

**DR. MIRKO AVESANI**  
**ASSEGNISTA DI RICERCA**  
**DOTTORANDO IN NEUROSCIENZE**

Verona, li **30.11.007**

Alla cortese Attenzione  
Coordinatore Dottorato in Neuroscienze  
.....

**Oggetto: RELAZIONE ATTIVITA' ANNUALE.**

Ch.mo Prof. Chelazzi,

invio la presente relazione a completamento dell'incontro dello scorso 27.11, in occasione della quale ho presentato alla commissione la mia attività di ricerca per l'anno 2007.

Premessa introduttiva.

La mia attività di ricerca ha trovato il rationale in un Assegno di Ricerca conferitomi dall'Università (AdR 689/06) dal titolo: “Co-registrazione EEG-Risonanza Magnetica Funzionale nel settore biomedico (riabilitazione neurologica ed epilessia). Studio su pazienti affetti da spasticità post-ictale ed epilessia parziale” ed ha un background che risale alla mia tesi di specializzazione in neurologia (03.11.005) dal titolo: “COREGISTRAZIONE EEG-RISONANZA MAGNETICA FUNZIONALE: STUDIO PRELIMINARE IN PAZIENTI AFFETTI DA EPILESSIA PARZIALE”.

In virtù e per effetto di tale incarico, il mio dottorato ha seguito il filone della co-registrazione su pazienti epilettici. In particolare, dopo attenta revisione della letteratura, ho scelto di studiare le forme di epilessia parziale caratterizzate da un focolaio intercritico caratterizzato da onde lente.

Le co-registrazioni EEG-fMRI sono iniziate con la possibilità di rimuovere l'artefatto che il campo magnetico della risonanza esercita sul campo elettrico generato dall'EEG anche prima della scansione (Ives, 1993).

I primi lavori (Seek, 1998; Krakow 1999 e 2001) hanno usato la metodica triggerata che implicava una scansione di fMRI qualche secondo dopo (da 3 a 7) l'evento critico, rilevato on-line da un neurofisiologo. Molti erano i limiti della metodica: la necessità di un esperto neurofisiologo in sala di registrazione (per la diversa morfologia dell'aspetto irritativi in risonanza) e la necessità di applicare a priori una funzione emodinamica (HRF) fissa, non sempre ottimale per quel paziente. Tuttavia era l'unica metodica che poteva essere usata prima che si potesse rimuovere off-line

l'artefatto da scansione che compare sull'EEG durante l'acquisizione. I limiti tecnici sopra ricordati non permettevano di elevare la sensibilità oltre un 60% (Krakow, 99-01).

Con la possibilità di rimuovere l'artefatto da scansione, si è introdotta una nuova metodica, quella continua. Questa permette una acquisizione contemporanea di EEG e fMRI e una successiva rimozione dell'artefatto da gradiente con analisi off-line del tracciato. I vantaggi sono innegabili: possibilità di applicare una emodinamica diversa per verificare quale sia la migliore per ogni tipo di paziente; possibilità di poter studiare a distanza e rivedere i tracciati. Tali possibilità hanno permesso di elevare la sensibilità all'80-90% (Lemieux, 2001; Al-Asmi, 2003).

Subito dopo è iniziata una intensa attività di studio di diverse tipologie di pazienti: epilessia benigna dell'infanzia (Boor, 2003); piccolo male (Salek-Haddadi, 2003); grande male (Aghakani, 2004; Gotman, 2004). Subito dopo è iniziato lo studio delle forme parziali (Salek-Haddadi, 2006) e, tra queste, anche di quelle secondarie (Aghakani 2005; Kobayashi 2005 e 2006).

Tutti questi lavori, tuttavia, presentavano come oggetto di studio casi di pazienti affetti da un focolaio irritativo caratterizzato da complessi punta, punta-onda, polipunta-onda.

Un solo lavoro, un case report (Laufs, 2006), ha suggerito la possibilità di studiare anche l'elemento irritativi caratterizzato da onde lente. Si trattava di una paziente con crisi versive e clonie agli arti di sinistra, il cui EEG stereotassico deponeva per un focolaio irritativi sulle regioni fronto-centrali i destra. La co-registrazione ha confermato tale dato in precedenza rilevato con la sola metodica neurofisiologica. Alcuni casi in precedenza (Krakow, 99; Kobayashi 2005 e 2006) avevano confermato l'utilità della metodica dopo conferma mediante cortico-grafia e stereo-EEG, ma sempre su elementi irritativi a punta.

Scopo del lavoro è stato pertanto

- 1) Verificare la relazione spaziale tra "focolaio epilettogeno" e "focolaio irritativo" suggerita in precedenti lavori (Ebersole, 91)
- 2) Valutare l'efficacia delle onde lente focali nel determinare una attivazione emodinamica in una specifica area cerebrale
- 3) Verificare la congruenza di questa attivazione col focolaio irritativo intercritico

Materiali e metodi

Abbiamo selezionato pazienti che rispondessero ai requisiti, ossia avessero un focolaio intercritico il più possibile omogeneo, caratterizzato da onde lente a elevata frequenza (almeno 2 eventi intercritici per minuto) avendo constatato come in precedenti lavori (Krakow, 99-01) il limite

minimo per avere una risposta emodinamica correlata ad un evento elettrico fosse di almeno 1 elemento irritativi per minuto.

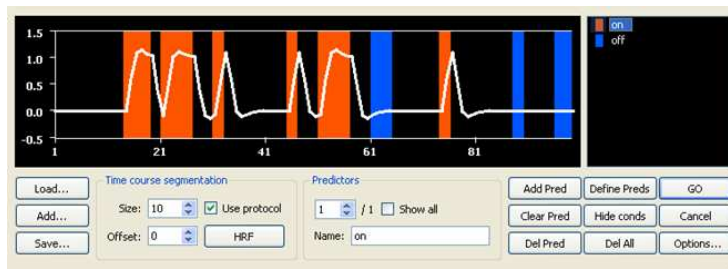
La tabella sotto-riportata elenca le caratteristiche dei pazienti selezionati. In sostanza, tre erano forme lesionali, una criptogenetica e quattro idiopatiche. Tutti avevano un focolaio a onde lente, di cui tre ad ampio voltaggio (uno di essi con morfologia aguzza) e cinque a voltaggio normale (con due a morfologia aguzza).

Patient	Epilepsy form	Standard MRI findings	IEDs morphology	Irritative focus
n. 1	Lesional	MTS	h.a.s.w.	T3-T5
n. 2	Cryptogenic	Negative	s.w.	T3-T5
n. 3	Lesional	Cavernoma	sp.s.w.	T5
n. 4	Lesional	MTS	s.w.	T4-T6
n. 5	Idiopathic	Negative	sp.s.w.	O1
n. 6	Idiopathic	Negative	h.a.s.w.	T4-T6
n. 7	Idiopathic	Negative	s.w.	F7
n. 8	Idiopathic	Negative	h.a.sp.s.w.	T4-T6

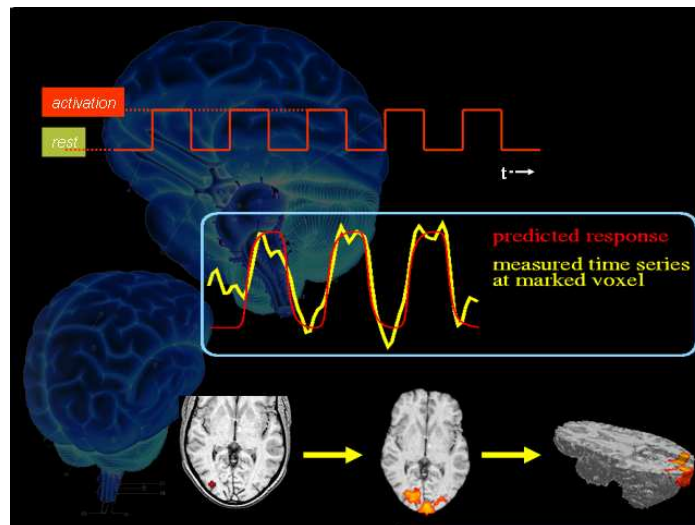
MTS – Mesial Temporal Sclerosis; s.w. - slow waves; h.a.s.w. - high amplitude slow waves; sp.s.w. - spiked slow waves; h.a.sp.s.w.-high amplitude spiked slow waves.

Dopo aver sottoposto i pazienti a tre sessioni continue di co-registrazione, di sei minuti ciascuna (per un totale di 18 minuti di registrazione), abbiamo proceduto alla sottrazione dell'artefatto e all'analisi del tracciato EEG.

Abbiamo individuato gli elementi irritativi costruendo un apposito protocollo che considerasse tale attività "fasi di attivazione" da comparare con tracciati EEG privi di attività irritativi (fase di resting).



Abbiamo proceduto ad applicare il protocollo di analisi seguendo il modello del General Linear model (che verifica se vi è corrispondenza della risposta emodinamica con il modello ideale applicato dal protocollo) e successivamente è stata adottata una analisi statistica “voxel by voxel” che analizza il contenuto differenziale di emoglobina ridotta in un voxel attraverso il comparaggio con i voxel contigui. Sono state altresì applicate diverse funzioni emodinamiche (la Boynton, che contempla solo un picco positivo; la Two gamma, più vicina a quella fisiologica, che a un picco positivo ne fa seguire uno negativo) con diverse latenze: 3-5-7 minuti. Alla fine si è applicato un valore di p threshold < 0.05 evitando la correzione per confronti multipli di Bonferroni.



Le aree attivate sono state infine analizzate secondo i criteri definiti da Krakow, considerando attivazioni significative solo quelle aree che sono composte da almeno 5 voxel in almeno 2 slices contigue. Questo per rispettare il principio della riproducibilità.

## Risultati

I risultati sono presentati nella tabella seguente, che elenca le caratteristiche dell'EEG in risonanza e le aree di attivazione nella ricostruzione 2d-fMRI.

Pat.	IEDs/18 min	IEDs/min	BOLD activation in 2d reconstruction	Number of contiguous slices
1	<b>45</b>	<b>2.5</b>	Left mesial temporal lobe	2
2	<b>42</b>	<b>2.33</b>	Left mesial temporal lobe	2
3	<b>40</b>	<b>2.22</b>	Left superior temporal lobe – neocortical region	3
4	<b>43</b>	<b>2.39</b>	Right mesial temporal lobe	2
5	<b>47</b>	<b>2.61</b>	Left occipital lobe-calcarin cortex	2
6	<b>38</b>	<b>2.11</b>	Right superior temporal lobe	2
7	<b>44</b>	<b>2.44</b>	Left frontal lobe	2
8	<b>46</b>	<b>2.55</b>	Right superior temporal lobe	2
mean	<b>43,12</b>	<b>2.4</b>		
s.d.	<b>3,04</b>	<b>0.17</b>		

La ricostruzione in 3d delle attivazioni, la normalizzazione, e la successiva localizzazione delle stesse ci ha permesso di individuare il numero totale di voxel, le coordinate spaziali e la corrispondente area cerebrale.

	MEAN "X"	MEAN "Y"	MEAN "Z"	Nr OF VOXELS	CORRESPONDING AREA
PAT.1	-18 ± 1.7	-7 ± 1.8	-19 ± 1.3	177	Left Cerebrum, limbic lobe, parahippocampal gyrus, area 34
PAT.2	-14 ± 2.3	-33 ± 3.9	-6 ± 2.4	522	Left cerebrum, limbic lobe, parahippocampal gyrus, area 30
PAT.3	-59 ± 2.3	-41 ± 2.4	-15 ± 3.6	540	Left cerebrum, temporal lobe, inferior temporal gyrus, grey matter, Brodmann area 20
PAT.4	17 ± 3	-14 ± 1.5	-15 ± 1.2	175	Right cerebrum, limbic lobe, parahippocampal gyrus, area 28
PAT.5	-3 ± 2.1	-78 ± 1.8	2 ± 2.7	1227	Left cerebrum occipital lobe, lingual gyrus, grey matter, Brodmann area: 18
PAT.6	62 ± 3.8	-15 ± 3.1	7 ± 1.7	364	Right cerebrum, temporal lobe, transverse temporal gyrus, area 42
PAT.7	-51 ± 3.7	-3 ± 4	13 ± 3.4	442	Left cerebrum, frontal lobe, precentral gyrus, grey matter, Brodmann area 6
PAT.8	54 ± 1.6	-36 ± 2.7	-3 ± 2.8	422	Right cerebrum, temporal lobe, middle temporal gyrus, area 21

## Conclusioni

In conclusione, in tutti i pazienti abbiamo rilevato una attivazione significativa di flusso, nelle aree cerebrali corrispondenti al focolaio intercritico rilevato all'EEG standard e a quello usato in risonanza per la costruzione del protocollo di analisi.

Tale risultato, per quanto preliminare in quanto eseguito su un numero ridotto di pazienti è tuttavia il primo che segue a un case-report riportato dalla letteratura.

Per tale motivo la sua pubblicazione è stata raccomandata dai reviewers all'Editor di Magnetic Resonance Imaging.

## Obiettivi per il 2008.

Per il prossimo anno l'obiettivo primario sarà implementare l'analisi dei pazienti affetti da epilessia parziale e focolaio intercritico, magari stratificandoli per ampiezza e morfologia del focolaio (ampiezza elevata vs ridotta, morfologia aguzza verso semplice onda lenta), e valutare se la risposta ottenuta è sovrapponibile.

Un secondo obiettivo, iniziato con uno studio preliminare su due soggetti, sarà una indagine sulla possibile eziopatogenesi del mioclono d'azione corticale, considerato che in letteratura vi sono solo due cases report. Anche questo studio prevede l'utilizzo della co-registrazione con un modello diverso: poiché il mioclono è indotto, si costruirà un protocollo a blocchi, intervallando fasi di riposo a fasi in cui l'attivazione scatena il mioclono.

I risultati preliminari su due soli soggetti (epilessia mioclonica progressiva e malattia di Kufs) hanno dato risultati sovrapponibili a quelli in letteratura (attivazione diffusa prevalente nelle regioni anteriori).

L'obiettivo finale, sarà aprire un dialogo sia con i servizi di neurologia che con le divisioni di neurochirurgia per un corretto approccio diagnostico al paziente epilettico, al fine di implementare le indagini miranti a valutare un focolaio irritativo possibile causa di crisi subentranti, di interesse sia medico che chirurgico.

## Bibliografia.

- Ives, Clin Neurophysiol, 93 (87):417-420

“Monitoring the patient’s EEG during echo planar MRI”

- Seek, Clin Neurophysiol, 98 (106): 508-512

“Non-invasive epileptic focus localization using EEG-triggered functional MRI and electromagnetic topography”

- Krakow, Brain, 99 (122):1679-1688

“EEG-triggered fMRI of interictal epileptiform activity in patients with partial seizures”

- Krakow, Epileptic Disord, 01 (3):67-74

“Spatio-temporal imaging of focal interictal epileptiform activity using EEG-triggered functional MRI”

- Lemieux, Neuroimage, 2001 (14): 780-787

“Event-related fMRI with simultaneous and continuous EEG: description of the method and initial case report”

- Al-Asmi, Epilepsia, 2003 (44): 1328-1339

“fMRI activation in continuous and spike triggered EEG-fMRI studies of Epileptic Spikes”

- Boor, Epilepsia 2003 (44): 688-692

“Functional MRI in Benign Childhood Epilepsy with Centrottemporal Spikes”

- Salek-Haddadi, Ann Neurol 2003 (53): 663-667

“Functional magnetic resonance imaging of human absence seizures”

- Aghakani, Brain 2004 (127): 1127-1144

“fMRI activation during spike and wave discharges in idiopathic generalized epilepsy”

- Gotman, PNAS 2005 (102): 15236-15240

“Generalized epileptic discharges show thalamocortical activation and suspension of the default state of the brain”

- Salek Haddadi, Brain Research 2006: 148-166

“Hemodynamic correlates of epileptiform discharges: An EEG-fMRI study of 63 patients with focal epilepsy”

- Aghakani, Brain 2005 (128): 641-651

“The role of periventricular nodular heterotopia in epileptogenesis”

- Kobayashi, Brain 2006 (129): 366-374

“Grey matter heterotopia: what EEG-fMRI can tell us about epileptogenesis of neuronal migration disorders”

- Kobayashi, Neurology 2005 (64): 1263-1266

“Intrinsic epileptogenicity in polymicrogyric cortex suggested by EEG-fMRI BOLD responses”

- Laufs, Magn Res Imaging 2006 (24): 367-371

“EEG-fMRI in mapping of asymmetrical delta activity in a patient with refractory epilepsy is concordant with the epileptogenic region determined by intracranial EEG.”

## **ARTICOLI ACCETTATI INERENTI L'ATTIVITA' DI RICERCA.**

### **1. “CONTINUOUS EEG-fMRI IN PATIENTS WITH PARTIAL EPILEPSY AND FOCAL INTERICTAL SLOW-WAVE DISCHARGES ON EEG”**

*Avesani Mirko, Milanese Franco, Formaggio Emanuela, Gasparini Anna, Cerini Roberto, Pozzi Mucelli Roberto, Bongiovanni Luigi Giuseppe, Fiaschi Antonio, Manganotti Paolo.*

[Accepted for publ on J Magn Reson Imaging]

### **2. “CONTINUOUS EEG-fMRI IN PRE-SURGICAL EVALUATION OF A PATIENT AFFECTED BY SYMPTOMATIC SEIZURES: BOLD ACTIVATION LINKED TO INTERICTAL EPILEPTIC DISCHARGES CAUSED BY CAVERNOMA”**

*Avesani Mirko, Milanese Franco, Formaggio Emanuela, Gasparini Anna, Baraldo Andrea, Cerini Roberto, Bongiovanni Luigi Giuseppe, Pozzi Mucelli Roberto, Fiaschi Antonio, Manganotti Paolo.*

[Accepted for publ on Neuroradiology Journal]