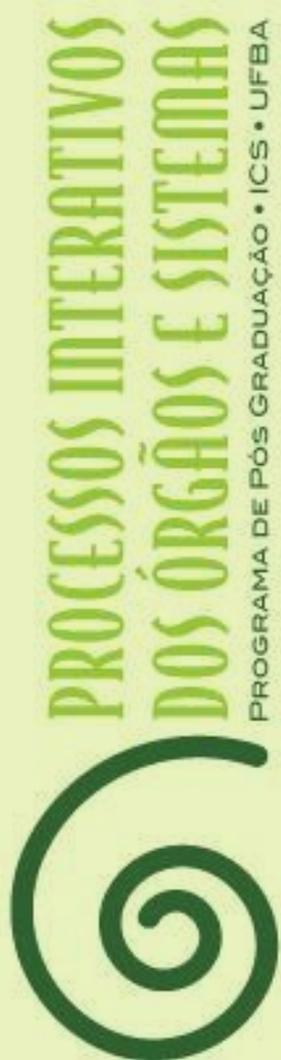


Tandara Oliveira Benevides Silva



Caracterização da dinâmica de redes funcionais de sincronia cerebral em epilepsia

Salvador
2021



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DE PROCESSOS INTERATIVOS
DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS**



TANDARA OLIVEIRA BENEVIDES SILVA

**CARACTERIZAÇÃO DA DINÂMICA DE REDES FUNCIONAIS DE
SINCRONIA CEREBRAL EM EPILEPSIA**

Salvador
2021

TANDARA OLIVEIRA BENEVIDES SILVA

**CARACTERIZAÇÃO DA DINÂMICA DE REDES FUNCIONAIS DE
SINCRONIA CEREBRAL EM EPILEPSIA**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação
Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas do
Instituto de Ciências da Saúde da Universidade
Federal da Bahia, como requisito parcial para a
obtenção do título de Mestre em Processos Interativos
dos Órgãos e Sistemas.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Pondé de Sena

Coorientador: Prof. Dr. José Garcia Vivas Miranda

Salvador
2021

UFBA/SIBI/ Biblioteca Universitária de Saúde Prof. Álvaro Rubim de Pinho

S586 Silva, Tandara Oliveira Benevides.
Caracterização da dinâmica de redes funcionais de sincronia cerebral em epilepsia/Tandara Oliveira Benevides Silva. – Salvador, 2021.
71 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Pondé de Sena; Coorientador: Prof. Dr. José Garcia Vivas Miranda.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências da Saúde/Programa de Pós-graduação Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, 2021.

Inclui referências e anexos.

1. Epilepsia. 2. Redes funcionais cerebrais. 3. Conectividade Temporal.
4. Estímulo acústico não periódico. 5. Tempo de sincronização completa.
6. EEG. I. Universidade Federal da Bahia. II. Título.

CDU 616.853



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
Instituto de Ciências da Saúde



TANDARA OLIVEIRA BENEVIDES SILVA

**CARACTERIZAÇÃO DA DINÂMICA DE REDES FUNCIONAIS DE
SINCRONIA CEREBRAL EM EPILEPSIA**

Salvador, Bahia, 01 de março de 2021.

COMISSÃO EXAMINADORA:

DocuSigned by:

Eduardo Pondé de Sena

5ECE5B31E280430

PROF DR EDUARDO PONDÉ DE SENA (Examinador Interno)

DocuSigned by:

Raphael Silva do Rosário

BB65D61655CA470

PROF DR RAPHAEL SILVA DO ROSÁRIO (Examinador Interno)

DocuSigned by:

Wellington Pinheiro dos Santos

2C9EB75503FD4DC

PROF DR WELLINGTON PINHEIRO DOS SANTOS (Examinador Externo)

A meus pais, minha irmã, amigos, e a e minha avó paterna (*in memoriam*),
que, mesmo ausente, me ensinou a amar, valorizar as pessoas e seguir com fé, em
mares revoltos, dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Deus por colocar pessoas boas em meu caminho e me permitir trabalhar com algo de que gosto.

A minha família, meus pais, Rosana e Fran, e minha irmã, Thai, por todo carinho, paciência e fortalecimento ao longo do processo.

A meu orientador, Prof. Pondé, pela calma, tranquilidade e compreensão em lidar com as dificuldades encontradas no trajeto.

A Garcia por ser um amigo, nos momentos em que precisei, sem deixar de me conduzir durante essa jornada.

Aos professores Wellington Pinheiro e Marcelo Cairrão Araujo Rodrigues, e as doutorandas, Juliana e Marília pela parceria e solicitude na construção do trabalho. Sem vocês, isso não seria viável. E a Carlinha, por ser o *hub* de intermediação entre os grupos, e estar sempre pronta a ajudar.

Aos professores Gustavo Marcelino Siquara e Humberto Castro-Lima Filho, que, embora não tenham entrado neste trabalho, colaboraram significativamente, para a minha inserção no mundo da epilepsia.

A John pela amizade, amor, cumplicidade e estímulo, mesmo quando tudo parecia desandar. Você é um grande parceiro!

A meus amigos, em especial, Áurea, Rodrigo e Aninha – vocês me trazem muita alegria e enchem minha vida de amor.

A Anne que, além de ser uma amiga, foi uma tutora incrível durante a construção deste trabalho. Gratidão pelo auxílio, pelos ensinamentos e pelas figuras maravilhosas.

A meus colegas do Laboratório de Biosistemas pelas maravilhosas e produtivas reuniões das quartas. Em especial, Mile e Jéssica por todo apoio, quando precisei priorizar as demandas da pós. A Rosa pelos ensinamentos referentes às análises e pela paciência. A Thai por me ajudar a trilhar o caminho já trilhado por ela.

À UFBA, por abrir este espaço de troca e conhecimento infinito. Aos funcionários e servidores que fazem o melhor que podem, com os recursos de que dispõem.

Aos colegas e amigos adquiridos no programa, especialmente, Diego, Rani, Leo, Mile, Luan, Deb, Vivi e Lucas.

Ao programa de pós-graduação, aos professores e à coordenação.

À CAPES, pelo apoio financeiro, através da concessão da bolsa de mestrado.

Eu creio no sol, mesmo que ele não brilhe para mim; eu creio no amor, mesmo quando ele não é demonstrado; eu creio em Deus, mesmo quando Ele fica em silêncio.

Autor desconhecido

SILVA, Tandara Oliveira Benevides. **Caracterização da dinâmica de Redes Funcionais de Sincronia Cerebral em Epilepsia**. 2021. 71f.il. (Dissertação) Mestrado em Processos Interativos de Órgãos e Sistemas – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia.

RESUMO

Introdução: A epilepsia é caracterizada por alterações na excitabilidade e sincronia neuronais que levam a distúrbios na rede cerebral. Atualmente, cerca de um terço dos pacientes apresenta farmacorresistência, de forma que a neuroestimulação tem sido utilizada como tratamento adjuvante. Nesse contexto, a estrutura temporal do estímulo tem se mostrado essencial para a eficácia terapêutica. O estímulo elétrico não periódico (ENP) tem mostrado efeitos anticonvulsivantes significativos, fornecendo base para o desenvolvimento de estudos em humanos. O estímulo acústico não periódico (EANP) segue o padrão de criação do ENP e apresenta resultados clínicos em pacientes com epilepsia refratária. **Objetivos:** Avaliar os efeitos do EANP em redes funcionais de sincronia cerebral em epilepsia refratária, sob a perspectiva dinâmica; avaliar se houve uma alteração da conectividade funcional dinâmica após o uso do tratamento com EANP; avaliar se houve um aumento do tempo de sincronização completa (TSC) após o tratamento. **Metodologia:** A partir dos registros eletroencefalográficos (EEG) de pacientes com epilepsia refratária, no período interictal, foram geradas redes funcionais cerebrais (RFC), representadas através de grafos variantes no tempo (GVT) e redes estáticas agregadas (REA), tendo como método de associação a sincronização por *motifs* e a utilização de índices dinâmicos, como o grau de conectividade temporal, o TSC, *hubs* e distribuição dos pesos das arestas. O efeito do EANP foi avaliado para a fase aguda (n = 11 pacientes) e até o quinto dia de estímulo (n = 8 pacientes). **Resultados:** O grau de conectividade temporal apresentou diferenças significativas da linha de base para o primeiro estímulo, com uma redução do seu índice, seguida por uma elevação significativa no quinto dia antes da nova estimulação. A distribuição dos pesos das arestas mostrou redução das conexões mais frequentes, no efeito agudo, e sua elevação ao quinto dia, com manutenção das arestas de maior peso, em todos os dias. O TSC mostrou tendências opostas às da conectividade. Enquanto os *hubs* mais representativos, apresentaram variabilidade na localização, sem mostrar mudanças de conectividade ou quantidade de sincronização. **Discussão:** Em conjunto, nossos resultados apontam para um efeito modulador do EANP sobre a sincronia das redes cerebrais. O que pode ser visualizado através de: (i) um efeito agudo de redução geral da conectividade; (ii) seguido por uma aparente habituação ao estímulo; com (iii) manutenção das conexões mais importantes para todos os estados; e (iv) alteração contínua dos eletrodos *hubs* na rede, indicando uma provável reorganização. Além de ocorrência de alterações no TSC, relacionadas à dinâmica da conectividade geral da rede. **Conclusão:** Nossos resultados mostraram que o EANP apresenta um efeito modulador da sincronia cerebral e que a estrutura temporal do estímulo constituiu um fator preponderante para tal. Novas avaliações são necessárias para verificar a variabilidade dos padrões topológicos de conexão ao longo do tempo.

Palavras-chave: Epilepsia. Redes funcionais cerebrais. Conectividade temporal. Estímulo acústico não periódico. Tempo de sincronização completa. EEG.

SILVA, Tandara Oliveira Benevides. *Characterization of the dynamics of Functional Networks of Brain Synchrony in Epilepsy*. 2021. 71s.ill. (Dissertation) Master em Interactive Processes of Organs and Systems – Institute of Health Sciences, Federal University of Bahia.

ABSTRACT

Introduction: Epilepsy is characterized by changes in neuronal excitability and synchrony that lead to disturbances in the brain network. Currently, about one third of patients have pharmacoresistance, so that neurostimulation has been used as an adjuvant treatment. In this context, the temporal structure of the stimulus has been shown to be essential for therapeutic efficacy. The non-periodic electrical stimulus (NPS) has shown significant anticonvulsant effects, providing a basis for the development of studies in humans. The non-periodic acoustic stimulus (NPAS) follows the NPAS creation pattern and presents clinical results in patients with refractory epilepsy. **Objectives:** Evaluate the effects of NPAS in functional networks of cerebral synchrony in refractory epilepsy, from a dynamic perspective; assess whether there was a change in dynamic functional connectivity after using NPAS treatment; assess whether there was an increase in the time of complete synchronization (TCS) after treatment. **Methodology:** From the electroencephalographic (EEG) records of patients with refractory epilepsy, in the interictal period, functional brain networks (FBN) were generated, represented by time-varying graphs (TVG) and aggregate static networks (ASN), using the association method to synchronization by motifs and the use of dynamic indices, such as the degree of temporal connectivity, the TCS, hubs and distribution of edge weights. The effect of the NPAS was assessed for the acute phase (n = 11 patients) and up to the fifth day of stimulation (n = 8 patients). **Results:** The degree of temporal connectivity showed significant differences from the baseline for the first stimulus, with a reduction in its index, followed by a significant increase on the fifth day before the new stimulus. The distribution of the edge weights showed a reduction in the most frequent connections, in the acute effect, and its elevation at the fifth day, with maintenance of the highest weight edges, every day. TCS showed trends opposite to those of connectivity. While the most representative hubs, showed variability in location, without showing changes in connectivity or amount of synchronization. **Discussion:** Together, our results point to a modulating effect of the NPAS on the synchrony of brain networks. What can be visualized through: (i) an acute effect of a general reduction in connectivity; (ii) followed by an apparent habituation to the stimulus; with (iii) maintaining the most important connections for all states; and (iv) continuous alteration of the electrodes hubs in the network, indicating a probable reorganization. In addition to the occurrence of changes in the TCS, related to the dynamics of general network connectivity. **Conclusion:** Results showed that NPAS has a modulating effect on brain synchrony and that the temporal structure of the stimulus was a major factor for this. Further assessments are needed to verify the variability of topological connection patterns over time.

Keywords: Epilepsy. Functional brain networks. Temporal connectivity. Acoustic non-periodical stimulation. Complete synchronization time. EEG.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – EEG mostrando atividade epileptiforme interictal, espículas multifocais. 21
- Figura 2** – Tipos de rede. (A) rede simples ou binária não direcionada; (B) rede ponderada não direcionada; (C) rede simples direcionada; (D) rede ponderada direcionada. 26
- Figura 3** – Grau do nó. Exemplo: Grau do nó 2: $k_2 = 3$. 26
- Figura 4** – Coeficiente de aglomeração. O coeficiente de aglomeração do nó 5 é igual ao número de conexões de seus vizinhos (nós 2, 4 e 7), um total de 2 conexões, dividido pelo número total de conexões possíveis que os vizinhos poderiam ter entre si (total de 3 conexões). 27
- Figura 5** – Caminho mínimo. Na figura, é possível observar que, de todos os caminhos que levam do nó 1 ao 6, o caminho mínimo entre esses nós é o indicado pela seta. 28
- Figura 6** – Distribuição de graus. Onde $P(k)$, corresponde à probabilidade de encontrar um nó com grau k na rede. 28
- Figura 7** – *Hub*. A figura ilustra um nó *hub*. 29
- Figura 8** – Modularidade. Cada rede de uma cor representa um módulo, e a ligação entre eles é feita através de hubs conectores. 30
- Figura 9** – Fenômeno do Rich club. 30
- Figura 10** – Protocolo de aquisição dos dados. Onde: T0 representa a primeira aquisição de EEG do paciente (avaliação basal); T1 corresponde à aquisição após ouvir a batida binaural no primeiro dia; T2 apresenta a avaliação com EEG após 4 dias ouvindo a batida binaural; T3 é a aquisição após ouvir batida binaural no quinto dia; T4 é a avaliação no 30º dia (após um mês de tratamento com a batida binaural). 39
- Figura 11** – Transformação de uma série temporal em uma série de *motifs*. 42
- Figura 12** – Construção de redes variantes no tempo. Na figura, é possível notar a presença de uma janela deslizante sobre uma série temporal de *motifs*, proveniente da transformação da série temporal de eletrodos (Figura 11), e a matriz de adjacência correspondente a cada instante de tempo, bem como sua rede correspondente, além da REA, que retrata a importância das conexões no tempo. Na coluna redes, verde significa sincronizações com atraso temporal > 0 , e azul, com atraso igual a zero. Na coluna REA, azul representa pesos pequenos e verde pesos altos. 42
- Figura 13** – Diferença média do grau ponderado por regiões do cérebro. A figura mostra uma redução da conectividade funcional após o tratamento com EANP. 44

- Figura 14** – Diferença média do tempo de sincronização completa. A figura mostra um aumento do índice para a maioria dos pacientes, com a aplicação do EANP. 45
- Figura 15** – Distribuição dos pesos das arestas. 46
- Figura 16** – Histograma dos *hubs*. 48
- Figura 17** – Diferenças médias entre a conectividade funcional por regiões cerebrais. O gráfico demonstra que apenas os grupos t0 e t1, e t1 e t2 foram significativamente diferentes entre si (em vermelho). Para os demais grupos, não são mostradas diferenças significativas em grau (em preto). 50
- Figura 18** – Evolução da conectividade temporal. O gráfico de evolução da conectividade funcional demonstra uma redução da conectividade como efeito agudo do estímulo, seguida por uma elevação da conectividade (T2) e uma tendência a redução mais próxima a uma provável estabilização (T3). 50
- Figura 19** – Diferenças médias entre o tempo de sincronização completa. O gráfico mostra ausência de efeito significativo do tratamento sobre o índice, apesar da tendência ao aumento na fase aguda, com posterior redução. 51
- Figura 20** – Evolução temporal do TSC. O gráfico mostra uma tendência de elevação das diferenças médias do índice, como efeito agudo do estímulo, que é seguida de decréscimo. 52
- Figura 21** – Distribuição dos pesos das arestas até o quinto dia de estimulação. 53

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1**– Protocolos de ativação do EANP 38
- Tabela 2** – *Hubs* síncronos estado basal e primeiro estímulo. Nota-se a diversidade de *hubs* de antes e depois do estímulo, com alguns *hubs* da região central, frontal e temporal presentes nos dois estados (em azul, na tabela) 47
- Tabela 3** – *Hubs* síncronos mais representativos até o quinto dia de análise. É possível observar a variabilidade dos *hubs* para todos os registros, com poucos deles sendo mantidos do estado basal para o efeito agudo (em verde). Os *hubs* que reaparecem na rede em outros estágios são representados em azul, enquanto os que aparecem após a estimulação (no 1º dia, T1, e no quinto dia, T3) são apresentados em vermelho 54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EANP – Estímulo acústico não periódico

TSC – Tempo de sincronização completa

EEG – Eletroencefalograma

VEEG – Vídeoeletroencefalograma

PTZ – Pentilenotetrazol

ENP – Estímulo não periódico.

GVT – Grafos variantes no tempo

IRMf – Imagem de ressonância magnética funcional

MEG – Magnetoencefalografia

ELTm – Epilepsia de lobo temporal mesial

ELT – Epilepsia de lobo temporal

ILAE – Internacional League Against Epilepsy (Liga Internacional contra Epilepsia)

ANPS – Acoustic non-periodic stimulation

RFC – Redes funcionais cerebrais

REA – Rede estática agregada

Kp – Grau ponderado

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	OBJETIVO GERAL	17
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
2	REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1	EPILEPSIA	18
2.2	DEFINIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO	18
2.3	ETIOLOGIA	19
2.4	DIAGNÓSTICO	20
2.5	TRATAMENTO	21
2.6	NEUROESTIMULAÇÃO E ESTÍMULO ACÚSTICO NÃO PERIÓDICO	22
2.7	CÉREBRO E REDES COMPLEXAS	25
2.8	GERAÇÃO DE REDES CEREBRAIS	32
2.9	REDES CEREBRAIS E EPILEPSIA	33
2.10	GRAFOS VARIANTES NO TEMPO	35
3	METODOLOGIA	36
3.1	OBTENÇÃO DE DADOS	36
3.1.1	Participantes	36
3.2	AQUISIÇÃO DE DADOS EEG	37
3.3	PROTOCOLO EXPERIMENTAL	37
3.4	ESTIMULAÇÃO AUDITIVA	38
3.5	TRATAMENTO DE DADOS	39
3.6	GERAÇÃO DAS REDES	40
3.7	CONSTRUÇÃO DAS REDES DINÂMICAS	41
4	RESULTADOS	43
4.1	FASE AGUDA	43
4.1.1	Conectividade Funcional Regional	43
4.1.2	Tempo de Sincronização Completa (TSC)	44
4.1.3	Distribuição dos Pesos das Arestas	45
4.1.4	Hubs	46

4.2	FASES POSTERIORES	48
4.2.1	Conectividade Funcional Regional	49
4.2.2	Tempo de Sincronização Completa	51
4.2.3	Distribuição dos Pesos das Arestas	52
4.2.4	<i>Hubs</i>	53
5	DISCUSSÃO	55
6	CONCLUSÃO	62
	REFERÊNCIAS	63

1 INTRODUÇÃO

O cérebro humano, em estado saudável ou patológico, constitui um sistema complexo dinâmico, cujo padrão de conexões se altera a partir de interações com o ambiente, flutuando entre estados metaestáveis. Em pacientes epiléticos, esse sistema, pode ser estudado a partir dos períodos durante e entre as crises epiléticas, períodos ictal e interictal, respectivamente, com a variação entre esses estados dependente de perturbações internas e externas ao sistema^{1,2}.

A presença de descargas epileptiformes constitui uma perturbação ao sistema, estando sua origem relacionada a alterações na atividade neuronal que desencadeiam hiperexcitabilidade e hipsincronia, gerando distúrbios na rede cerebral em ampla escala^{2,3}. Tais distúrbios levam à redução do processamento e à transferência de informação dentro da rede, fatores fundamentais para processos cognitivos que se mostram alterados na doença^{4,5}.

Atualmente, o principal tratamento para a doença consiste na utilização de drogas antiepiléticas (DAEs), que, teoricamente, reduzem a excitabilidade neuronal, através do bloqueio de canais iônicos, neurotransmissores ou proteínas de transporte^{6,7}. Embora esses medicamentos revelem eficácia, cerca de 30% dos pacientes apresentam farmacorresistência ou refratariedade^{6,8}, o que mostra a necessidade do desenvolvimento de alternativas terapêuticas. Uma das principais alternativas para a epilepsia refratária é a cirurgia para a remoção da zona epileptogênica, quando possível sua identificação. Esse tratamento, contudo, pode não resultar em controle absoluto das crises epiléticas^{6,8}. Outras terapias adjuvantes compreendem o uso de dieta cetogênica⁷ e neuroestimulação⁹.

Dentro do campo da neuroestimulação e, especificamente, da estimulação elétrica, sob a forma de estímulo não periódico, aplicado a modelos animais, têm sido observados efeitos anticonvulsivantes significativos vinculados à estrutura do estímulo, considerando sua assincronia e o intervalo entre os pulsos, em lei de potência^{10,11}. Tem sido demonstrado que o padrão de ativação neuronal segue uma distribuição em lei de potência e que o cérebro responde de modo eficaz a estímulos que seguem o padrão natural¹². Além disso, a presença de aleatorização do intervalo entre os pulsos, gerando uma ausência de ritmo no estímulo*,

* Ausência de ritmo do estímulo: comumente expresso como um estímulo arritmico, ou seja, que não apresenta uma frequência temporal predominante. O termo, com frequência, é utilizado como sinônimo de “aperiódico” e “irregular” (ref. 84).

produziria uma dessincronização de redes epileptogênicas¹¹. Essas análises têm apontado para o potencial de pesquisas futuras, em humanos, com o estímulo não periódico.

O estímulo acústico não periódico segue o protocolo de criação do estímulo não periódico, no que diz respeito à sua assincronia, bilateralidade e distribuição em lei de potência dos intervalos entre os pulsos, da trilha sonora, e foi proposto como tratamento complementar para pacientes com epilepsia refratária, com resultados clínicos em processo de publicação (Lucena et al. Comunicação pessoal).*

Assim, considerando que a epilepsia é uma doença dinâmica caracterizada, em essência, por distúrbios na sincronia cerebral^{1,2} e que o estímulo acústico não periódico é proposto como uma terapia complementar, que atua promovendo a dessincronização de redes epiléticas, a abordagem de redes complexas, especialmente sob a perspectiva dinâmica, pode auxiliar na compreensão dos mecanismos envolvidos no efeito da terapia na rede cerebral de pacientes com epilepsia refratária.

1.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos do estímulo acústico não periódico (EANP) em redes funcionais de sincronia cerebral em epilepsia refratária, sob a perspectiva dinâmica.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar se ocorre uma redução da conectividade funcional dinâmica após o uso do tratamento com EANP.
- Avaliar se ocorre um aumento do tempo de sincronização completa (TSC) após o tratamento.
- Avaliar se ocorrem alterações no padrão de *hubs* e de conexões, ao longo do tempo, após o estímulo.

* Lucena MM, De Oliveira MI, Albuquerque GJ, Santana M, Andrade KM, Santos W, et al. Acoustic Non-periodical Stimulation (ANPS) decrease acute EEG discharges in patients with refractory epilepsy. 2020. Em processo de publicação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 EPILEPSIA

A epilepsia pode ser descrita como uma doença dinâmica¹³⁻¹⁵, caracterizada pela ocorrência de crises epiléticas não provocadas e recorrentes¹⁶. Estima-se que tais crises decorram de mecanismos moleculares diversos, que levam a uma alteração na atividade e na sincronia neuronal, provocando mudanças na organização da rede cerebral^{3,17}. A epilepsia é um problema de saúde pública, sendo responsável por 0,56% da carga global das doenças, em 2016¹⁸. A frequência das crises e tempo de epilepsia têm sido associados a diversos prejuízos cognitivos, levando à redução da qualidade de vida dos pacientes¹⁹, além de problemas de ordem biológica, social e econômica²⁰.

2.2 DEFINIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO

A epilepsia é caracterizada pela predisposição persistente do cérebro em gerar crises epiléticas. A terminologia crise epilética é determinada para uma “ocorrência transitória de sinais e (ou) sintomas devido a atividade neuronal anormal, excessiva ou síncrona no cérebro”¹⁶.

A classificação das epilepsias ocorre em múltiplos níveis e leva em consideração os tipos de crises, os tipos de epilepsia, as síndromes epiléticas, além da etiologia da doença²¹. Uma crise epilética pode ser categorizada, a partir de sua origem em: focal, generalizada ou desconhecida²². A crise é denominada focal quando proveniente de redes limitadas a um hemisfério, enquanto crises generalizadas decorrem de redes distribuídas bilateralmente²³. As crises de início desconhecido são assim denominadas em virtude de insuficiência de informação para a sua classificação²². Adicionalmente, fatores como presença ou ausência de comprometimento da consciência e participação motora são considerados para uma subclassificação²³.

A epilepsia pode, então, ser classificada como focal, generalizada, desconhecida ou combinada²¹. É válido ressaltar que trabalhos mais recentes, principalmente sob a abordagem de grafos, têm apontado que mesmo epilepsias classificadas como focais se apresentam como um transtorno da rede cerebral²⁴.

2.3 ETIOLOGIA

A epilepsia apresenta uma etiologia variada, sendo categorizada dentro de seis grupos: estrutural, genético, imunológico, infeccioso, metabólico e desconhecido²¹.

A epilepsia estrutural é caracterizada pela presença de uma alteração anatômica epileptogênica, que, muitas vezes, pode ser revelada através de exames de imagem^{21,23}, sendo a esclerose hipocampal mesial temporal uma das principais associações estruturais da doença²¹.

Define-se como epilepsia genética aquela em que mutações genéticas levam à presença de crises epiléticas, como sintoma principal²⁵. Estima-se que cerca de 70% das epilepsias sejam de origem genética, com padrão de herança complexa, e apenas 30% de origem adquirida^{26,27}. Entre as síndromes epiléticas de origem genética, é possível destacar a síndrome de Dravet, a epilepsia neonatal familiar benigna e a epilepsia ausência da infância, que decorrem de mutações em canais iônicos, elevando a excitabilidade neuronal e alterando circuitos tálamo-corticais⁶.

A etiologia imunológica ocorre quando distúrbios no sistema imunológico desencadeiam crises epiléticas como sintoma principal²¹. Diversas alterações em anticorpos têm sido associadas à apresentação de encefalites, em pacientes com epilepsia de etiologia desconhecida²⁸. Tais anticorpos se direcionam, geralmente, a antígenos neuronais de superfície celular, como receptores de neurotransmissores sinápticos, canais iônicos e proteínas relacionadas, ou ainda, em uma segunda vertente, a receptores nucleares e citoplasmáticos^{28,29}.

A etiologia infecciosa pode ser considerada quando a epilepsia decorre de uma infecção aguda³⁰. São exemplos de etiologias infecciosas comuns em algumas regiões do mundo: neurocisticercose, HIV, toxoplasmose, malária cerebral e infecções congênitas^{21,30}. As infecções, por vezes, apresentam correlação estrutural. Uma etiologia infecciosa gera implicações específicas para o tratamento²¹.

A epilepsia é descrita como de origem metabólica quando resulta de algum distúrbio no metabolismo, de ordem conhecida ou presumida, que apresenta crises epiléticas como um sintoma principal²¹. As epilepsias metabólicas mostram, com frequência, uma apresentação clínica vinculada à idade, considerando a semiologia e os achados eletroclínicos³¹. Apesar de geralmente ter associação com a genética, em alguns casos elas podem ser adquiridas, a exemplo da deficiência cerebral de folato²¹.

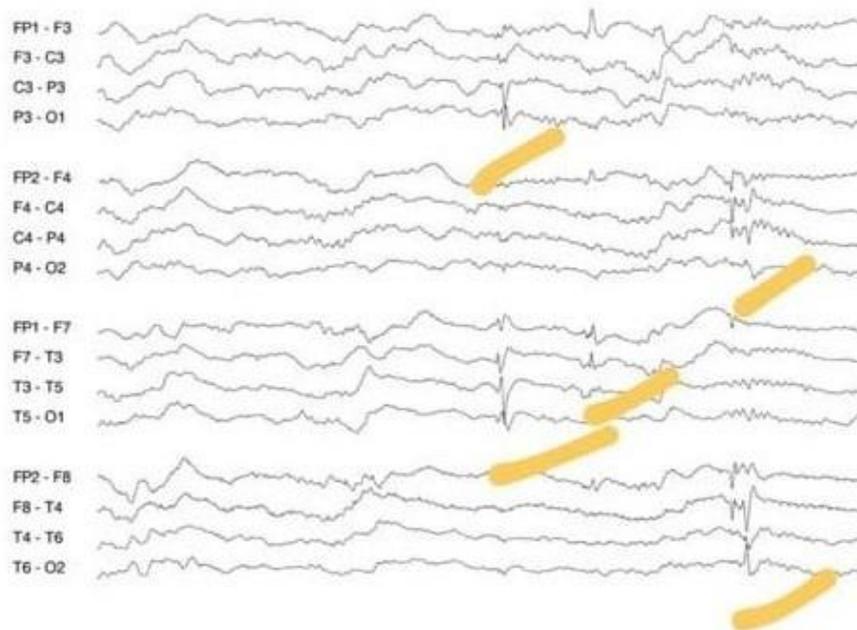
A etiologia desconhecida corresponde a situações de incerteza ou ausência de conhecimentos que permitam a determinação da causa da doença, o que inviabiliza um diagnóstico específico²¹.

Além dos grupos etiológicos já citados, avaliações mais recentes têm destacado o papel de astrócitos e mecanismos epigenéticos para o desenvolvimento da doença^{32,33}.

2.4 DIAGNÓSTICO

Atualmente, o diagnóstico de epilepsia é realizado a partir de avaliação clínica fundamentada em alterações de consciência e (ou) comportamentais³⁴. A anamnese (história clínica) constitui a principal ferramenta para o diagnóstico nesse contexto. O histórico das crises, que pode ser proveniente de um relato observacional ou de gravações, é relevante para a determinação do diagnóstico⁸. Além disso, o eletroencefalograma (EEG) de rotina é importante para a visualização das descargas epileptiformes (Figura 1) características da doença^{3,21}. Em alguns casos, é indicada a eletroencefalografia em vídeo (VEEG), com a finalidade de observação e definição das crises epiléticas⁶. Exames de imagem e laboratoriais também podem auxiliar na identificação da causa da doença, favorecendo a adoção de um tratamento eficaz⁸.

Figura 1 – EEG mostrando atividade epileptiforme interictal, espículas multifocais.



Fonte: Imagem utilizada com a permissão do neurofisiologista clínico Tiago Silva Aguiar.

2.5 TRATAMENTO

O tratamento de primeira linha, em epilepsia, tem por objetivo o controle das crises epiléticas e consiste na escolha de fármacos antiepiléticos⁷. Esses medicamentos atuam por uma diversidade de vias a fim de reduzir a excitabilidade neuronal anormal, presente na doença³⁵. Mecanismos como a modulação de canais iônicos, a elevação do tônus inibitório e o bloqueio ou inibição do tônus excitatório estão entre as ferramentas utilizadas para o controle das crises^{6,7}. Apesar da eficácia dessas medicações, cerca de 30% dos pacientes apresentam farmacorresistência^{6,8}.

A epilepsia é definida como farmacorresistente ou refratária quando ocorre uma falha em controle sustentado de crises epiléticas através da adoção e uso apropriado de medicação antiepilética em monoterapia ou por combinação de fármacos³⁶. A farmacorresistência em epilepsia tem levado à busca e ao desenvolvimento de ferramentas alternativas para o tratamento da doença, dentre as quais é possível destacar o uso de dieta cetogênica, a ressecção cirúrgica, adotada em situações específicas, e a neuroestimulação.

A dieta cetogênica é indicada para o tratamento de epilepsia refratária, sendo adotada principalmente para crianças, atua através da síntese de corpos cetônicos e alteração do metabolismo cerebral, produzindo um efeito neuroprotetor⁷. A cirurgia é adotada em situações em que é possível a identificação da zona epileptogênica a ser removida⁸. A neuroestimulação está embasada na elevação de sincronia característica da doença, e pode ser realizada através do sistema nervoso periférico, com a estimulação do nervo vago e do trigêmeo, ou por meio de alvos do sistema nervoso central, como a amígdala, o tálamo, o hipocampo e os núcleos da base^{9,35}.

Estudos prévios, em modelos animais, têm apontado a relevância da estrutura temporal do estímulo para o efeito modulador da sincronia de circuitos neuronais^{15,36,37}. A ausência de um padrão regular no estímulo bem como um intervalo entre os pulsos, seguindo o comportamento livre de escala, inerente à atividade cerebral, têm se mostrado essenciais para o efeito anticonvulsivante encontrado em estímulos elétricos, mais especificamente sob a forma não periódica^{10,11,36}.

2.6 NEUROESTIMULAÇÃO E ESTÍMULO ACÚSTICO NÃO PERIÓDICO

A neuroestimulação tem sido apontada como uma ferramenta alternativa para o tratamento de epilepsia refratária^{9,37}. Estudos prévios têm demonstrado efeitos positivos de estímulos sonoros e elétricos, sobre diversos alvos do sistema nervoso, na redução das crises epiléticas, em modelos animais e em humanos^{15,38}. Uma das abordagens centrais no uso de estimulação cerebral para tratamento de epilepsia consiste na tentativa de modular a sincronia neuronal promovendo sua redução, por processos de dessincronização, inibição ou bloqueio de rotas pertencentes aos circuitos que, de algum modo, participam dos processos de epileptogênese ou ictogênese^{9,15,35}.

Diversos circuitos cerebrais têm se mostrado envolvidos em redes epileptogênicas. Embora haja variação de acordo com o tipo de crise, e, por consequência, tipo de epilepsia, algumas circuitarias têm se revelado comuns entre crises de diferentes classes. A circuitaria que envolve os núcleos da base, por exemplo, tem sido implicada na propagação de crises epiléticas em epilepsias focais e generalizadas^{17,39}. Já estruturas como tálamo, hipocampo e amígdala têm sido relacionadas ao desenvolvimento das crises^{9,35}.

O fenômeno de arrastamento* neuronal tem se mostrado um mecanismo importante para o desenvolvimento de abordagens terapêuticas que envolvem a neuromodulação invasiva e não invasiva⁴⁰. Ao se considerar o papel da estimulação cerebral no tratamento de epilepsias, estímulos elétricos, sob a forma periódica, têm apresentado resultados controversos, com efeitos anti e pró-convulsivantes³⁵. Por outro lado, avaliações em modelos animais apontam para o papel do estímulo não periódico (ENP), elétrico, e sua eficácia como mecanismo anticonvulsivante. Estima-se que a ausência de ritmicidade do estímulo o torna antirressonante, levando à modulação da sincronia cerebral, fomentando a redução das crises epiléticas^{10,11,35}. Além disso, estudos prévios ressaltam a relevância da constituição dinâmica da doença no desenvolvimento de estratégias terapêuticas, através da exploração do padrão anormal de conectividade, considerando sua dinâmica no tempo^{11,15}.

Gal, Marrom¹² demonstraram que o arrastamento da resposta para *inputs* neuronais é maior quando são considerados estímulos que sigam a dinâmica natural dos neurônios, o que gera padrões de flutuação livres de escala, levando os autores à inferência de que neurônios apresentam preferência por estímulos que são observados no nível do sistema cerebral¹². Esse fenômeno também ocorre quando se considera a rede cortical. Em um estudo que avaliou o efeito da distribuição temporal de estímulos elétricos, considerando o intervalo entre os pulsos em lei de potência, comparado ao padrão regular, Scarsi, Tessadori, Chiappalone, Pasquale⁴¹ mostraram a preferência da rede por estimulação semelhante a ritmos endógenos, apontando a relevância da distribuição em lei de potência para a criação de protocolos de neuroestimulação.

Assim, esses estudos demonstram a importância da composição do estímulo utilizado como ferramenta terapêutica, e da consideração de fatores temporais e espaciais em sua elaboração para a eficácia na modulação da sincronia cerebral.

Estudos prévios têm demonstrado que estímulos elétricos não periódicos, com apresentação assíncrona, bilateral e bifásica, além de um intervalo entre os pulsos seguindo uma lei de potência, mostram característica anticonvulsivante^{10,11,35}.

Oliveira, Maciel, Moraes, Cota¹⁰ demonstraram, através de um estudo com modelo animal (ratos Wistar), com crises induzidas por pentilenotetrazol (PTZ), que a utilização de um estímulo elétrico não periódico, aplicado ao sistema nervoso central, obteve um efeito

* Arrastamento cerebral – O arrasto pode ser definido como o alinhamento de sistemas a um ritmo externo, em que as interações são unidirecionais (ver ref. 40). É importante ressaltar que, embora alguns autores falem de arrastamento em termos de um estímulo periódico, avaliações sobre a estrutura temporal de estímulos cerebrais têm apontado para a eficiência do arrastamento relacionada a uma estrutura compatível e livre de escala.

anticonvulsivante, elevando o limiar para a geração das crises, confirmando o papel do estímulo no processo de dessincronização de redes epileptogênicas¹⁰.

Em um estudo com modelos animais (ratos Wistar machos), com crises tônico-clônicas generalizadas induzidas por PTZ, Cota et al.³⁷ testaram a hipótese de que a apresentação de um estímulo de baixa frequência, com um intervalo constante entre os pulsos, levaria à sincronização neuronal, enquanto a presença de um pulso não periódico inibiria o acoplamento disfuncional³⁶. Tendo por alvo o complexo amigdalóide, através de três tipos de estímulos – constante, pseudoaleatório e não periódico, além de um grupo de controle, com quatro pulsos por segundo –, os autores demonstraram um efeito anticonvulsivante da estimulação não periódica aleatória (de baixa frequência), enquanto a estimulação elétrica periódica apresentou um efeito pró-convulsivante, reduzindo o limiar de geração da crise³⁶.

Em uma tentativa de identificar as consequências diretas da ENP na sincronização de redes neurais, Rodrigues et al. em 2019*, avaliaram o registro de potenciais de campo locais no córtex, no hipocampo e no tálamo de ratos submetidos a crises agudas induzidas por PTZ, com e sem tratamento por ENP. O estudo revelou que os animais estimulados apresentaram uma redução dos níveis de coincidência ictal¹¹. De acordo com Cota, De Oliveira, Damázio, Moraes¹¹, os estudos mostram que o ENP modula a sincronia dos circuitos, promovendo sua manutenção na linha de base, diante de perturbações do sistema que poderiam gerar as crises. O papel do estímulo na sincronização neuronal parece se relacionar muito mais com a forma da distribuição dos intervalos entre os pulsos, que ocorre em lei de potência, do que com a frequência¹¹. Esses trabalhos apontam para o potencial da estimulação não periódica em estudos translacionais no tratamento de epilepsia refratária.

Tendo em vista o potencial do uso de estimulação não periódica para o tratamento de epilepsias, seguindo o protocolo de criação proposto por De Oliveira, Maciel, Moraes, Cota¹⁰, com uma distribuição do intervalo entre os pulsos em lei de potência¹¹, o estímulo acústico não periódico (EANP), sob processo de patente em pendência nº BR 10 2019 009701 9, foi desenvolvido por componentes do Laboratório de Neurodinâmica do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, pertencente ao Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, e aplicado a pacientes com epilepsia refratária a medicamentos. Os

* Rodrigues SMAF, Oliveira JC, Maciel RM, Réboli LA, Cota VR. Non-periodic stimulation decreases ictal coincidence between neural substrates in pentylenetetrazole animal models. *Epilepsy Behav. Spec. Ed. NEWroscience Int. Symp.* 2019(11).

resultados clínicos do trabalho com EANP estão em fase de publicação (Lucena et al. Comunicação pessoal)*.

2.7 CÉREBRO E REDES COMPLEXAS

O sistema complexo cerebral é constituído por um grande número de componentes que interagem no espaço e no tempo, formando diferentes configurações que suportam, em nível celular e funcional, processos cognitivos⁴². Esse sistema dinâmico é aberto e apresenta uma série de propriedades – adaptabilidade, auto-organização, hierarquia e não linearidade – que possibilitam o desenvolvimento de propriedades emergentes, fundamentais para a existência humana^{43,44}.

O cérebro, como sistema complexo, tem sido caracterizado, sob a perspectiva estrutural e funcional, através da abordagem de grafos ou redes complexas. Uma rede é uma representação de um sistema complexo através de seus elementos (nós, vértices) e suas interações (arestas)⁴⁵. A partir desse modelo, é possível avaliar, quantitativa e qualitativamente, as propriedades cerebrais a partir dos índices extraídos, grafo, que, em conjunto, formam sua topologia, isto é, o modo como seus elementos se organizam e sua dinâmica, flutuação no padrão de interação entre os elementos do sistema no tempo⁴⁶. A partir daí, o cérebro pode ser representado sob as perspectivas estática e dinâmica, sendo a última comumente realizada a partir da abordagem de grafos variantes no tempo (GVT).

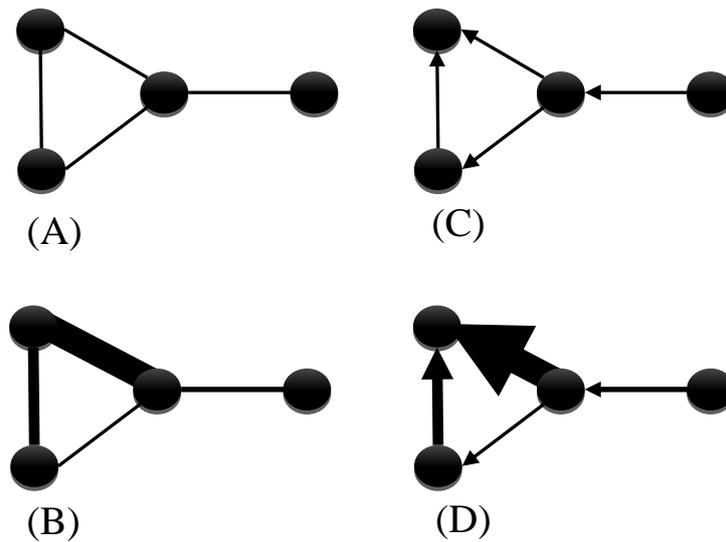
A descrição qualitativa das redes diz respeito à configuração de seus vértices e arestas. Uma rede pode ser:

- Simples, binária: quando as arestas não apresentam pesos⁴⁷.
- Ponderada: quando as arestas da rede apresentam peso⁴⁷, cujo significado dependerá do que o grafo modela, podendo ser o indicativo de força, intensidade ou importância da conexão^{48,49}. Para este trabalho, o peso das arestas foi um representativo do tempo em que dois nós estiveram conectados, ao se considerar todo o tempo de registro.
- Direcionada: quando é possível localizar a direção da conexão, sem que isso implique, necessariamente, causalidade⁴⁷.

*Lucena MM, De Oliveira MI, Albuquerque GJ, Santana M, Andrade KM, Santos W, et al. Acoustic Non-periodical Stimulation (ANPS) decrease acute EEG discharges in patients with refractory epilepsy. 2020. Em processo de publicação.

- Não direcionada: rede em que não é apresentada a direção das conexões⁴⁸.

Figura 2 – Tipos de rede. (A) rede simples ou binária não direcionada; (B) rede ponderada não direcionada; (C) rede simples direcionada; (D) rede ponderada direcionada.

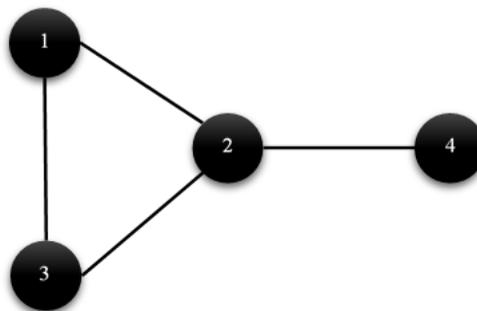


Fonte: Autoria própria

Os índices básicos da rede que permitem sua caracterização e abordagem quantitativa são:

- Grau do nó: quantidade de arestas que incidem sobre ele^{46,49}. Em grafos ponderados, o grau do nó pode ser determinado a partir dos pesos de suas arestas⁴⁸.

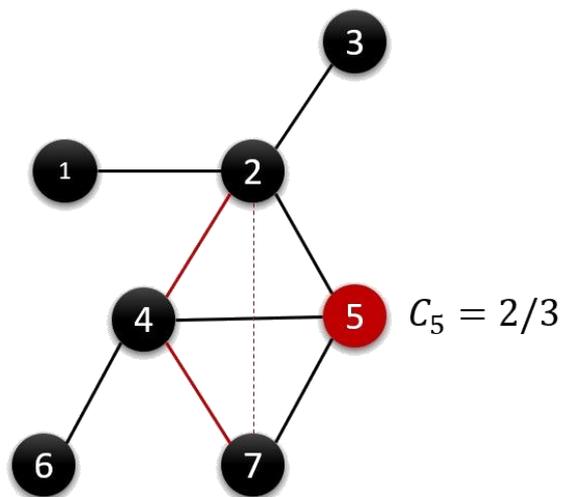
Figura 3 – Grau do nó. Exemplo: Grau do nó 2: $k_2 = 3$.



Fonte: Autoria própria

- Coeficiente de aglomeração: esse índice corresponde à probabilidade de que os nós vizinhos a um determinado nó apresentem uma conexão entre si⁵⁰. Um coeficiente de aglomeração alto é um indicativo da eficiência local, uma medida de segregação da rede, e de robustez⁴⁶, uma vez que, após a remoção de um nó que faça parte do *cluster*, ainda é possível a transferência de informação.

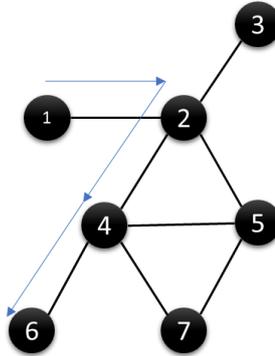
Figura 4 – Coeficiente de aglomeração. O coeficiente de aglomeração do nó 5 é igual ao número de conexões de seus vizinhos (nós 2, 4 e 7), um total de 2 conexões, dividido pelo número total de conexões possíveis que os vizinhos poderiam ter entre si (total de 3 conexões).



Fonte: Autoria própria

- Caminho mínimo: indica quantas arestas precisam ser percorridas para ir de um nó a outro dentro da rede⁴⁹. Consiste em uma medida de eficiência global da rede, demonstrando a rapidez na transferência de informação dentro dela, sendo um indicativo de sua integração⁵⁰.

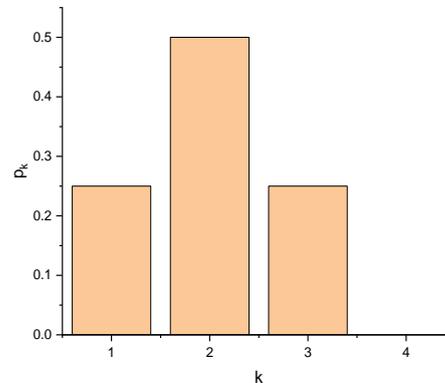
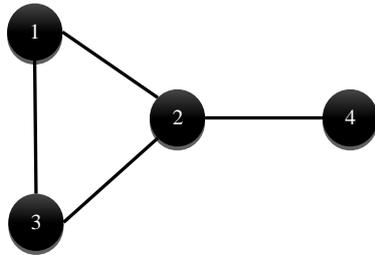
Figura 5 – Caminho mínimo. Na figura, é possível observar que, de todos os caminhos que levam do nó 1 ao 6, o caminho mínimo entre esses nós é o indicado pela seta.



Fonte: Autoria própria

- Distribuição de graus (K): fornece a probabilidade de que, ao se escolher aleatoriamente um nó na rede, ele tenha um grau k ^{48,50}.

Figura 6 – Distribuição de graus. Onde $P(k)$, corresponde à probabilidade de encontrar um nó com grau k na rede.

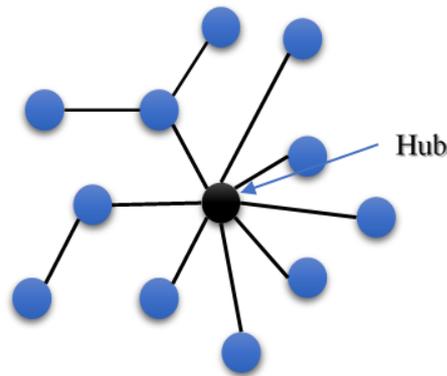


Fonte: Autoria própria

Os índices referenciados acima são essenciais para a definição da topologia da rede, que será descrita mais adiante, neste capítulo. Diversos índices ainda podem ser citados, e a escolha da medida que será utilizada depende do objetivo do estudo. Assim, tomando como base redes cerebrais, e que elas, estrutural e funcionalmente, apresentam quatro características básicas – *hubs*, modularidade, *rich club* e topologia de mundo pequeno –, os três primeiros serão descritos a seguir.

- *Hubs* – Um nó pode ser considerado *hub*, na rede, quando apresenta alto grau de conectividade, ou alta centralidade, sendo essa medida um indicador da relevância do nó para a rede^{46,50}. Em redes direcionadas, os *hubs* são computados a partir das conexões de entrada e saída, e representam regiões de concentração e difusão da informação⁵¹.

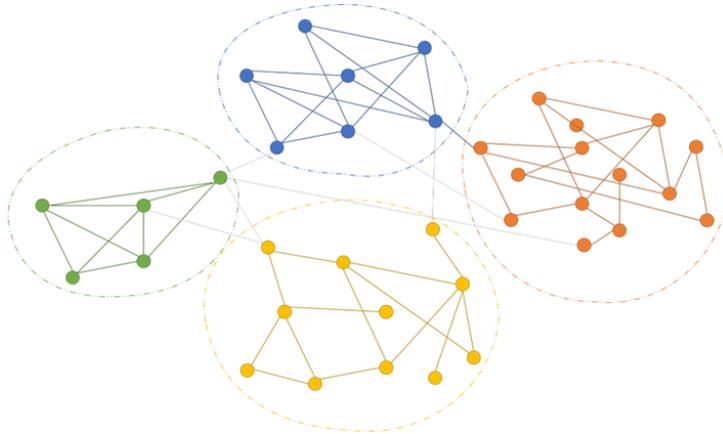
Figura 7 – Hub. A figura ilustra um nó *hub*.



Fonte: Autoria própria

- Modularidade – Módulos podem ser descritos como subgrafos dentro da rede^{45,46,50}, em que os nós pertencentes ao mesmo módulo apresentam maior conectividade entre si do que entre os outros nós na rede⁵⁰. Dois tipos de *hub* são essenciais para a transferência de informação dentro dos módulos e entre os módulos, os *hubs* provinciais e conectores, respectivamente⁴⁶. A modularidade, quando observada sob o ponto de vista estrutural, pode favorecer a conservação do custo de fiação⁴⁵. Sob a perspectiva funcional, a presença de modularidade tem sido apontada como essencial para a eficiência no processamento da rede^{50,53} e pode se relacionar com a especialização funcional, no que se refere às redes cerebrais⁴⁵.

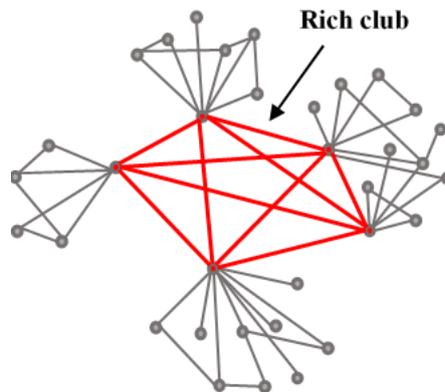
Figura 8 – Modularidade. Cada rede de uma cor representa um módulo, e a ligação entre eles é feita através de hubs conectores.



Fonte: Autoria própria

- *Rich club*: consiste na presença de um grupo de *hubs* altamente interconectado entre si⁵¹.

Figura 9 – Fenômeno do Rich club.



Fonte: Autoria própria

Para maior detalhamento dos índices, bem como sua descrição matemática, ver referência 52.

No que diz respeito à topologia, a partir dos índices de coeficiente de aglomeração, caminho mínimo e distribuição de graus, redes podem ser descritas como: regular, aleatória, de mundo pequeno e livre de escala.

Redes regulares são aquelas em que todos os nós apresentam a mesma quantidade de conexões, e que possuem um alto coeficiente de aglomeração e longas distâncias entre os nós⁴⁹.

Em redes aleatórias, os nós apresentam igual probabilidade de conexão⁴⁶. Essas redes podem ser descritas pela presença de baixo coeficiente de aglomeração e alto caminho mínimo⁴⁹.

As redes de mundo pequeno podem ser descritas pelo alto coeficiente de aglomeração e baixo caminho mínimo^{53,54}. Tais redes são típicas do sistema complexo cerebral, em seu estado saudável, e têm se mostrado como o modelo mais eficiente no processamento e transferência de informações, com baixo custo de energia, através de mecanismos de segregação e integração da rede^{50,53}. Alterações nessa topologia têm sido associadas a patologias, como a doença de Alzheimer⁵⁵ e a epilepsia⁵⁶.

Redes livres de escala podem ser descritas como grafos em que a probabilidade de se escolher um nó aleatoriamente e ele ter o grau k é inversamente proporcional a k^{55} , ou seja, são redes em que a distribuição de graus é representada através de uma lei de potência⁵⁷. Tais redes apresentam *hubs* e conexão preferencial durante a adição de novos nós⁵⁷.

Como foi dito anteriormente, o cérebro, sob a perspectiva de redes complexas, pode ser abordado sob o ponto de vista estrutural e funcional⁴⁶.

Redes cerebrais estruturais ou anatômicas estão fundamentadas na conectividade estrutural, representando o padrão de conexões anatômicas, a nível neuronal, por meio de sinapses ou considerando o cérebro em ampla escala, a partir de projeções axonais⁴⁵. Nessas redes, os neurônios ou mesmo as regiões do cérebro corresponderiam aos nós, enquanto as arestas expressariam as conexões físicas, sinapses e projeções dos axônios⁴⁶.

Redes funcionais cerebrais estão embasadas em estimativas de interdependência estatística entre séries temporais de neurônios ou regiões do cérebro⁴⁵, podendo ser expressas em termos de conexões funcionais ou efetivas. A conectividade funcional pode ser referenciada como uma associação estatística simétrica entre os elementos do sistema cerebral⁴⁶, ou, ainda, uma medida da sincronia, no espaço e no tempo, entre regiões cerebrais distintas⁵¹, enquanto a conectividade efetiva considera as relações causais entre sistemas neurais⁴⁷.

2.8 GERAÇÃO DE REDES CEREBRAIS

O processo de geração de redes cerebrais se fundamenta na determinação do significado dos nós e das arestas e tem como base fisiológica a aquisição de sinais cerebrais que podem ser provenientes de exames de imagem e de registros das atividades elétrica e magnética do cérebro⁴⁵. Atualmente, as principais fontes de dados para a abordagem de redes funcionais cerebrais têm sido: a imagem de ressonância magnética funcional (IRMf), eletroencefalografia (EEG) e magnetoencefalografia (MEG)^{42,58}.

A escolha do instrumento que será utilizado depende do que se pretende avaliar. O EEG apresenta baixa resolução espacial e alta resolução temporal, além de ser amplamente utilizado na clínica, enquanto a MEG possui alta resolução temporal e espacial, embora não seja tão comumente utilizada⁴⁹. Em virtude da resolução temporal, as duas técnicas são indicadas para avaliações de redes dinâmicas. A IRMf, por sua vez, apresenta baixa resolução temporal e uma alta resolução espacial⁴⁹, sendo computada a partir da taxa de oxigenação sanguínea e indicada comumente para avaliações espaciais^{42,46}.

O processo de geração das redes depende, também, do método de associação de séries temporais⁴⁹. A escolha do método de associação também depende do objetivo do estudo. Métodos de associação estatística, como correlação, coerência ou informação mútua, têm sido adotados para avaliações de redes não direcionadas⁴⁶. A causalidade de Granger é comumente adotada para avaliação das relações causais entre sinais que estão interagindo, sendo utilizada na construção de grafos direcionados^{46,49}. O método de sincronização por *motifs* fornece o grau e a direção da sincronização e leva em consideração o atraso das conexões e a evolução temporal do padrão de conexões cerebrais, sendo uma abordagem útil para retratar grafos variantes no tempo e a dinâmica cerebral⁵¹, enquanto outros métodos de associação citados anteriormente são comumente utilizados em representações estáticas da rede cerebral.

2.9 REDES CEREBRAIS E EPILEPSIA

Ao se considerarem as respostas a interações ambientais, as alterações geradas no padrão de conexões cerebrais e a flutuação na arquitetura dessas conexões, no que diz respeito à evolução temporal do sistema, o cérebro pode ser considerado um sistema complexo dinâmico⁴⁴, caracterizado pela presença de metaestabilidade. Sob essa perspectiva, o cérebro epiléptico se revela como um sistema metaestável, que oscila entre os estados interictal e ictal^{1,2}. A transição de um estado para outro dependerá da estabilidade e da resiliência do sistema, diante de perturbações internas ou externas a ele^{2,59}. Nesse contexto, a presença de descargas epileptiformes interictais se configura como perturbação ao sistema⁶⁰, e mecanismos moleculares e celulares bem como estímulos ambientais que mediem alterações na excitabilidade e sincronia cerebral levariam ao processo de transição entre estados.

Apesar de avanços recentes da neurociência na compreensão dos mecanismos subjacentes à geração das crises epiléticas, a etiologia da doença e o desenvolvimento de fármacos mais eficazes, além de questões como o papel das descargas interictais na geração do estado ictal, a propagação das crises, as rotas de sincronização envolvidas ou mesmo o desenvolvimento de terapias alternativas e seus efeitos na sincronização neuronal permanecem em aberto. A teoria de redes complexas, sobretudo, em uma perspectiva dinâmica, tem se mostrado útil em fornecer compreensão para responder a algumas das questões citadas anteriormente e tem se revelado indispensável para o avanço do conhecimento sobre a doença.

É amplamente conhecido que o cérebro humano e de outros animais apresenta características de redes de mundo pequeno e de redes livres de escala^{50,60}. A presença de um alto coeficiente de aglomeração e caminho mínimo médio curto possibilita um balanço entre a segregação local e a integração global do processamento de informação^{46,60}, enquanto a presença de *hubs* tem se mostrado essencial para a transferência eficiente de informação, reduzindo os custos de fiação^{60,61}. A modularidade, por sua vez, tem sido associada à eficiência no processamento local, bem como a especialização funcional^{45,62}. Enquanto o fenômeno de *rich club* tem sido relacionado ao processo de integração funcional da transferência de informação dentro da rede, conduzindo o fluxo de informação de regiões periféricas e sustentando a eficiência na comunicação⁶³. Todas essas características fundamentam o surgimento de estados globais coerentes^{53,55,64}, e sua alteração resultaria em distúrbios nas funções cognitivas.

Avaliações prévias da epilepsia, sob a perspectiva da teoria de redes complexas, têm demonstrado alterações em índices característicos da topologia cerebral saudável. Mudanças no padrão de conectividade funcional⁶⁵, na eficiência da rede⁶⁶, na modularidade⁶⁷, em *rich club* e, principalmente, nos *hubs* e na topologia da rede tem sido visualizadas⁶⁰. Além disso, embora, atualmente, a epilepsia seja classificada como focal e generalizada, a partir da origem das crises epiléticas, a análise de grafos aponta para alterações em nível de rede, o que fundamentaria uma provável reclassificação futura²⁴.

Um estudo de Misra et al.⁶⁸, com EEG intracraniano e coerência, em pacientes com epilepsia de lobo temporal mesial (ELTm) em avaliação pré-cirúrgica, visando a observar alterações no padrão de sincronia, no descrito foco epilético e em regiões subjacentes, assim como os mecanismos básicos da propagação das crises, revelou que, quando apresentam origem neocortical, uma elevação na sincronia cerebral precede a disseminação das crises de lobo temporal⁶⁸. Bettus et al.⁶⁵ mostraram um decréscimo da conectividade funcional durante o estado de repouso, em pacientes com ELTm, bilateralmente, sendo essa redução mais significativa no hemisfério ipsilateral à epileptogênese, enquanto a conectividade funcional basal mostrou elevação no hemisfério contralateral⁶⁵. Estudos prévios têm apontado para assimetria no padrão de conectividade funcional em epilepsias consideradas focais⁶⁹ e durante crises generalizadas⁷⁰.

Para Stam⁶⁰, redes cerebrais de pacientes epiléticos podem ser visualizadas a partir de duas alterações básicas em sua organização: a relação entre nós de alto grau na rede e o processo patogênico, e mudanças na conectividade global para local, levando a uma arquitetura mais regular⁶⁰. De fato, avaliações anteriores apontam para o papel dos *hubs* na geração e propagação das crises ou revelam sua redução após a remoção cirúrgica de regiões de alta conectividade^{49,50,71}, bem como uma reorganização desses nós, considerando a denominada rede de modo padrão, durante o desenvolvimento de ELTm⁷². Enquanto pacientes com ELT, a partir de um estudo com IRMf, que estão livres de crise, também mostram uma reorganização da rede de modo padrão, quando comparados a pacientes que apresentam crises epiléticas⁷³. Embora a topologia da rede tenha sido conservada para ambos, o grau dos nós considerados como *hubs* apresentou uma redução significativa em pacientes sem crise⁵⁶.

No que diz respeito à topologia, trabalhos anteriores de redes em pacientes com epilepsia têm apontado para mudanças locais e globais no padrão de conectividade, revelando uma arquitetura mais regular durante as fases de crises epiléticas^{68,74,75}, demonstrando

transição para arquiteturas mais regulares, em estágios iniciais⁷⁴, topologia mais próxima a de mundo pequeno durante a evolução da crise⁷⁴, e uma topologia mais aleatória na fase final das crises epiléticas^{74,75}.

As alterações nos parâmetros de rede citados anteriormente levam à perda de uma configuração que sustenta os princípios de segregação e integração, cujo balanço é fundamental para a operação de redes subjacentes à função cognitiva^{50,76,77}.

2.10 GRAFOS VARIANTES NO TEMPO

O cérebro, como um sistema complexo dinâmico, tem sido bem representado a partir da abordagem de grafos variantes no tempo^{78,79}. Para um grafo estático, sua representação pode ser $G = (V, E)$, onde G corresponde a um conjunto de nós V , enquanto E representa as arestas, $E: V \times V \rightarrow \mathbb{R}^{80}$. Grafos dinâmicos podem ser descritos como uma sequência de grafos considerando um determinado tempo, sendo representados da seguinte forma $G = \{G_t\} t=1, 2, \dots, T$, onde G_t corresponde à configuração de arestas conectadas ao nó, no tempo t , e T corresponde ao tempo total de registro do sistema^{51,81}. A avaliação do sistema cerebral sob a perspectiva de GVT permite a visualização de alterações temporais em sua organização⁷⁹, e é essencial para uma representação mais próxima do sistema real.

Para este trabalho, índices de redes dinâmicas foram adotados na caracterização cerebral, sendo eles o grau de conectividade temporal e o tempo de sincronização completa (TSC). O grau de conectividade temporal representa todas as conexões que incidem sobre um nó, considerando sua evolução temporal para o tempo observado, enquanto o TSC consiste no tempo necessário para que todas as conexões possíveis dentro da rede ocorram, a partir de um tempo de registro.

3 METODOLOGIA

O presente trabalho resulta de uma parceria entre o Laboratório de Neurodinâmica, pertencente ao departamento de Fisiologia e Farmacologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), e o Laboratório de Biosistemas, alocado no Instituto de Física da Universidade Federal da Bahia (UFBA). Consistiu em um estudo piloto translacional, que objetivou avaliar o efeito da estimulação acústica não periódica em pacientes com epilepsia refratária. Tal efeito foi estudado, sob a perspectiva clínica (Lucena et al. Comunicação pessoal)*, e através de redes de sincronização cerebral neste trabalho.

3.1 OBTENÇÃO DE DADOS

3.1.1 Participantes

Foram recrutados 14 participantes com epilepsia farmacorresistente (durante o estado interictal), de ambos os sexos (6 mulheres, 8 homens; 35 ± 5 anos), no Setor de Neurologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE), no período correspondente aos anos 2018 e 2019. Os participantes forneceram seu consentimento por escrito. Os critérios de inclusão adotados para a pesquisa consistiram em: presença de diagnóstico clínico de epilepsia, idade superior a 18 anos e presença de refratariedade ao tratamento farmacológico, conforme o estabelecido pela Liga Internacional Contra Epilepsia (ILAE, na sigla em inglês)³⁴. Foram excluídos da pesquisa pacientes que apresentavam outras doenças cerebrais associadas, ou que possuíam algum nível de comprometimento auditivo. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Centro de Ciências da Saúde da UFPE (CAAE nº 79271517.2.0000.5208).

* Lucena MM, de Oliveira MI, Albuquerque GJ, Santana M, Andrade KM, Santos W, et al. Acoustic Non-periodical Stimulation (ANPS) decrease acute EEG discharges in patients with refractory epilepsy. 2020. Em processo de publicação.

3.2 AQUISIÇÃO DE DADOS EEG

Foram realizados cinco registros de eletroencefalografia (EEG) por paciente. Os dois primeiros registros foram coletados no dia da primeira avaliação, um antes e um após o tratamento com estimulação acústica não periódica, EANP (T0 e T1, Figura 1). Os pacientes foram, então, submetidos a três dias consecutivos de tratamento, totalizando quatro dias. No quinto dia foram realizadas duas coletas de EEG, uma antes e outra após o tratamento (T2 e T3, Figura 1). A última avaliação de EEG foi realizada no 30º dia a partir do início do tratamento (T4, Figura 1). Os dados de EEG foram coletados através de 21 canais (Fp1, Fp2, F3, F4, Fz, C3, C4, Cz, P3, P4, Pz, O1, O2, F7, F8, T3, T4, T5, T6, Oz e Fpz), com referência auricular, distribuídos de acordo com o sistema 10-20, a uma taxa amostral de 500hz, com impedância menor do que $5k\Omega$, com filtragem passa alta em 1 hz, passa baixa em 100hz, e bloqueia banda em 50hz. Tendo em vista a desistência de alguns participantes no processo de coleta, ao final do estudo, cada uma das avaliações de EEG diferiu, no que diz respeito ao tamanho da amostra: T0 (n = 14 pacientes), T1 (n = 11 pacientes), T2 (n = 11 pacientes), T3 (n = 10 pacientes) e T4 (n = 6 pacientes).

3.3 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Foi solicitado de cada paciente que ficasse em privação de sono, com apenas 4h de sono na noite anterior ao exame. O protocolo de aquisição do EEG teve por objetivo elevar a sensibilização do paciente, e é descrito a seguir, em conjunto com a sua variação.

1. Olhos abertos – 1 minuto.
2. Olhos fechados – 1 minuto.
3. Hiperventilação – 3 minutos.
4. Estimulação fótica – 3 minutos, com a fonte posicionada 30cm à frente do paciente. E estímulos luminosos com frequências de 3, 5, 7, 9, 11, 15 e 20hz, com períodos de duração 10 segundos cada – dos quais 5 segundos de olhos abertos e 5 segundos de olhos fechados – com intervalos de 7 segundos entre cada estímulo.
5. Sono – 20 minutos.

6. Estímulo sonoro: estimulação acústica não periódica – 30 minutos.

3.4 ESTIMULAÇÃO AUDITIVA

Foi utilizada a estimulação acústica não periódica (Acoustic Non-periodic Stimulation, ANPS), em processo de patente (BR 10 201900971 9) desenvolvido por integrantes do Laboratório de Neurodinâmica da UFPE. O estímulo consiste em uma trilha sonora formada a partir de uma frequência basal, intercalada por intervalos aleatórios curtos em outra frequência. Especificamente, foi elaborada uma trilha sonora com uma frequência de 400Hz, interrompida (intercalada) aleatoriamente por eventos rápidos (4 pulsos por segundo), de 420Hz, com duração de 50 microssegundos cada. A cada segundo, o intervalo entre os pulsos foi aleatório, com a manutenção da proporção de 4 pulsos por segundo, com o som aplicado em uma orelha, sendo dessincronizado com relação à outra, com uma percepção de 20hz, que se estima que promova o arrastamento das oscilações cerebrais. O estímulo foi criado utilizando-se o programa Audacity 2.0 e o processamento ocorreu através do Matlab® 2015.

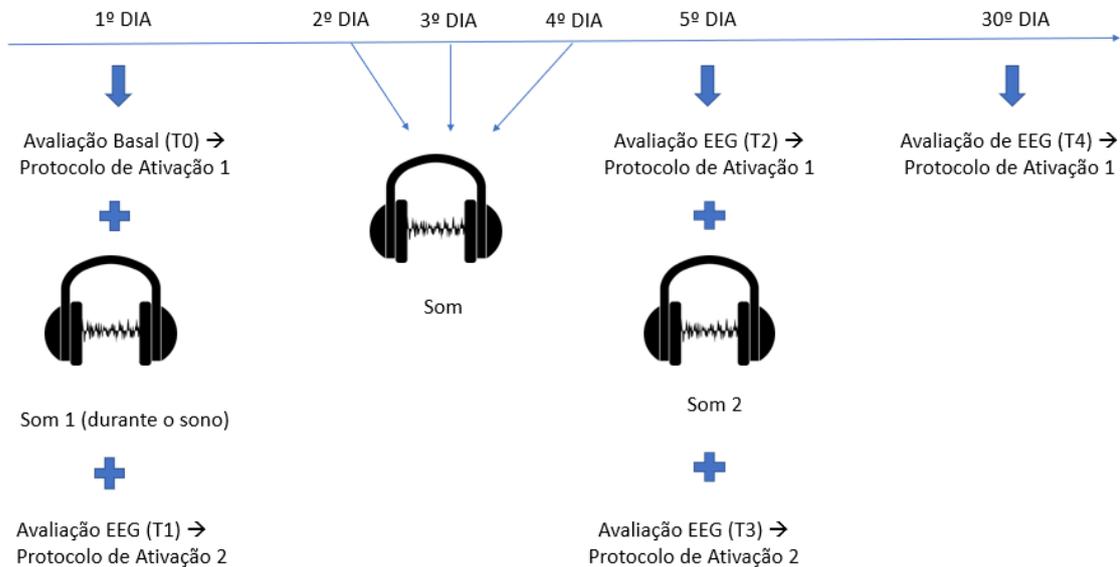
Vale ressaltar que esse protocolo foi a base. Ocorreram alterações a depender do dia do tratamento, que são mostradas na Tabela a seguir.

Tabela 1 – Protocolos de ativação do EANP.

Protocolo de ativação 1	Protocolo de ativação 2
Olhos abertos – 1 minuto	Sono – 20 minutos
Olhos fechados – 1 minuto	Olhos abertos – 1 minuto
Fotoestimulação – 3 minutos	Olhos fechados – 1 minuto
Hiperventilação – 3 minutos	Fotoestimulação – 3 minutos
Sono (20 minutos)	Hiperventilação – 3 minutos.
Som – EANP durante o sono (30 minutos).	

Fonte: Autoria própria

Figura 10 – Protocolo de aquisição dos dados. Onde: T0 representa a primeira aquisição de EEG do paciente (avaliação basal); T1 corresponde à aquisição após ouvir a batida binaural no primeiro dia; T2 apresenta a avaliação com EEG após 4 dias ouvindo a batida binaural; T3 é a aquisição após ouvir batida binaural no quinto dia; T4 é a avaliação no 30º dia (após um mês de tratamento com a batida binaural).



Fonte: Autoria própria

3.5 TRATAMENTO DE DADOS

O processamento dos sinais de EEG foi realizado utilizando-se o *software* Matlab®, 2018, e EEGLAB, bem como *scripts* e programas desenvolvidos por integrantes do Núcleo de Inovação Tecnológica em Reabilitação (NITRE) da Universidade Federal da Bahia.

A partir do protocolo, foi selecionado o período da série temporal de eletrodos a ser utilizado no processo de construção das redes. Tendo em vista a redução máxima de captura de artefatos, o período escolhido foi o registro de olhos fechados. Em seguida, os dados foram filtrados, através de um filtro passa baixa de 50 Hz, com um limiar de amplitude entre 200 μV e -200 μV , durante a filtragem automática, com posterior filtragem manual, quando necessário. Em seguida, os dados foram cortados, a fim de se obter uniformidade no processo de geração das redes, tendo como base o limiar de menor tempo de registro. Assim, ao final do processo, cada paciente possuía 4 registros de 10 segundos cada, correspondentes aos estágios antes e após a intervenção, tratamento com o estímulo acústico não periódico,

considerando as avaliações de eletroencefalograma em T0, T1, T2 e T3 (n = 8 pacientes). Houve comparação posterior apenas entre a linha de base e o registro após o primeiro estímulo (n = 11 pacientes).

3.6 GERAÇÃO DAS REDES

Com os dados prontos para a geração das redes, foi realizado o processo de aleatorização delas a fim de determinar o limiar de sincronização utilizado para a formação das arestas, o que permitiu que apenas conexões com significados funcionais fossem computadas. Ao fim desse processo e estabelecimento dos demais parâmetros necessários para a geração de redes (para detalhamento, consultar referência 51), as redes funcionais cerebrais foram geradas.

Parâmetros para a geração das redes:

Tamanho da janela: 50 pontos.

Limiar de sincronização: 0, 70.

Lag Window: 1.

Motif Lag: 1.

Tempo inicial: 0.

Tempo final: 5.000 pontos.

Tempo de atraso na sincronização: 3 a 30.

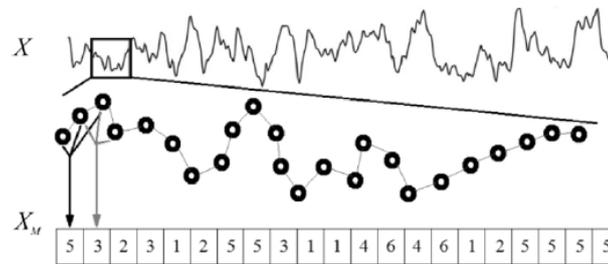
Embora o limiar de sincronização proveniente da aleatorização tenha sido 0,58, com a finalidade de selecionar as arestas com maior tempo de conexão, esse limiar foi elevado para 0,70 no processo de geração das redes. Durante a construção das redes, índices de caracterização como grau ponderado e tempo de sincronização completa (TSC) foram escolhidos. O grau ponderado médio foi utilizado para avaliação da conectividade funcional no nível regional. Para a avaliação da conectividade funcional por regiões cerebrais, os eletrodos foram agrupados em: pré frontal (Fp1, Fp2, Fpz, F7 e F8), frontal (F3, F4, Fz), central (C3, C4 e Cz), temporal (T3, T4, T5 e T6), parietal (P3, P4 e PZ) e occipital (O1, O2 e OZ), conforme o proposto por Ala *et al.* (2018), em uma avaliação dos efeitos do estímulo por batimento binaural na conectividade funcional de indivíduos saudáveis⁸². Para a avaliação do TSC, foi considerado um limiar de 90% de conexões em toda a rede. Ao final de cada

avaliação, foram geradas, em média, 4.920 redes ponderadas e direcionadas para cada indivíduo (visualização do TVG de um paciente antes e após o tratamento com EANP, respectivamente, disponível em: <https://youtu.be/sAmWzmeOpSQ> e https://youtu.be/J_jbPbY9wqM).

3.7 CONSTRUÇÃO DAS REDES DINÂMICAS

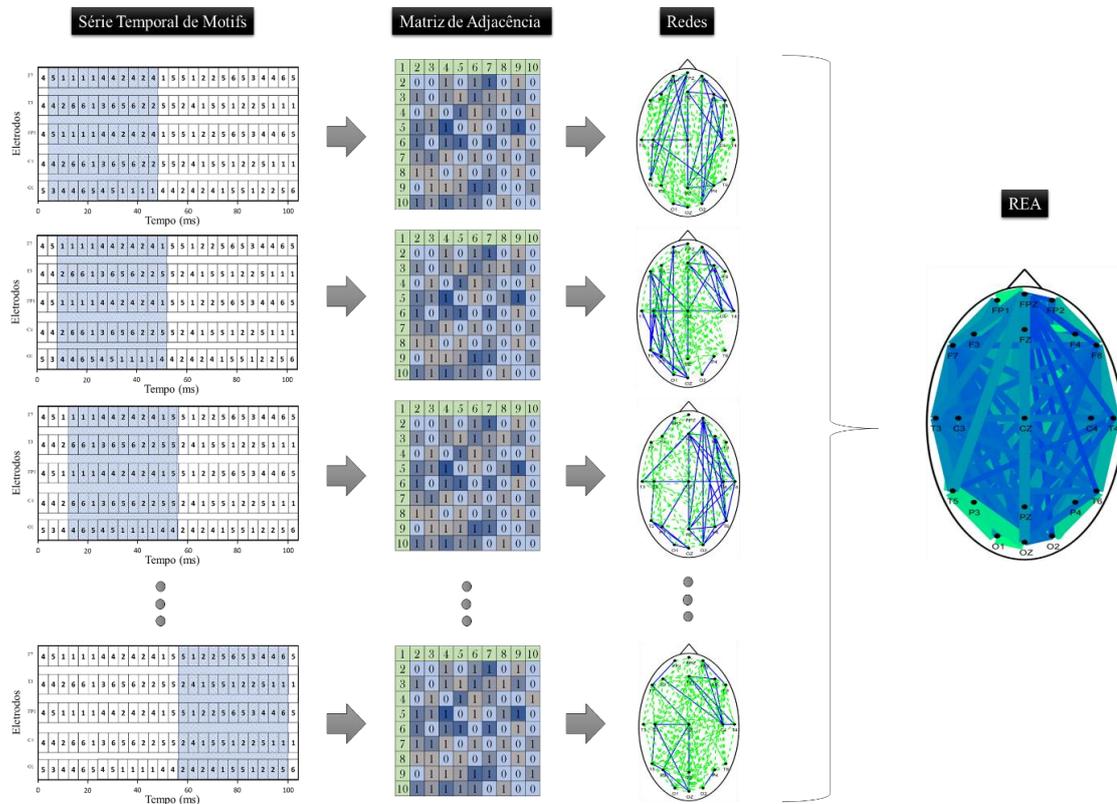
Os registros do eletroencefalograma foram utilizados como séries temporais de base para a geração das redes funcionais cerebrais dinâmicas. No processo de construção das redes, cada eletrodo representou um nó, enquanto as arestas dos grafos foram geradas a partir da conectividade funcional, proveniente da análise de sincronização por *motifs* (micropadrões). De acordo com tal análise, as séries temporais dos eletrodos são convertidas em séries de *motifs*, que são comparadas considerando-se diferentes tempos de atraso de sincronização para cada par de séries temporais (Figura 11). A partir daí, é realizada a contagem dos *motifs* que estão presentes em uma série temporal após terem aparecido em sua série par para aquela comparação, e essa similaridade é comparada com um limiar de sincronização estabelecido através do processo de aleatorização das redes. Todo esse processo, é realizado para uma janela temporal móvel, que se desloca formando uma matriz de adjacência para cada instante de tempo e apresenta a estrutura de conectividade do grafo, em que 1 representa a presença de conexão e 0, sua ausência. A partir de cada matriz, é gerado um grafo correspondente⁴⁷. O conjunto de grafos gerado em todo o tempo de registro é denominado grafos variantes no tempo (Figura 12) e constitui uma ferramenta útil para a avaliação e a representação do sistema complexo cerebral. Após a sua geração, os grafos são avaliados qualitativa e (ou) quantitativamente através de seus índices e topologia. Além da representação por meio do GVT, as redes funcionais cerebrais (RFC) foram representadas, nessa avaliação, através da rede estática agregada (REA), que leva em consideração o peso das arestas em cada grafo gerado e constitui uma medida do tempo de conexão de dois nós, em todo o registro, denotando a importância da conexão para a avaliação realizada.

Figura 11 – Transformação de uma série temporal em uma série de *motifs*.



Fonte: Rosário, Cardoso, Muñoz, Montoya, Miranda⁵¹.

Figura 12 – Construção de redes variantes no tempo. Na figura, é possível notar a presença de uma janela deslizante sobre uma série temporal de *motifs*, proveniente da transformação da série temporal de eletrodos (Figura 11), e a matriz de adjacência correspondente a cada instante de tempo, bem como sua rede correspondente, além da REA, que retrata a importância das conexões no tempo. Na coluna redes, verde significa sincronizações com atraso temporal > 0, e azul, com atraso igual a zero. Na coluna REA, azul representa pesos pequenos e verde pesos altos.



Fonte: Autoria própria

4 RESULTADOS

4.1 FASE AGUDA

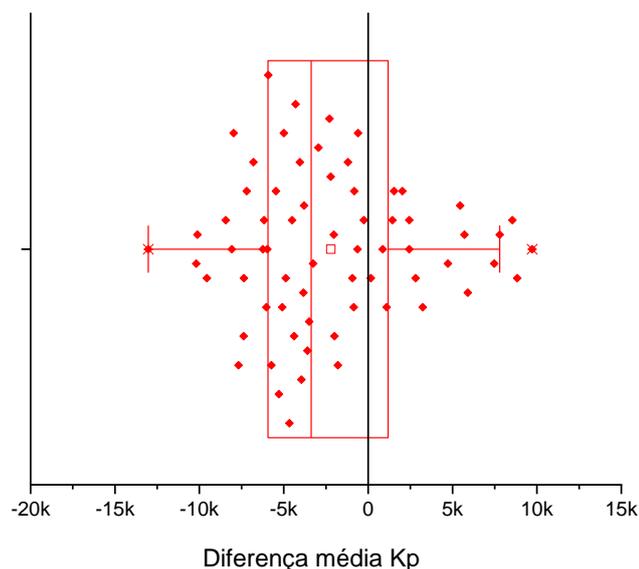
Ao levar em consideração o provável papel do estímulo na sincronização cerebral, tendo em vista sua estrutura temporal, com base em avaliações anteriores com o ENP – que, em modelos animais, apresentou efeito anti convulsivante robusto –, avaliamos, a princípio, o efeito agudo do EANP para cada indivíduo, considerando índices que medem sincronia, diversidade e importância de conexões da rede, como a média do grau ponderado, o tempo de sincronização completa, *hubs* dos nós e a distribuição dos pesos das arestas.

4.1.1 Conectividade Funcional Regional

A análise da conectividade funcional dinâmica foi realizada a partir da média do grau ponderado da rede estática agregada (K_p), computado para diferentes regiões cerebrais (pré-frontal, frontal, central, temporal, parietal e occipital), a partir dos registros de EEG de cada paciente antes e após o tratamento, a fim de se avaliar o efeito agudo da intervenção na conectividade regional ($n = 66$). Na Figura 13, apresentamos a diferença média do grau ponderado para cada região de modo pareado, com cada ponto no gráfico, representando essa diferença (T1-T0).

A avaliação da distribuição dos dados foi realizada a partir do teste Kolmogorov-Smirnov (K-S), que demonstrou a presença de normalidade. A partir daí, foi adotado o teste t pareado, com o propósito de avaliar o efeito agudo do EANP na conectividade para as diferentes regiões cerebrais. O teste revelou que a conectividade funcional das regiões cerebrais foi reduzida nos pacientes após a estimulação ($t(65) = 3,515$; $p < 0,05$). Isso é observado na Figura 13, onde se observa que a diferença média entre o grau ponderado de cada região de modo pareado antes e após do estímulo é, majoritariamente, negativa.

Figura 13 – Diferença média do grau ponderado por regiões do cérebro. A figura mostra uma redução da conectividade funcional após o tratamento com EANP.



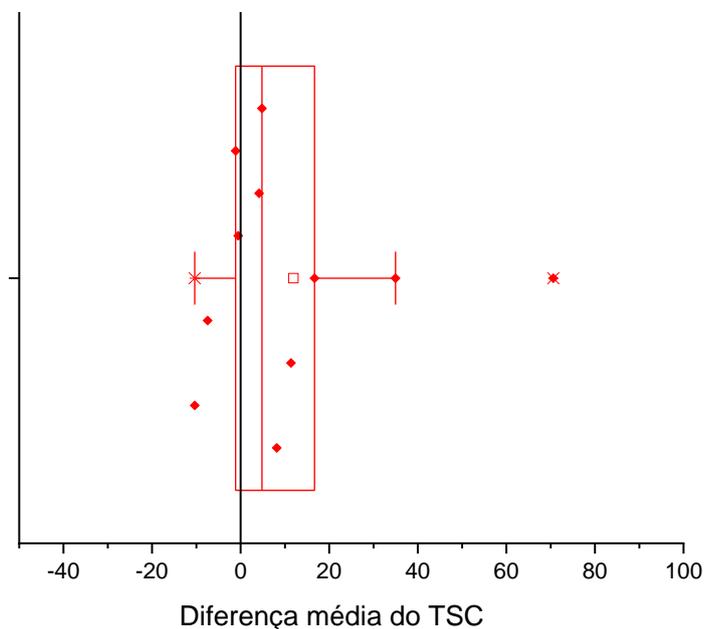
Fonte: Autoria própria.

4.1.2 Tempo de Sincronização Completa (TSC)

A fim de avaliar o tempo necessário para a ocorrência de todas as conexões possíveis dentro da rede, utilizamos o TSC, que foi calculado a partir das redes variantes no tempo de cada indivíduo ($n = 11$).

Os dados referentes ao TSC apresentaram uma distribuição normal, obtida a partir do teste Kolmogorov-Smirnov. Posteriormente, considerando a distribuição dos dados, foi adotado o teste t pareado, com o propósito de comparar o índice antes e depois do tratamento. O teste revelou não haver efeito significativo do tratamento sobre o TSC ($t(10) = -1,714$; $p > 0,05$), considerando a diferença média do índice antes e após o tratamento. Apesar disso, foi possível notar uma tendência à elevação do índice após o tratamento, com apenas quatro pacientes, dos onze avaliados, demonstrando um efeito contrário (Figura 14).

Figura 14 – Diferença média do tempo de sincronização completa. A figura mostra um aumento do índice para a maioria dos pacientes, com a aplicação do EANP.



Fonte: Autoria própria.

4.1.3 Distribuição dos Pesos das Arestas

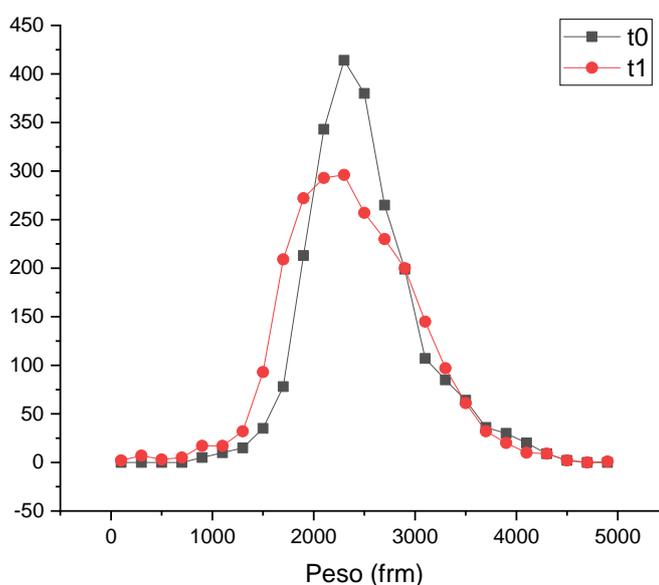
A distribuição dos pesos das arestas fornece indicação da importância das conexões no tempo. As distribuições foram estimadas sobre todos os pesos das arestas de todos os pacientes de cada grupo. Foram encontrados pesos em um intervalo entre 0 e 5.000 frm, determinados a partir do limiar de menor e maior peso registrado no histograma de pesos das arestas, com um tamanho de intervalo das classes igual a 200 frm.

De modo geral, foi possível notar que arestas com pesos mais baixos (900-1.300 frm) possuíam uma frequência menor, quando comparadas às arestas com pesos intermediários (1.900-2.700 frm). As arestas com pesos mais elevados (entre 3.700 e 4.500 frm), por sua vez, apresentaram frequência inferior à encontrada nas arestas com peso intermediário, mas superaram, em frequência, as arestas com pesos entre 900 e 1.300 frm.

No que diz respeito ao comportamento das conexões antes e depois do tratamento, foi verificada uma redução das arestas que apresentavam peso intermediário, entre 1.900 e 2.700 frm, após a estimulação com EANP, se comparadas ao estado basal. Além disso, notamos

uma manutenção, na rede, das arestas que possuíam pesos menores, bem como daquelas que possuíam pesos mais elevados, conforme pode ser visualizado na Figura 15.

Figura 15 – Distribuição dos pesos das arestas.



Fonte: Autoria própria.

4.1.4 Hubs

Com a finalidade de avaliar a hipótese de aumento de ocorrência de nós *hubs* da rede após o tratamento, escolhemos a medida de grau das arestas síncronas. Para cada *frame* do TVG, um nó foi definido como *hub* quando seu grau superou a média mais dois desvios padrões dos demais nós da rede. Dessa forma, estimamos a quantidade de vezes que cada nó foi *hub* ao longo do tempo. A partir desses dados, construímos um gráfico da frequência de ocorrência como *hub* ao longo do tempo para todos os eletrodos (Figura 16). Essa distribuição representa a importância de cada eletrodo no padrão de sincronização funcional ao longo do tempo. Para testar a hipótese do aumento de *hubs* após o tratamento, avaliamos a existência de eletrodos que obtiveram mais importância que os demais ao longo do tempo. Para isso, separamos aqueles eletrodos que exerceram a função de *hub* por mais tempo que os demais, chamando-os de *hubs* mais representativos. Esses eletrodos foram escolhidos por apresentarem uma frequência acima da média mais um desvio padrão do grupo.

Posteriormente, esses *hubs* mais representativos foram avaliados em termos de quantidade, intensidade de ocorrência (distância em relação à média) e localização.

Os dados referentes à quantidade de *hubs* e sua intensidade apresentaram distribuição normal, avaliada a partir do teste Kolmogorov-Smirnov ($p > 0.05$). Nós, então, adotamos o teste t pareado, a fim de verificar se existia efeito significativo do tratamento sobre as medidas. Os testes mostraram que a quantidade e a intensidade de *hubs* síncronos mais representativos não diferiram significativamente entre o estado basal e após o primeiro estímulo, em quantidade, ($t(10) = -0,589$; $p > 0,05$), e intensidade ($t(10) = -0,602$; $p > 0,05$).

No que diz respeito à localização, foi possível notar uma variabilidade entre os dois estados, com poucos nós *hubs* sendo mantidos entre eles, conforme é demonstrado na Tabela 2.

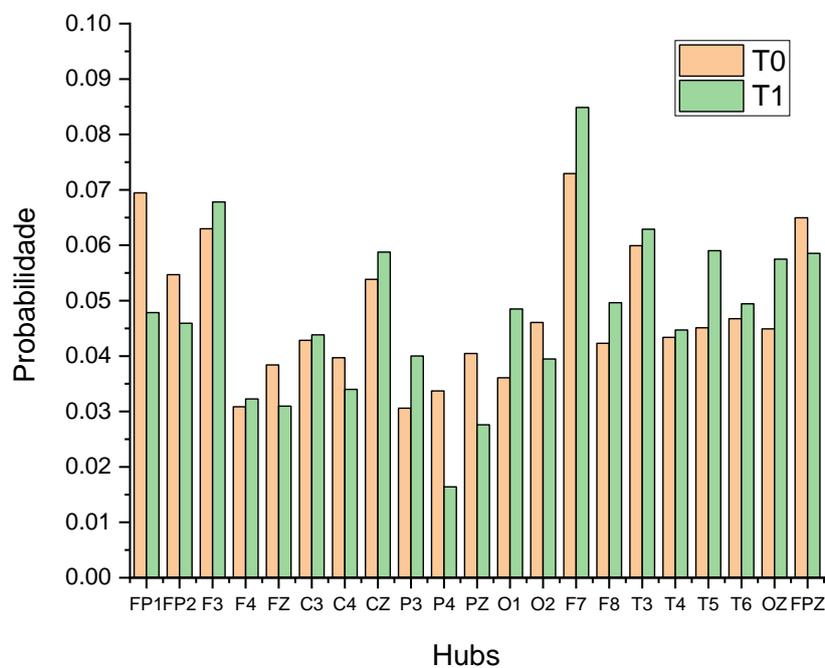
Tabela 2 – *Hubs* síncronos estado basal e primeiro estímulo. Nota-se a diversidade de *hubs* de antes e depois do estímulo, com alguns *hubs* das regiões frontal, central e temporal presentes nos dois estados (em azul, na Tabela).

Sujeitos	T0	T1
S1	FP2; F3; CZ; F7; F8; T6; T8	F3; F7; F8; T3; T4; T6
S2	FP2; F4; C4; P4; PZ; O2; T6; OZ	FP1; FP2; F3; C3; C4; O1; F7; T3; T5; FPZ
S3	FP1; F3; C3; CZ; P3; F7; T3; FPZ	FP1; F3; CZ; O1; F7; T3; T5; OZ; FPZ
S4	FP2; F4; FZ; C4; CZ; P4; F8; T3; T6; FPZ	FP1; FP2; F4; F7; F8; T5; T6; FPZ
S5	FP1; F3; FZ; F7; F8; T3; OZ; FPZ	FP1; F3; CZ; P3; O1; F7; T3; T5; OZ
S6	F3; C3; C4; P4; PZ; O1; O2; F7; T3; T4; T6; OZ	F3; C3; CZ; P3; O1; F7; T5; OZ; FPZ
S7	FP1; FP2; FZ; C3; C4; CZ; O2; F7; T4; T6; OZ	F3; CZ; F7; F8; T4; FPZ
S8	FP1; C3; CZ; F7; OZ; FPZ	FP1; FP2; F3; FZ; C3; CZ; P3; O1; F7; T3; T5; OZ

S9	FP1; FP2; FZ; O1; O2; F8	F3; C4; O2; F7; F8; T4; T5; T6
S10	FP1; F3; F7; T3; T5; FPZ	FP1; FO2; F3; C3; CZ; P3; O1; O2; F8; T3; T5; FPZ
S11	FP1; FP2; F3; O2; F7; T3; T4; T6	FP2; F4; C3; O2; F7; F8; T3; T5; FPZ

Fonte : Autoria própria.

Figura 16 – Histograma dos *hubs*.



Fonte: Autoria própria.

4.2 FASES POSTERIORES

Após a avaliação do efeito agudo do EANP, consideramos o efeito do tratamento até o quinto dia de análise, antes (T2) e após a intervenção (T3). Para isso, foram utilizadas as mesmas métricas estudadas na fase aguda, que, agora, foram computadas para oito pacientes. Para a análise estatística, foi utilizada a ANOVA de medidas repetidas com uma via (Registro

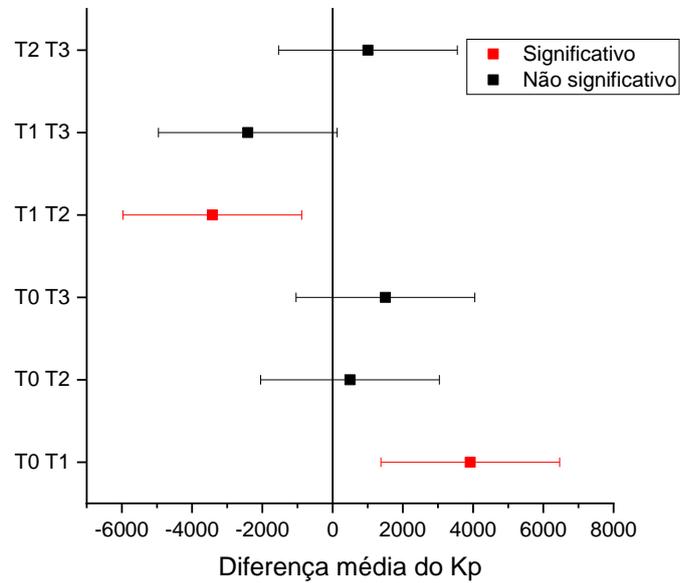
de EEG), através do SPSS, com o objetivo de avaliar o efeito do tratamento para os diferentes índices. Para os dados que não apresentaram esfericidade, a partir do teste de Mauchly, os valores de p foram corrigidos através da correção de Greenhouse-Geisser. Utilizamos o ajuste de Bonferroni com 5% de significância.

4.2.1 Conectividade Funcional Regional

A conectividade funcional dinâmica foi avaliada para cada região cerebral (pré-frontal, frontal, parietal, central, temporal e occipital), de modo pareado ($n = 48$). O índice de escolha para a análise da conectividade funcional foi a média do grau ponderado. Foi, então, calculada a diferença média do índice para os diferentes registros de EEG, sempre se considerando a evolução temporal do índice para cada região, de maneira pareada.

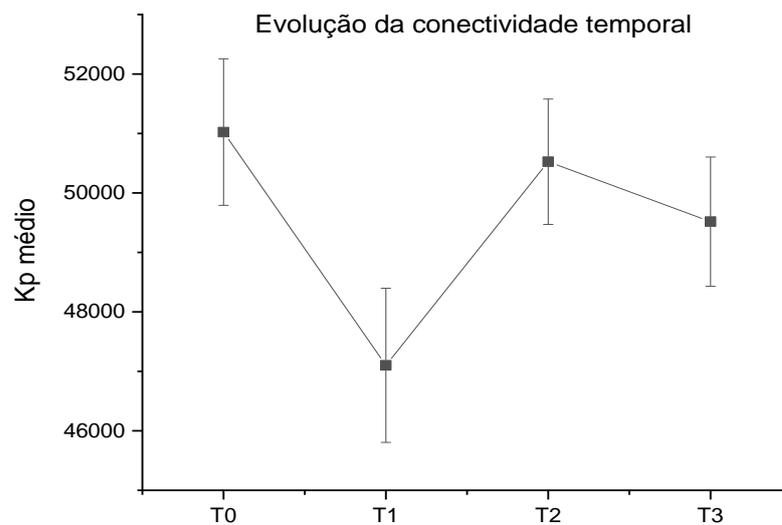
Os dados não apresentaram esfericidade, considerando o teste de Mauchly, o que nos levou à correção dos valores de p através de Greenhouse-Geisser. A ANOVA de uma via com medidas repetidas revelou que houve efeito significativo do tratamento sobre a conectividade funcional das regiões cerebrais [$F(1, 683, 79,086) = 6,724; p < 0,05$]. A análise *post hoc* mostrou que tais diferenças ocorriam entre o estado basal e o estado agudo (T0 e T1), e entre o efeito agudo e o quinto dia antes da estimulação (T2). Além disso, embora não tenha ocorrido diferença significativa da conectividade ao quinto dia, antes e após a estimulação, foi notada uma tendência à redução da conectividade geral após o tratamento. A avaliação da diferença média do grau ponderado revelou uma redução da conectividade funcional para o efeito agudo, que é mostrada, na Figura 17 em vermelho, na região positiva, enquanto ocorreu uma elevação do índice ao quinto dia antes do tratamento, que aparece em vermelho, na região negativa do gráfico. É possível visualizar o efeito do tratamento através da evolução temporal do índice apresentada na Figura 18.

Figura 17 – Diferenças médias entre a conectividade funcional por regiões cerebrais. O gráfico demonstra que apenas os grupos t0 e t1, e t1 e t2 foram significativamente diferentes entre si (em vermelho). Para os demais grupos, não são mostradas diferenças significativas em grau (em preto).



Fonte: Autoria própria.

Figura 18 – Evolução da conectividade temporal. O gráfico de evolução da conectividade funcional demonstra uma redução da conectividade como efeito agudo do estímulo, seguida por uma elevação da conectividade (T2) e uma tendência a redução mais próxima a uma provável estabilização (T3).



Fonte: Autoria própria.

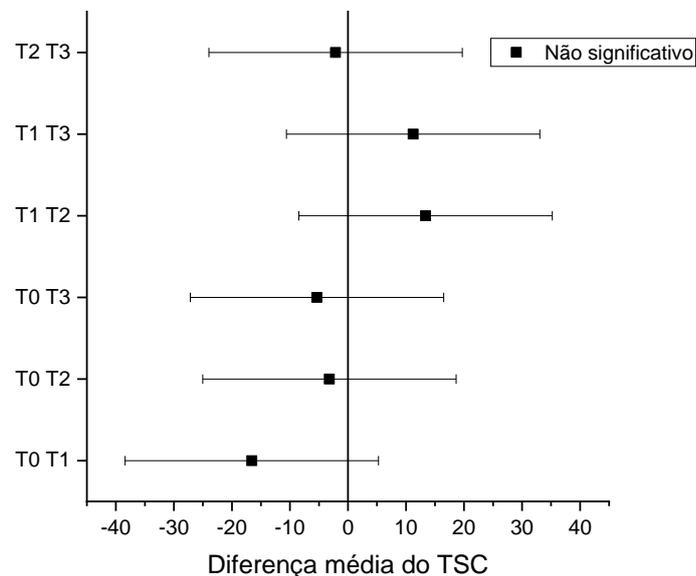
4.2.2 Tempo de Sincronização Completa

A avaliação do TSC foi realizada para cada um dos pacientes ($n = 8$), a fim de verificar o efeito do tratamento sobre a diversidade do surgimento de novas conexões na rede. Para tanto, foi calculada a diferença média do índice para cada registro de EEG.

Com o objetivo de verificar se ocorreu diferença no índice antes e depois do uso do EANP, realizamos uma ANOVA de uma via com medidas repetidas, com o ajuste Bonferroni, considerando 5% de significância.

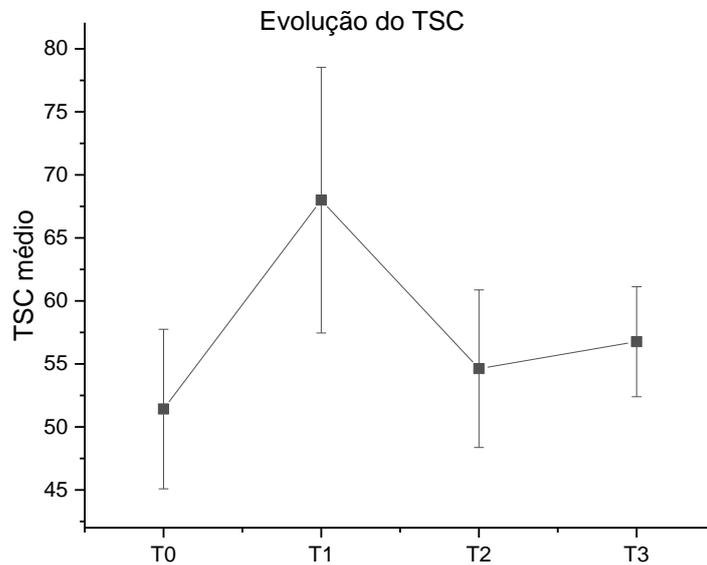
O teste de Mauchly revelou que os dados apresentavam esfericidade. A ANOVA de uma via com medidas repetidas revelou que não ocorreu efeito significativo do EANP sobre o TSC dos pacientes [$F(3, 21) = 1,87; p > 0,05$]. O *post hoc* não mostrou diferenças significativas no índice antes e depois do estímulo (Figura 19). Apesar disso, é possível observar uma tendência à elevação do índice no estado agudo, e sua redução nas exposições seguintes, até se aproximar de uma provável estabilização (Figura 20).

Figura 19 – Diferenças médias entre o tempo de sincronização completa. O gráfico mostra ausência de efeito significativo do tratamento sobre o índice, apesar da tendência ao aumento na fase aguda, com posterior redução.



Fonte: Autoria própria.

Figura 20 – Evolução temporal do TSC. O gráfico mostra uma tendência de elevação das diferenças médias do índice, como efeito agudo do estímulo, que é seguida de decréscimo.



Fonte: Autoria própria.

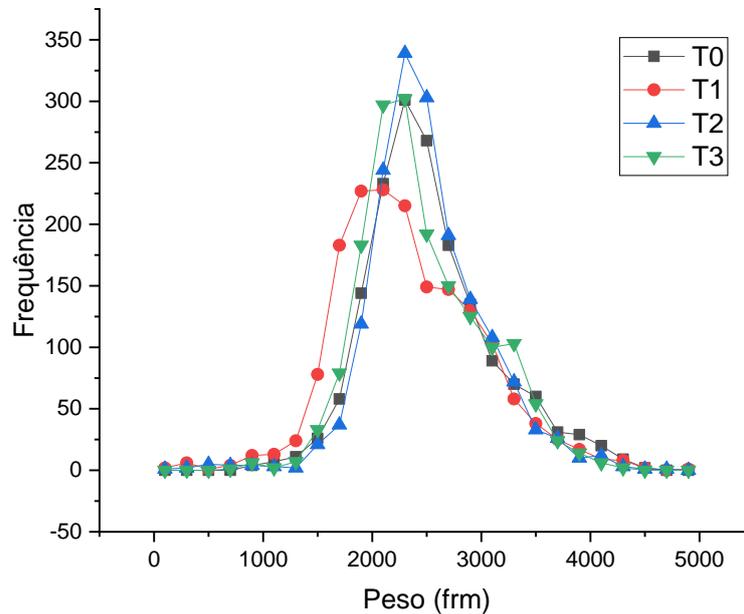
4.2.3 Distribuição dos Pesos das Arestas

Assim como no estado agudo, a avaliação da distribuição dos pesos das arestas até o quinto dia de tratamento foi computada considerando-se os intervalos entre os pesos de 0 a 5.000 frm, obtidos através do histograma dos pesos das arestas, considerando um tamanho de intervalo de 200 frm. Foram computados os pesos das arestas a partir de sua frequência.

Foi possível observar uma frequência mais elevada para as arestas com peso intermediário, seguidas por arestas com pesos mais elevados e, por fim, arestas com pesos baixos.

No que diz respeito ao efeito do tratamento sobre a distribuição dos pesos das arestas, ocorreu uma manutenção das arestas com pesos menores e mais elevados ao longo dos dias de tratamento. Além disso, no estado agudo, houve uma redução das arestas de peso intermediário, que foi seguida por uma elevação, superior ao estado basal, no quinto dia, antes da estimulação (T2), chegando a valores próximos ao estado basal após a estimulação (T3).

Figura 21 – Distribuição dos pesos das arestas até o quinto dia de estimulação.



Fonte: Autoria própria.

4.2.4 Hubs

A identificação dos *hubs* síncronos mais representativos foi realizada, assim como para o efeito agudo, considerando-se os nós obtidos pelo histograma de *hubs* da rede, que apresentaram tempo de ocorrência superior ao tempo médio dos *hubs* mais um desvio padrão. Foram avaliados três aspectos desses nós: a quantidade, a intensidade de conexão (distância do tempo de ocorrência em relação ao tempo médio) e a localização. Para essas análises, foram utilizados dados de probabilidade de um nó ser *hub*, e cada eletrodo foi considerado como um nó ($n=22$, no histograma de *hubs*).

Os dados referentes à quantidade de *hubs* síncronos mais representativos apresentaram esfericidade, a partir do teste de Mauchly. A ANOVA de uma via com medidas repetidas mostrou que não houve efeito significativo do tratamento sobre a medida [$F(3, 21) = 2,032$; $p > 0,05$], e o *post hoc* não apresentou diferenças significativas antes e depois do tratamento, em nenhum dos registros.

No que diz respeito à intensidade dos *hubs* síncronos mais representativos, o teste de Mauchly revelou que os dados apresentavam esfericidade. A ANOVA de uma via com

medidas repetidas revelou que não ocorreu efeito significativo do estímulo sobre a intensidade dos *hubs* [$F(3, 21) = 0,537$; $p > 0,05$], e o *post hoc* não mostrou diferenças significativas no índice antes e após o estímulo.

A análise da localização dos *hubs* apontou para uma variabilidade entre os estados, com alguns deles sendo apresentados apenas após a estimulação (T1 e T3), com baixa manutenção de *hubs* do estado basal para o agudo (T0 e T1), e reaparecimento de alguns *hubs* no quinto dia de análise, antes da estimulação, que foram mantidos após o uso do EANP (T2 e T3), conforme é expresso na tabela a seguir.

Tabela 3 – *Hubs* síncronos mais representativos até o quinto dia de análise. É possível observar a variabilidade dos *hubs* para todos os registros, com poucos deles sendo mantidos do estado basal para o efeito agudo (em verde) e em todos os estados (sublinhados). Os *hubs* que reaparecem na rede em outros estágios são representados em azul, enquanto os que aparecem após a estimulação (no 1º dia, T1, e no quinto dia, T3) são apresentados em vermelho.

Sujeitos	T0	T1	T2	T3
S1	F3, CZ, <u>F7</u>	<u>F7</u> , <u>F8</u> , T3, T4	T3, T6, OZ	FP2, <u>F8</u> , T6
S2	<u>FP2</u> , C4, PZ, T6, OZ	FP1, <u>FP2</u> , F7, T5, FPZ	F7, FPZ	<u>FP2</u> , T4
S3	F3, <u>F7</u> , <u>FPZ</u>	<u>CZ</u> , <u>F7</u> , T3, <u>FPZ</u>	C3, T3, <u>FPZ</u>	FP1, <u>CZ</u> , T3, <u>FPZ</u>
S4	<u>FP2</u> , P4, F8, <u>T6</u>	T5, <u>T6</u>	<u>FP2</u> , T4	<u>FP2</u> , C4, PZ, F8, T4
S5	<u>FP1</u> , <u>FPZ</u>	F3, T3, OZ	<u>FP1</u> , F3, F7, <u>FPZ</u>	F3, F7, <u>FPZ</u>
S6	P4, PZ, <u>OZ</u>	CZ, O1, F7, <u>OZ</u>	F3, F7, T4	FP1, FP2, O2, T5
S7	FP1, <u>C3</u> , F7, FPZ	<u>C3</u> , CZ, T5, OZ	T3	F3, CZ, OZ
S8	FP1, FP2, <u>O2</u>	F3, <u>O2</u> , T4, T6	<u>O2</u> , T5, OZ	C3, C4, <u>O2</u>

Fonte: Autoria própria.

5 DISCUSSÃO

Neste trabalho, avaliamos o efeito do estímulo acústico não periódico sobre a sincronia cerebral de pacientes com epilepsia refratária, através de caracterização da dinâmica de suas redes funcionais cerebrais. Para tanto, foram adotados índices de conectividade, variabilidade e importância dos nós e das conexões pertencentes a esse sistema. Os efeitos do tratamento foram avaliados para a fase aguda (n=11), bem como para as fases posteriores (n=8), considerando o quinto dia após a estimulação.

A conectividade funcional dinâmica, a partir do grau ponderado médio da REA, mostrou uma redução significativa na fase aguda, o que foi confirmado pela avaliação até o quinto dia. Essa redução da conectividade está de acordo com estudos que embasaram a criação do EANP^{10,11,36}. Isso porque, durante a criação e aplicação do estímulo, o padrão temporal, em sua estrutura, manteve características de formação do ENP vinculadas à sua eficácia^{10,11}.

Avaliações prévias têm reportado a relevância de se considerar a estrutura temporal durante a elaboração de estímulos cerebrais^{15,37}, e que, no caso da epilepsia, o caráter dinâmico da doença e o papel da sincronia devem ser considerados na construção de terapias complementares¹⁵. Assim, as características de formação do EANP devem ser consideradas para a discussão da redução da conectividade funcional neste trabalho. Nesse sentido, tendo em vista os achados mais recentes de Cota, De Oliveira, Damázio, Moraes¹¹, destacaremos o provável papel de uma distribuição de intervalo entre os pulsos em lei de potência, para a dinâmica cerebral das redes funcionais cerebrais de pacientes com epilepsia refratária.

Um comportamento livre de escala em um sistema implica a ausência de periodicidade temporal e espacial predominante em seus padrões temporais e espaciais⁸³. Uma estatística livre de escala, em fenômenos naturais, pode ser descrita por uma lei de potência, que pode representar a relação entre variáveis do sistema. A função de lei de potência f é apresentada a seguir, onde P é a potência, f representa a frequência (que pode ser espacial ou temporal, a depender do que está sendo avaliado) e β representa o expoente da lei de potência⁸⁴.

$$P(f) \propto 1/f^\beta$$

Estudos anteriores confirmaram uma resposta neuronal mais eficaz a estímulos que apresentem um padrão de atividade semelhante ao encontrado no cérebro em seu estado saudável, isto é, uma estatística livre de escala^{41,85,86}.

Gal e Marom¹² utilizaram neurônios isolados de ratos recém-nascidos para avaliar as propriedades da dinâmica da resposta evocada por três regimes estatisticamente diferentes de séries de estimulação – intervalo constante, ruído branco gaussiano e regime livre de escala –, com intervalos modulados por um processo $1/f^\beta$, com $\beta = 1$. A avaliação foi realizada em termos de variabilidade e reprodutibilidade da resposta neuronal. Os resultados mostraram que o arrastamento neuronal é máximo quando a entrada é livre de escala. O estímulo, nesse regime, foi capaz de reduzir a variabilidade da resposta dos neurônios, além de produzir maior reprodutibilidade, quando comparado aos outros tipos de estimulação¹².

Garcia-Lazaro, Ahmed, Schnupp⁸⁵ em um estudo com modelos animais, testaram a resposta de neurônios do córtex auditivo primário, cultivados *in vitro*, a estímulos com a dinâmica livre de escala, considerando tons aleatórios em lei de potência com expoentes que variavam entre 0,5 e 4. Os autores observaram uma taxa de resposta menor para expoentes abaixo de 1, atingindo valores máximos com expoentes entre 1 e 1,5, e que geralmente se comportavam como um platô para expoentes iguais ou acima de três. Além disso, foi verificado que a variabilidade da resposta neuronal é reduzida quando são fornecidos estímulos acústicos que apresentam um padrão semelhante ao natural, e especulou-se que isso provavelmente ocorre com outros estímulos sensoriais⁸⁵.

Scarsi, Tessadori, Chiappalone, Pasquale⁴¹ avaliaram a relação entre a resposta neuronal, obtida a partir de redes corticais de neurônios cultivados *in vitro*, a estímulos com diferentes padrões temporais, a fim de avaliar se, no nível de rede, a resposta se mostrava mais eficaz a entradas semelhantes à atividade natural. Para isso, utilizaram diferentes sequências de estimulação, com intervalos entre os pulsos seguindo uma distribuição $1/f^\beta$, com valores de β variando entre 1 e ∞ . Os pesquisadores avaliaram também se haveria diferença entre as taxas médias de disparo para diferentes expoentes da lei de potência. Os resultados mostraram que a atividade de rede sincroniza, de modo preferencial, com entradas semelhantes às entradas naturais (dinâmica livre de escala), principalmente quando se considera um expoente unitário⁴¹.

Alguns achados prévios de estudos com o ENP apontam para a relevância da lei de potência na eficácia do estímulo, que parece promover uma manutenção dos níveis basais de sincronização, impedindo o espalhamento de redes epileptogênicas¹¹. Cota et al.³⁶, reportaram

diferenças nos efeitos dos estímulos com dois protocolos de aleatorização dos intervalos entre os pulsos durante a criação do estímulo. Apenas o estímulo cujo intervalo entre os pulsos representava uma lei de potência apresentou eficácia, enquanto o outro não mostrou efeito³⁶. Mesquita et al.⁸⁶, em uma avaliação do recrutamento neural subjacente à estimulação periódica e não periódica, no complexo amigdalóide, com ratos submetidos ou não à infusão de PTZ, verificaram a presença de ativação do núcleo *accumbens* em animais livres de crise que receberam o estímulo não periódico⁸⁶. Além disso, avaliações eletrofisiológicas do estímulo têm apontado para um comportamento de resistência ao processo de sincronização¹¹.

Assim, é possível que a estrutura temporal do EANP – um estímulo temporalmente irregular, cuja distribuição do intervalo entre os pulsos se assemelha à dinâmica de atividade neuronal no nível de um único neurônio, e considerando o nível de redes – tenha promovido a modulação da sincronia cerebral dos pacientes através do arrastamento cerebral para oscilações semelhantes à entrada, conforme é proposto por Cota, De Oliveira, Damázio, Moraes¹¹ para o ENP, levando a uma redução geral da sincronia da rede e a assegurando a permanência das propriedades livres de escala das redes cerebrais desses pacientes.

Essa permanência das propriedades livres de escala da rede, em nosso trabalho, parece ter sido mostrada em outros dois resultados da fase aguda, na avaliação dos *hubs* e na distribuição dos pesos das arestas, o que pode ter se refletido na variabilidade de conexões da rede e no surgimento de arestas novas.

Em redes cerebrais, é possível notar, no âmbito estrutural e funcional, a presença de características livres de escala concomitantes à topologia de mundo pequeno^{46,50}. De acordo com Barabási, Albert⁵⁷, dois fatores podem contribuir para o surgimento de uma topologia livre de escala: a expansão da rede pela adição de novos nós e a adição de novos nós a nós que já apresentem um alto grau⁵⁷. A adição de conexões de modo preferencial é um fator particularmente importante no contexto de avaliações em epilepsia, uma vez que permite um reforço de conexões e o surgimento de *hubs* de conectividade.

Hubs apresentam uma importância para a arquitetura da rede e sua dinâmica, no sentido de que possibilitam uma rápida transferência de informação, reduzindo os custos energéticos e otimizando o processamento da informação^{61,76}. Em redes funcionais cerebrais, a presença de nós com alta conectividade e suas interações favorece a adaptabilidade do sistema ao longo de sua evolução temporal, uma vez que possibilita a flexibilidade da rede através da alteração dinâmica em diferentes comunidades⁶³. Além disso, a existência de hubs

em redes cerebrais favorece a complexidade dinâmica dessas redes, já que possibilita o acesso a diversas paisagens de estados funcionais entre os mecanismos de segregação e integração⁶³.

Tem sido demonstrado que esse papel central dos *hubs* nas redes cerebrais é acompanhado por sua vulnerabilidade ao desenvolvimento de processos patológicos^{50,63}. Na epilepsia, *hubs* têm assumido pelo menos dois papéis: o espalhamento das descargas epileptiformes, quando localizados próximos à zona epileptogênica, e disrupção, principalmente quando se referem à rede ativa no estado de repouso⁶⁰.

Análises anteriores têm demonstrado uma disrupção de *hubs* em redes funcionais de pacientes epiléticos⁵⁰. Essa redução de *hubs* em epilepsia tem sido visualizada em termos de conectividade e centralidade^{72,73}, e pode ser considerada em nível individual⁵ e na formação do fenômeno de *rich club*⁸⁷.

Tendo em vista as perdas de *hubs* em pacientes epiléticos e a estrutura temporal do estímulo, esperávamos que os nós *hubs* da rede aumentassem após o tratamento. Por esse motivo, fizemos uma caracterização desses nós computando sua quantidade, sua intensidade e localização. Embora não tenhamos encontrado uma elevação ou alterações significativas da quantidade e dos pesos dos nós *hubs*, percebemos que a variabilidade, entre eles, foi considerável, com poucos nós sendo mantidos de um estado para outro, o que sugere uma contínua reestruturação do padrão de sincronia devido ao EANP. Avaliações futuras devem considerar um registro dessas redes durante um longo período após a estimulação, o que não foi possível neste trabalho, em virtude da perda amostral.

Uma avaliação das conexões da rede, através da distribuição dos pesos das arestas, mostrou que a redução da conectividade funcional ocorreu em arestas com peso intermediário (mais prováveis), ao mesmo tempo em que arestas com pesos mais elevados foram mantidas na rede.

Em redes ponderadas, como as realizadas nesse trabalho, o peso das arestas é um indicativo da importância daquelas conexões para a rede⁴⁹. Em nosso trabalho, retrata o tempo de conexão entre dois nós, denotando a relevância daquela interação para a dinâmica e a configuração espacial do sistema. A manutenção de arestas com pesos mais elevados, assim como da quantidade de *hubs* na rede, mesmo havendo uma diminuição da conectividade, podem indicar um efeito protetor do estímulo, uma vez que era de se esperar que esses pacientes, naturalmente, perderiam essas conexões em virtude de processos patológicos. Contudo, avaliações longitudinais são necessárias a fim de se verificar se tais achados se

mantêm a longo prazo. Além disso, uma análise mais precisa dos tipos de conexão pode fornecer indícios da existência ou da preferência de uma região de atuação do estímulo.

Ainda assim, tendo em vista o papel funcional dos nós e conexões *hubs* da rede, sua manutenção, em pacientes com epilepsia refratária, pode representar um efeito positivo do estímulo quando acompanhada de uma provável estabilização da conectividade funcional. Esse cenário foi observado entre as etapas T2 e T3 do EANP, uma vez que a elevação da sincronia cerebral tem sido associada à epileptogênese^{3,88,89}.

A redução das arestas de peso com maior ocorrência, por sua vez, denota uma diminuição geral da conectividade funcional na rede, durante o efeito agudo. Tendo em vista ser o EANP um estímulo que mostra um padrão temporal irregular, proposto para apresentar um efeito de antirressonância com redes epileptogênicas, com uma dinâmica livre de escala que pode induzir um padrão natural de atividade cerebral, esse resultado está de acordo com achados prévios para o ENP^{10,11}.

Notamos, ainda, que, o tempo de sincronização completa (TSC), índice que indica a velocidade do surgimento de arestas novas no tempo, aumentou no efeito agudo, de modo paralelo ao decréscimo da conectividade funcional. O TSC é um índice que exhibe sensibilidade à persistência de conexões e alterações gerais na quantidade de conexões da rede (redução ou aumento). Neste trabalho, não foi notada uma persistência das arestas, uma vez que isso teria resultado em uma elevação dos pesos das arestas maiores. Assim, a evolução temporal do TSC, durante fase aguda (elevação) e ao quinto dia antes da estimulação (redução), e sua posterior estabilização, foi decorrente de alterações generalizadas na quantidade de sincronizações ao longo do tempo. O que corrobora os resultados da diminuição dos pesos mais prováveis na fase aguda discutida anteriormente.

Um resultado inesperado deste trabalho foi a elevação da conectividade funcional a partir do quinto dia de estimulação (T2). Notamos, pela distribuição dos pesos das arestas, que esse aumento ocorreu dentro do mesmo intervalo de pesos de arestas intermediárias, as mais frequentes, o que pode decorrer de uma habituação cerebral ao estímulo, retornando a seu padrão normal. Esse processo consiste em um decréscimo ou ruptura da resposta diante de uma estimulação, após repetidos processos de aplicação⁹⁰. É importante destacar que, em nosso trabalho, essa aparente habituação só pode ser descrita com referência à conectividade e aos níveis de sincronia, uma vez que os *hubs* apresentaram variabilidade entre os estados, o que, em conjunto, aponta em direção a um rearranjo estrutural da rede, apesar da habituação. Tal achado deverá ser levado em consideração em análises posteriores.

Essa reorganização da rede funcional cerebral em pacientes epiléticos tem sido vista no decorrer da doença, tanto no estado interictal quanto no estado ictal, com reconfigurações dinâmicas na topologia da rede para ambos os estados e dentro da crise^{56,91}. Além disso, tem sido notado um rearranjo dos nós em pacientes que estão livres de crises epiléticas, comparados a aqueles que apresentam crises clínicas⁷³. Sabemos que tais mudanças são decorrentes de alterações temporais entre os estados e dependem dos níveis de perturbação ao sistema, bem como da resiliência e estabilidade da rede². Assim, considerando os aspectos dinâmicos da doença, é possível supor que o estímulo, como perturbação externa que acompanha a dinâmica livre de escala presente no cérebro, possa favorecer a presença de um arranjo de conexões que possibilite tal dinâmica, que se mostra alterada durante a doença, em nível celular^{92,93} e considerando redes em ampla escala^{5,72}.

A manutenção da conectividade funcional do estágio T2 para o T3 e das arestas de maior peso na rede pode ser resultante da estrutura temporal do estímulo. É amplamente conhecido que estímulos que apresentam uma estatística em lei de potência tendem a reduzir a variabilidade de resposta^{12,41,85}, com maior arrastamento cerebral, considerando o expoente da lei de potência entre um e um e meio⁸⁵. Embora isso tenha sido avaliado no âmbito de neurônio único e microcircuitos é possível supor que ocorreria em toda a rede cerebral.

Apesar de nossos achados apontarem para uma reorganização da rede durante o tratamento, uma avaliação mais precisa de toda a faixa de pesos das arestas deve ser considerada futuramente, bem como a identificação das regiões em que ocorrem essas conexões e sua relação funcional.

Embora tenhamos verificado uma redução das arestas com pesos intermediários, a identificação dessas arestas não foi possível neste trabalho, sendo necessárias avaliações que o façam futuramente.

Outro fator relevante que não foi abarcado por esse trabalho é a descrição dos circuitos subjacentes às redes, que poderiam indicar mais precisamente a dinâmica da resposta neuronal ao EANP. Análises futuras podem incorporar técnicas de coleta de sinal com resolução espacial mais elevada, a fim de sanar essa incapacidade.

Um fator importante, é que nosso trabalho carece de informações clínicas referentes à etiologia e ao tipo de crise dos pacientes, que foram classificados quanto à farmacoresistência. Sabe-se, contudo, que esse grupo abarca uma série de epilepsias e que essa identificação poderia favorecer a compreensão dos resultados. Desse modo, estudos

posteriores, podem considerar uma separação por grupos etiológicos ou por tipos de crise, bem como uma amostra maior, a fim de reduzir a variabilidade da amostra.

Além dos fatores supracitados, a presença de um grupo de controle, uma vez que o estímulo consiste em uma terapia complementar, colaboraria para a análise de seu efeito sem tratamento.

6 CONCLUSÃO

O processo de sincronização neuronal embasa diversas funções cognitivas e tem se mostrado alterado no cérebro de pacientes epiléticos. A epilepsia tem sido caracterizada por alterações da excitabilidade e da sincronia cerebral, demonstrando elevação para ambos. Embora grande parte dos tratamentos que tenham a excitabilidade como foco, visando à sua redução, apresentem eficácia, aproximadamente um terço dos pacientes apresenta farmacorresistência.

Abordagens complementares têm sido desenvolvidas para o tratamento de epilepsias refratárias à medicação, dentre as quais o EANP. Em nosso trabalho, avaliamos o efeito do estímulo na sincronia cerebral de pacientes com epilepsia refratária. Para tanto, foi realizada a caracterização da dinâmica de redes funcionais de sincronização através de índices de grafos dinâmicos, como conectividade temporal e tempo de sincronização completa. Nosso trabalho mostrou um efeito significativo de redução da conectividade geral na rede, na fase aguda. Após essa fase, em termos quantitativos, entre conectividade e quantidade de sincronização, o cérebro parece ter se habituado ao estímulo, retornando a seu padrão original. Contudo, o arranjo das conexões provavelmente mudou, e isso pode ser visto através da variação dos *hubs*, sendo necessárias avaliações futuras com índices que meçam, longitudinalmente, a arquitetura da rede.

REFERÊNCIAS

1. Staba RJ, Worrell GA. What is the importance of abnormal “background” activity in seizure generation?. In: *Issues in clinical epileptology: a view from the Bench*. Dordrecht, 2014. p. 43-54.
2. Chvojka J, Kuldlack J, Chang W-C, Novak O, Tomaska F, Otahal J, et al. The role of interictal discharges in ictogenesis—a dynamical perspective. *Epilep Behav*. 2019; 106591.
3. Scharfman HE. The neurobiology of epilepsy. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2007; 7(4):348-54.
4. Vlooswijk MCG, Vaessen MJ, Jansen JFA, De Krom MCFTM, Majoie HJM, Hofman P AM, et al. Loss of network efficiency associated with cognitive decline in chronic epilepsy. *Neurology*. 2011;77(10):938-44.
5. Roger E, Pichat C, Torlay L, David O, Renard F, Banjac S, et al. Hubs disruption in mesial temporal lobe epilepsy. A resting-state fMRI study on a language-and-memory network. *Hum Brain Mapp*. 2020;41(3):779-96.
6. Stafstrom CE, Carmant L. Seizures and epilepsy: an overview for neuroscientists. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015;5(6):a022426.
7. Rogawski MA, Löscher W, Rho JM. Mechanisms of action of antiseizure drugs and the ketogenic diet. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2016; 6(5):a022780.
8. Moshé SL, Perucca E, Ryvlin P, Tomson T. Epilepsy: new advances. *Lancet*. 2015; 385(9971):884-98.
9. Fisher RS, Velasco AL. Electrical brain stimulation for epilepsy. *Nat Rev Neurol*. 2014;10(5):261-70.
10. De Oliveira JC, Maciel RM, Moraes MFD, Cota VR. Asynchronous, bilateral, and biphasic temporally unstructured electrical stimulation of amygdalae enhances the suppression of pentylenetetrazole-induced seizures in rats. *Epilepsy research*. 2018;146:1-8.
11. Cota VR, De Oliveira, JC, Damázio LCM, Moraes MFD. Nonperiodic stimulation for the treatment of refractory epilepsy: Applications, mechanisms, and novel insights. *Epilepsy Behav*. 2019;106609.
12. Gal A, Marom S. Entrainment of the intrinsic dynamics of single isolated neurons by natural-like input. *J Neurosci*. 2013; 33(18):7912-8.
13. Da Silva FL, Blanes W, Kalitzin SN, Parra J, Suffczynski P, Velis DN. Epilepsies as dynamical diseases of brain systems: basic models of the transition between normal and epileptic activity. *Epilepsia*. 2003;44:72-83.

14. Jirsa VK, Stacey WC, Quilichini PP, Ivanov AI, Bernard C. On the nature of seizure dynamics. *Brain*. 2014;137(8):2210-30.
15. Moraes MFD, Medeiros DC, Mourao FAG, Cancado SAV, Cota VR. Epilepsy as a dynamical system, a most needed paradigm shift in epileptology. *Epilepsy Behav*. 2019;106838.
16. Fisher RS, Boas WVE, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, et al. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*. 2005;46(4):470-2.
17. Rektor I, Kuba R, Brázdil M, Chrastina J. Do the basal ganglia inhibit seizure activity in temporal lobe epilepsy?. *Epilepsy Behav*. 2012;25(1):56-9.
18. Beghi E, Giussani G, Nichols E, Abd-Allah F, Abdela, J, Abdelalim A et al. Global, regional, and national burden of epilepsy, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol*. 2019;18(4):357-75.
19. Holmes GL. Cognitive impairment in epilepsy: the role of network abnormalities. *Epileptic Disord*. 2015;17(2):101-16.
20. World Health Organization. Epilepsy: a public health imperative: summary. World Health Organization, 2019.
21. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, Francês J, Guilhoto L, et al. ILAE classification of the epilepsies: position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017;58(4):512-21.
22. Fisher RS, Cross H, D’Souza C, French JA, Haut SR, Higurashi N, et al. Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia*. 2017;58(4):531-42.
23. Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, Walter van EdeBoas, et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005–2009. *Epilepsia*. 2010;51(4):676-85.
24. Bernhardt BC, Bonilha L, Gross DW. Network analysis for a network disorder: the emerging role of graph theory in the study of epilepsy. *Epilepsy Behav*. 2015;50:162-70.
25. Lapalme-Remis S, Cascino GD. Imaging for adults with seizures and epilepsy. *Continuum: Lifelong Learning in Neurolog*. 2016;22(5):1451-79.
26. Hildebrand MS, Dahl HHM, Damiano JA, Smith RJ, Scheffer IE, Berkovic SF. Recent advances in the molecular genetics of epilepsy. *Journal of medical genetics*. 2013;50(5): 271-9.
27. Myers CT, Mefford HC. Advancing epilepsy genetics in the genomic era. *Genome Med*. 2015;7(1):1-11.

28. Schuele SU. Evaluation of seizure etiology from routine testing to genetic evaluation. *Continuum: Lifelong Learning in Neurology*. 2019;25(2):322-42.
29. Toledano M, Pittock SJ. Autoimmune epilepsy. In: *Seminars in neurology*. Thieme Medical Publishers. 2015;245-58.
30. Vezzani A, Fujinami RS, White HS, Preux P-M, Blümcke I, Sander JW, et al. Infections, inflammation and epilepsy. *Acta Neuropathol*. 2016;131:(2):211-34.
31. Sharma S, Prasad, AN. Inborn errors of metabolism and epilepsy: current understanding, diagnosis, and treatment approaches. *Int J Mol Sci*. 2017;18(7):1384.
32. Binder DK. Astrocytes: stars of the Sacred Disease. *Epilepsy Curr*. 2018;18(3):172-9.
33. Binder DK, Boison D, Tore Eid T, Frankel WN, Mingorance A, Smith BN. Epilepsy benchmarks area II: prevent epilepsy and its progression. *Epilepsy Curr*. 2020;1535759719895274.
34. Kwan P, Arzimanoglou A, Berg AT, Brodie MJ, Allen Hauser W, Mathern G, et al. Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia*. 2010;51(6):1069-77.
35. Cota VR, Drabowski BMB, De Oliveira JC, Moraes MFD. The epileptic amygdala: toward the development of a neural prosthesis by temporally coded electrical stimulation. *J Neurosc Res*. 2016;94(6):463-85.
36. Cota VR, Medeiros DC, Vilela MRSP, Doretto MC, Moraes MFD. Distinct patterns of electrical stimulation of the basolateral amygdala influence pentylentetrazole seizure outcome. *Epilepsy Behav*. 2009;14(1):26-31.
37. Medeiros DC, Moraes MFD. Focus on desynchronization rather than excitability: a new strategy for intraencephalic electrical stimulation. *Epilepsy Behav*. 2014;38:32-6.
38. Becher AK, Höhne M, Axmacher N, Chaieb L, Elger CE, Fel J. Intracranial electroencephalography power and phase synchronization changes during monaural and binaural beat stimulation. *Eur J Neurosci*. 2015;41(2):254-63.
39. Vuong J, Devergnas A. The role of the basal ganglia in the control of seizure. *J Neural Transm*. 2018;125(3):531-45.
40. Lakatos P, Gross J, Thut G. A new unifying account of the roles of neuronal entrainment. *Current Biol*. 2019;29(18):R890-905.
41. Scarsi F, Tessadori J, Chiappalone M, Pasquale V. Investigating the impact of electrical stimulation temporal distribution on cortical network responses. *BMC Neurosci*. 2017;18(1):1-13.
42. Fornito A, Zalesky A, Bullmore ED. *Fundamentals of brain network analysis*. Academic Press, 2016.

43. Amaral LA, Ottino JM. Complex networks. *European Physical J B*. 2004;38(2):147-62.
44. Nussenzveig HM. *Complexidade e caos*. Rio de Janeiro: Editora UFRJ/COPEA; 1999.
45. Sporns O, Betzel RF. Modular brain networks. *Ann Rev Psychol*. 2016;67:613-40.
46. Bullmore ED, Sporns O. Complex brain networks: graph theoretical analysis of structural and functional systems. *Nat Rev Neurosc*. 2009;10(3):186.
47. Stam CJ, Van Straaten ECW. The organization of physiological brain networks. *Clin Neurophysiol*. 2012;123(6):1067-87.
48. Stam CJ, Reijneveld JC. Graph theoretical analysis of complex networks in the brain. *Nonlinear Biomed Phys*. 2007;1(1):3.
49. Van Diessen E, Diederens SJH, Jansen AE, Braun KPJ. Functional and structural brain networks in epilepsy: what have we learned? *Epilepsia*. 2013;54(11):1855-65.
50. Stam CJ. Modern network science of neurological disorders. *Nat Rev Neurosc*. 2014;15(10):683.
51. Rosário RS, Cardoso PT, Muñoz MA, Montoya P, Miranda JGV. Motif-Synchronization: A new method for analysis of dynamic brain networks with EEG. *Physica A*. 2015;439:7-19.
52. Rubinov M, Sporns O. Complex network measures of brain connectivity: uses and interpretations. *Neuroimage*. 2010;52(3):1059-69.
53. Bullmore Ed, Sporns, O. The economy of brain network organization. *Nat Rev Neurosc*. 2012;13(5):336-49.
54. Watts DJ, Strogatz SH. Collective dynamics of 'small-world' networks. *Nature*. 1998;393(6684):440.
55. Liu Z, Zhang Y, Yan H, Bai L, Dai R, Wei W, et al. Altered topological patterns of brain networks in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a resting-state fMRI study. *Psychiatry Research: Neuroimaging*. 2012;202(2):118-25.
56. Ponten, SC, Bartolomei F, Stam CJ. Small-world networks and epilepsy: graph theoretical analysis of intracerebrally recorded mesial temporal lobe seizures. *Clin Neurophysiol*. 2007;118(4):918-27.
57. Barabási A-L, Albert R. Emergence of scaling in random networks. *Science*. 1999;286(5439):509-12.
58. Lehnertz K, Bialonski S, Ansmann G, Dickten H. Evolving networks in the human epileptic brain. *Physica D: Nonlinear Phenomena*. 2014;267:7-15.

59. Chang W-C, Kudlacek J, Hlinka J, Chvojka J, Hadrava M, Kumpost V, et al. Loss of neuronal network resilience precedes seizures and determines the ictogenic nature of interictal synaptic perturbations. *Nat Neurosc.* 2018;21(12):1742-52.
60. Stam CJ. Epilepsy: what can we learn from modern network theories. *Epileptologie.* 2016;33:38-43.
61. Van Den Heuvel MP, Sporns O. Network hubs in the human brain. *Trends Cogn Sci.* 2013;17(12):683-96.
62. Sporns O, Betzel RF. Modular brain networks. *Ann Rev Psychol.* 2016;67:613-40.
63. Griffa A, Van Den Heuvel MP. Rich-club neurocircuitry: function, evolution, and vulnerability. *Dialogues Clin Neurosci.* 2018;20(2):121.
64. Ren S, Li J, Taya F, Sousa J, Thakor NV, Bezerianos A. Dynamic functional segregation and integration in human brain network during complex tasks. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng.* 2016; 25(6):547-56.
65. Bettus G, Bartolomei F, Confort-Gouny S, Guedj E, Chauvel P, Cozzone PJ, et al. Role of resting state functional connectivity MRI in presurgical investigation of mesial temporal lobe epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatr.* 2010;81(10):1147-54.
66. Park CH, Choi YS, Jung AR, Chung HK, Kim HJ, Yoo JH, et al. Seizure control and memory impairment are related to disrupted brain functional integration in temporal lobe epilepsy. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 2017;29(4):343-50.
67. Meng L. A magnetoencephalography study of pediatric interictal neuromagnetic activity changes and brain network alterations caused by epilepsy in the high frequency (80–1000 Hz). *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng.* 2019;27(3):389-99.
68. Misra A, Long X, Sperling MR, Sharan AD, Moxon KA. Increased neuronal synchrony prepares mesial temporal networks for seizures of neocortical origin. *Epilepsia.* 2018;59(3):636-49.
69. Shah P, Bassett DS, Wisse LE, Detre JA, Stein JM, Yushkevich PA, et al. Structural and functional asymmetry of medial temporal subregions in unilateral temporal lobe epilepsy: A 7T MRI study. *Human Brain Mapp.* 2019;40(8):2390-8.
70. Yang T, Ren J, Li Q, Li L, Lei D, Gong Q, et al. Increased interhemispheric resting-state in idiopathic generalized epilepsy with generalized tonic–clonic seizures: a resting-state fMRI study. *Epilepsy Res.* 2014;108(8):1299-305.
71. Lopes MA, Richardson MP, Abela E, Rummel C, Schindler K, Goodfellow M, et al. An optimal strategy for epilepsy surgery: Disruption of the rich-club?. *PLoS Comput Biol.* 2017;13(8):e1005637.

72. Lee K, Khoo HM, Lina J-M, Dubeau F, Gotman J, Grova C, et al. Disruption, emergence and lateralization of brain network hubs in mesial temporal lobe epilepsy. *NeuroImage Clin.* 2018;20:71-84.
73. Ofer I, LeRose C, Mast H, LeVan P, Metternich B, Egger K, et al. Association between seizure freedom and default mode network reorganization in patients with unilateral temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2019;90:238-46.
74. Kramer MA, Cash SS. Epilepsy as a disorder of cortical network organization. *Neuroscientist.* 2012;18(4):360-72.
75. Kramer MA, Eden UT, Kolaczyk ED, Zepeda R, Eskandar EN, Cash SS. Coalescence and Zfragmentation of cortical networks during focal seizures. *J Neurosci.* 2010;30(30):10076-85.
76. Sporns O. Network attributes for segregation and integration in the human brain. *Curr Opin Neurobiol.* 2013;23(2):162-71.
77. Ren S, Li J, Taya F, DeSouza J, Thakor NV, Bezerianos A. Dynamic functional segregation and integration in human brain network during complex tasks. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng.* 2016; 25(6):547-56.
78. Mutlu AY, Bernat E, Aviyente S. A signal-processing-based approach to time-varying graph analysis for dynamic brain network identification. *Comput Math Methods Med.* 2012;2012.
79. Lehnertz K, Geier C, Rings T. Capturing time-varying brain dynamics. *EPJ Nonlinear Biomed Phys.* 2017;5(2).
80. Sizemore AE, Bassett DS. Dynamic graph metrics: Tutorial, toolbox, and tale. *Neuroimage.* 2018;180:417-27.
81. Wang H, Hu J, Zhu X, Chen Y, Zhang C. Time-Variant Graph Classification. *IEEE Trans Syst Man Cybern Syst.* 2018.
82. Ala TS, Ahmadi-Pajouh MA, Nasrabadi AM. Cumulative effects of theta binaural beats on brain power and functional connectivity. *Biomed Signal Process Control.* 2018;42:242-52.
83. Lin A, Maniscalco B, He BJ. Scale-free neural and physiological dynamics in naturalistic stimuli processing. *Eneuro.* 2016;3(5).
84. He BJ. Scale-free brain activity: past, present, and future. *Trends Cogn Sci.* 2014;18(9):480-7.
85. Garcia-Lazaro JA, Ahmed B, Schnupp JWH. Tuning to natural stimulus dynamics in primary auditory cortex. *Current Biol.* 2006; 16(3):264-71.
86. Mesquita MBS, de Castro Medeiros D, Cota VR, Richardson MP, Williams S, Moraes MFD. Distinct temporal patterns of electrical stimulation influence neural recruitment during PTZ infusion: an fMRI study. *Progress Biophys Mol Biol.* 2011;105(1-2):109-18.

87. Li R, Liao W, Li Y, Yu Y, Zhang Z, Lu G, et al. Disrupted structural and functional rich club organization of the brain connectome in patients with generalized tonic-clonic seizure. *Human brain mapping*. 2016;37(12): 4487-99.
88. Avoli M. Mechanisms of epileptiform synchronization in cortical neuronal networks. *Current Med Chem*. 2014;21(6):653-62.
89. Lévesque M, Salami P, Shiri Z, Avoli, M. Interictal oscillations and focal epileptic disorders. *Eur J Neurosci*. 2018;48(8):2915-27.
90. Thompson RF, Spencer WA. Habituation: a model phenomenon for the study of neuronal substrates of behavior. *Psychol Rev*. 1996;73(1):16.
91. Ponten SC, Douw L, Bartolomei F, Reijneveld JC, Stam CJ. Indications for network regularization during absence seizures: weighted and unweighted graph theoretical analyses. *Exp Neurol*. 2009;217(1):197-204.
92. Arviv O, Medvedovsky M, Sheintuch L, Goldstein A, Shriki O. Deviations from critical dynamics in interictal epileptiform activity. *J Neurosci*. 2016: 36(48):12276-92.
93. Milton JG. Neuronal avalanches, epileptic quakes and other transient forms of neurodynamics. *Eur J Neurosci*. 2012;36(2):2156-63.



Instituto de Ciências da Saúde
Programa de Pós Graduação
Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas
Avenida Reitor Miguel Calmon s/n - Vale do Canela. CEP: 40110-100
Salvador, Bahia, Brasil
<http://www.ppgorgsistem.ics.ufba.br>