

*Prêmio Paulo Niemeyer**

Fatores Determinantes da Viabilidade Neuronal em Fatias Hipocâmpais de Pacientes com Epilepsia do Lobo Temporal Mesial

Alexandre Valotta da Silva, André César da Silva, Henrique Carrete Jr.,
Elza Márcia Targas Yacubian, Margareth Rose Priel, Julieta Gonçalves Silva,
Ricardo da Silva Centeno, Esper Abrão Cavalheiro

Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina

ABSTRACT

Determining factors of the neuronal viability in hippocampal slices from patients with mesial temporal lobe epilepsy

The aim of the present research was to investigate the determining factors of neuronal viability in hippocampal slices from TLE patients submitted to hippocampectomy in the Hospital São Paulo between 2002 and 2005. The following variables were investigated: age, epilepsy duration, seizure frequency, hippocampal atrophy, resection time, history of initial precipitant injury (IPI) and surgical outcome according Engel's classification. We compared patients who hippocampal slices showed a preserved neuronal viability during *in vitro* electrophysiological recordings ("ALIVE" group) and those who hippocampal slices did not produce electrical recordings ("DEAD" group). There was no statistical difference between the two groups regarding patient's age ($p = 0,84$), epilepsy duration ($p = 0,71$), resection time ($p = 0,66$) and history of IPI ($p = 0,42$). On the other hand, there were statistically significant differences regarding hippocampal volume ($p = 0,0005$), asymmetry index ($p = 0,01$) and seizure frequency ($p = 0,008$). These data suggest that very atrophic hippocampi, from patients with low seizure frequency, are likely to present a disruption of neuronal viability.

Key words: hippocampal sclerosis, electrophysiology, epilepsy surgery.

INTRODUÇÃO

Dentre as diferentes técnicas utilizadas em neurociência básica, a eletrofisiologia *in vitro* destaca-se como uma das ferramentas mais poderosas na compreensão da atividade neuronal, tanto em relação a células individuais quanto no nível das redes neuronais. Apesar de permitir a realização de estudos refinados, essa técnica é bastante laboriosa. Particularmente em relação ao tecido cerebral

humano, a eletrofisiologia *in vitro* exige que se lance mão de uma grande quantidade de reagentes, além de adequações de infra-estrutura, do empenho de recursos humanos altamente qualificados, além de muitas horas de trabalho intenso. Para um experimento com fatias hipocâmpais de um único paciente podem ser necessárias até 20 horas de trabalho, incluindo a preparação dos reagentes e equipamentos, a coleta do fragmento cirúrgico, a obtenção e estabilização das fatias, o registro da atividade neuronal

* Prêmio concedido durante o XXXI Congresso Brasileiro de Epilepsia da LBE.
Received June 26, 2006; accepted July 07, 2006.

em diferentes protocolos e o teste de diferentes drogas antiepilépticas.

Não obstante a utilização de procedimentos padronizados e o empenho de todo o esforço, o registro não pode ser obtido em alguns casos devido à ausência ou insuficiência da atividade elétrica neuronal, mesmo após várias tentativas em diferentes regiões do tecido e em diferentes fatias. Nessas ocasiões, uma grande quantidade de recursos materiais e humanos é simplesmente desperdiçada. Além disso, após várias horas de manipulação, o tecido não está mais em condições de ser utilizado por outros métodos. Portanto, nesses casos, há também o desperdício de uma porção considerável do tecido hipocampal.

OBJETIVO

Considerando a situação descrita acima, nos propusemos então a investigar as variáveis possivelmente envolvidas na alteração da viabilidade neuronal observada no hipocampo de pacientes com EMT submetidos à hipocampectomia no Hospital São Paulo entre 2002 e 2005.

MÉTODO

Os hipocampos foram retirados através de cortico-amigdaló-hipocampectomia (retirada em bloco), sendo imediatamente acondicionados em LCR artificial e transportados para o laboratório. Registros eletrofisiológicos foram realizados em fatias (*slices*) de 400 micrômetros, obtidas através de um vibrátomo. Assim, nós comparamos os pacientes cujos hipocampos mantinham uma viabilidade neuronal preservada no registro eletrofisiológico *in vitro* (grupo “VIVO”) com aqueles cujo hipocampo não foi capaz de gerar nenhum registro (grupo “MORTO”). Após uma discussão com os diversos grupos envolvidos (clínicos, neurocirurgiões e eletrofisiologistas), foram identificados os principais fatores candidatos, a saber: idade do paciente, duração da epilepsia, frequência de crises, grau de atrofia e tempo de ressecção do hipocampo. Todos es-

ses fatores poderiam influenciar, direta ou indiretamente, a preservação funcional dos hipocampos ressecados. Além dessas variáveis, incluímos ainda no estudo a ocorrência de insulto precipitante inicial (IPI) e a evolução pós-operatória, avaliada segundo a classificação de Engel. A análise estatística foi realizada através do teste t não pareado com correção de Welch ou teste do Qui-quadrado, conforme apropriado.

RESULTADOS

Os pacientes do grupo VIVO (N = 29) apresentavam, na ocasião da cirurgia, idade entre 18 e 55 anos ($36,5 \pm 9,6$ anos), duração da epilepsia de $26,8 \pm 11,2$ anos, frequência de crises de $10,6 \pm 8$ crises/mês, volume do hipocampo retirado de $1,34 \pm 0,45$ cm³, índice de assimetria de $43,5 \pm 21,2\%$ e tempo de ressecção do hipocampo (N = 11) de $4,5 \pm 1,4$ minutos. Um ano após a cirurgia, 72% dos pacientes foram classificados como Engel IA, 10% Engel IB e 17% Engel II. Nesse grupo, IPI foi relatado em 70,3% dos casos.

Já os pacientes do grupo MORTO (N = 36) apresentavam, na ocasião da cirurgia, idade entre 17 e 65 anos ($37 \pm 11,2$ anos), duração da epilepsia de $25,7 \pm 12,1$ anos, frequência de crises de $5,9 \pm 3,9$ crises/mês, volume do hipocampo retirado de $1,03 \pm 0,39$ cm³, índice de assimetria de $66,9 \pm 23,2\%$ e tempo de ressecção do hipocampo (N=10) de $4,25 \pm 1,0$ minutos. Um ano após a cirurgia, 64% dos pacientes foram classificados como Engel IA, 8% Engel IB e 25% Engel II. Nesse grupo, IPI foi relatado em 59,3% dos casos.

A análise estatística não evidenciou diferenças significantes entre os grupos em relação à idade do paciente ($p = 0,84$), duração da epilepsia ($p = 0,71$), tempo de ressecção do hipocampo ($p = 0,66$) e presença de IPI na história clínica ($p = 0,42$). Por outro lado, foram observadas diferenças estatisticamente significantes em relação ao volume do hipocampo retirado ($p = 0,0005$), índice de assimetria ($p = 0,01$) e frequência de crises ($p = 0,008$).

Tabela 1. Comparação dos grupos “vivo” e “morto” (valores da média \pm desvio padrão).

	Vivo	Morto	Valor de p
Idade na cirurgia (anos)	$36,5 \pm 9,6$	$37 \pm 11,1$	ns (1)
Duração da epilepsia (anos)	$26,8 \pm 11,2$	$25,7 \pm 12,1$	ns (1)
Frequência de crises (mensal)	$10,6 \pm 8,0$	$5,9 \pm 3,9$	** (1,2)
Presença de IPI na história clínica	70,30%	59,30%	ns (2)
Volume do Hipocampo esclerótico (cm ³)	$1,34 \pm 0,45$	$1,03 \pm 0,39$	** (1)
Índice de assimetria (%)	$43,5 \pm 21,2$	$66,9 \pm 23,2$	*** (1)
Tempo de ressecção (min.)	$4,49 \pm 1,45$	$4,25 \pm 1,08$	ns (1)
Classificação de Engel (após ano)	IA = 72% IB = 10% II = 17%	IA = 64% IB = 8% II = 25%	ns (2)

Legenda: ns: não significante; ** muito significante; *** extremamente significante;
(1) Teste t não pareado com correção de Welch;
(2) Teste do Qui-quadrado.

DISCUSSÃO

É sabido que a atividade elétrica neuronal depende da integridade das células, bem como das redes neurais. Portanto, neurônios/circuitos alterados podem gerar atividade/descargas apenas até o limite de uma integridade estrutural mínima. Na ELTM, a morte neuronal e a gliose contribuem para uma redução importante do volume hipocampal. Hipocampos muito atroficos, portanto com maior comprometimento de sua integridade, apresentariam uma menor reserva funcional e uma menor capacidade de gerar atividade elétrica *in vivo* e *in vitro*. Talvez por isso, nesses casos observa-se uma menor frequência de crises (*in vivo*) e uma menor viabilidade neuronal (*in vitro*).

CONCLUSÃO

Tomados em conjunto, os resultados sugerem que os fatores mais fortemente associados à viabilidade neuronal *in vitro* são o grau de atrofia hipocampal e a frequência de crises até a cirurgia. Hipocampos muito atroficos de pacientes com uma menor frequência de crises tendem a apresentar um maior comprometimento da viabilidade neuronal.

Unitermos: esclerose hipocampal, eletrofisiologia, cirurgia de epilepsia.

Trabalho realizado com apoio FAPESP, CAPES e CNPq.

Endereço para correspondência:

Alexandre Valotta da Silva
Rua Botucatu 862 – Edifício Leal Prado
CEP 04023-900, São Paulo, SP, Brasil
E-mail: valotta.nexp@epm.br