < 0,05$) no córtex frontoparietal parassagital e nos centros semiovais direito e esquerdo (voxels 192, 198 e 200, respectivamente) nos três subtipos de malformações (Figura 20).

Os pacientes também foram categorizados de acordo com o tempo da última crise epiléptica, com ponto de corte em 24 horas. Foram aplicados os mesmos testes acima, e as diferenças permaneceram estatisticamente significativas ($p < 0,001$) nos dois grupos. Ou seja, não houve efeito de crises epiléticas recentes sobre os valores de pH.

Os resultados deste trabalho foram submetidos à publicação na revista científica *Epilepsia*, de grande interesse para epileptologistas e neurorradiologistas, estando em fase final de revisão (Anexo G).

Uma revisão detalhada sobre os diversos tipos de malformações corticais e o papel atual das técnicas avançadas de RM no estudo destas lesões também poderá ser consultado em artigo de nossa autoria, já publicado (Anexo H).

Figura 20 - Gráficos *box-plot*. Comparações da média dos valores de pH (potencial hidrogeniônico) no parênquima aparentemente normal, nos seguintes locais: **(A)** voxel 192, córtex frontoparietal parassagital; **(B)** voxel 198, região nucleocapsular direita; e **(C)** voxel 200, região nucleocapsular esquerda. 0 = grupo-controle; 1 = displasia cortical e hemimegalencefalia; 2 = heterotopia; 3 = polimicrogiria e esquizencefalia. Em todos os gráficos, houve diferença significativa entre os subgrupos de pacientes comparativamente ao grupo-controle, sem sobreposição de valores

7 Discussão

A ^{31}P -ERM tem sido útil na caracterização do metabolismo cerebral em estados fisiológicos e patológicos. No presente trabalho, relatamos novas evidências de disfunções metabólicas e bioquímicas em pacientes com epilepsia causadas por malformações do desenvolvimento cortical (MDC).

Diversos grupos de pesquisa relataram valores de pH no cérebro humano na faixa de 6,96 a 7,11 (Patel et al., 2000; Bischof et al., 2004; Hamakawa et al., 2004). Esta variação pode ser devida às diferenças nas técnicas utilizadas para medir o pH cerebral nestes estudos (Hamilton et al., 2006). Contudo, nós utilizamos um método avançado de quantificação, e o valor médio do pH cerebral em indivíduos sadios relatado em nosso trabalho (7,08) é semelhante ao descrito em estudos prévios.

Nosso estudo revelou anormalidades na concentração de Mg^{2+} e nos níveis de pH intracelular nas MDC. Estes parâmetros obtidos com a ^{31}P -ERM são fundamentais na regulação do metabolismo energético (Garfinkel et al., 1986; Hamilton et al., 2006). O Mg^{2+} liga-se a grupamentos fosfato da molécula de ATP e modula as constantes de equilíbrio das enzimas ATP-sintase e creatinoquinase. O Mg^{2+} tem também um papel regulador importante dos canais de cálcio e da bomba Na^+/K^+ (Barker et al., 1999; Wary et al., 1999). Além disso, a modulação do pH é fundamental em mecanismos homeostáticos diferentes em células gliais e neuronais, incluindo o transporte de cálcio, tamponamento de íons, e *clearance* de produtos metabólicos (Chesler, 2003).

Neste estudo, foi encontrada acidificação nas MDC, com valor médio de 7,001 (DP = 0,041, $p < 0,001$). À primeira vista, a diferença em relação aos controles parece irrelevante, porém, como relatado anteriormente, mesmo pequenas modificações nos valores de pH podem ser importantes num contexto clínico. Também ressaltamos mais uma vez que o pH é medido em escala logarítmica, e, portanto, discretas alterações decimais estão associadas a grandes diferenças na concentração de íons (Lodish et al., 2000).

Embora não se saiba ao certo se as anormalidades metabólicas são causa ou consequência da atividade elétrica cerebral anormal, há evidências crescentes de que o metabolismo seja um fator-chave na fisiopatologia da epilepsia (Cavus, et al., 2005; Pan et al, 2005).

Apesar de as crises epiléticas serem multifatoriais, um princípio geralmente aceito é que as crises surgem quando há um desequilíbrio entre excitação e inibição no cérebro. Em condições normais, há mecanismos que facilitam o disparo neuronal normal e mecanismos de controle que protegem os neurônios de descargas excessivas de potenciais de ação. O desequilíbrio entre esses dois mecanismos pode levar à geração de crises, isto é, ictogênese (Scharfman, 2007; Silva e Cabral, 2008).

A ictogênese pode decorrer de anormalidades em diferentes níveis do sistema nervoso: alterações na concentração de íons e transporte de membranas, transdução de sinal entre redes neuronais locais e, por fim, conexões anormais de grandes circuitos cerebrais.

O controle do potencial de membrana neuronal está intimamente relacionado aos íons K^+ e Na^+ . Por exemplo, o aumento da concentração de K^+ extracelular facilita a despolarização dos neurônios. Em situações normais, a concentração desse íon é controlada pela atividade da bomba Na^+/K^+ e por carreadores presentes nos astrócitos. As constantes de equilíbrio destes transportadores de membrana voltagem-dependentes são, por sua vez, moduladas pela concentração de Mg^{2+} e pelo pH intracelular (Barker et al., 1999; Traub et al., 2004).

Diferentes métodos relataram aumento de lactato cerebral tanto no período interictal quanto no período pós-ictal imediato de pacientes com epilepsia (Simone et al., 1999; Cavus et al., 2005). Considerando-se que o pH tem correlação inversa com os níveis de ácido láctico (Viondury et al., 1994; Hamilton et al., 2003a), estes resultados corroboram os achados do presente estudo. Nossa suposição é que as crises epiléticas disparam gatilhos intracelulares de mecanismos diversos, determinantes da presença de lactato e subsequente acidificação. Inversamente, um microambiente cronicamente acidótico poderia perpetuar as condições que reduzem o limiar de excitabilidade, resultando em atividade epileptogênica.

O *clearance* de glutamato, glutamina e GABA (ácido γ -aminobutírico) é prejudicado em condições de metabolismo anormal, o que poderia ocasionar um estado hiperexcitável (Petroff et al., 2002; Wang et al., 2006). Por outro lado, também já foi demonstrado em modelos animais que as convulsões e o estresse oxidativo podem causar danos mitocondriais e

distúrbios metabólicos (Liang e Patel, 2006). Diversas conexões intercambiáveis e multidirecionais entre neurotransmissores, metabolismo cerebral e mecanismos autopropagáveis de atividade epilética foram descritos detalhadamente por Pan et al (2008).

Para a ocorrência de crises, é necessário que, além do aumento das descargas neuronais, haja também a sincronização de uma rede de neurônios. Tais conexões permitem um fluxo de baixa resistência de uma célula a outra, de modo que os neurônios acoplados são rapidamente sincronizados. Outro fenômeno gerador de sincronização envolve, paradoxalmente, os circuitos de inibição. Neurônios gabaérgicos, relacionam-se a mecanismos inibitórios e fazem conexões com várias células piramidais do córtex cerebral. Consequentemente, a descarga de um único neurônio pode simultaneamente hiperpolarizar uma população de células piramidais (Cobb et al., 1995, 1996).

A plasticidade cerebral que ocorre no cérebro de indivíduos com epilepsia, tal como o crescimento de colaterais axonais em neurônios excitatórios, pode resultar num ciclo vicioso em que há redução do limiar de excitabilidade. Nesses casos, admite-se que a lesão possa induzir uma reorganização dos circuitos cerebrais que, com o tempo, transforma-se em um foco gerador de descargas epiléticas, sendo este processo denominado epileptogênese (Silva e Cabral, 2008; Pitkanen e Lukasiuk, 2011).

Não houve correlação entre o tempo da última crise epilética e os valores de pH e Mg^{2+} em nosso estudo, e por isto nós acreditamos que estas

modificações refletem mais provavelmente anormalidades bioquímicas crônicas do que eventos agudos e isolados.

Na avaliação dos três subgrupos principais de MDC, em conjunto ou separadamente, as diferenças dos valores de pH permaneceram com nível de significância estatística $< 1\%$. Um estudo de ^1H -ERM evidenciou anormalidades metabólicas lesionais e perilesionais em todas as MDC avaliadas, porém também não houve características peculiares no padrão de anormalidades capazes de distinguir as malformações entre si (Mueller et al., 2005). Parece não haver padrões metabólicos específicos em diferentes MDC, o que também favorece a investigação das malformações corticais como um grupo único de doenças.

Em particular, o subgrupo das displasias corticais apresentou valor médio de pH = 6,993 ($p < 0,001$). O diagnóstico diferencial entre glioma de baixo grau e displasia cortical (DC) é por vezes uma difícil tarefa para neurorradiologistas. Apesar dos avanços na detecção e caracterização das DC com modernas técnicas de imagem (Knake et al., 2005; Madan e Grant, 2009), um diagnóstico definitivo pode ainda ser obtido somente com estudo histopatológico. Os gliomas e as DC apresentam anormalidades em sentidos opostos nos valores de pH intracelular. Há evidências de desvios do pH no sentido da alcalinização em gliomas de baixo grau (Maintz et al., 2002; Manuel et al., 2010), enquanto que nosso estudo apontou desvios do pH no sentido da acidificação nas MDC, inclusive nas DC. Portanto, futuramente, as medidas do pH poderão servir como uma ferramenta adicional na

diferenciação destas lesões cerebrais. A utilidade desta técnica para aplicação clínica poderá ser avaliada diretamente em pesquisas futuras. Estudos adicionais poderiam comparar as DC e os gliomas de baixo grau com o mesmo protocolo de ^{31}P -ERM.

Apesar dos indícios de alterações energéticas cerebrais nas MDC baseados nas anormalidades do pH e Mg^{2+} , não foram encontradas diferenças significativas dos fosfatos de alta energia (PCr , ATP_t e Pi) medidos isoladamente, nem das relações PCr/ATP_t ou PCr/Pi , comparativamente ao grupo-controle. A ausência de anormalidades nestes metabólitos pode estar relacionada a diferenças ainda mais sutis entre os grupos, que poderiam ser demonstradas com aumento de sensibilidade no método empregado. Incrementos na relação sinal-ruído, aumento do campo magnético, e análise de grupos maiores de pacientes poderiam indicar mais diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. De fato, foi demonstrado aumento significativo da resolução da ^{31}P -ERM em 7,0 T comparativamente a 4,0 Tesla em estudos prévios (Lei et al., 2003; Qiao et al., 2006). Pesquisas subsequentes em campos magnéticos ultra-altos e *voxels* com menores dimensões poderiam aumentar a detecção de anormalidades ainda não descritas em estados patológicos diversos.

Foram encontradas diferenças significativas dos componentes de membranas celulares nas lesões dos pacientes com MDC, comparativamente a controles. Os resultados indicaram aumento da relação PME/PDE devido a uma redução de PDE, com diminuição significativa de

GPC e tendência à redução de GPE. Os PME estão relacionados ao anabolismo de membranas, enquanto que os PDE são indicadores do catabolismo de membranas. O desequilíbrio entre os precursores de síntese (PME) e os produtos de degradação (PDE) indicam regulação anormal do *turnover* de membranas (Puri e Treasaden, 2009; Manuel et al., 2010).

Como previamente mencionado, não há estudos anteriores de ^{31}P -ERM na avaliação das MDC, nem nas lesões nem no parênquima cerebral aparentemente normal destes pacientes, impossibilitando a correlação direta dos nossos resultados com os de outros autores.

Os trabalhos de ^{31}P -ERM realizados em pacientes com epilepsia foram direcionados em sua maioria à avaliação da esclerose mesial temporal (EMT). Os estudos iniciais evidenciaram alcalose no lobo temporal epileptogênico (Laxer et al., 1992; der Grond et al., 1998), porém um outro estudo não evidenciou anormalidades significativas dos valores de pH no foco epileptogênico em pacientes com EMT (Chu et al., 1996). Em relação aos fosfolipídios de membranas, há relatos de redução de PME no lobo temporal homolateral e aumento de PME no lobo temporal contralateral, comparativamente a controles normais (der Grond et al., 1998). De certa forma, estes resultados se contrapõem aos que encontramos nas lesões dos pacientes com MDC em nosso estudo, que exibiram sinais de acidose e aumento de PME.

De fato, os resultados de ^{31}P -ERM em pacientes com EMT ainda são controversos e necessitam de estudos adicionais para esclarecer se o motivo destas discrepâncias entre os trabalhos relaciona-se a questões metodológicas ou a diferenças entre as populações estudadas, tais como o tempo do exame em relação às convulsões (Kuzniecky, 2004). Os primeiros trabalhos foram ainda realizados em campos magnéticos baixos, com tempos de aquisição demasiadamente longos e com *voxels* desproporcionalmente grandes em relação aos hipocampos. A qualidade espectral também é usualmente reduzida em *voxels* de localização mais inferior, e ainda mais particularmente nos lobos temporais, onde a proximidade com as estruturas ósseas é um fator crítico.

Por outro lado, estudos de ^1H -ERM evidenciaram redução dos níveis de N-acetil aspartato (NAA) tanto em lesões de pacientes com EMT quanto de pacientes com MDC. A redução de NAA parece ser o marcador mais sensível para distúrbios metabólicos relacionados à epilepsia. Entretanto, acredita-se que enquanto nas lesões de EMT a redução de NAA deva-se à perda de células neuronais, nas MDC este achado relacione-se à presença de componentes celulares gliais e neuronais imaturos (Mueller SG et al., 2005).

As MDC não são tipicamente caracterizadas por perda da densidade neuronal em espécimes histológicos. Em alguns casos de DC, o número de neurônios e células gliais é similar ao encontrado em controles; em casos de heterotopia, há neurônios agrupados em número ainda maior (Kuzniecky et

al., 1997; Li et al., 1998; Hetherington et al., 2004). Aparentemente, a arquitetura tecidual desorganizada, componentes gliais e neuronais imaturos, e interações anormais entre as células são os fatores que mais significativamente relacionam-se às anormalidades bioquímicas e ao aumento da relação PME/PDE.

Os voxels selecionados para comparação da lesão nos grupos de pacientes e controles estavam constituídos predominantemente de substância cinzenta por análise visual. Foi demonstrado previamente que as diferenças de concentração dos fosfatos de alta energia estão mais relacionadas ao tipo tecidual (substância branca *versus* substância cinzenta) do que às diferentes topografias em cérebros de animais e humanos (Tsuji et al., 1996; Holtzman et al., 1998; Hetherington et al., 2001; Forester et al., 2010). Desta forma, se nós tivéssemos escolhido um voxel homólogo por localização anatômica no grupo-controle, certamente este voxel seria constituído predominantemente de substância branca, o que resultaria num viés expressivo para as comparações devido às características de especificidade tecidual. Portanto, foi estrategicamente escolhido para esta comparação com a lesão um voxel com a maior quantidade de substância cinzenta por análise visual nos controles, que está localizado no córtex frontoparietal parassagital (voxel 192). Além disso, os voxels usados nestas comparações, tanto no grupo de controles como na maioria dos pacientes, estavam localizados no quarto corte, o que assegurou relação sinal-ruído semelhante nos dois grupos.

Técnicas de segmentação dos tecidos poderiam eventualmente trazer maior exatidão para a comparação de *voxels* com proporção semelhante de substâncias branca e cinzenta. Entretanto, as principais limitações destas técnicas relacionam-se principalmente às imprecisões em definir com exatidão os limites anatômicos em pequenas estruturas de formato tridimensional complexo, manualmente ou mesmo de forma automatizada. Estas ferramentas são de aplicação mais limitada em pacientes com malformações cerebrais complexas, uma vez que os algoritmos de referência são baseados em grupos de indivíduos normais, tornando o seu uso mais difícil nestes casos (Dale et al., 1999; Walker et al., 2009).

Para a avaliação do parênquima aparentemente normal dos pacientes e controles, foram escolhidos *voxels* homólogos, pareados por lado do hemisfério cerebral e em localizações idênticas, e, portanto, com proporções semelhantes de substâncias branca e cinzenta e com razão sinal-ruído similar entre os grupos.

A análise do parênquima aparentemente normal foi realizada em *voxels* nos cortes 3 (*voxels* 142 e 144) e 4 (*voxels* 192, 198, 200), pois nos cortes mais altos a qualidade espectral é superior. Há evidências de conexões corticais envolvendo o tálamo e o putame ipsi ou contralaterais em pacientes com EMT (Pan et al., 2008). Entretanto, não foi possível avaliar em nosso estudo *voxels* que contivessem exclusivamente estas estruturas devido ao posicionamento da grade de ^{31}P -ERM e devido às medidas do *voxel* individual (volume de 12,5 cm³). Por este motivo, apesar de os *voxels*

142 e 144 estarem centrados nos putames, nos referimos a estes como regiões nucleocapsulares, por haver contaminação com as cápsulas interna e externa adjacentes. Três fatores poderiam explicar a não detecção de alterações no pH nestas regiões em nosso estudo: 1) Ausência de anormalidades significativas nestes circuitos em pacientes com MDC; 2) Alteração exclusiva nos putames, não detectadas devido à contaminação com estruturas adjacentes, que subestimariam as diferenças entre os grupos; 3) Menor sensibilidade do método nos cortes mais inferiores devido à menor razão sinal-ruído.

Por outro lado, houve diferenças significativas dos valores de pH no parênquima aparentemente normal dos pacientes no córtex frontoparietal parassagital e nos centros semiovais direito e esquerdo (voxels 192, 198 e 200, respectivamente). Estes achados reforçam a ideia de que nas MDC a lesão estrutural visível representa apenas a “ponta do *iceberg*”. Este conceito tem sido extensamente debatido e está de acordo com evidências indiretas de estudos de EEG, tomografia por emissão de fóton único, imagem por tensor de difusão e ^1H -ERM (Eriksson et al., 2001; Cross, 2003; Mueller et al., 2005; Leite et al., 2007).

Diferentes teorias poderiam explicar a presença de anormalidades metabólicas no parênquima aparentemente normal de pacientes com MDC. Uma primeira hipótese sugere que tais anormalidades ocorrem em tecidos com citoarquitetura normal, porém com atividade epileptogênica intrínseca. Isto é corroborado por um estudo que correlacionou PET, RM e

eletrocorticografia intraoperatória, evidenciando áreas com padrão elétrico aberrante e metabolismo anormal ao PET em tecidos perilesionais histologicamente normais (Juhasz et al., 2000).

Uma segunda suposição é que as anormalidades metabólicas perilesionais representem áreas cerebrais com alterações microscópicas, tais como pequenos agrupamentos de neurônios ectópicos indetectáveis por técnicas convencionais de RM. Na presença de conexões anormais com outras regiões cerebrais, estas anormalidades sutis poderiam eventualmente promover a propagação de atividade epileptogênica paroxística para áreas cerebrais remotas (Chevassus-au-Louis e Represa, 1999; Palmini, 2000).

Outra explicação é que as anormalidades metabólicas simplesmente refletiriam a propagação da atividade elétrica anormal do foco epileptogênico para tecidos funcionalmente e histologicamente normais. Um argumento contrário a esta hipótese, entretanto, é que estudos de ^1H -ERM encontraram anormalidades não somente dos níveis de NAA, mas também de Co e Cr no parênquima aparentemente normal (Kuzniecky et al., 1997; Mueller et al., 2005). Um estudo com DTI também identificou anormalidades dos valores de FA e ADC fora das lesões visíveis, indicando alterações da organização microestrutural e de conectividade cerebral nas áreas aparentemente normais (Eriksson et al., 2001).

Os nossos resultados corroboram a teoria de que as lesões visíveis de MDC não constituem a totalidade da zona epileptogênica e de que as

alterações podem ser perilesionais ou contralaterais no parênquima aparentemente normal. Estas evidências são particularmente importantes do ponto de vista clínico, sobretudo em pacientes em planejamento para tratamento cirúrgico. Isto poderia explicar, por exemplo, porque a ressecção cirúrgica não traz bons resultados para o controle da epilepsia em alguns pacientes com MDC focais (Roulet-Perez et al., 2010).

Apenas uma minoria dos pacientes incluídos neste estudo eram potenciais candidatos ao tratamento cirúrgico, tornando inviável correlação histopatológica. Entretanto, estudos futuros com avaliação histológica poderiam ser conduzidos e correlacionados com os achados espectroscópicos descritos no presente trabalho.

Uma outra limitação deste estudo é que não foram levadas em consideração as diversas medicações administradas aos pacientes, que poderiam influenciar os parâmetros metabólicos. Contudo, a redução dos valores de pH relatados em pacientes com distúrbios psiquiátricos foi confirmada em pacientes sem uso de drogas, e portanto tal redução do pH não poderia ser explicada por efeito das drogas (Kato et al., 1998). Além disso, grande parte dos pacientes incluídos neste estudo usavam medicamentos em regime de politerapia, tornando este parâmetro de difícil utilização devido à presença de múltiplas variáveis, além dos efeitos de interação entre diferentes drogas.

Para o nosso conhecimento, este é o primeiro estudo descrito na literatura mundial do uso de ^{31}P -ERM na avaliação de pacientes com MDC e epilepsia. Com a progressão dos avanços tecnológicos, ampliação da disponibilidade de campos magnéticos mais potentes, e maior acesso a bobinas dedicadas de fósforo, os desafios técnicos da ^{31}P -ERM serão minimizados, possibilitando mais pesquisas do metabolismo cerebral e ampliando os horizontes do entendimento de doenças cerebrais diversas.

As anormalidades bioquímicas e metabólicas descritas em nosso estudo, principalmente relacionadas ao pH, Mg^{2+} e fosfolipídios de membranas, apoiam a hipótese de que as lesões dos pacientes com MDC são não apenas estruturalmente anormais, mas também disfuncionais. Embora em menor extensão, as alterações bioquímicas também estão presentes no parênquima aparentemente normal. Ainda não se sabe, entretanto, se tais anormalidades são a causa ou o efeito da atividade epileptogênica.

O nosso estudo ressalta novas características metabólicas e traz reflexões interessantes sobre a homeostase energética, equilíbrio osmótico e renovação de membranas numa grande série de pacientes com MDC. Acreditamos que este trabalho fornece informações relevantes sobre estas lesões epileptogênicas e, conseqüentemente, pode contribuir para uma melhor compreensão da epilepsia em seres humanos.

8 Conclusões

1. As lesões dos pacientes com malformações do desenvolvimento cortical exibiram redução dos valores de pH intracelular e aumento dos níveis de Mg^{2+} . Também foram encontradas anormalidades dos fosfolípidios de membranas, com aumento da relação PME/PDE, redução dos valores de GPC e PDE, além de tendência à redução de GPE;
2. O parênquima aparentemente normal dos pacientes com MDC exibiu redução significativa dos valores de pH, indicativa de acidose, no córtex frontoparietal e nos centros semiovais;
3. Foi encontrada acidose nas lesões e no parênquima aparentemente normal nas três categorias principais de MDC: displasia cortical e hemimegalencefalia; heterotopia; e polimicrogiria e esquizencefalia.

9 Anexos

ANEXO A**HOSPITAL DAS CLÍNICAS**

DA

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Instruções para preenchimento no verso)

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE :

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE

CEP: TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE : SEXO: M F

DATA NASCIMENTO.:/...../.....

ENDEREÇO: Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD (.....)

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA:

**EPILEPSIA SECUNDÁRIA A MALFORMAÇÕES DO DESENVOLVIMENTO CORTICAL:
AVALIAÇÃO POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA DE ALTO CAMPO – ESPECTROSCOPIA DE
FÓSFORO**

PESQUISADOR: Celi Santos Andrade / Claudia da Costa Leite

CARGO/FUNÇÃO: Doutoranda do programa de Radiologia / Chefe do Setor de Ressonância Magnética e do grupo de Neurorradiologia do Instituto de Radiologia

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº: 126.822

UNIDADE DO HCFMUSP: **Laboratório de Neurociências (LIM44); Instituto de Radiologia
HCFMUSP***Celi Santos Andrade*

2. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO	RISCO MÍNIMO X	RISCO MÉDIO
RISCO BAIXO	RISCO MAIOR	

(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

3. DURAÇÃO DA PESQUISA : 5 anos

III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA CONSIGNANDO:

1. justificativa e os objetivos da pesquisa

Investigações internacionais realizadas na última década têm relatado alterações biológicas em pacientes com epilepsia. Dentre estas foram detectadas alterações bioquímicas e morfológicas do cérebro, possivelmente relacionadas com o risco para a doença. O presente estudo tem como objetivo investigar tais alterações em indivíduos portadores de epilepsia secundária a malformações do desenvolvimento cortical. Como grupo comparativo faremos as mesmas avaliações em indivíduos saudáveis. Esse estudo será realizado no Laboratório de Neurociências (LIM-44) no Depto de Radiologia da FMUSP.

2. procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais.

Se você decidir participar, será necessário realizar exames de imagem, do tipo ressonância magnética. A ressonância magnética é um grande ímã, dentro deste aparelho existe um túnel, e algumas pessoas não se sentem bem dentro dele. O ruído (barulho) do aparelho é alto, mas haverá um protetor de ouvido para diminuir o seu desconforto. Não existe injeção de qualquer substância na veia e não existe radiação que possa prejudicá-lo. A pessoa precisará ficar imóvel durante o tempo de exame. Ficará deitado e terá um microfone para se comunicar caso queira. Durante o exame, o aparelho produz imagens e informações sobre os componentes químicos do seu cérebro. Poderá desistir do experimento em qualquer momento, bastando solicitar ao médico que o estará acompanhando.

3. desconfortos e riscos esperados

O desconforto é o do barulho e da duração dos exames de ressonância magnética. Mas sempre que o paciente demonstrar cansaço estes exames poderão ser interrompidos.

4. benefícios que poderão ser obtidos

Não há benefício direto para o participante; trata-se de estudo experimental testando a existência de variantes associadas à epilepsia secundária a malformações do desenvolvimento cortical. É possível, mas não garantido, que os pacientes com epilepsia possam beneficiar-se dos resultados deste estudo no futuro, bem como seus familiares. O nosso estudo visa um maior esclarecimento dos mecanismos biológicos responsáveis pelo aparecimento da doença. De posse destes conhecimentos, espera-se conseguir no futuro melhores estratégias para o tratamento e prevenção. O exame de Ressonância Magnética de alto campo (3 Tesla) pode potencialmente trazer informações adicionais na avaliação e manejo clínico dos pacientes, mas tal benefício não é garantido. A maioria dos pacientes possuía avaliação prévia por imagem de Ressonância Magnética apenas em aparelho de 1,5 Tesla.

5. procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo.

Os testes de imagem são muito específicos, não existindo alternativas no mesmo nível.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA CONSIGNANDO:

1. acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas.

Os pacientes sempre que quiserem poderão conversar com os profissionais envolvidos no estudo.

2. liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência.

A participação no estudo é livre e o paciente poderá sair a qualquer momento continuando a ser atendido pelo grupo de epilepsia do Hospital

3. salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.

A identidade dos participantes não será divulgada. Caso isto seja importante só será feito com o consentimento do paciente ou seus responsáveis.

4. disponibilidade de assistência no HCFMUSP, por eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa.

Em caso da ocorrência de eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa os participantes do estudo terão atendimento em qualquer das Unidades do Complexo do Hospital das Clínicas da FMUSP

5. viabilidade de indenização por eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa.

V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Nome do Pesquisador: Celi Santos Andrade

Telefone: 11 30697095

Endereço: Laboratório de Neurociências (LIM44), Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, portaria 5
Instituto de Radiologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

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

São Paulo, de de .

assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

assinatura do pesquisador

(carimbo ou nome Legível)

Celi Santos Andrade

ANEXO B

Ref. Carta datada de 09.04.08

Ao

Departamento de Radiologia e Radioterapia

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 04.06.08, tomou conhecimento que o Protocolo de Pesquisa nº **251/05** intitulado "**Cooperação Interinstitucional de Apoio a Pesquisas sobre o Cérebro (CInAPCe). Centro de Imagem em Neurociências da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo**", sob a responsabilidade do Prof. Dr. Giovanni Guido Cerri, apresentado pelo Departamento de Radiologia e Radioterapia, contempla o projeto 2 intitulado "**Epilepsia, psiquiatria e neurogênese: genes, imageamento cerebral e metabolismo – sub título: sub projeto 1 metabolismo de fosfolipídios em epilepsia**", que será tese de doutorado da aluna **CELI SANTOS ANDRADE**, tendo como orientadora **PROFA. DRA. CLÁUDIA DA COSTA LEITE**.

São Paulo, 06 de junho de 2008.

PROF. DR. EDUARDO MASSAD
Presidente da Comissão de Ética para Análise
de Projetos de Pesquisa

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP e da FMUSP
Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
Rua Ovídio Pires de Campos, 225, 5º andar - CEP 05430 010 - São Paulo - SP
Fone: 011 - 30696442 fax : 011 - 3069 6492 - e-mail : cappesq@hcnet.usp.br / secretariacappesq2@hcnet.usp.br
sol

Celi Santos Andrade

ANEXO C - Dados dos pacientes: iniciais, idade, sexo, diagnóstico por imagem e tempo da última crise epiléptica

Paciente	Iniciais, idade, sexo	Diagnóstico	Grupo	Lateralidade	Localização	Achados associados	Última crise
1 3116301H	KLTG 33a, Fe	Displasia cortical	1	Unilateral, D	P, T, I, F		7d
2 3149391C	CEM 29a, M	Displasia cortical	1	Unilateral, E	F		<1d
3 77105003H	CSC 10a, M	Displasia cortical	1	Unilateral, E	I	CA fossa média D, displasia septo-óptica	12d
4 3275842C	MCGS 39a, Fe	Displasia cortical	1	Unilateral, D	T		5d
5 77105668E	EVS 9a, Fe	Displasia cortical	1	Unilateral, E	F		<1d
6 13879407H	CPS 44a, M	Displasia cortical	1	Unilateral, D	F	Hipoplasia cerebelar	<1d
7 3375147H	EHAS 16a, M	Displasia cortical	1	Unilateral, E	F		<1d
8 3183386G	GGGR 26a, M	Displasia cortical	1	Unilateral, D	T, P		2d
9 13696248I	IASS 15a, Fe	Displasia cortical	1	Unilateral, D	F		1d
10 77104760C	PSVF 19a, M	Hemimegalencefalia	1	Unilateral, D	F, T, P, O, I	CA fossa média D	<1d
11 77105201B	MSV 28a, M	Heterotopia subcortical, polimicrogiria	2	Bilateral, > E	F, P, O	CA fossa média D	150d

Nota: Fe: feminino; M: masculino; a: anos; d: dias; D: direito, E: esquerdo; > indica lado predominante; S: simétrico; F: frontal, P: parietal; O: occipital; T: temporal; I: insular; CC: corpo caloso; TC: tronco cerebral; FP: fossa posterior; CA: cisto aracnoide, Grupo 1: displasia cortical (DC) ou hemimegalencefalia; Grupo 2: heterotopia; Grupo 3: polimicrogiria e/ou esquizefalia

Paciente	Iniciais, idade, sexo	Diagnóstico	Grupo	Lateralidade	Localização	Achados associados	Última crise
12 3122336H	APCF 39a, Fe	Heterotopia periventricular	2	Bilateral, >D	T, P, O		22d
13 2903326C	DCT 39a, Fe	Heterotopia periventricular	2	Bilateral, S	F, T, P, O		1d
14 3062523K	JSR 37a, M	Heterotopia periventricular e subcortical	2	Bilateral, >D	F, P	Gliose F e T, siderose	15d
15 13653198D	BFL 21a, Fe	Heterotopia periventricular	2	Unilateral, E	P		21d
16 2926394A	ACC 44a, Fe	Heterotopia em banda	2	Bilateral, S	F, P, O, T	Hipoplasia de TC e cerebelar	1d
17 3061211K	RA 32a, M	Heterotopia periventricular e subcortical	2	Bilateral, >E	F, P, O, T	CA	<1d
18 77080225I	GSF 30a, Fe	Heterotopia periventricular, polimicrogiria, DC	2	Unilateral, D	F, P, O, I		9d
19 2846531I	DANS 24a, M	Heterotopia periventricular, subcortical, polimicrogiria, DC	2	Unilateral, E	F, T, P, O		240d
20 2813508K	NMC 32a, Fe	Heterotopia periventricular e subcortical	2	Bilateral, >D	T, P, O		15d
21 2981211J	CCS 28a, Fe	Heterotopia subcortical	2	Bilateral, S	F, P, O	CA fossa média E	2d
22 13786314F	MLGJ 22a, Fe	Heterotopia periventricular	2	Bilateral, >D	T, O		<1d
23 55723949C	AJA 55a, Fe	Heterotopia periventricular	2	Bilateral, S	F, P, T, O		<1d
24 77100471I	VGS 31a, Fe	Heterotopia periventricular, polimicrogiria, esquizencefalia	2	Unilateral, E	P, O	Agenesia parcial do CC	3d

Nota: Fe: feminino; M: masculino; a: anos; d: dias; D: direito, E: esquerdo; > indica lado predominante; S: simétrico; F: frontal, P: parietal; O: occipital; T: temporal; I: insular; CC: corpo caloso; TC: tronco cerebral; FP: fossa posterior; CA: cisto aracnoide; Grupo 1: displasia cortical (DC) ou hemimegalencefalia; Grupo 2: heterotopia; Grupo 3: polimicrogiria e/ou esquizencefalia

Paciente	Iniciais, idade, sexo	Diagnóstico	Grupo	Lateralidade	Localização	Achados associados	Última crise
25 2984797K	EJS 43a, M	Esquizencefalia e polimicrogiria	3	Bilateral, >D	F, P, T, I	Ausência SP, CA FP, afilamento CC	2280d
26 120109046877	EFVC 27a, M	Esquizencefalia e polimicrogiria perisylviana	3	Unilateral, D	F, P, I, T	Ausência SP	6d
27 13536683G	CETF 36a, Fe	Esquizencefalia, polimicrogiria, heterotopia periventricular	3	Bilateral, >E	F, P, O		1800d
28 3083056B	RAF 42a, M	Esquizencefalia e polimicrogiria	3	Bilateral, >E	F	Leucomalácia, ausência SP	2920d
29 13673205G	ACPC 24a, Fe	Esquizencefalia e polimicrogiria	3	Unilateral, D	P, T	Ausência SP	21d
30 13864353J	LCPL 36a, M	Polimicrogiria	3	Unilateral, E	F, T, P		7d
31 6083208E	AGC 10a, Fe	Polimicrogiria	3	Unilateral, E	F	Hemiatrofia do TC à E	90d
32 420109309061	STP 29a, M	Polimicrogiria	3	Bilateral, >E	F, P, I		4d
33 6017195G	KSP 25a, Fe	Polimicrogiria	3	Bilateral, >E	F		540d
34 420109309059	RCA 32a, M	Polimicrogiria perisylviana	3	Bilateral, >E	F, P, I, T		150d
35 13914210H	CASM 34a, M	Polimicrogiria perisylviana	3	Unilateral, D	F, T, P, I	Hemiatrofia do TC e tálamo E	2d
36 6016843A	CFGR 26a, Fe	Polimicrogiria perisylviana	3	Bilateral, >E	F, P, T, I		30d
37 4038836F	MPC 27a, Fe	Polimicrogiria perisylviana, heterotopia periventricular	3	Bilateral, >E	T, P, I		1d

Nota: Fe: feminino; M: masculino; a: anos; d: dias; D: direito, E: esquerdo; > indica lado predominante; S: simétrico; F: frontal, P: parietal; O: occipital; T: temporal; I: insular; CC: corpo caloso; TC: tronco cerebral; FP: fossa posterior; CA: cisto aracnoide; Grupo 1: displasia cortical (DC) ou hemimegalencefalia; Grupo 2: heterotopia; Grupo 3: polimicrogiria e/ou esquizencefalia

ANEXO D - Dados dos controles: iniciais, idade e sexo

Controle	Iniciais	Idade (a)	Sexo
1	MVM	48	Fe
2	SJS	33	Fe
3	RPSS	46	Fe
4	DKAM	22	Fe
5	TPM	25	Fe
6	NRS	19	Fe
7	NRS	17	Fe
8	MAS	23	Fe
9	LPPA	57	Fe
10	ZMFS	49	Fe
11	SGO	27	Fe
12	AMO	26	Fe
13	LSA	15	M
14	SMO	14	Fe
15	EBS	37	Fe
16	BS	46	M
17	SS	41	Fe
18	CAM	37	Fe
19	CEFS	31	M
20	RSS	11	Fe
21	FMF	26	M
22	STPCF	49	Fe
23	AFM	32	M
24	GHCS	12	M
25	MHS	12	M
26	MAJS	43	Fe
27	MAS	27	M
28	LARB	17	M
29	GMFB	11	M
30	LHAB	18	M
31	JLLT	23	M

Nota: Fe: feminino, M: masculino; a: anos

ANEXO E1 - Valores da quantificação do pH, Mg^{2+} , metabólitos de fósforo e principais relações obtidas no voxel representativo da lesão por paciente

Paciente	pH	Mg^{2+}	PCr	Pi	ATP _t	PCr/ATP _t	PCr/Pi	PE	PC	GPE	GPC	PME	PDE	PME/PDE
1	6,953	0,095	0,206	0,094	0,310	0,666	2,202	0,147	0,016	0,046	0,119	0,163	0,165	0,987
2	7,009	0,121	0,183	0,077	0,326	0,561	2,372	0,134	0,058	0,060	0,116	0,192	0,176	1,087
3	7,001	0,159	0,189	0,097	0,298	0,634	1,938	0,184	0,030	0,066	0,110	0,215	0,176	1,219
4	6,932	0,264	0,213	0,086	0,308	0,691	2,490	0,127	0,062	0,071	0,121	0,189	0,191	0,990
5	6,955	0,212	0,159	0,080	0,305	0,523	1,984	0,185	0,053	0,075	0,096	0,238	0,171	1,388
6	7,009	0,155	0,222	0,090	0,309	0,717	2,467	0,131	0,019	0,101	0,136	0,150	0,236	0,635
7	6,997	0,134	0,186	0,092	0,296	0,630	2,030	0,138	0,038	0,081	0,131	0,176	0,212	0,827
8	7,019	0,191	0,251	0,107	0,216	1,163	2,342	0,177	0,056	0,067	0,137	0,233	0,204	1,140
9	6,986	0,141	0,176	0,093	0,288	0,612	1,892	0,151	0,046	0,078	0,114	0,197	0,192	1,024
10	7,079	0,163	0,196	0,044	0,315	0,622	4,468	0,131	0,032	0,097	0,140	0,162	0,237	0,684
11	6,976	0,130	0,185	0,064	0,351	0,527	2,901	0,104	0,062	0,082	0,108	0,166	0,190	0,872
12	7,037	0,083	0,189	0,083	0,308	0,612	2,274	0,097	0,057	0,073	0,137	0,153	0,210	0,730
13	7,056	0,118	0,205	0,087	0,294	0,697	2,366	0,123	0,054	0,069	0,115	0,177	0,184	0,964
14	6,989	0,161	0,180	0,120	0,279	0,644	1,495	0,147	0,012	0,125	0,129	0,159	0,254	0,626
15	7,103	0,143	0,179	0,098	0,319	0,560	1,814	0,151	0,041	0,068	0,114	0,191	0,182	1,050
16	7,069	0,107	0,238	0,114	0,335	0,711	2,091	0,133	0,020	0,061	0,095	0,152	0,156	0,979
17	7,065	0,110	0,163	0,093	0,304	0,535	1,744	0,161	0,053	0,052	0,114	0,214	0,167	1,282
18	6,993	0,107	0,198	0,101	0,323	0,613	1,969	0,105	0,040	0,065	0,114	0,145	0,179	0,810
19	6,984	0,141	0,221	0,067	0,295	0,749	3,319	0,131	0,052	0,086	0,123	0,183	0,209	0,872

Nota: pH: potencial hidrogeniônico; Mg^{2+} : magnésio; PCr: fosfocreatina; Pi: fosfato inorgânico; ATP_t: adenosina trifosfato total; PE: fosfoetanolamina, PC: fosfocolina; GPE: glicerofosfoetanolamina; GPC: glicerofosfocolina; PME: fosfomonoéster, PDE: fosfodiéster

Paciente	pH	Mg ²⁺	PCr	Pi	ATP _t	PCr/ATP _t	PCr/Pi	PE	PC	GPE	GPC	PME	PDE	PME/PDE
20	6,976	0,162	0,173	0,098	0,310	0,559	1,778	0,140	0,046	0,096	0,106	0,185	0,202	0,917
21	6,965	0,132	0,183	0,093	0,289	0,635	1,970	0,134	0,062	0,083	0,115	0,196	0,198	0,990
22	6,980	0,128	0,184	0,087	0,276	0,665	2,113	0,148	0,048	0,082	0,114	0,196	0,196	1,001
23	6,985	0,185	0,219	0,102	0,257	0,850	2,142	0,112	0,059	0,105	0,123	0,170	0,228	0,747
24	6,948	0,166	0,199	0,108	0,384	0,517	1,831	0,091	0,072	0,073	0,094	0,163	0,167	0,978
25	7,022	0,172	0,200	0,082	0,306	0,655	2,436	0,134	0,048	0,095	0,130	0,182	0,225	0,806
26	6,953	0,164	0,203	0,113	0,240	0,843	1,796	0,129	0,044	0,082	0,136	0,173	0,217	0,797
27	6,959	0,148	0,222	0,089	0,276	0,803	2,485	0,120	0,047	0,077	0,108	0,167	0,185	0,906
28	7,008	0,138	0,189	0,085	0,294	0,643	2,214	0,081	0,056	0,094	0,150	0,137	0,244	0,561
29	6,972	0,163	0,204	0,110	0,318	0,641	1,852	0,139	0,044	0,068	0,104	0,183	0,172	1,061
30	6,994	0,131	0,196	0,093	0,237	0,827	2,100	0,141	0,056	0,113	0,154	0,198	0,266	0,743
31	7,014	0,197	0,160	0,076	0,304	0,525	2,103	0,146	0,054	0,082	0,140	0,200	0,222	0,903
32	6,970	0,133	0,203	0,089	0,278	0,729	2,269	0,140	0,037	0,090	0,119	0,177	0,209	0,847
33	6,981	0,123	0,234	0,062	0,292	0,802	3,749	0,094	0,045	0,085	0,119	0,139	0,204	0,682
34	6,999	0,142	0,206	0,079	0,245	0,841	2,618	0,136	0,037	0,080	0,159	0,173	0,240	0,719
35	6,983	0,136	0,177	0,090	0,308	0,573	1,972	0,120	0,048	0,087	0,110	0,168	0,197	0,856
36	7,086	0,090	0,198	0,095	0,333	0,595	2,097	0,115	0,041	0,075	0,108	0,156	0,183	0,853
37	7,017	0,126	0,215	0,085	0,267	0,806	2,534	0,159	0,040	0,082	0,110	0,199	0,192	1,040

Nota: pH: potencial hidrogeniônico; Mg²⁺: magnésio; PCr: fosfocreatina; Pi: fosfato inorgânico; ATP_t: adenosina trifosfato total; PE: fosfoetanolamina, PC: fosfocolina; GPE: glicerofosfoetanolamina; GPC: glicerofosfocolina; PME: fosfomonoéster, PDE: fosfodiéster

ANEXO E2 - Valores da quantificação do pH, Mg^{2+} , metabólitos de fósforo e principais relações obtidas no voxel 142 correspondente ao parênquima aparentemente normal na região nucleocapsular direita por paciente

Paciente	pH	Mg^{2+}	PCr	Pi	ATP _t	PCr/ATP _t	PCr/Pi	PE	PC	GPE	GPC	PME	PDE	PME/PDE
1	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
2	7,065	0,124	0,178	0,096	0,320	0,555	1,856	0,166	0,033	0,087	0,128	0,200	0,214	0,932
3	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
4	7,053	0,142	0,197	0,098	0,286	0,687	2,018	0,124	0,051	0,096	0,125	0,175	0,221	0,791
5	7,004	0,210	0,190	0,088	0,253	0,754	2,174	0,164	0,050	0,085	0,149	0,215	0,234	0,919
6	6,991	0,142	0,210	0,071	0,277	0,756	2,963	0,135	0,049	0,082	0,122	0,184	0,204	0,900
7	7,037	0,152	0,209	0,082	0,274	0,763	2,538	0,126	0,079	0,088	0,125	0,205	0,213	0,962
8	7,030	0,166	0,243	0,072	0,234	1,041	3,387	0,132	0,050	0,098	0,179	0,182	0,277	0,657
9	7,004	0,150	0,185	0,097	0,266	0,694	1,900	0,144	0,052	0,092	0,128	0,197	0,221	0,891
10	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
11	7,006	0,139	0,211	0,087	0,262	0,803	2,434	0,152	0,032	0,097	0,115	0,184	0,212	0,866
12	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
13	7,002	0,145	0,192	0,082	0,323	0,592	2,328	0,113	0,022	0,041	0,148	0,135	0,188	0,716
14	6,994	0,113	0,168	0,101	0,303	0,556	1,670	0,122	0,043	0,102	0,105	0,165	0,208	0,796
15	6,964	0,134	0,153	0,089	0,318	0,480	1,716	0,138	0,050	0,079	0,109	0,188	0,188	1,003
16	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
17	7,041	0,134	0,182	0,084	0,335	0,543	2,155	0,146	0,042	0,065	0,121	0,188	0,186	1,012
18	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
19	7,032	0,135	0,183	0,078	0,299	0,611	2,338	0,129	0,071	0,059	0,137	0,200	0,196	1,022

Nota: pH: potencial hidrogeniônico; Mg^{2+} : magnésio; PCr: fosfocreatina; Pi: fosfato inorgânico; ATP_t: adenosina trifosfato total; PE: fosfoetanolamina, PC: fosfocolina; GPE: glicerofosfoetanolamina; GPC: glicerofosfocolina; PME: fosfomonoéster, PDE: fosfodiéster; NSA: não se aplica (voxel excluído devido à presença de lesão)

Paciente	pH	Mg ²⁺	PCr	Pi	ATP _t	PCr/ATP _t	PCr/Pi	PE	PC	GPE	GPC	PME	PDE	PME/PDE
20	7,029	0,130	0,197	0,079	0,329	0,600	2,483	0,112	0,033	0,093	0,132	0,145	0,225	0,643
21	7,004	0,130	0,183	0,098	0,313	0,585	1,867	0,130	0,058	0,080	0,117	0,189	0,197	0,960
22	6,967	0,173	0,225	0,086	0,285	0,789	2,620	0,121	0,057	0,082	0,134	0,179	0,216	0,826
23	6,994	0,169	0,204	0,069	0,278	0,733	2,942	0,126	0,053	0,105	0,149	0,178	0,254	0,701
24	6,974	0,126	0,202	0,092	0,310	0,653	2,206	0,126	0,053	0,080	0,109	0,179	0,189	0,945
25	7,057	0,138	0,200	0,089	0,287	0,697	2,259	0,125	0,052	0,084	0,141	0,177	0,224	0,791
26	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
27	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
28	6,957	0,130	0,188	0,088	0,313	0,601	2,129	0,120	0,087	0,085	0,113	0,207	0,198	1,046
29	7,081	0,141	0,198	0,090	0,292	0,680	2,193	0,124	0,021	0,113	0,133	0,145	0,246	0,590
30	7,016	0,230	0,206	0,110	0,241	0,857	1,872	0,139	0,039	0,094	0,153	0,178	0,247	0,721
31	6,980	0,160	0,164	0,087	0,309	0,530	1,888	0,136	0,070	0,068	0,143	0,206	0,210	0,979
32	7,028	0,128	0,191	0,104	0,283	0,675	1,845	0,142	0,026	0,091	0,152	0,168	0,243	0,688
33	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
34	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
35	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
36	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
37	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA

Nota: pH: potencial hidrogeniônico; Mg²⁺: magnésio; PCr: fosfocreatina; Pi: fosfato inorgânico; ATP_t: adenosina trifosfato total; PE: fosfoetanolamina, PC: fosfocolina; GPE: glicerofosfoetanolamina; GPC: glicerofosfocolina; PME: fosfomonoéster, PDE: fosfodiéster; NSA: não se aplica (voxel excluído devido à presença de lesão)

ANEXO E3 - Valores da quantificação do pH, Mg^{2+} , metabólitos de fósforo e principais relações obtidas no voxel 144 correspondente ao parênquima aparentemente normal na região nucleocapsular esquerda por paciente

Paciente	pH	Mg^{2+}	PCr	Pi	ATP _t	PCr/ATP _t	PCr/Pi	PE	PC	GPE	GPC	PME	PDE	PME/PDE
1	7,007	0,170	0,161	0,121	0,318	0,507	1,328	0,097	0,052	0,078	0,124	0,149	0,202	0,736
2	7,079	0,147	0,180	0,069	0,345	0,522	2,611	0,142	0,047	0,105	0,111	0,190	0,216	0,879
3	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
4	6,979	0,170	0,193	0,092	0,323	0,597	2,087	0,116	0,045	0,086	0,125	0,161	0,212	0,761
5	7,037	0,218	0,191	0,097	0,294	0,650	1,970	0,160	0,043	0,070	0,150	0,203	0,220	0,926
6	6,965	0,162	0,213	0,080	0,262	0,816	2,655	0,107	0,061	0,097	0,138	0,168	0,236	0,714
7	7,019	0,142	0,198	0,087	0,308	0,642	2,273	0,137	0,042	0,079	0,125	0,179	0,204	0,879
8	7,002	0,192	0,218	0,065	0,219	0,993	3,334	0,144	0,064	0,085	0,163	0,208	0,249	0,838
9	7,009	0,171	0,204	0,101	0,256	0,796	2,023	0,143	0,055	0,098	0,130	0,198	0,228	0,868
10	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
11	6,978	0,123	0,184	0,096	0,319	0,577	1,911	0,147	0,040	0,094	0,119	0,188	0,213	0,880
12	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
13	6,926	0,149	0,216	0,063	0,288	0,748	3,400	0,117	0,063	0,081	0,102	0,180	0,183	0,986
14	7,035	0,144	0,174	0,098	0,294	0,590	1,763	0,140	0,041	0,110	0,153	0,181	0,264	0,687
15	6,969	0,170	0,166	0,098	0,317	0,526	1,706	0,145	0,047	0,067	0,114	0,192	0,181	1,059
16	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
17	6,984	0,140	0,205	0,092	0,283	0,725	2,237	0,137	0,064	0,068	0,101	0,201	0,170	1,183
18	7,056	0,078	0,196	0,098	0,267	0,733	1,996	0,150	0,031	0,051	0,140	0,181	0,191	0,949
19	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA

Nota: pH: potencial hidrogeniônico; Mg^{2+} : magnésio; PCr: fosfocreatina; Pi: fosfato inorgânico; ATP_t: adenosina trifosfato total; PE: fosfoetanolamina, PC: fosfocolina; GPE: glicerofosfoetanolamina; GPC: glicerofosfocolina; PME: fosfomonoéster, PDE: fosfodiéster; NSA: não se aplica (voxel excluído devido à presença de lesão)

Paciente	pH	Mg ²⁺	PCr	Pi	ATP _t	PCr/ATP _t	PCr/Pi	PE	PC	GPE	GPC	PME	PDE	PME/PDE
20	6,964	0,148	0,174	0,066	0,360	0,483	2,646	0,114	0,044	0,085	0,124	0,159	0,209	0,760
21	7,008	0,168	0,179	0,106	0,282	0,634	1,680	0,126	0,036	0,096	0,121	0,162	0,217	0,750
22	7,004	0,134	0,221	0,084	0,291	0,758	2,626	0,133	0,049	0,068	0,138	0,182	0,206	0,885
23	7,009	0,152	0,188	0,078	0,235	0,801	2,430	0,121	0,056	0,102	0,162	0,177	0,264	0,671
24	7,034	0,142	0,195	0,099	0,326	0,600	1,978	0,104	0,047	0,075	0,102	0,150	0,177	0,850
25	7,041	0,137	0,200	0,096	0,282	0,709	2,090	0,126	0,083	0,098	0,121	0,209	0,218	0,958
26	6,971	0,150	0,221	0,102	0,195	1,136	2,169	0,150	0,087	0,072	0,157	0,237	0,228	1,035
27	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
28	6,994	0,155	0,212	0,078	0,287	0,741	2,738	0,087	0,069	0,095	0,144	0,155	0,239	0,650
29	7,066	0,124	0,206	0,095	0,302	0,684	2,182	0,124	0,053	0,096	0,117	0,177	0,212	0,835
30	7,027	0,206	0,205	0,092	0,231	0,889	2,240	0,145	0,051	0,093	0,159	0,196	0,252	0,780
31	7,011	0,140	0,176	0,083	0,281	0,624	2,113	0,148	0,066	0,070	0,128	0,214	0,198	1,081
32	7,108	0,135	0,189	0,113	0,287	0,661	1,672	0,141	0,038	0,093	0,100	0,179	0,193	0,925
33	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
34	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
35	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
36	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
37	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA

Nota: pH: potencial hidrogeniônico; Mg²⁺: magnésio; PCr: fosfocreatina; Pi: fosfato inorgânico; ATP_t: adenosina trifosfato total; PE: fosfoetanolamina, PC: fosfocolina; GPE: glicerofosfoetanolamina; GPC: glicerofosfocolina; PME: fosfomonoéster, PDE: fosfodiéster; NSA: não se aplica (voxel excluído devido à presença de lesão)

ANEXO E4 - Valores da quantificação do pH, Mg^{2+} , metabólitos de fósforo e principais relações obtidas no voxel 192 correspondente ao parênquima aparentemente normal no córtex frontoparietal parassagital por paciente

Paciente	pH	Mg^{2+}	PCr	Pi	ATP _t	PCr/ATP _t	PCr/Pi	PE	PC	GPE	GPC	PME	PDE	PME/PDE
1	6,978	0,169	0,177	0,095	0,314	0,564	1,873	0,115	0,056	0,085	0,146	0,171	0,231	0,741
2	7,014	0,089	0,198	0,058	0,274	0,723	3,400	0,140	0,039	0,072	0,135	0,179	0,207	0,864
3	6,985	0,160	0,189	0,071	0,319	0,594	2,683	0,137	0,035	0,081	0,149	0,172	0,230	0,748
4	6,958	0,138	0,173	0,088	0,312	0,554	1,969	0,115	0,072	0,100	0,109	0,187	0,209	0,894
5	6,974	0,167	0,188	0,086	0,275	0,685	2,199	0,144	0,052	0,074	0,125	0,196	0,199	0,983
6	6,945	0,128	0,192	0,063	0,315	0,609	3,035	0,113	0,034	0,096	0,148	0,147	0,244	0,600
7	6,977	0,153	0,176	0,077	0,269	0,653	2,272	0,150	0,040	0,090	0,158	0,190	0,248	0,767
8	6,987	0,156	0,225	0,070	0,249	0,905	3,228	0,144	0,040	0,081	0,158	0,184	0,240	0,766
9	7,006	0,170	0,215	0,075	0,270	0,795	2,885	0,164	0,031	0,065	0,143	0,195	0,208	0,937
10	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
11	7,010	0,132	0,195	0,068	0,330	0,590	2,881	0,121	0,029	0,074	0,141	0,150	0,215	0,700
12	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
13	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
14	6,978	0,131	0,191	0,103	0,232	0,823	1,854	0,119	0,043	0,126	0,159	0,163	0,284	0,573
15	6,980	0,133	0,185	0,082	0,358	0,517	2,269	0,148	0,040	0,053	0,098	0,188	0,151	1,238
16	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
17	6,957	0,145	0,190	0,095	0,315	0,605	2,012	0,116	0,044	0,074	0,119	0,160	0,193	0,830
18	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
19	7,008	0,101	0,178	0,071	0,275	0,646	2,517	0,150	0,051	0,075	0,143	0,201	0,219	0,920

Nota: pH: potencial hidrogeniônico; Mg^{2+} : magnésio; PCr: fosfocreatina; Pi: fosfato inorgânico; ATP_t: adenosina trifosfato total; PE: fosfoetanolamina, PC: fosfocolina; GPE: glicerosfosfoetanolamina; GPC: glicerosfosfocolina; PME: fosfomonoéster, PDE: fosfodiéster; NSA: não se aplica (voxel excluído devido à presença de lesão)

Paciente	pH	Mg ²⁺	PCr	Pi	ATP _t	PCr/ATP _t	PCr/Pi	PE	PC	GPE	GPC	PME	PDE	PME/PDE
20	7,019	0,124	0,210	0,062	0,324	0,646	3,381	0,107	0,039	0,079	0,150	0,145	0,229	0,634
21	6,978	0,047	0,200	0,080	0,262	0,763	2,495	0,129	0,043	0,085	0,136	0,172	0,221	0,778
22	6,955	0,128	0,207	0,061	0,325	0,637	3,371	0,115	0,040	0,078	0,128	0,156	0,207	0,753
23	6,944	0,127	0,207	0,072	0,296	0,701	2,884	0,107	0,038	0,082	0,162	0,145	0,244	0,595
24	6,982	0,129	0,164	0,082	0,315	0,520	2,004	0,116	0,054	0,078	0,144	0,170	0,222	0,764
25	7,039	0,124	0,257	0,087	0,308	0,835	2,956	0,081	0,038	0,088	0,115	0,120	0,203	0,590
26	6,990	0,129	0,190	0,091	0,223	0,856	2,097	0,146	0,041	0,091	0,175	0,187	0,266	0,702
27	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
28	6,997	0,125	0,181	0,085	0,289	0,627	2,122	0,099	0,069	0,083	0,143	0,168	0,226	0,743
29	7,000	0,138	0,206	0,089	0,290	0,712	2,319	0,117	0,049	0,090	0,134	0,166	0,223	0,743
30	6,975	0,164	0,188	0,086	0,251	0,747	2,188	0,128	0,057	0,104	0,153	0,185	0,257	0,720
31	6,970	0,161	0,174	0,084	0,317	0,548	2,064	0,122	0,066	0,061	0,133	0,188	0,194	0,967
32	6,990	0,130	0,215	0,074	0,294	0,732	2,887	0,119	0,053	0,084	0,135	0,171	0,219	0,784
33	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
34	7,008	0,150	0,202	0,091	0,250	0,810	2,216	0,138	0,044	0,083	0,170	0,182	0,253	0,719
35	6,983	0,130	0,167	0,092	0,356	0,470	1,811	0,098	0,049	0,070	0,115	0,147	0,184	0,797
36	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
37	6,969	0,123	0,210	0,063	0,296	0,710	3,320	0,137	0,049	0,091	0,120	0,185	0,211	0,878

Nota: pH: potencial hidrogeniônico; Mg²⁺: magnésio; PCr: fosfocreatina; Pi: fosfato inorgânico; ATP_t: adenosina trifosfato total; PE: fosfoetanolamina, PC: fosfocolina; GPE: glicerofosfoetanolamina; GPC: glicerofosfocolina; PME: fosfomonoéster, PDE: fosfodiéster; NSA: não se aplica (voxel excluído devido à presença de lesão)

ANEXO E5 - Valores da quantificação do pH, Mg^{2+} , metabólitos de fósforo e principais relações obtidas no voxel 198 correspondente ao parênquima aparentemente normal no centro semioval direito por paciente

Paciente	pH	Mg^{2+}	PCr	Pi	ATP _t	PCr/ATP _t	PCr/Pi	PE	PC	GPE	GPC	PME	PDE	PME/PDE
1	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
2	7,012	0,084	0,180	0,077	0,287	0,629	2,349	0,149	0,046	0,075	0,113	0,195	0,188	1,038
3	7,015	0,149	0,176	0,073	0,325	0,541	2,397	0,121	0,034	0,093	0,114	0,156	0,207	0,751
4	6,951	0,140	0,197	0,084	0,315	0,627	2,334	0,098	0,050	0,089	0,137	0,148	0,226	0,654
5	7,003	0,171	0,189	0,091	0,270	0,700	2,076	0,158	0,047	0,091	0,127	0,205	0,218	0,939
6	7,009	0,134	0,198	0,069	0,273	0,725	2,855	0,141	0,041	0,092	0,126	0,182	0,217	0,837
7	7,004	0,131	0,196	0,097	0,315	0,622	2,017	0,125	0,042	0,075	0,143	0,167	0,218	0,764
8	7,002	0,159	0,192	0,072	0,292	0,656	2,662	0,125	0,045	0,091	0,153	0,170	0,245	0,695
9	6,989	0,129	0,183	0,089	0,295	0,622	2,051	0,140	0,038	0,084	0,138	0,178	0,222	0,802
10	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
11	7,034	0,121	0,191	0,080	0,305	0,627	2,384	0,123	0,024	0,103	0,121	0,147	0,224	0,654
12	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
13	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
14	6,946	0,141	0,167	0,105	0,298	0,559	1,582	0,118	0,047	0,118	0,121	0,165	0,239	0,692
15	7,029	0,132	0,175	0,086	0,345	0,509	2,045	0,149	0,043	0,063	0,100	0,192	0,163	1,179
16	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
17	7,010	0,127	0,191	0,082	0,377	0,505	2,317	0,118	0,036	0,055	0,102	0,154	0,157	0,981
18	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
19	7,009	0,097	0,161	0,098	0,277	0,582	1,646	0,130	0,049	0,051	0,147	0,179	0,198	0,907

Nota: pH: potencial hidrogeniônico; Mg^{2+} : magnésio; PCr: fosfocreatina; Pi: fosfato inorgânico; ATP_t: adenosina trifosfato total; PE: fosfoetanolamina, PC: fosfocolina; GPE: glicerofosfoetanolamina; GPC: glicerofosfocolina; PME: fosfomonoéster, PDE: fosfodiéster; NSA: não se aplica (voxel excluído devido à presença de lesão)

Paciente	pH	Mg ²⁺	PCr	Pi	ATP _t	PCr/ATP _t	PCr/Pi	PE	PC	GPE	GPC	PME	PDE	PME/PDE
20	7,024	0,126	0,188	0,075	0,327	0,576	2,507	0,114	0,038	0,092	0,138	0,152	0,230	0,661
21	7,032	0,005	0,183	0,097	0,260	0,705	1,890	0,125	0,062	0,071	0,115	0,187	0,187	1,004
22	6,974	0,141	0,216	0,075	0,299	0,723	2,881	0,130	0,044	0,077	0,118	0,174	0,196	0,886
23	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
24	7,048	0,111	0,165	0,087	0,331	0,498	1,896	0,106	0,059	0,089	0,124	0,165	0,212	0,778
25	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
26	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
27	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
28	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
29	7,042	0,129	0,184	0,105	0,290	0,634	1,757	0,107	0,046	0,094	0,126	0,153	0,220	0,695
30	6,990	0,159	0,185	0,113	0,223	0,827	1,636	0,135	0,066	0,108	0,160	0,201	0,268	0,752
31	7,005	0,128	0,168	0,080	0,307	0,548	2,099	0,138	0,064	0,076	0,138	0,202	0,213	0,946
32	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
33	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
34	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
35	6,947	0,123	0,159	0,107	0,362	0,438	1,485	0,098	0,047	0,053	0,125	0,145	0,178	0,816
36	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
37	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA

Nota: pH: potencial hidrogeniônico; Mg²⁺: magnésio; PCr: fosfocreatina; Pi: fosfato inorgânico; ATP_t: adenosina trifosfato total; PE: fosfoetanolamina, PC: fosfocolina; GPE: glicerofosfoetanolamina; GPC: glicerofosfocolina; PME: fosfomonoéster, PDE: fosfodiéster; NSA: não se aplica (voxel excluído devido à presença de lesão)

ANEXO E6 - Valores da quantificação do pH, Mg^{2+} , metabólitos de fósforo e principais relações obtidas no voxel 200 correspondente ao parênquima aparentemente no centro semioval esquerdo por paciente

Paciente	pH	Mg^{2+}	PCr	Pi	ATP _t	PCr/ATP _t	PCr/Pi	PE	PC	GPE	GPC	PME	PDE	PME/PDE
1	6,988	0,174	0,178	0,087	0,345	0,515	2,040	0,094	0,043	0,085	0,125	0,137	0,210	0,651
2	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
3	6,979	0,128	0,199	0,078	0,280	0,711	2,548	0,127	0,037	0,084	0,133	0,165	0,217	0,759
4	6,966	0,166	0,196	0,085	0,334	0,587	2,313	0,084	0,054	0,100	0,133	0,138	0,233	0,590
5	6,978	0,144	0,194	0,093	0,273	0,709	2,082	0,154	0,044	0,073	0,129	0,198	0,202	0,976
6	6,996	0,169	0,196	0,069	0,296	0,662	2,835	0,116	0,039	0,094	0,154	0,155	0,248	0,627
7	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
8	7,014	0,132	0,240	0,073	0,238	1,009	3,275	0,143	0,047	0,076	0,163	0,190	0,239	0,794
9	7,018	0,119	0,234	0,074	0,279	0,839	3,184	0,166	0,030	0,066	0,130	0,196	0,196	1,000
10	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
11	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
12	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
13	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
14	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
15	6,959	0,133	0,176	0,085	0,349	0,503	2,063	0,146	0,050	0,063	0,095	0,196	0,159	1,237
16	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
17	6,957	0,121	0,194	0,090	0,295	0,657	2,152	0,123	0,058	0,081	0,102	0,181	0,183	0,990
18	7,024	0,119	0,190	0,081	0,303	0,628	2,348	0,114	0,054	0,066	0,130	0,168	0,196	0,858
19	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA

Nota: pH: potencial hidrogeniônico; Mg^{2+} : magnésio; PCr: fosfocreatina; Pi: fosfato inorgânico; ATP_t: adenosina trifosfato total; PE: fosfoetanolamina, PC: fosfocolina; GPE: glicerofosfoetanolamina; GPC: glicerofosfocolina; PME: fosfomonoéster, PDE: fosfodiéster; NSA: não se aplica (voxel excluído devido à presença de lesão)

Paciente	pH	Mg ²⁺	PCr	Pi	ATP _t	PCr/ATP _t	PCr/Pi	PE	PC	GPE	GPC	PME	PDE	PME/PDE
20	7,029	0,156	0,204	0,059	0,333	0,612	3,455	0,088	0,036	0,091	0,149	0,125	0,240	0,520
21	7,006	0,035	0,180	0,077	0,300	0,599	2,336	0,119	0,041	0,081	0,120	0,160	0,201	0,795
22	6,959	0,130	0,234	0,074	0,306	0,766	3,176	0,133	0,045	0,068	0,122	0,178	0,190	0,934
23	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
24	6,979	0,119	0,181	0,104	0,314	0,576	1,738	0,112	0,052	0,065	0,133	0,164	0,198	0,829
25	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
26	6,991	0,148	0,230	0,085	0,205	1,123	2,712	0,137	0,077	0,081	0,163	0,214	0,244	0,880
27	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
28	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
29	6,999	0,142	0,198	0,089	0,299	0,662	2,233	0,099	0,046	0,096	0,147	0,146	0,243	0,599
30	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
31	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
32	7,070	0,096	0,182	0,093	0,282	0,643	1,953	0,117	0,047	0,096	0,123	0,164	0,219	0,749
33	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
34	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
35	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
36	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
37	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA

Nota: pH: potencial hidrogeniônico; Mg²⁺: magnésio; PCr: fosfocreatina; Pi: fosfato inorgânico; ATP_t: adenosina trifosfato total; PE: fosfoetanolamina, PC: fosfocolina; GPE: glicerofosfoetanolamina; GPC: glicerofosfocolina; PME: fosfomonoéster, PDE: fosfodiéster; NSA: não se aplica (voxel excluído devido à presença de lesão)

ANEXO F1 - Valores da quantificação do pH, Mg^{2+} , metabólitos de fósforo e principais relações medidas no voxel 142 correspondente à região nucleocapsular direita por controle

Controle	pH	Mg^{2+}	PCr	Pi	ATP _t	PCr/ATP _t	PCr/Pi	PE	PC	GPE	GPC	PME	PDE	PME/PDE
1	7,026	0,136	0,192	0,071	0,335	0,573	2,716	0,111	0,073	0,083	0,110	0,184	0,193	0,951
2	6,976	0,140	0,164	0,078	0,293	0,561	2,113	0,139	0,042	0,092	0,123	0,181	0,215	0,839
3	7,036	0,119	0,172	0,106	0,310	0,555	1,626	0,108	0,060	0,082	0,129	0,168	0,211	0,796
4	7,038	0,140	0,183	0,078	0,287	0,639	2,356	0,139	0,057	0,094	0,122	0,196	0,216	0,907
5	6,974	0,137	0,190	0,089	0,276	0,688	2,140	0,141	0,052	0,071	0,120	0,193	0,191	1,010
6	7,093	0,156	0,183	0,097	0,300	0,610	1,893	0,157	0,046	0,054	0,129	0,203	0,184	1,105
7	6,942	0,113	0,153	0,088	0,332	0,460	1,735	0,148	0,059	0,053	0,132	0,208	0,185	1,123
8	7,016	0,154	0,169	0,090	0,308	0,550	1,887	0,136	0,054	0,122	0,088	0,191	0,211	0,905
9	7,033	0,140	0,179	0,093	0,300	0,597	1,927	0,115	0,061	0,086	0,134	0,176	0,219	0,800
10	6,911	0,171	0,200	0,099	0,285	0,699	2,018	0,147	0,048	0,076	0,123	0,195	0,200	0,974
11	6,925	0,122	0,195	0,087	0,325	0,601	2,250	0,098	0,054	0,077	0,133	0,152	0,210	0,726
12	6,974	0,126	0,177	0,113	0,297	0,595	1,560	0,124	0,032	0,106	0,105	0,156	0,212	0,738
13	7,015	0,149	0,188	0,127	0,283	0,664	1,481	0,150	0,032	0,075	0,124	0,182	0,200	0,911
14	7,010	0,142	0,182	0,080	0,304	0,598	2,274	0,145	0,058	0,065	0,101	0,202	0,166	1,219
15	6,924	0,181	0,204	0,095	0,310	0,658	2,136	0,118	0,066	0,045	0,158	0,185	0,203	0,910
16	7,044	0,492	0,202	0,093	0,302	0,668	2,161	0,159	0,031	0,085	0,117	0,190	0,202	0,941
17	6,972	0,143	0,215	0,084	0,281	0,767	2,562	0,130	0,050	0,112	0,109	0,179	0,221	0,808
18	7,021	0,145	0,174	0,078	0,303	0,575	2,227	0,126	0,069	0,106	0,122	0,194	0,228	0,853
19	7,031	0,168	0,208	0,093	0,272	0,765	2,236	0,123	0,049	0,108	0,134	0,171	0,241	0,711

Nota: pH: potencial hidrogeniônico; Mg^{2+} : magnésio; PCr: fosfocreatina; Pi: fosfato inorgânico; ATP_t: adenosina trifosfato total; PE: fosfoetanolamina, PC: fosfocolina; GPE: glicerofosfoetanolamina; GPC: glicerofosfocolina; PME: fosfomonoéster, PDE: fosfodiéster

Controle	pH	Mg ²⁺	PCr	Pi	ATP _t	PCr/ATP _t	PCr/Pi	PE	PC	GPE	GPC	PME	PDE	PME/PDE
20	7,019	0,138	0,185	0,115	0,287	0,645	1,614	0,140	0,052	0,083	0,100	0,191	0,183	1,045
21	6,995	0,145	0,242	0,096	0,207	1,165	2,528	0,112	0,036	0,070	0,157	0,148	0,227	0,650
22	7,097	0,150	0,208	0,052	0,285	0,727	3,968	0,110	0,065	0,113	0,132	0,175	0,244	0,718
23	7,041	0,140	0,200	0,100	0,265	0,755	2,005	0,108	0,060	0,093	0,160	0,168	0,253	0,665
24	7,006	0,134	0,168	0,077	0,310	0,540	2,165	0,149	0,052	0,075	0,122	0,201	0,197	1,019
25	7,009	0,166	0,173	0,106	0,296	0,583	1,633	0,158	0,054	0,074	0,113	0,211	0,187	1,130
26	7,093	0,117	0,199	0,109	0,263	0,755	1,832	0,133	0,051	0,083	0,113	0,184	0,196	0,939
27	6,979	0,181	0,216	0,096	0,228	0,948	2,251	0,148	0,051	0,098	0,145	0,199	0,243	0,816
28	7,027	0,141	0,195	0,077	0,243	0,802	2,531	0,139	0,063	0,102	0,135	0,202	0,237	0,851
29	7,011	0,130	0,184	0,089	0,316	0,582	2,078	0,132	0,053	0,078	0,096	0,185	0,174	1,064
30	6,974	0,161	0,186	0,091	0,300	0,619	2,034	0,129	0,035	0,105	0,146	0,163	0,251	0,651
31	7,023	0,170	0,190	0,130	0,214	0,888	1,453	0,143	0,087	0,073	0,127	0,229	0,200	1,146

Nota: pH: potencial hidrogeniônico; Mg²⁺: magnésio; PCr: fosfocreatina; Pi: fosfato inorgânico; ATP_t: adenosina trifosfato total; PE: fosfoetanolamina, PC: fosfocolina; GPE: glicerofosfoetanolamina; GPC: glicerofosfocolina; PME: fosfomonoéster, PDE: fosfodiéster

ANEXO F2 - Valores da quantificação do pH, Mg^{2+} , metabólitos de fósforo e principais relações medidas no voxel 144 correspondente à região nucleocapsular esquerda por controle

Controle	pH	Mg^{2+}	PCr	Pi	ATP _t	PCr/ATP _t	PCr/Pi	PE	PC	GPE	GPC	PME	PDE	PME/PDE
1	6,963	0,138	0,166	0,089	0,315	0,525	1,862	0,114	0,065	0,080	0,130	0,179	0,210	0,852
2	7,005	0,132	0,161	0,092	0,293	0,550	1,752	0,131	0,065	0,093	0,129	0,197	0,222	0,888
3	7,047	0,132	0,165	0,099	0,327	0,504	1,665	0,118	0,054	0,095	0,113	0,172	0,207	0,828
4	7,000	0,147	0,197	0,100	0,300	0,656	1,978	0,100	0,074	0,083	0,111	0,174	0,195	0,894
5	6,985	0,138	0,160	0,094	0,331	0,484	1,711	0,122	0,067	0,102	0,101	0,190	0,203	0,934
6	7,052	0,123	0,206	0,076	0,297	0,693	2,706	0,139	0,060	0,080	0,123	0,200	0,203	0,987
7	6,958	0,131	0,184	0,089	0,321	0,573	2,056	0,117	0,068	0,060	0,100	0,185	0,160	1,159
8	7,041	0,117	0,191	0,060	0,320	0,595	3,184	0,137	0,071	0,093	0,086	0,208	0,180	1,158
9	7,026	0,124	0,195	0,073	0,315	0,617	2,668	0,114	0,058	0,068	0,145	0,172	0,213	0,806
10	6,959	0,135	0,204	0,088	0,302	0,675	2,326	0,114	0,063	0,104	0,092	0,177	0,195	0,908
11	6,893	0,122	0,170	0,086	0,324	0,525	1,971	0,134	0,058	0,088	0,118	0,192	0,206	0,931
12	6,947	0,144	0,193	0,089	0,300	0,645	2,178	0,117	0,060	0,093	0,107	0,177	0,200	0,889
13	6,972	0,133	0,228	0,067	0,273	0,832	3,396	0,153	0,051	0,090	0,120	0,205	0,210	0,976
14	6,932	0,141	0,195	0,065	0,333	0,587	2,992	0,137	0,051	0,063	0,127	0,188	0,191	0,986
15	7,101	0,184	0,212	0,083	0,220	0,964	2,549	0,162	0,073	0,107	0,127	0,235	0,235	1,000
16	6,928	0,709	0,210	0,123	0,269	0,781	1,712	0,130	0,049	0,105	0,115	0,179	0,220	0,815
17	6,967	0,136	0,228	0,068	0,299	0,764	3,331	0,126	0,019	0,102	0,112	0,145	0,214	0,676
18	7,016	0,124	0,184	0,102	0,287	0,640	1,808	0,136	0,052	0,094	0,130	0,188	0,224	0,839
19	7,002	0,161	0,197	0,092	0,292	0,677	2,150	0,113	0,052	0,077	0,163	0,165	0,240	0,687

Nota: pH: potencial hidrogeniônico; Mg^{2+} : magnésio; PCr: fosfocreatina; Pi: fosfato inorgânico; ATP_t: adenosina trifosfato total; PE: fosfoetanolamina, PC: fosfocolina; GPE: glicerofosfoetanolamina; GPC: glicerofosfocolina; PME: fosfomonoéster, PDE: fosfodiéster

Controle	pH	Mg ²⁺	PCr	Pi	ATP _t	PCr/ATP _t	PCr/Pi	PE	PC	GPE	GPC	PME	PDE	PME/PDE
20	7,010	0,149	0,172	0,099	0,316	0,545	1,741	0,122	0,053	0,080	0,116	0,176	0,196	0,894
21	7,041	0,201	0,223	0,075	0,201	1,113	2,968	0,129	0,090	0,086	0,161	0,219	0,247	0,888
22	7,024	0,150	0,206	0,083	0,284	0,727	2,496	0,120	0,054	0,089	0,147	0,174	0,236	0,739
23	7,011	0,150	0,204	0,080	0,286	0,711	2,550	0,145	0,021	0,121	0,133	0,166	0,254	0,653
24	6,965	0,166	0,194	0,084	0,273	0,712	2,315	0,150	0,035	0,090	0,136	0,186	0,226	0,821
25	6,996	0,189	0,181	0,091	0,292	0,621	1,990	0,141	0,059	0,079	0,131	0,200	0,210	0,952
26	7,026	0,141	0,174	0,094	0,294	0,592	1,859	0,137	0,041	0,077	0,134	0,178	0,210	0,848
27	6,981	0,210	0,216	0,082	0,257	0,841	2,636	0,105	0,053	0,087	0,136	0,157	0,222	0,708
28	7,013	0,199	0,176	0,085	0,298	0,590	2,080	0,124	0,056	0,092	0,129	0,180	0,221	0,813
29	6,969	0,143	0,195	0,063	0,283	0,691	3,102	0,163	0,059	0,087	0,115	0,222	0,202	1,100
30	6,987	0,142	0,217	0,092	0,234	0,925	2,344	0,133	0,047	0,081	0,137	0,180	0,219	0,822
31	7,040	0,113	0,193	0,091	0,272	0,710	2,128	0,132	0,047	0,098	0,126	0,179	0,224	0,798

Nota: pH: potencial hidrogeniônico; Mg²⁺: magnésio; PCr: fosfocreatina; Pi: fosfato inorgânico; ATP_t: adenosina trifosfato total; PE: fosfoetanolamina, PC: fosfocolina; GPE: glicerofosfoetanolamina; GPC: glicerofosfocolina; PME: fosfomonoéster, PDE: fosfodiéster

ANEXO F3 - Valores da quantificação do pH, Mg^{2+} , metabólitos de fósforo e principais relações medidas no voxel/ 192 correspondente à substância cinzenta cortical frontoparietal parassagital por controle

Controle	pH	Mg^{2+}	PCr	Pi	ATP _t	PCr/ATP _t	PCr/Pi	PE	PC	GPE	GPC	PME	PDE	PME/PDE
1	7,103	0,101	0,184	0,079	0,344	0,536	2,337	0,103	0,052	0,090	0,138	0,154	0,228	0,677
2	7,100	0,099	0,162	0,092	0,292	0,554	1,763	0,133	0,056	0,096	0,123	0,190	0,218	0,868
3	7,095	0,105	0,159	0,085	0,310	0,512	1,872	0,099	0,054	0,110	0,144	0,153	0,254	0,604
4	7,095	0,098	0,168	0,077	0,320	0,525	2,195	0,130	0,053	0,072	0,130	0,183	0,202	0,906
5	7,044	0,152	0,165	0,096	0,305	0,542	1,720	0,112	0,054	0,093	0,150	0,166	0,243	0,682
6	7,091	0,100	0,173	0,113	0,311	0,557	1,530	0,109	0,054	0,064	0,135	0,163	0,199	0,820
7	7,122	0,075	0,156	0,102	0,300	0,520	1,535	0,157	0,050	0,055	0,113	0,207	0,168	1,235
8	7,135	0,115	0,184	0,083	0,344	0,536	2,220	0,141	0,046	0,081	0,080	0,187	0,161	1,163
9	7,116	0,164	0,199	0,076	0,300	0,663	2,616	0,122	0,050	0,086	0,148	0,172	0,234	0,734
10	7,125	0,147	0,180	0,095	0,293	0,613	1,892	0,122	0,050	0,104	0,130	0,172	0,234	0,736
11	7,094	0,096	0,177	0,099	0,328	0,541	1,799	0,108	0,050	0,070	0,146	0,158	0,216	0,731
12	7,090	0,102	0,198	0,073	0,301	0,657	2,699	0,122	0,056	0,095	0,135	0,178	0,230	0,774
13	7,098	0,114	0,222	0,075	0,303	0,731	2,972	0,131	0,031	0,079	0,122	0,162	0,201	0,805
14	7,102	0,153	0,191	0,085	0,301	0,636	2,247	0,117	0,044	0,081	0,127	0,161	0,208	0,774
15	7,100	0,104	0,198	0,055	0,276	0,716	3,581	0,134	0,041	0,096	0,159	0,175	0,256	0,685
16	7,142	0,182	0,204	0,094	0,282	0,723	2,164	0,129	0,056	0,104	0,145	0,185	0,248	0,744
17	7,094	0,089	0,232	0,076	0,305	0,761	3,047	0,103	0,022	0,087	0,136	0,125	0,224	0,561
18	7,129	0,126	0,199	0,080	0,306	0,650	2,472	0,116	0,047	0,100	0,121	0,163	0,221	0,739
19	7,121	0,136	0,198	0,083	0,254	0,779	2,391	0,141	0,052	0,097	0,135	0,193	0,232	0,832

Nota: pH: potencial hidrogeniônico; Mg^{2+} : magnésio; PCr: fosfocreatina; Pi: fosfato inorgânico; ATP_t: adenosina trifosfato total; PE: fosfoetanolamina, PC: fosfocolina; GPE: glicerofosfoetanolamina; GPC: glicerofosfocolina; PME: fosfomonoéster, PDE: fosfodiéster

Controle	pH	Mg ²⁺	PCr	Pi	ATP _t	PCr/ATP _t	PCr/Pi	PE	PC	GPE	GPC	PME	PDE	PME/PDE
20	6,971	0,133	0,176	0,104	0,312	0,563	1,693	0,104	0,046	0,082	0,123	0,150	0,204	0,734
21	7,118	0,186	0,231	0,081	0,208	1,113	2,838	0,177	0,048	0,087	0,157	0,225	0,244	0,922
22	7,117	0,100	0,201	0,079	0,242	0,831	2,537	0,116	0,042	0,095	0,163	0,159	0,259	0,612
23	7,081	0,153	0,186	0,101	0,296	0,628	1,844	0,119	0,033	0,092	0,147	0,152	0,239	0,637
24	7,126	0,114	0,185	0,073	0,284	0,653	2,554	0,144	0,062	0,085	0,125	0,206	0,210	0,981
25	7,105	0,119	0,171	0,097	0,295	0,582	1,774	0,160	0,054	0,077	0,120	0,214	0,197	1,083
26	7,125	0,094	0,169	0,084	0,331	0,512	2,026	0,103	0,056	0,091	0,125	0,159	0,216	0,738
27	7,091	0,177	0,202	0,082	0,278	0,727	2,472	0,133	0,046	0,091	0,135	0,179	0,226	0,791
28	6,993	0,132	0,209	0,079	0,258	0,808	2,645	0,115	0,047	0,098	0,133	0,162	0,231	0,702
29	7,031	0,137	0,190	0,060	0,310	0,613	3,166	0,173	0,059	0,071	0,124	0,232	0,194	1,195
30	6,983	0,141	0,211	0,081	0,241	0,876	2,596	0,133	0,049	0,085	0,137	0,182	0,222	0,820
31	6,977	0,153	0,204	0,101	0,276	0,741	2,032	0,131	0,061	0,084	0,115	0,192	0,199	0,963

Nota: pH: potencial hidrogeniônico; Mg²⁺: magnésio; PCr: fosfocreatina; Pi: fosfato inorgânico; ATP_t: adenosina trifosfato total; PE: fosfoetanolamina, PC: fosfocolina; GPE: glicerofosfoetanolamina; GPC: glicerofosfocolina; PME: fosfomonoéster, PDE: fosfodiéster

ANEXO F4 - Valores da quantificação do pH, Mg^{2+} , metabólitos de fósforo e principais relações medidas no voxel 198 correspondente à substância branca do centro semioval direito por controle

Controle	pH	Mg^{2+}	PCr	Pi	ATP _t	PCr/ATP _t	PCr/Pi	PE	PC	GPE	GPC	PME	PDE	PME/PDE
1	7,091	0,095	0,177	0,111	0,329	0,537	1,598	0,088	0,052	0,083	0,120	0,140	0,203	0,687
2	7,087	0,098	0,151	0,092	0,292	0,518	1,647	0,124	0,051	0,103	0,127	0,176	0,231	0,762
3	7,107	0,087	0,157	0,096	0,310	0,506	1,637	0,105	0,046	0,083	0,155	0,151	0,238	0,633
4	7,101	0,099	0,164	0,075	0,315	0,521	2,187	0,132	0,047	0,067	0,130	0,179	0,197	0,908
5	7,127	0,094	0,171	0,068	0,338	0,506	2,503	0,119	0,059	0,068	0,121	0,178	0,190	0,939
6	7,143	0,105	0,180	0,102	0,287	0,627	1,767	0,128	0,060	0,075	0,121	0,188	0,196	0,957
7	7,076	0,073	0,176	0,085	0,333	0,528	2,060	0,149	0,034	0,039	0,119	0,183	0,158	1,159
8	7,125	0,112	0,160	0,094	0,313	0,512	1,712	0,141	0,057	0,095	0,094	0,198	0,189	1,047
9	7,104	0,106	0,194	0,069	0,321	0,603	2,793	0,101	0,041	0,085	0,140	0,143	0,224	0,637
10	7,103	0,147	0,180	0,089	0,296	0,608	2,032	0,141	0,057	0,096	0,116	0,198	0,212	0,933
11	7,037	0,091	0,178	0,087	0,367	0,485	2,039	0,115	0,024	0,074	0,134	0,139	0,208	0,668
12	7,080	0,088	0,185	0,109	0,284	0,651	1,701	0,117	0,049	0,098	0,122	0,165	0,220	0,749
13	7,099	0,102	0,190	0,081	0,296	0,643	2,359	0,115	0,054	0,088	0,129	0,170	0,217	0,782
14	7,174	0,118	0,156	0,085	0,333	0,469	1,827	0,135	0,028	0,083	0,113	0,163	0,196	0,832
15	7,074	0,147	0,192	0,077	0,315	0,610	2,504	0,122	0,050	0,074	0,142	0,172	0,216	0,798
16	7,138	0,164	0,169	0,090	0,306	0,553	1,871	0,146	0,042	0,092	0,136	0,189	0,228	0,827
17	7,098	0,090	0,189	0,076	0,311	0,605	2,491	0,104	0,046	0,099	0,125	0,150	0,224	0,671
18	7,137	0,125	0,164	0,094	0,333	0,493	1,748	0,111	0,051	0,090	0,123	0,162	0,213	0,757
19	7,123	0,141	0,194	0,094	0,267	0,726	2,054	0,125	0,044	0,100	0,118	0,168	0,218	0,771

Nota: pH: potencial hidrogeniônico; Mg^{2+} : magnésio; PCr: fosfocreatina; Pi: fosfato inorgânico; ATP_t: adenosina trifosfato total; PE: fosfoetanolamina, PC: fosfocolina; GPE: glicerofosfoetanolamina; GPC: glicerofosfocolina; PME: fosfomonoéster, PDE: fosfodiéster

Controle	pH	Mg ²⁺	PCr	Pi	ATP _t	PCr/ATP _t	PCr/Pi	PE	PC	GPE	GPC	PME	PDE	PME/PDE
20	7,114	0,080	0,170	0,101	0,298	0,571	1,689	0,127	0,028	0,068	0,110	0,156	0,178	0,874
21	7,101	0,189	0,226	0,080	0,227	0,999	2,815	0,139	0,058	0,085	0,154	0,197	0,239	0,824
22	7,100	0,139	0,189	0,083	0,260	0,725	2,270	0,105	0,067	0,107	0,162	0,172	0,268	0,641
23	7,119	0,162	0,181	0,110	0,298	0,605	1,649	0,107	0,051	0,087	0,148	0,158	0,236	0,671
24	7,099	0,106	0,174	0,070	0,325	0,534	2,477	0,138	0,054	0,073	0,118	0,191	0,191	1,004
25	7,151	0,179	0,174	0,094	0,288	0,604	1,860	0,163	0,063	0,089	0,117	0,225	0,206	1,094
26	7,100	0,070	0,170	0,089	0,303	0,563	1,908	0,111	0,055	0,097	0,105	0,166	0,202	0,820
27	7,119	0,165	0,200	0,098	0,281	0,712	2,046	0,140	0,047	0,100	0,127	0,187	0,227	0,826
28	7,021	0,121	0,177	0,069	0,288	0,615	2,578	0,141	0,042	0,083	0,127	0,183	0,210	0,872
29	7,022	0,128	0,174	0,089	0,316	0,550	1,959	0,144	0,032	0,072	0,129	0,176	0,200	0,878
30	6,990	0,142	0,188	0,090	0,285	0,662	2,090	0,133	0,065	0,087	0,137	0,198	0,224	0,884
31	7,010	0,159	0,185	0,121	0,271	0,685	1,538	0,115	0,052	0,110	0,122	0,167	0,231	0,722

Nota: pH: potencial hidrogeniônico; Mg²⁺: magnésio; PCr: fosfocreatina; Pi: fosfato inorgânico; ATP_t: adenosina trifosfato total; PE: fosfoetanolamina, PC: fosfocolina; GPE: glicerofosfoetanolamina; GPC: glicerofosfocolina; PME: fosfomonoéster, PDE: fosfodiéster

ANEXO F5 - Valores da quantificação do pH, Mg^{2+} , metabólitos de fósforo e principais relações medidas no voxel 200 correspondente à substância branca do centro semioval esquerdo por controle

Controle	pH	Mg^{2+}	PCr	Pi	ATP _t	PCr/ATP _t	PCr/Pi	PE	PC	GPE	GPC	PME	PDE	PME/PDE
1	7,090	0,096	0,169	0,085	0,314	0,538	1,982	0,095	0,046	0,082	0,139	0,141	0,221	0,639
2	7,086	0,098	0,166	0,090	0,265	0,627	1,849	0,124	0,063	0,090	0,140	0,188	0,230	0,816
3	7,117	0,111	0,145	0,100	0,329	0,441	1,446	0,100	0,051	0,088	0,149	0,151	0,237	0,639
4	7,109	0,092	0,174	0,093	0,305	0,568	1,866	0,107	0,057	0,089	0,122	0,165	0,211	0,779
5	7,080	0,105	0,166	0,078	0,327	0,509	2,124	0,096	0,046	0,076	0,143	0,142	0,219	0,650
6	7,121	0,168	0,188	0,075	0,326	0,576	2,504	0,116	0,060	0,076	0,130	0,176	0,206	0,851
7	7,128	0,085	0,171	0,092	0,344	0,497	1,860	0,142	0,029	0,057	0,107	0,171	0,164	1,046
8	7,132	0,082	0,177	0,069	0,353	0,502	2,579	0,117	0,055	0,081	0,088	0,172	0,169	1,016
9	7,101	0,177	0,218	0,076	0,312	0,697	2,874	0,076	0,055	0,082	0,137	0,131	0,219	0,600
10	7,172	0,093	0,183	0,094	0,318	0,577	1,957	0,107	0,034	0,093	0,123	0,141	0,215	0,654
11	6,974	0,092	0,169	0,086	0,292	0,580	1,976	0,138	0,059	0,088	0,116	0,198	0,204	0,970
12	7,089	0,098	0,178	0,071	0,291	0,611	2,506	0,108	0,062	0,084	0,137	0,170	0,221	0,769
13	7,074	0,106	0,218	0,062	0,293	0,742	3,505	0,117	0,055	0,082	0,118	0,172	0,200	0,861
14	7,125	0,167	0,169	0,075	0,315	0,538	2,247	0,117	0,051	0,072	0,141	0,168	0,213	0,790
15	7,114	0,097	0,189	0,064	0,290	0,653	2,963	0,135	0,051	0,100	0,124	0,186	0,224	0,827
16	7,114	0,182	0,226	0,112	0,255	0,886	2,013	0,126	0,050	0,116	0,104	0,176	0,220	0,802
17	7,090	0,164	0,236	0,070	0,320	0,737	3,369	0,084	0,036	0,098	0,138	0,119	0,235	0,507
18	7,079	0,127	0,195	0,087	0,316	0,617	2,242	0,108	0,045	0,099	0,125	0,153	0,224	0,685
19	7,087	0,096	0,206	0,094	0,283	0,729	2,202	0,121	0,049	0,081	0,138	0,170	0,219	0,779

Nota: pH: potencial hidrogeniônico; Mg^{2+} : magnésio; PCr: fosfocreatina; Pi: fosfato inorgânico; ATP_t: adenosina trifosfato total; PE: fosfoetanolamina, PC: fosfocolina; GPE: glicerofosfoetanolamina; GPC: glicerofosfocolina; PME: fosfomonoéster, PDE: fosfodiéster

Controle	pH	Mg ²⁺	PCr	Pi	ATP _t	PCr/ATP _t	PCr/Pi	PE	PC	GPE	GPC	PME	PDE	PME/PDE
20	7,095	0,099	0,173	0,098	0,322	0,535	1,769	0,130	0,044	0,080	0,116	0,174	0,195	0,889
21	7,130	0,116	0,214	0,082	0,218	0,984	2,621	0,154	0,071	0,087	0,155	0,225	0,242	0,929
22	7,108	0,109	0,201	0,077	0,267	0,753	2,598	0,100	0,058	0,082	0,165	0,158	0,246	0,641
23	7,076	0,163	0,180	0,099	0,307	0,586	1,807	0,133	0,029	0,097	0,148	0,162	0,245	0,661
24	7,071	0,111	0,179	0,091	0,302	0,594	1,975	0,151	0,043	0,084	0,116	0,195	0,200	0,972
25	7,099	0,169	0,192	0,085	0,291	0,661	2,270	0,150	0,046	0,089	0,129	0,197	0,218	0,902
26	7,116	0,102	0,182	0,094	0,287	0,634	1,936	0,113	0,056	0,082	0,137	0,169	0,219	0,771
27	7,125	0,179	0,189	0,079	0,278	0,679	2,376	0,115	0,055	0,087	0,129	0,170	0,216	0,788
28	7,035	0,146	0,189	0,083	0,263	0,720	2,284	0,101	0,065	0,100	0,145	0,167	0,245	0,680
29	7,011	0,144	0,189	0,065	0,271	0,697	2,900	0,140	0,063	0,084	0,123	0,203	0,206	0,985
30	7,010	0,125	0,190	0,087	0,242	0,785	2,179	0,143	0,050	0,080	0,144	0,193	0,223	0,865
31	6,985	0,124	0,197	0,091	0,267	0,737	2,153	0,138	0,062	0,102	0,116	0,200	0,218	0,921

Nota: pH: potencial hidrogeniônico; Mg²⁺: magnésio; PCr: fosfocreatina; Pi: fosfato inorgânico; ATP_t: adenosina trifosfato total; PE: fosfoetanolamina, PC: fosfocolina; GPE: glicerofosfoetanolamina; GPC: glicerofosfocolina; PME: fosfomonoéster, PDE: fosfodiéster

ANEXO G

Epilepsia

Phosphorus magnetic resonance spectroscopy in malformations of cortical development

Journal:	<i>Epilepsia</i>
Manuscript ID:	EPI-00029-2011
Manuscript Type:	Full length original research paper
Date Submitted by the Author:	13-Jan-2011
Complete List of Authors:	Andrade, Celi; University of São Paulo, Radiology Otaduy, Maria; University of São Paulo, Radiology Valente, Kette; University of São Paulo, Psychiatry Maia, Danilo; University of São Paulo, Psychiatry Park, Eun; University of São Paulo, Radiology Valerio, Rosa; University of São Paulo, Neurology Tsunemi, Miriam; University Julio de Mesquita Filho, Statistics Leite, Claudia; University of São Paulo, Radiology
Key Words:	neurometabolism, epilepsy, energetics, phospholipids, pH

ANEXO H

ARQUIVOS DE
NEURO-PSIQUIATRIA

View and review

Arq Neuropsiquiatr 2011;69(1):130-138

Malformations of cortical development

Current concepts and advanced neuroimaging review

Celi Santos Andrade¹, Claudia da Costa Leite²

ABSTRACT

Malformations of cortical development (MCD) result from disruptions in the complex process of the human brain cortex formation and are highly associated to severe epilepsy, neurodevelopmental delay and motor dysfunction. Nowadays, magnetic resonance imaging (MRI) is the cornerstone of the work-up of patients with epilepsy and modern advanced imaging techniques have improved not only our ability to detect and characterize cortical malformations, but also in identifying associated functional abnormalities that are far beyond the structural visualized lesions. Herein, we address the most currently used classifications of MCD and make a concise review of the embryological process of cortical development. Our main goal is to summarize recent advances and new trends in diagnostic imaging techniques concerning MCD. Thereafter, follows a brief discussion of specific disorders and their radiological features.

Key words: malformations of cortical development, epilepsy, magnetic resonance imaging, diagnostic imaging.

10 Referências

- Alberts B, Johnson A, Lewis J. *Molecular Biology of the Cell*. 4th ed. New York: Garland Science; 2002.
- Andrade CS, Leite CC. Malformations of cortical development: current concepts and advanced neuroimaging review. *Arq Neuropsiquiatr*. 2011;69(1):130-8.
- Andronesi OC, Ramadan S, Ratai EM, Jennings D, Mountford CE, Sorensen, AG. Spectroscopic imaging with improved gradient modulated constant adiabaticity pulses on high-field clinical scanners. *J Magn Reson*. 2010;203:283-93.
- Arias-Mendoza F, Javaid T, Stoyanova R, Brown TR, Gonen O. Heteronuclear multivoxel spectroscopy of in vivo human brain: two-dimensional proton interleaved with three-dimensional H-1-decoupled phosphorus chemical shift imaging. *NMR Biomed*. 1996;9:105-13.
- Arnold DL, Emrich JF, Shoubridge EA, Villemure JG, Feindel W.. Characterization of astrocytomas, meningiomas, and pituitary adenomas by phosphorus magnetic resonance spectroscopy. *J Neurosurg*. 1991;74:447-53.
- Aussedat J, Lortet S, Ray A, Rossi A, Heckman M, Zimmer HG, *et al.* Energy metabolism of the hypertrophied heart studied by ³¹P nuclear magnetic resonance. *Cardioscience*. 1992;3:233-9.
- Avdievich NT, Hetherington HP. 4 T Actively detuneable double-tuned H-1/P-31 head volume coil and four-channel P-31 phased array for human brain spectroscopy. *J Magn Reson*. 2007;186:341-6.
- Barbiroli B, Martinelli P, Patuelli A, Lodi R, Iotti S, Cortelli P, *et al.* Phosphorus magnetic resonance spectroscopy in multiple system atrophy and Parkinson's disease. *Mov Disord*. 1999;14(3):430-5.
- Barker PB, Butterworth EJ, Boska MD, Nelson J, Welch KMA. Magnesium and pH imaging of the human brain at 3.0 Tesla. *Magn Reson Med*. 1999;41:400-6.
- Barker PB, Golay X, Artemov D, Ouwerkerk R, Smith MA, Shaka AJ. Broadband proton decoupling for in vivo brain spectroscopy in humans. *Magn Reson Med*. 2001;45:226-32.
- Barkovich AJ. Current concepts of polymicrogyria. *Neuroradiology*. 2010a;52:479-87.
- Barkovich AJ. MRI analysis of sulcation morphology in polymicrogyria. *Epilepsia*. 2010b;51:17-22.

- Barkovich AJ, Kuzniecky RI, Jackson GD, Guerrini R, Dobyns WB. A developmental and genetic classification for malformations of cortical development. *Neurology*. 2005;65:1873-87.
- Barkovich AJ, Guerrini R, Battaglia G, Kalifa G, Nguyen T, Parmeggiani A, *et al*. Band heterotopia - correlation of outcome with magnetic resonance imaging parameters. *Ann Neurol*. 1994;36(4):609-17.
- Barkovich AJ, Raybaud CA. Malformations of cortical development. *Neuroimaging Clin N Am*. 2004;14:401-23.
- Battaglia G, Becker AJ, Loturco J, Represa A, Baraban SC, Roper SN, *et al*. Basic mechanisms of MCD in animal models. *Epileptic Disord*. 2009;11:206-14.
- Beierbeck H, Martino R, Saunders JK, Benezra C. Nuclear Overhauser effect between phosphorus and hydrogen in selected organo phosphorus-compounds. *Can J Chem*. 1976;54:1918-22.
- Bentivoglio M, Mazzarello P. The history of radial glia. *Brain Res Bull*. 1999;49:305-15.
- Berg J, Tymoczko J, Stryer L. *Biochemistry*. In: Freeman WH, editor. 5th ed. New York; 2002
- Bertoni-Freddari C, Fattoretti P, Giorgetti B, Solazzi M, Balietti M, Di Stefano G, *et al*. Decay of mitochondrial metabolic competence in the aging cerebellum. In: DeGrey ADN, editor; 2004a. v. 1019, p.19-32.
- Bertoni-Freddari C, Fattoretti P, Giorgetti B, Solazzi M, Balietti M, Meier-Ruge W. Role of mitochondrial deterioration in physiological and pathological brain aging. *Gerontology*. 2004b;50:187-9.
- Bielas S, Higginbotham H, Koizumi H, Tanaka T, Gleeson JG. Cortical neuronal migration mutants suggest separate but intersecting pathways. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2004;20:593-618.
- Bischof MG, Mlynarik V, Brehm A, Bernroider E, Krssak M, Bauer E, *et al*. Brain energy metabolism during hypoglycaemia in healthy and Type 1 diabetic subjects. *Diabetologia*. 2004;47:648-51.
- Blenman RAM, Port JD, Felmlee JP. Selective maximization of P-31 MR spectroscopic signals of in vivo human brain metabolites at 3T. *J Magn Reson Imaging*. 2007;25:628-34.

- Blümcke I, Thom M, Aronica E, Armstrong DD, Vinters HV, Palmini A, *et al.* The clinicopathologic spectrum of focal cortical dysplasia: a consensus classification proposed by an ad hoc Task Force of the ILAE Diagnostic Methods Commission. *Epilepsia*. 2011;52(1):158-74.
- Blümcke I, Vinters HV, Armstrong D, Aronica E, Thom M, Spreafico R. Malformations of cortical development and epilepsies: neuropathological findings with emphasis on focal cortical dysplasia. *Epileptic Disord*. 2009;11:181-93.
- Boska MD, Welch KMA, Barker PB, Nelson JA, Schultz L. Contrasts in cortical magnesium, phospholipid and energy metabolism between migraine syndromes. *Neurology*. 2002;58:1227-33.
- Bowers JL, Lanir A, Metz KR, Kruskal JB, Lee RGL, Balschi J, *et al.* Na-23-NMR and 31P-NMR studies of perfused mouse-liver during nitrogen hypoxia. *Am J Physiol*. 1992;262:G636-G44.
- Boyer PD. Molecular motors - What makes ATP synthase spin? *Nature*. 1999;402:247.
- Britanova O, Alifragis P, Junek S, Jones K, Gruss P, Tarabykin V. A novel mode of tangential migration of cortical projection neurons. *Dev Biol*. 2006;298(1):299-311.
- Bruggemann JM, Wilke M, Som SS, Bye AM, Bleasel A, Lawson, JA. Voxel-based morphometry in the detection of dysplasia and neoplasia in childhood epilepsy: limitations of grey matter analysis. *J Clin Neurosci*. 2009;16:780-5.
- Buchli R, Duc CO, Martin E, Boesiger P. Assessment of absolute metabolite concentrations in human tissue by P-31 MRS in-vivo .1. Cerebrum, cerebellum, cerebral gray and white-matter. *Magn Reson Med*. 1994;32:447-52.
- Burger C, Buchli R, Mckinnon G, Meier D, Boesiger P. The impact of the ISIS experiment order on spatial contamination. *Magn Reson Med*. 1992;26:218-30.
- Bystron I, Blakemore C, Rakic P. Development of the human cerebral cortex: Boulder Committee revisited. *Nat Rev Neurosci*. 2008;9:110-22.
- Castillo M, Kwock L, Mukherji SK. Clinical applications of proton MR spectroscopy. *Am J Neuroradiol*. 1996;17:1-15.

- Cavus I, Kasoff WS, Cassaday MP, Jacob R, Gueorguieva R, Sherwin RS, *et al.* Extracellular metabolites in the cortex and hippocampus of epileptic patients. *Ann Neurol.* 2005;57:226-35.
- Chamberlain WA, Cohen ML, Gyure KA, Kleinschmidt-Demasters BK, Perry A, Powell SZ, *et al.* Interobserver and intraobserver reproducibility in focal cortical dysplasia (malformations of cortical development). *Epilepsia.* 2009;50:2593-8.
- Chaumeil MM, Valette J, Guillermier M, Brouillet E, Boumezbeur F, Herard AS, *et al.* Multimodal neuroimaging provides a highly consistent picture of energy metabolism, validating P-31 MRS for measuring brain ATP synthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106:3988-93.
- Chesler, M. Regulation and modulation of pH in the brain. *Physiol Rev.* 2003;83:1183-21.
- Chevassus-au-Louis N, Represa A. The right neuron at the wrong place: biology of heterotopic neurons in cortical neuronal migration disorders, with special reference to associated pathologies. *Cell Mol Life Sci.* 1999;55(10):1206-15.
- Christensen JD, Yurgelun-Todd DA, Babb SM, Gruber SA, Cohen BM, Renshaw PF. Measurement of human brain dexfenfluramine concentration by ¹⁹F magnetic resonance spectroscopy. *Brain Res.* 1999;834:1-5.
- Chu WJ, Hetherington HP, Kuzniecky RI, Vaughan JT, Twieg DB, Faught RE, *et al.* Is the intracellular pH different from normal in the epileptic focus of patients with temporal lobe epilepsy? A ³¹P-NMR study. *Neurology.* 1996;47:756-60.
- Civardi C, Vicentini R, Collini A, Boccagni C, Cantello R, Monaco F. Motor cortical organization in an adult with hemimegalencephaly and late onset epilepsy. *Neurosci Lett.* 2009;460(2):126-9.
- Cobb SR, Buhl EH, Halasy K, Paulsen O, Somogyi P. Synchronization of neuronal activity in hippocampus by individual GABAergic interneurons. *Nature.* 1995;378:75-8.
- Cobb SR, Halasy K, Vida I, Buhl EH, Somogyi P. Common sources and characteristics of GABAergic input to interneurons and pyramidal cells in the rat hippocampus. *J Physiol.* 1996;495:62-3.
- Collins, CM. Numerical field calculations considering the human subject for engineering and safety assurance in MRI. *NMR Biomed.* 2009;22:919-26.

- Colombo N, Citterio A, Galli C, Tassi L, Lo Russo G, Scialfa G., *et al.* Neuroimaging of focal cortical dysplasia: neuropathological correlations. *Epileptic Disord.* 2003;5 Suppl 2, S67-72.
- Colombo N, Salamon N, Raybaud C. Imaging of malformations of cortical development. *Epileptic Disord.* 2009;11:194-203.
- Crino PB. Focal brain malformations: seizures, signaling, sequencing. *Epilepsia.* 2009;50 Suppl 9:3-8.
- Crino PB, Miyata H, Vinters HV. Neurodevelopmental disorders as a cause of seizures: neuropathologic, genetic, and mechanistic considerations. *Brain Pathol.* 2002;12:212-33.
- Cross JH. Functional neuroimaging of malformations of cortical development. *Epileptic Disord.* 2003;5:S73-S80.
- D'Arcangelo, G. From human tissue to animal models: Insights into the pathogenesis of cortical dysplasia. *Epilepsia.* 2009;50 Suppl 9:28-33.
- Dale AM, Fischl B, Sereno MI. Cortical surface-based analysis. I. Segmentation and surface reconstruction. *Neuroimage.* 1999;9:179-94.
- De Graaf R. In vivo NMR spectroscopy – Principles and Techniques. *In:* Jonh Wiley & Sons JW, editor. Chichester, England; 1998.
- De Wit MC, Lequin MH, De Coo IF, Brusse E, Halley DJ, Van De Graaf R, *et al.* Cortical brain malformations: effect of clinical, neuroradiological, and modern genetic classification. *Arch Neurol.* 2008;65:358-66.
- Der Grond J, Gerson J, Laxer K, Hugg J, Matson G, Weiner M. Regional Distribution of Interictal ³¹P Metabolic Changes in Patients with Temporal Lobe Epilepsy. *Epilepsia.* 1998;39:527-36.
- Doyle VL, Payne GS, Collins DJ, Verrill MW, Leach MO. Quantification of phosphorus metabolites in human calf muscle and soft-tissue tumours from localized MR spectra acquired using surface coils. *Phys Med Biol.* 1997;42:691-706.
- Du F, Zhu XH, Zhang Y, Friedman M, Zhang NY, Ugurbil K, Tightly coupled brain activity and cerebral ATP metabolic rate. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105:6409-14.

- Duchowny M. 2009. Clinical, functional, and neurophysiologic assessment of dysplastic cortical networks: Implications for cortical functioning and surgical management. *Epilepsia*. 50 Suppl 9, 19-27.
- Eriksson SH, Rugg-Gunn EJ, Symms MR, Barker GJ, Duncan JS. Diffusion tensor imaging in patients with epilepsy and malformations of cortical development. *Brain*. 2001;124:617-26.
- Farooqui AA, Hirashima Y, Horrocks LA. *Brain phospholipases and their role in signal transduction*. In: Bazan NG, Murphy MG, Taffano G, editors. New York: Plenum Press; 1992. v.318, p.11-25.
- Fischl B, Sereno MI, Dale AM. Cortical surface-based analysis. II: Inflation, flattening, and a surface-based coordinate system. *Neuroimage*. 1999;9:195-207.
- Forester B, Berlow Y, Harper D, Jensen J, Lange N, Froimowitz M, *et al*. Age-related changes in brain energetics and phospholipid metabolism. *NMR Biomed*. 2010;23:242-50.
- Forester BP, Streeter CC, Berlow YA, Tian H, Wardrop M, Finn CT, *et al*. Brain lithium levels and effects on cognition and mood in geriatric bipolar disorder: a lithium-7 magnetic resonance spectroscopy study. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2009;17:13-23.
- Gao Y, Strakowski SM, Reeves SJ, Hetherington HP, Chu WJ, Lee JH. Fast spectroscopic imaging using online optimal sparse k-space acquisition and projections onto convex sets reconstruction. *Magn Reson Med*. 2006;55:1265-71.
- Garfinkel L, Altschuld RA, Garfinkel D. Magnesium in cardiac energy metabolism. *J Mol Cell Cardiol*. 1986;18:1003-13.
- Gedikbasi A, Yildirim G, Saygi S, Arslan O, Gul A, Ceylan Y. Prenatal diagnosis of schizencephaly with 2D-3D sonography and MRI. *J Clin Ultrasound*. 2009;37:467-470.
- Glenn OA. Normal development of the fetal brain by MRI. *Semin Perinatol*. 2009;33:208-19.
- Glenn OA, Barkovich AJ.. Magnetic resonance imaging of the fetal brain and spine: an increasingly important tool in prenatal diagnosis: part 1. *Am J Neuroradiol*. 2006a;27:1604-11.
- Glenn OA, Barkovich AJ. Magnetic resonance imaging of the fetal brain and spine: an increasingly important tool in prenatal diagnosis: part 2. *Am J Neuroradiol*. 2006b;27:1807-14.

- Gonen O, Mohebbi A, Stoyanova R, Brown TR. In vivo phosphorus polarization transfer and decoupling from protons in three-dimensional localized nuclear magnetic resonance spectroscopy of human brain. *Magn Reson Med*. 1997;37:301-6.
- Goo HW. High field strength magnetic resonance imaging in children. *J Korea Med Ass*. 2010;53:1093-102.
- Goodwill PW, Conolly SM. The X-Space Formulation of the Magnetic Particle Imaging Process: 1-D Signal, Resolution, Bandwidth, SNR, SAR, and Magnetostimulation. *IEEE Trans Med Imaging*. 2010;29:1851-59.
- Govindaraju V, Young K, Maudsley AA. Proton NMR chemical shifts and coupling constants for brain metabolites. *NMR Biomed*. 2000;13:129-53.
- Granata T, Freri E, Caccia C, Setola V, Taroni F, Battaglia G. Schizencephaly: Clinical spectrum, epilepsy, and pathogenesis. *J Child Neurol*. 2005;20:313-8.
- Guerreiro, MM. Malformations of cortical development. *Arq Neuropsiquiatr*. 2009;67:570-4.
- Guerrini R, Marini C. Genetic malformations of cortical development. *Exp Brain Res*. 2006;173:322-33.
- Guerrini R, Sicca F, Parmeggiani L. Epilepsy and malformations of the cerebral cortex. *Epileptic Disord*. 2003;5:S9-S26.
- Hallbook T, Ruggieri P, Adina C, Lachhwani DK, Gupta A, Kotagal P, et al. Contralateral MRI abnormalities in candidates for hemispherectomy for refractory epilepsy. *Epilepsia*. 2010;51:556-63.
- Halvorson HR, Vandelinde AMQ, Helpert JA, Welch KMA. Assessment of magnesium concentrations by P-31 NMR in vivo. *NMR Biomed*. 1992;5:53-8.
- Hamakawa H, Murashita J, Yamada N, Inubushi T, Kato N, Kato T. Reduced intracellular pH in the basal ganglia and whole brain measured by P-31-MRS in bipolar disorder. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2004;58:82-8.
- Hamilton G, Allsop JM, Patel N, Forton DM, Thomas HC, O'Sullivan CPA, et al. Variations due to analysis technique in intracellular pH measurements in simulated and in vivo P-31 MR spectra of the human brain. *J Magn Reson Imaging*. 2006;23:459-64.

- Hamilton G, Mathur R, Allsop JM, Forton DM, Dhanjal NS, Shaw RJ, *et al.* Changes in brain intracellular pH and membrane phospholipids on oxygen therapy in hypoxic patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Metab Brain Dis.* 2003a;18:95-109.
- Hamilton G, Patel N, Forton DM, Hajnal JV, Taylor-Robinson SD. Prior knowledge for time domain quantification of in vivo brain or liver P-31 MR spectra. *NMR Biomed.* 2003b;16:168-76.
- Heindel W, Bunke J, Glathe S, Steinbrich W, Mollevanger L. Combined H-1-MR imaging and localized P-31-spectroscopy of intracranial tumors in 43 patients. *J Comput Assist Tomogr.* 1988;12:907-16.
- Helpern JA, Vande Linde AM, Welch KM, Levine SR, Schultz LR, Ordidge RJ, *et al.* Acute elevation and recovery of intracellular [Mg2+] following human focal cerebral ischemia. *Neurology.* 1993;43:1577-81.
- Hetherington HP, Avdievich NI, Kuznetsov AM, Pan JW. Rf shimming for spectroscopic localization in the human brain at 7 T. *Magn Reson Med.* 2010;63:9-19.
- Hetherington HP, Chu WJ, Gonen O, Pan JW. Robust fully automated shimming of the human brain for high-field H-1 spectroscopic imaging. *Magn Reson Med.* 2006;56:26-33.
- Hetherington HP, Kim JH, Pan JW, Spencer DD. H-1 and P-31 spectroscopic imaging of epilepsy: Spectroscopic and histologic correlations. *Epilepsia.* 2004; 45:17-23.
- Hetherington HP, Pan JW, Spencer DD. 1H and 31P spectroscopy and bioenergetics in the lateralization of seizures in temporal lobe epilepsy. *J Magn Reson Imaging.* 2002;16:477-83.
- Hetherington HP, Spencer DD, Vaughan JT, Pan JW. Quantitative P-31 spectroscopic imaging of human brain at 4 tesla: Assessment of gray and white matter differences of phosphocreatine and ATP. *Magn Reson Med.* 2001;45:46-52.
- Hoang TQ, Dubowitz DJ, Moats, R, Kopyov O, Jacques D, Ross BD. Quantitative proton-decoupled P-31 MRS and H-1 MRS in the evaluation of Huntington's and Parkinson's diseases. *Neurology.* 1998;50:1033-40.
- Holtzman D, Mulkern R, Meyers R, Cook C, Allred E, Khait I, *et al.* In vivo phosphocreatine and ATP in piglet cerebral gray and white matter during seizures. *Brain Res.* 1998;783:19-27.

- Holtzman D, Mulkern R, Tsuji M, Cook C, Meyers R. Phosphocreatine and creatine kinase in piglet cerebral gray and white matter in situ. *Developmental Neuroscience*. 1996;18:535-41.
- Horrobin DF. The membrane phospholipid hypothesis as a biochemical basis for the neurodevelopmental concept of schizophrenia. *Schizophr Res*. 1998;30:193-208.
- Hubesch B, Sappey-Marini D, Roth K, Meyerhoff DJ, Matson GB, Weiner MW. P-31 MR spectroscopy of normal human brain and brain tumors. *Radiology*. 1990;174:401-9.
- Husted CA, Matson GB, Adams DA, Goodin DS, Weiner MW. In vivo detection of myelin phospholipids in multiple sclerosis with phosphorus magnetic resonance spectroscopic imaging. *Ann Neurol*. 1994;36:239-41.
- Iotti S, Frassinetti C, Alderighi L, Sabatini A, Vacca A, Barbiroli B. In vivo assessment of free magnesium concentration in human brain by P-31 MRS. A new calibration curve based on a mathematical algorithm. *NMR Biomed*. 1996;9:24-32.
- Iotti S, Malucelli E. In vivo assessment of Mg²⁺ in human brain and skeletal muscle by P-31-MRS. *Magn Res*. 2008;21:157-62.
- Jalin C, Fohlen M, Dorfmueller G, Gutierrez E, Bulteau C, Delalande O. Polymicrogyria: electro-clinical and anatomical aspects. A study of 12 children with unilateral polymicrogyria associated with epilepsy with continuous spikes and waves syndrome treated by hemispherotomy. *Epilepsies*. 2009;21:17-33.
- Jennum P, Gyllenberg J, Kjellberg J. The social and economic consequences of epilepsy: A controlled national study. *Epilepsia*. 2011;52(5):949-56.
- Jensen FE. Introduction - epileptogenic cortical dysplasia: emerging trends in diagnosis, treatment, and pathogenesis. *Epilepsia*. 2009;50(9):1-2.
- Jensen JE, Drost DJ, Menon RS, Williamson PC. In vivo brain P-31-MRS: measuring the phospholipid resonances at 4 Tesla from small voxels. *NMR Biomed*. 2002;15:338-47.
- Jensen JE, Miller J, Williamson PC, Neufeld RWJ, Menon RS, Malla A, et al. Grey and white matter differences in brain energy metabolism in first episode schizophrenia: P-31-MRS chemical shift imaging at 4 Tesla. *Psychiatry Res*. 2006;146:127-35.

- Juchem C, Muller-Bierl B, Schick F, Logothetis NK, Pfeuffer J. Combined passive and active shimming for in vivo MR spectroscopy at high magnetic fields. *J Magn Reson*. 2006;183:278-89.
- Juhasz C, Chugani DC, Muzik O, Watson C, Shah J, Shah A, et al. Electroclinical correlates of flumazenil and fluorodeoxyglucose PET abnormalities in lesional epilepsy. *Neurology*. 2000;55(6):825-34.
- Jung WI, Staubert A, Widmaier S, Hoess T, Bunse M, Vanerckelens F, et al. Phosphorus J-coupling constants of ATP in human brain. *Magn Reson Med*. 1997;37:802-4.
- Kadota T, Horinouchi T, Kuroda C. Development and aging of the cerebrum: Assessment with proton MR spectroscopy. *Am J Neuroradiol*. 2001;22:128-35.
- Kanold PO, Luhmann HJ. The Subplate and early cortical circuits. *Annu Rev Neurosci*. 2010;33:23-48.
- Kato T, Murashita J, Kamiya A, Shioiri T, Kato N, Inubushi T. Decreased brain intracellular pH measured by P-31-MRS in bipolar disorder: a confirmation in drug-free patients and correlation with white matter hyperintensity. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 1998;248:301-6.
- Kegeles LS, Humaran TJ, Mann JJ. In vivo neurochemistry of the brain in schizophrenia as revealed by magnetic resonance spectroscopy. *Biol Psychiatry*. 1998;44:382-98.
- Kemp GJ, Meyerspeer M, Moser E. Absolute quantification of phosphorus metabolite concentrations in human muscle in vivo by P-31 MRS: a quantitative review. *NMR Biomed*. 2007;20:555-65.
- Keshavan MS, Stanley JA, Montrose DM, Minshew NJ, Pettegrew JW. Prefrontal membrane phospholipid metabolism of child and adolescent offspring at risk for schizophrenia or schizoaffective disorder: an in vivo P-31 MRS study. *Mol Psychiatry*. 2003;8:316-23.
- Knake S, Halgren E, Shiraishi H, Hara K, Hamer HM, Grant PE, et al. The value of multichannel MEG and EEG in the presurgical evaluation of 70 epilepsy patients. *Epilepsy Res*. 2006;69:80-6.
- Knake S, Triantafyllou C, Wald LL, Wiggins G, Kirk, G. P., Larsson, P. G., et al. 3T phased array MRI improves the presurgical evaluation in focal epilepsies: a prospective study. *Neurology*, 2005;65:1026-31.
- Knowlton RC. Can magnetoencephalography aid epilepsy surgery? *Epilepsy Curr*. 2008;8:1-5.

- Komoroski RA, Pearce JM, Mrak RE. P-31 NMR spectroscopy of phospholipid metabolites in postmortem schizophrenic brain. *Magn Reson Med*. 2008;59:469-74.
- Kriegstein A, Noctor S, Martínez-Cerdeño V. Patterns of neural stem and progenitor cell division may underlie evolutionary cortical expansion. *Nat Rev Neurosci*. 2006;7:883-90.
- Kubo K, Nakajima K. Cell and molecular mechanisms that control cortical layer formation in the brain. *Keio J Med*. 2002;52:8-20.
- Kuzniecky RI. Magnetic resonance imaging in developmental disorders of the cerebral cortex. *Epilepsia*. 1994;35:S44-S56.
- Kuzniecky RI. Clinical applications of MR spectroscopy in epilepsy. *Neuroimag Clin N Am*. 2004;14:507-16.
- Kuzniecky RI, Hetherington H, Pan J, Hugg J, Palmer C, Gilliam F, et al. Proton spectroscopic imaging at 4.1 tesla in patients with malformations of cortical development and epilepsy. *Neurology*. 1997;48:1018-24.
- Kuzniecky RI, Jackson GD. *Magnetic Resonance in Epilepsy*. 2nd ed. Elsevier: Oxford; 2005.
- Kwong L. Localized MR spectroscopy - Basic principles. *Neuroimag Clin N Am*. 1998;8:713.
- Laptook AR, Corbett RJT, Uauy R, Mize C, Mendelsohn D, Nunnally RL. Use of P-31 magnetic-resonance spectroscopy to characterize evolving brain-damage after perinatal asphyxia. *Neurology*. 1989;39:709-12.
- Lara RS, Matson GB, Hugg JW, Maudsley AA, Weiner MW. Quantitation of in vivo phosphorus metabolites in human brain with magnetic-resonance spectroscopic imaging (MRSI). *Magn Reson Imaging*. 1993;11:273-8.
- Lawry TJ, Karczmar GS, Weiner MW, Matson GB. Computer-simulation of MRS localization techniques - an analysis of ISIS. *Magn Reson Med*. 1989;9:299-314.
- Laxer KD, Hubesch B, Sappey-Marinié D, Weiner MW. Increased pH and inorganic phosphate in temporal seizure foci demonstrated by 31P-MRS. *Epilepsia*. 1992;33:618-23.

- Lee N, Radtke RA, Gray L, Burger PC, Montine TJ, Delong R, *et al.* Neuronal migration disorders - positron emission tomography correlations. *Ann Neurol.* 1994;35:290-7.
- Lei H, Zhu XH, Zhang XL, Ugurbil K, Chen W. In vivo P-31 magnetic resonance spectroscopy of human brain at 7 T: An initial experience. *Magn Reson Med.* 2003;49:199-205.
- Leite CC. *Malformações do desenvolvimento cortical: avaliação através da espectroscopia de prótons com aquisição simultânea de múltiplos volumes de interesse.* [tese livre-docência]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2003
- Leite CC, Amaro JE, Lucato LT. *Neurorradiologia - Diagnóstico por imagem das alterações encefálicas.* São Paulo: Guanabara Koogan; 2008.
- Leite CC, Lucato LT, Sato JR, Valente KD, Otaduy MCG. Multivoxel proton MR spectroscopy in malformations of cortical development. *Am J Neuroradiol.* 2007;28:1071-5.
- Leventer RJ, Jansen A, Pilz DT, Stoodley N, Marini C, Dubeau F, *et al.* Clinical and imaging heterogeneity of polymicrogyria: a study of 328 patients. *Brain.* 2010;133:1415-27.
- Levine SR, Helpert JA, Welch KM, Vande Linde AM, Sawaya KL, Brown EE, *et al.* Human focal cerebral ischemia: evaluation of brain pH and energy metabolism with P-31 NMR spectroscopy. *Radiology.* 1992;185:537-44.
- Li CW, Negendank WG, Murphyboesch J, Padavicshaller K, Brown TR. Molar quantitation of hepatic metabolites in vivo in proton-decoupled, nuclear Overhauser effect enhanced P-31 NMR spectra localized by three-dimensional chemical shift imaging. *NMR Biomed.* 1996;9:141-55.
- Li LM, Cendes F, Bastos AC, Andermann F, Dubeau F, Arnold DL. Neuronal metabolic dysfunction in patients with cortical developmental malformations: a proton magnetic resonance spectroscopic imaging study. *Neurology.* 1998;50:755-9.
- Liang LP, Patel M. Seizure-induced changes in mitochondrial redox status. *Free Radic Biol Med.* 2006;40:316-22.
- Lim CCT, Yin H, Loh NK, Violet GE, Francis H, Barkovich AJ. Malformations of cortical development high-resolution MR and diffusion tensor imaging of fiber tracts at 3T. *Am J Neuroradiol.* 2005;26:61-4.

- Lim EL, Hollingsworth KG, Thelwall PE, Taylor R. Measuring the acute effect of insulin infusion on ATP turnover rate in human skeletal muscle using phosphorus-31 magnetic resonance saturation transfer spectroscopy. *NMR Biomed.* 2010;23:952-7.
- Lodi R, Lotti S, Cortelli P, Pierangeli G, Cevoli S, Clementi V, *et al.* Deficient energy metabolism is associated with low free magnesium in the brains of patients with migraine and cluster headache. *Brain Res Bull.* 2001;54:437-41.
- Lodish H, Berk A, Zipursky S. *Molecular Cell Biology.* 4th ed. In: Freeman WH, editor. New York; 2000.
- Madan N, Grant E. New directions in clinical imaging of cortical dysplasias. *Epilepsia.* 2009;50:9-18.
- Maintz D, Heindel W, Kugel H, Jaeger R, Lackner KJ. Phosphorus-31 MR spectroscopy of normal adult human brain and brain tumours. *NMR Biomed.* 2002;15:18-27.
- Manoranjan B, Provias JP. Hemimegalencephaly: a fetal case with neuropathological confirmation and review of the literature. *Acta Neuropathol.* 2010;120:117-30.
- Marseilles M, Eicher JC, Gomez MC, Cottin Y, Cohen M, Walker P. Improvement of skeletal muscle oxidative metabolism after heart transplantation in heart failure patients. A 31P NMR study. *Sci Sports.* 1996;11:28-33.
- Mason GF, Chu WJ, Vaughan JT, Ponder SL, Twieg DB, Adams D, *et al.* Evaluation of P-31 metabolite differences in human cerebral gray and white matter. *Magn Reson Med.* 1998;39:346-53.
- Mathern GW, Cepeda C, Hurst RS, Flores-Hernandez J, Mendoza D, Levine MS. Neurons recorded from pediatric epilepsy surgery patients with cortical dysplasia. *Epilepsia.* 2000;41 Suppl 6:S162-7.
- Mayoralas DMF, Jaen AF, Pena MJ, Rodriguez, MR, Jareno, NM, Gonzalez RA. Schizencephaly: pre- and postnatal magnetic resonance imaging. *J Child Neurol.* 2010;25:1020-3.
- Menuel C, Guillevin R, Costalat R, Perrin M, Sahli-Amor M, Martin-Duverneuil N, *et al.* Phosphorus magnetic resonance spectroscopy: brain pathologies applications. *J Neuroradiol.* 2010;37,73-82.

- Moreno-Torres A, Pujol J, Soriano-Mas C, Deus J, Iranzo A, Santamaria J. Age-related metabolic changes in the upper brainstem tegmentum by MR spectroscopy. *Neurobiol Aging*. 2005;26:1051-9.
- Mueller SG, Laxer KD, Barakos JA, Cashdollar N, Flenniken DL, Vermathen P, *et al*. Metabolic characteristics of cortical malformations causing epilepsy. *J Neurol*. 2005;252:1082-92.
- Murashita J, Kato T, Shioiri T, Inubushi T, Kato N. Age-dependent alteration of metabolic response to photic stimulation in the human brain measured by P-31 MR-spectroscopy. *Brain Res*. 1999;818:72-6.
- Naressi A, Couturier C, Castang I, De Beer R, Graveron-Demilly D. Java-based graphical user interface for MRUI, a software package for quantitation of in vivo/medical magnetic resonance spectroscopy signals. *Comput Biol Med*. 2001;31:269-86.
- Nucifora PGP, Verma R, Lee SK, Melhem ER. Diffusion-tensor MR Imaging and tractography: Exploring brain microstructure and connectivity. *Radiology*. 2007;245:367-84.
- Oliveira PPD, Valente KD, Shergill SS, Leite CC, Amaro E. Cortical thickness reduction of normal appearing cortex in patients with polymicrogyria. *J Neuroimaging*. 2010;20:46-52.
- Ordidge RJ, Connelly A, Lohman JAB. Image-selected in vivo spectroscopy (ISIS) - a new technique for spatially selective NMR-spectroscopy. *J Magn Reson*. 1986;66:283-94.
- Palmini A. Disorders of cortical development. *Curr Opin Neurol*. 2000;13(2):183-92.
- Palmini A, Najm I, Avanzini G, Babb T, Guerrini R, Foldvary-Schaefer N, *et al*. Terminology and classification of the cortical dysplasias. *Neurology*. 2004;62:S2-8.
- Pan JW, Bebin EM, Chu WJ, Hetherington HP. Ketosis and epilepsy: P-31 spectroscopic imaging at 4.1 T. *Epilepsia*. 1999;40:703-7.
- Pan JW, Kim JH, Cohen-Gadol A, Pan C, Spencer DD, Hetherington HP. Regional energetic dysfunction in hippocampal epilepsy. *Acta Neurol Scand*. 2005;111:218-24.
- Pan JW, Williamson A, Cavus I, Hetherington HP, Zaveri H, Petroff OA, *et al*. Neurometabolism in human epilepsy. *Epilepsia*. 2008;49 Suppl 3:31-41.

- Patel N, Forton DM, Coutts GA, Thomas HC, Taylor-Robinson SD. Intracellular pH measurements of the whole head and the basal ganglia in chronic liver disease: A phosphorus-31 MR spectroscopy study. *Metab Brain Dis.* 2000;15:223-40.
- Petroff EY, Price MP, Snitsarev V, Gong H, Korovkina V, Abboud FM, *et al.* Acid-sensing ion channels interact with and inhibit BKK+ channels. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105,3140-3144.
- Petroff OAC, Errante LD, Rothman DL, Kim JH., Spencer DD. Glutamate-glutamine cycling in the epileptic human hippocampus. *Epilepsia.* 2002;43:703-10.
- Pettegrew JW, Levine J, Gershon S, Stanley JA, Servan-Schreiber D, Panchalingam K, *et al.* P-31-MRS study of acetyl-L-carnitine treatment in geriatric depression: preliminary results. *Bipolar Disord.* 2002;4:61-6.
- Pettegrew JW, Panchalingam K, Hamilton RL, McClure RJ. Brain membrane phospholipid alterations in Alzheimer's disease. *Neurochem Res.* 2001;26:771-82.
- Pitkanen A, Lukasiuk K. Mechanisms of epileptogenesis and potential treatment targets. *Lancet Neurol.* 2011;10(2):173-86
- Poduri A, Chitsazzadeh V, D'arrigo S, Fedrizzi E, Pantaleoni C, Riva D, *et al.* The syndrome of perisylvian polymicrogyria with congenital arthrogryposis. *Brain Dev.* 2010;32:550-5.
- Potwarka JJ, Drost DJ, Williamson PC, Carr T, Canaran G, Rylett WJ, *et al.* A H-1-decoupled P-31 chemical shift imaging study of medicated schizophrenic patients and healthy controls. *Biol Psychiatry.* 1999;45:687-93.
- Puri B, Treasaden I. A human in vivo study of the extent to which 31-phosphorus neurospectroscopy phosphomonoesters index cerebral cell membrane phospholipid anabolism. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2009;81:307-8.
- Qiao HY, Zhang XL, Zhu XH, Du F, Chen W. In vivo P-31 MRS of human brain at high/ultrahigh fields: a quantitative comparison of NMR detection sensitivity and spectral resolution between 4 T and 7 T. *Magn Reson Imaging.* 2006;24:1281-6.
- Rae C, Scott RB, Lee M, Simpson JM, Hines N, Paul C, *et al.* Brain bioenergetics and cognitive ability. *Dev Neurosci.* 2003;25:324-31.

- Rakic P. Evolution of the neocortex: a perspective from developmental biology. *Nat Rev Neurosci.* 2009;10:724-35.
- Ramadan NM, Halvorson H, Vande-Linde A, Levine SR, Helpert JA, Welch KM. Low brain magnesium in migraine. *Headache.* 1989;29:590-3.
- Rapoport S. In vivo fatty acid incorporation into brain phospholipids in relation to plasma availability, signal transduction and membrane remodeling. *J Mol Neurosci.* 2001;16:243-61.
- Rastogi S, Lee C, Salamon N. Neuroimaging in pediatric epilepsy: A multimodality approach. *Radiographics.* 2008;28:1079-95.
- Raymond AA, Fish DR, Sisodiya SM, Alsanjari N, Stevens JM, Shorvon SD. Abnormalities of gyration, heterotopias, tuberous sclerosis, focal cortical dysplasia, microdysgenesis, dysembryoplastic neuroepithelial tumor and dysgenesis of the archicortex in epilepsy - clinical, eeg and neuroimaging features in 100 adult patients. *Brain.* 1995;118:629-60.
- Ross B, Lin A, Harris K, Bhattacharya P, Schweinsburg B. Clinical experience with C-13 MRS in vivo. *NMR Biomed.* 2003;16:358-69.
- Roulet-Perez E, Davidoff V, Mayor-Dubois C, Maeder-Ingvar M, Seeck M, Ruffieux C, et al. Impact of severe epilepsy on development: Recovery potential after successful early epilepsy surgery. *Epilepsia.* 2010;51:1266-76.
- Rzanny R, Klemm S, Reichenbach JR, Pfeleiderer SOR, Schmidt B, Volz HP, et al. 31P-MR spectroscopy in children and adolescents with a familial risk of schizophrenia. *Eur Radiol.* 2003;13:763-70.
- Salamon N, Kung J, Shaw SJ, Koo J, Koh S, Wu JY, et al. FDG-PET/MRI coregistration improves detection of cortical dysplasia in patients with epilepsy. *Neurology.* 2008;71:1594-601.
- Schapira AHV. Mitochondrial disease. *Lancet.* 2006;368:70-82.
- Scharfman HE. The neurobiology of epilepsy. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2007;7(4):348-54.
- Sharma R, Sinha S, Danishad KA, Vikram NK, Gupta A, Ahuja V, et al. Investigation of hepatic gluconeogenesis pathway in non-diabetic Asian Indians with non-alcoholic fatty liver disease using in vivo (P-31) phosphorus magnetic resonance spectroscopy. *Atherosclerosis.* 2009;203:291-7.

- Shioiri T, Hamakawa H, Kato T, Fujii K, Murashita J, Inubushi T, *et al.* Frontal lobe membrane phospholipid metabolism and ventricle to brain ratio in schizophrenia: preliminary P-31-MRS and CT studies. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2000;250:169-74.
- Silva AV, Cabral FR. Ictogenesis, epileptogenesis and mechanism of action of the drugs used for prevent and treat epilepsy. *J Epilepsy Clin Neurophysiol.* 2008;14(2):39-45.
- Simone IL, Federico F, Tortorella C, De Blasi R, Bellomo R, Lucivero V, *et al.* Metabolic changes in neuronal migration disorders: evaluation by combined MRI and proton MR spectroscopy. *Epilepsia.* 1999;40:872-9.
- Simor T, Chu WJ, Hetherington H, Kuzniecky R, Elgavish G. Tailored temporal lobectomy induced improvements in 4.1T 31PNMR SI generated phosphorous metabolite indices in temporal lobe epilepsy. In: Proceedings of the 5th Annual Meeting of ISMRM. Vancouver, Canada; 1997. 33p.
- Sisodiya, SM. Malformations of cortical development: burdens and insights from important causes of human epilepsy. *Lancet Neurol.* 2004;2:29-38.
- Sisodiya SM, Fauser S, Cross JH, Thom M. Focal cortical dysplasia type II: biological features and clinical perspectives. *Lancet Neurol.* 2009;8:830-43.
- Smesny S, Rosburg T, Nenadic I, Fenk KP, Kunstmann S, Rzanny R, *et al.* Metabolic mapping using 2D P-31-MR spectroscopy reveals frontal and thalamic metabolic abnormalities in schizophrenia. *Neuroimage.* 2007;35:729-37.
- Smith CD, Gallenstein LG, Layton WJ, Kryscio RJ, Markesbery WR. P-31 magnetic-resonance spectroscopy in Alzheimer's and Pick's disease. *Neurobiol Aging.* 1993;14:85-92.
- Stanley JA, Kipp H, Greisenegger E, Macmaster FP, Panchalingam K, Keshavan MS, *et al.* Evidence of developmental alterations in cortical and subcortical regions of children with attention-deficit/hyperactivity disorder a multivoxel in vivo phosphorus 31 spectroscopy study. *Arch Gen Psychiatry.* 2008;65:1419-28.
- Stanley JA, Kipp H, Greisenegger E, Macmaster FP, Panchalingam K, Pettegrew JW, *et al.* Regionally specific alterations in membrane phospholipids in children with ADHD: an in vivo P-31 spectroscopy study. *Psychiatry Res.* 2006;148:217-21.

- Steen C, Koch M, Mostert J, De Keyser J. Phosphorus spectroscopy of normal-appearing white matter in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2008;14:S222.
- Traub RD, Michelson-Law H, Bibbig AEJ, Buhl EH, Whittington MA. Gap junctions, fast oscillations and the initiation of seizures. Recent Advances in Epilepsy Research. *Adv Exp Med Biol*. 2004; 548:110-22.
- Tsuji MK, Mulkern RV, Cook CU, Meyers RL, Holtzman D. Relative phosphocreatine and nucleoside triphosphate concentrations in cerebral gray and white matter measured in vivo by P-31 nuclear magnetic resonance. *Brain Res*. 1996;707:146-54.
- Ulrich M, Wokrina T, Ende G, Lang M, Bachert P. P-31-H-1 echo-planar spectroscopic imaging of the human brain in vivo. *Magn Reson Med*. 2007;57:784-90.
- Valiente M, Marín O. Neuronal migration mechanisms in development and disease. *Curr Opin Neurobiol*. 2010;20:68-78.
- Van Elderen SGC, Doornbos J, Van Essen EHR, Lemkes H, Maassen JA, Smit JWA, *et al*. Phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy of skeletal muscle in maternally inherited diabetes and deafness A3243G mitochondrial mutation carriers. *J Magn Reson Imaging*. 2009;29:127-31.
- Vanhamme L, Van Den Boogaart A, Van Huffel S. Improved method for accurate and efficient quantification of MRS data with use of prior knowledge. *J Magn Reson*. 1997;129:35-43.
- Vattipally V, Bronen R. MR imaging of epilepsy: strategies for successful interpretation. *Neuroimag Clin N Am*. 2004;14:349-72.
- Viondury J, Meyerhoff DJ, Cozzone PJ, Weiner MW. What might be the impact on neurology of the analysis of brain metabolism by in vivo magnetic resonance spectroscopy? *J Neurol*. 1994;241:354-71.
- Walker LM, Katzir T, Liu T, Ly J, Corriveau K, Barzillai M, *et al*. Gray matter volumes and cognitive ability in the epileptogenic brain malformation of periventricular nodular heterotopia. *Epilepsy Behav*. 2009;15:456-60.
- Wang Y, Zaveri HP, Ghosh A, Beckstrom H, De Lanerolle NC, Eid T. Inhibition of hippocampal glutamine synthetase causes spontaneously recurrent seizures in rats. *Epilepsia*. 2006;47:328-9.

- Wang ZW, Lin JC, Mao WH, Liu WZ, Smith MB, Collins CM. SAR and temperature: simulations and comparison to regulatory limits for MRI. *J Magn Reson Imaging*. 2007;26:437-41.
- Wary C, Brillault-Salva, C, Bloch G, Leroy-Willig A, Roumenov D, Grognet JM, *et al.* Effect of chronic magnesium supplementation on magnesium distribution in healthy volunteers evaluated by P-31-NMRS and ion selective electrodes. *Br J Clin Pharmacol*. 1999;48:655-62.
- Weber-Fahr W, Bachert P, Henn FA, Braus DF, Ende G. Signal enhancement through heteronuclear polarisation transfer in in-vivo P-31 MR spectroscopy of the human brain. *MAGMA*. 2003;16:68-76.
- Widjaja E, Wilkinson ID, Griffiths PD. Magnetic resonance perfusion imaging in malformations of cortical development. *Acta Radiol*. 2007;48:907-17.
- Wieck G, Leventer RJ, Squier WM, Jansen A, Andermann E, Dubeau F, *et al.* Periventricular nodular heterotopia with overlying polymicrogyria. *Brain*. 2005;128:2811-21.
- Wu RH, Poubanc J, Mandell D, Detzler G, Crawley A, Qiu QC, *et al.* Evidence of brain mitochondrial activities after oxygen inhalation by P-31 magnetic resonance spectroscopy at 3T. In: *2007 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*. Vols 1-16; 2007.
- Xiong ZG, Chu XP, Simon, RP. Ca²⁺-permeable acid-sensing ion channels and ischemic brain injury. *J Membr Biol*. 2006;209:59-68.
- Xu V, Chan H, Lin AP, Sailasuta N, Valencerina S, Tran T, *et al.* MR spectroscopy in diagnosis and neurological decision-making. *Semin Neurol*. 2008;28:407-22.
- Yermolaieva O, Leonard AS, Schnizier MK, Abboud FM, Welsh MJ. Extracellular acidosis increases neuronal cell calcium by activating acid-sensing ion channel 1a. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:6752-7.
- Zakian KL, Koutcher JA, Malhotra S, Thaler H, Jarnagin W, Schwartz L. Liver regeneration in humans is characterized by significant changes in cellular phosphorus metabolism: assessment using proton-decoupled P-31- magnetic resonance spectroscopic imaging. *Magn Reson Med*. 2005;4:264-71.