



Identificación de las estructuras corticales implicadas en la generación de la actividad epiléptica crítica e intercrítica en pacientes con epilepsia fármacorresistente: un estudio de resonancia magnética funcional con EEG simultáneo

Antonio Jesús Donaire Pedraza

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

IDENTIFICACIÓN DE LAS ESTRUCTURAS CORTICALES
IMPLICADAS EN LA GENERACIÓN DE LA ACTIVIDAD EPILÉPTICA
CRÍTICA E INTERCRÍTICA EN PACIENTES CON EPILEPSIA
FÁRMACORRESISTENTE: UN ESTUDIO DE RESONANCIA
MAGNÉTICA FUNCIONAL CON EEG SIMULTÁNEO

Tesis presentada por

Antonio Jesús Donaire Pedraza

Para la obtención del título de Doctor por la Universidad de Barcelona

Dirigida por

Dra. Nuria Bargalló

Dra. Mar Carreño

Programa de Doctorado de Medicina

Departamento de Neurociencias

Hospital Clínic, Universidad de Barcelona



UNIVERSITAT DE BARCELONA



CLÍNIC
BARCELONA
Hospital Universitari

La Dra. Nuria Bargalló Alabart, consultora senior en Neuroradiología del Hospital Clínic i Provincial, Coordinadora de la plataforma de imagen médica de IDIBAPS e investigadora acreditada en el programa de doctorado de Medicina y Biomedicina, y la Dra. María del Mar Carreño Martínez, consultora en Neurología y directora de la Unidad de Epilepsia del Hospital Clínic y Provincial,

CERTIFICAN que han guiado y supervisado la tesis titulada “IDENTIFICACIÓN DE LAS ESTRUCTURAS CORTICALES IMPLICADAS EN LA GENERACIÓN DE LA ACTIVIDAD EPILÉPTICA CRÍTICA E INTERCRÍTICA EN PACIENTES CON EPILEPSIA FÁRMACORRESISTENTE: UN ESTUDIO DE RESONANCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL CON EEG SIMULTÁNEO”, presentada por Antonio J. Donaire Pedraza.

Por la presente afirman que esta tesis cumple todos los requisitos y disposiciones para ser defendida y obtener el título de doctor.

Firma,

Firma,

Dra. Nuria Bargalló Alabart

Dra. M. Mar Carreño Martínez

Barcelona, Junio 2013

Esta tesis ha sido llevada a cabo en el Instituto de Neurociencias, Servicio de Neurología, del Hospital Clínic, dentro de la línea de investigación de Neurociencias Clínicas y Experimentales, del departamento de Psiquiatría y Psicobiología Clínica de la Facultad de Medicina, Universidad de Barcelona.

El presente trabajo, y los estudios que han sido incluidos en él, ha sido financiado en base a Proyectos de Investigación del Fondo de Investigación Sanitaria (PI030395, PI0890278, y PI080122) de Instituto de Salud Carlos III, dependiente del Ministerio de Consumo, Economía y Competitividad y del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad.

<i>Prefacio</i>	VII
<i>Listado de Abreviaturas</i>	VIII
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Prevalencia de la epilepsia	3
1.2. Historia de la epilepsia	4
1.3. Concepto de epilepsia como enfermedad de redes neuronales	9
1.3.1. Epilepsia como enfermedad de redes neuronales: evidencias morfológico-estructurales	9
1.3.2. Epilepsia como enfermedad de redes neuronales: evidencias funcionales (conectividad cerebral)	10
1.4. Cirugía funcional de la epilepsia: localización de la zona epileptógena (ZE)	13
1.4.1. <i>Estudios neurofisiológicos: Electroencefalograma (EEG)</i>	18
1.4.1.1. Determinación de la zona irritativa (actividad epiléptica intercrítica)	17
1.4.1.2. Determinación de la zona de inicio ictal (actividad epiléptica crítica)	19
1.4.2. <i>Neuroimagen funcional: Determinación de la zona epileptógena</i>	21
1.4.2.1. Tomografía por emisión de fotón simple ictal (SPECT-ictal/SISCOM)	21
1.4.2.2. Tomografía por emisión de positrones con 18fluor-desoxi-glucosa (PET-FDG)	24
1.4.3. Resonancia magnética funcional con corregristo EEG (RMf-EEG)	28

1.4.3.1. Fundamentos de la resonancia magnética funcional (RMf): contraste BOLD	29
1.4.3.2. La respuesta hemodinámica	29
1.4.3.3. Resonancia magnética funcional en epilepsia	30
1.4.3.4. Análisis de los cambios de señal BOLD relacionados con la actividad epiléptica: método “event-related”	31
1.5. Motivo del estudio	37
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	39
3. MÉTODOS	43
3.1. Desarrollo del método de análisis secuencial de las imágenes de RMf- EEG (Fase I: Estudios I y II).	46
3.1.1 Estudio I: Método de análisis secuencial de RMf-EEG (“Bloques vs Basal”)	46
3.1.2 Estudio II: Método de análisis secuencial de RMf-EEG (“Contraste de bloques”)	49
3.2. Validación clínica de los resultados del método de análisis secuencial de las imágenes de RMf-EEG (Fase II: Estudios I, II y III)	51
4. RESULTADOS	53
4.1. Estudio I: “Sequential analysis of fMRI images: A new approach to study human epileptic networks”	54
4.2. Estudio II: “Identifying the structures involved in seizure generation using sequential analysis of ictal-fMRI data”	67
4.3. Estudio III: “Identifying the cortical substrates of interictal epileptiform activity in patients with extratemporal epilepsy: An EEG-fMRI sequential analysis and FDG-PET study”	80

5. DISCUSIÓN	95
5.1. Método de análisis secuencial de las imágenes de RMf-EEG	97
5.1.1. Análisis secuencial de las crisis epilépticas: RMf-EEG-ictal	97
5.1.2. Análisis secuencial de la actividad epiléptica interictal: RMf-EEG-interictal	99
5.2. Cambios de señal BOLD negativa relacionados con la actividad epiléptica y su relación con la red de reposo cerebral “Default mode network”	100
5.3. Diferencias con el método de análisis estándar de RMf (“Event Related)	102
5.4. Comparación y corrección de los resultados obtenidos mediante el análisis secuencial de la RMf-EEG con el SPECT-ictal/ SISCOM y el FDG-PET	103
5.5. Correlación de los resultados obtenidos mediante el análisis secuencial de la RMf-EEG con los estudios de EEG-intracraneal	106
5.6. Relación entre las activaciones relacionadas con la actividad epiléptica ictal e interictal y los resultados tras la cirugía funcional de la epilepsia	107
5.7. Limitaciones del estudio	108
6. CONCLUSIONES	111
7. BIBLIOGRAFÍA	115

PREFACIO

Esta tesis, presentada para obtener el título de Doctor por la Universidad de Barcelona, es el resultado de tres diferentes estudios realizados en el departamento de Neurología, Instituto de Neurociencias, del Hospital Clínic i Provincial de Barcelona. Durante este periodo he obtenido el Diploma de Estudios Avanzados (DEA) del Programa de Neurociencias de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona.

Los siguientes artículos han sido publicados en revistas internacionales con un factor de impacto (IF) global de 13.817 (ISI Web of Knowledge, Journal Citation Reports edición de 2011):

Estudio I

*Donaire A, Falcón C, Carreño M, Bargalló N, Rumià J, Setoain J, Maestro I, Boget T, Pintor L, Agudo R, Falip M, Fernández S. **Sequential analysis of fMRI images: A new approach to study human epileptic networks.** *Epilepsia.* 2009 Dec;50(12):2526-37*

Estudio II

*Donaire A, Bargalló N, Falcón C, Maestro I, Carreño M, Setoain J, Rumià J, Fernández S, Pintor L, Boget T. **Identifying the structures involved in seizure generation using sequential analysis of ictal-fMRI data.** *Neuroimage.* 2009 Aug 1;47(1):173-83.*

Estudio III

*Donaire A, Capdevila A, Carreño M, Setoain X, Rumià J, Aparicio J, Campistol J, Padilla N, Sanmartí F, Vernet O, Pintor L, Boget T, Ortells J, Bargalló N. **Identifying the cortical substrates of interictal epileptiform activity in patients with extratemporal epilepsy: An EEG-fMRI sequential analysis and FDG-PET study.** *Epilepsia.* 2013 Apr;54(4):678-90.*

LISTADO DE ABREVIATURAS

ILAE: Liga internacional contra la epilepsia.

BOLD (*Blood oxygen level dependent*): Señal o contraste dependiente del nivel de oxigenación de la sangre.

ZE: Zona epileptógena.

EEG: Electroencefalograma.

SPECT: Tomografía por Emisión de Fotón Simple

SISCOM: Tomografía por emisión de fotón simple Ictal Sustraído y Corregistrado con la Resonancia Magnética.

PET-FDG: Tomografía por Emisión de Positrones con ¹⁸Fluor-Desoxi-Glucosa.

PET-RM: Tomografía por emisión de positrones corregistrado con la resonancia magnética.

RM: Resonancia magnética.

RMf: Resonancia magnética funcional.

RMf-EEG: Resonancia magnética funcional con correregistro electroencefalográfico.

SPM: Statistical Parametric Mapping.

FWE: Family Wise Error.

ICA: Análisis de componentes independientes.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría expresar mi más sincero agradecimiento a mis compañeros de la Unidad de Epilepsia, y muy especialmente, a mis directoras de tesis, por haber amparado y promovido desde el principio las ideas que en este trabajo de investigación se desarrollan.

También me gustaría hacer extensivo este agradecimiento a todas aquellas personas que han colaborado y participado para que esta tesis haya sido posible, desde el personal técnico de la Plataforma de Imagen del IDIBPAS hasta los pacientes y familiares, que de forma voluntaria y desinteresada han formado parte del estudio, pasando por los técnicos de la resonancia y de la Unidad de Epilepsia del Hospital Clínic y del Hospital de Sant Joan de Déu, sin cuya participación este proyecto habría sido del todo imposible.

*A mi familia, a mi madre, a mi padre,
a mi hermano, a Nelly.*

“En vez de aplicar la observación a las cosas que deseamos saber, hemos decidido imaginarlas”

Condillac

“ La tarea no consiste tanto en ver lo que nadie ha visto todavía como en pensar lo que nadie ha pensado todavía sobre lo que todo el mundo ve”

Erwing Schrödinger

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN.

1.1. Prevalencia de la epilepsia

La epilepsia es una de las enfermedades neurológicas crónicas más comunes en la población, con una prevalencia de 3,4 a 11,3 casos por cada 1000 habitantes. En todo el mundo se calcula que la epilepsia afecta a 50 millones de personas. De acuerdo con un sondeo realizado por la organización mundial de la salud, esta entidad representa el 1% de todas las enfermedades consideradas globalmente, una cifra que es equivalente a la prevalencia de cáncer de mama, en mujeres, o al cáncer de pulmón, en hombres. Alrededor del 60-70% de los pacientes con epilepsia, experimentarán crisis focales y, aproximadamente, un 30-40% desarrollarán crisis generalizadas (Commission on Classification and Terminology (ILAE), 1981).

El pilar fundamental del tratamiento de la epilepsia reside en el tratamiento médico con fármacos antiepilépticos. Su finalidad es dejar a los pacientes libres de crisis con los mínimos efectos adversos posibles. Hasta dos tercios de pacientes responden de manera adecuada a la medicación antiepiléptica (Dasheiff *et al.* , 1986, Gilman *et al.* , 1994, Hermanns *et al.* , 1996). A los pacientes que no responden al tratamiento farmacológico se les denomina fármacorresistentes.

Se considera que una epilepsia es resistente al tratamiento farmacológico cuando se ha producido el fracaso a dos fármacos antiepilépticos, bien tolerados, apropiadamente elegidos y empleados de forma adecuada para conseguir la ausencia mantenida de crisis (Berg and Kelly, 2006). Teniendo en cuenta todos los tipos de epilepsia, en general, el porcentaje de pacientes que no responderán adecuadamente a la medicación antiepiléptica es del 31 al 37.5% (Berg and Kelly, 2006). El mayor riesgo de fármacorresistencia lo presentan las epilepsias catastróficas, que generalmente ocurren en niños. Las epilepsias idiopáticas tienen el menor riesgo y las epilepsias parciales, o focales, tienen un riesgo moderado. Así, el porcentaje de fármacorresistencia según el tipo de epilepsia es del 24% en la epilepsia focal, del 9.3% en la epilepsia idiopática y, en la epilepsia catastrófica, el porcentaje se eleva hasta el 66.7% (Berg *et al.* , 2006). En este grupo de pacientes que no responden de manera adecuada al tratamiento farmacológico, es donde la cirugía funcional de la epilepsia constituye una opción terapéutica para el control de las crisis epilépticas.

1.2. Historia de la epilepsia

La epilepsia es conocida desde la antigüedad. La primera descripción de una crisis epiléptica aparece en un texto que data de 2000 años antes de Cristo, escrito en lenguaje acadio, usado en la antigua Mesopotamia por los asirios. Descripciones posteriores de epilepsia se encuentran en textos médicos egipcios (1700 a.C.) y babilonios (1067-1046 a.C.).

En la Grecia clásica, la epilepsia era denominada como la “enfermedad sagrada”. Un aura de misticismo y superstición rodeaba a la epilepsia. Para los griegos la epilepsia era una miasma, una noxa que pululaba en el aire y que se engastaba en el alma. Las crisis epilépticas representaban el ejemplo más vívido de una posesión demoníaca. La palabra *epilepsia* deriva del verbo griego *epilambanein* (ἐπιλαμβάνειν), que significa “ser sacudido o golpeado”, “ser poseído” o “ser atacado”, y se utilizaba para definir a las crisis epilépticas propiamente dichas. No fue hasta el siglo V a.C., cuando esta palabra fue adquiriendo progresivamente el significado específico que conocemos en la actualidad.

Fue Hipócrates, 400 años a.C., quien propuso la primera descripción formal de la epilepsia como una enfermedad orgánica, cuyo origen se situaba en el cerebro; en lugar de una enfermedad divina, debida a la acción de dioses o demonios. Además, sugirió que la herencia podía jugar un papel importante en la enfermedad.

Los intentos de definir la epilepsia continuaron durante el Imperio Romano (siglo II d.C.). En este periodo, Aelius Galenus sistematizó las posibles causas de la epilepsia y describió la alteración del nivel de conciencia como un síntoma cardinal de las crisis epilépticas. Galeno fue capaz de discernir entre tres formas de epilepsia: 1. Idiopática, atribuida a una alteración primaria del cerebro; 2. Formas secundarias, atribuidas a una alteración de la función cardíaca transmitida secundariamente a través del flujo de los líquidos al cerebro (epilepsia por simpatía), y 3. Una forma atribuida a la alteración de una parte del cuerpo que es transmitida secundariamente al cerebro. En todas las formas, Galenus admitió que era el cerebro el responsable de la enfermedad. A este autor también se le atribuye la introducción del término *aura* (

en griego, brisa marina (sea breeze), la cual es descrita en un joven que presentaba una sensación de frío que empezaba en su pie, que posteriormente ascendía, y que precedía el inicio de sus crisis.

En este periodo, Aretaeus de Cappadocia (siglo I/II d.C.), proporcionó una descripción muy detallada de las crisis generalizadas y describió, por primera vez, una serie de alucinaciones que ocasionalmente precedían las crisis epilépticas. Él se dio cuenta de que, olores fétidos, círculos luminosos de diversos colores, ruido en los oídos, temblores y sensaciones en las manos y en los pies, podían preceder el inicio de las crisis. Sin utilizar el término, fue capaz de describir el aura visual, olfatoria y auditiva, junto a otros síntomas sensitivos que suelen ocurrir al inicio de las crisis epilépticas en determinados tipos de epilepsia. Al igual que Hipócrates, Aretaeus observó que la frecuencia de las crisis era mayor en niños que en los adultos, la tendencia de las crisis a recurrir una vez que se habían establecido y la remisión de las crisis en pacientes seniles.

La transición de la capital del imperio de Roma a Constantinopla en año 330 d.C. marcó la transición del imperio Romano al imperio Bizantino. Los médicos bizantinos, Año 330 d.C., resumieron y ordenaron las teorías de la Grecia Clásica y analizaron con mayor profundidad las causas de la enfermedad. En este sentido, Oribasius de Pergamum (320-400 a.C.), creyó que la flema provocaba las convulsiones epilépticas. Además, consideró la influencia de diversos factores externos, como la luna y el clima, en el funcionamiento del cerebro. Alexander de Tralles (s. VI d.C.), influenciado por Galeno, clasificó la epilepsia en primaria, originada en el cerebro; otra, originada desde el estómago y una tercera, originada desde otras partes del cuerpo que termina por alcanzar el cerebro. A este autor se le atribuye la primera descripción de la epilepsia refleja a la lectura.

Durante la Edad Media, la visión de la epilepsia está cargada de especulaciones teológicas que perpetuaron la confusión y la visión supersticiosa de la enfermedad durante esta época.

En el Renacimiento (s. XIV-XVII) se produjo una producción literaria excepcional en el campo de la epilepsia. En este tiempo, los esfuerzos se

concentraron en identificar los posibles mecanismos subyacentes de las crisis epilépticas y en su clasificación. Aunque continuaban las creencias sobrenaturales sobre el origen de la epilepsia, éstas fueron separándose cada vez más de las teorías organicistas.

Paracelsus (1493-1541) describió cinco variedades de epilepsia, las cuales se iniciaban en el cerebro, en el hígado, en el corazón, en el intestino y en los miembros. Ampliando así, la clasificación previa de Galeno. Además, por primera vez se interpretó la epilepsia como una enfermedad física y química, que podría tener un tratamiento químico. Según Paracelsus, en una crisis epiléptica, los “espíritus vitales” del cuerpo súbitamente se ponen en ebullición en el lugar donde aparentemente se genera la crisis epiléptica. Posteriormente, se extienden a otras partes del organismo, y, una vez que alcanzan el cerebro, la conciencia se pierde. Este concepto de Paracelsus, de que las crisis se originaban de la súbita hiperactividad de algunas partes del cuerpo, fue retomado y refinado, un siglo después, por Thomas Willis (1621-1675), restringiéndola fundamentalmente al cerebro. Sin embargo, el primer autor que postuló que las crisis tienen su origen en el cerebro fue Charles Le Pois (1563-1636).

En el siglo XVI y XVII, periodo conocido como la Revolución Científica, se describieron por vez primera algunos de los síndromes epilépticos que aún continúan vigentes en nuestros días. Se describió la epilepsia rolándica benigna (Martinus Rolandus, 1597), las crisis focales motoras (jacksonianas)(John Locke, 1676) y la epilepsia mioclónica juvenil (Thomas Willis, 1667). Thomas Willis sugirió que las crisis epilépticas se originaban por una contracción de las meninges, que, a su vez, comprimían los “espíritus animales” (una entidad intangible cuya existencia había sido ya invocada en los tiempos de Galeno) desde el cerebro a los nervios periféricos, dando lugar a extensas e intensas contracciones musculares. Posteriormente, sustituyó la noción de la contracción meníngea por la explosión de los “espíritus animales” en el centro del cerebro. Esta explosión en el cerebro causaba la pérdida de conciencia y la subsiguiente radiación centrífuga de la explosión hacia los nervios periféricos, daba lugar a las convulsiones musculares.

Durante el siglo XVIII, la noción de los “espíritus animales” como explicación de la actividad cerebral fue reemplazada por el concepto de actividad eléctrica, como base de la función neuronal, tras el trascendental descubrimiento de la actividad eléctrica en animales de Luigi Galvani (1780).

Además, en este periodo, surgió un gran interés por la base patológica de la epilepsia y se sugirió que las crisis epilépticas se originaban a partir de anomalías estructurales del cerebro.

En el siglo XIX, el concepto humoral de la epilepsia se fue abandonando progresivamente y se estableció que las epilepsias eran causadas por una alteración estructural o funcional del cerebro. Las epilepsias debidas a una lesión estructural se llamaron epilepsias sintomáticas, estructurales o lesionales. Y, las epilepsias sin una lesión estructural, se denominaron funcionales, idiopáticas o centroencefálicas.

A partir de este siglo, la existencia de convulsiones dejó de ser un requisito para el diagnóstico de epilepsia. Hecho que aumentó el interés por el estudio y la descripción de manifestaciones menores de la epilepsia. Se describieron como crisis, las breves alteraciones del nivel de conciencia características de la epilepsia generalizada idiopática tipo ausencias; denominadas como tal, por Calmeil, y, como “petit mal”, por Esquirol. En este periodo Jhon Hughlings Jackson introdujo, por primera vez, una dimensión localizadora para comprender los mecanismos subyacentes de la epilepsia, al diferenciar entre epilepsias generalizadas y focales. Además, anticipó algunas teorías fisiológicas que luego fueron confirmadas con el advenimiento del EEG. Para Jackson, la epilepsia era el resultado de la descarga ocasional, súbita, excesiva y focal de la sustancia gris (Diamantis *et al.* , 2010, Gross, 1992, Magiorkinis, 2010).

Ya en el siglo XX, la epilepsia quedó definida como una enfermedad neurológica crónica caracterizada por crisis epilépticas recurrentes. La comisión de clasificación y terminología de la Liga Internacional Contra la Epilepsia (ILAE) publicó la primera propuesta revisada para la clasificación electroclínica de las crisis epilépticas en 1981 (Commission on Classification and Terminology (ILAE), 1981)]. Dicha clasificación se basó en las características clínicas y en las manifestaciones electroencefalográficas de las crisis. Posteriormente, esta clasificación ha ido sufriendo diversas modificaciones y nuevas propuestas de clasificación han ido

surgiendo. Sin embargo, la definición de crisis epiléptica ha permanecido sin cambios en los últimos 130 años. Las crisis epilépticas se definen como la manifestación clínica resultante de la descarga anormal y excesiva de un grupo de neuronas en el cerebro (Commission on Epidemiology and Prognosis (ILAE), 1993, Blume *et al.* , 2001, Fisher *et al.* , 2005). También se ha mantenido hasta nuestros días el concepto de epilepsia como una enfermedad ligada a un “foco epiléptico” único, bien delimitado, restringido a una circunvolución cerebral, desde el que la actividad epiléptica propaga por el cerebro, de una manera más o menos aleatoria, dando lugar a las manifestaciones clínicas de la epilepsia.

Sin embargo, en el año 2010 (Berg *et al.* , 2010), la comisión de la ILAE para la clasificación y terminología de la epilepsia revisó la definición de epilepsia y de las crisis epilépticas, introduciendo por primera vez el concepto de *redes epilépticas* en la definición de crisis epilépticas. De esta manera, las crisis generalizadas se definieron como eventos que se originan en algún punto del cerebro y que rápidamente involucran redes neuronales distribuidas bilateralmente. Tales redes neuronales pueden incluir estructuras corticales y subcorticales, pero no necesariamente toda la corteza cerebral. Por primera vez, se propone, de manera oficial, que las crisis generalizadas pueden tener un origen focal dentro del cerebro. Este hecho supone un cambio de concepción de las crisis generalizadas que venía siendo discutido desde hacía mucho tiempo, sobre todo, tras la introducción de técnicas de neuroimagen funcional que mostraban la naturaleza focal de este tipo de crisis (Moeller *et al.* , 2010). Por otra parte, las crisis epilépticas focales quedaban definidas como crisis que se originan en una red neuronal limitada a un hemisferio cerebral. Estas redes pueden estar bien localizadas dentro de un hemisferio o estar ampliamente distribuidas dentro del mismo. Incluso, se acepta la participación del hemisferio contralateral como parte integral de una crisis epiléptica focal. De tal forma que, para cada crisis focal, el inicio de las crisis se mantendrá de manera constante entre una crisis y otra, y seguirá unos patrones de propagación preferentes que pueden involucrar al hemisferio contralateral. Con este cambio en la conceptualización de las crisis epilépticas, se acepta que la epilepsia puede ser una enfermedad cuyo sustrato fisiopatológico es la disfunción de determinadas redes neuronales relacionadas estructuralmente o funcionalmente con el foco generador de las crisis epilépticas.

1.3. Concepto de epilepsia como enfermedad de redes neuronales

Existe evidencia tanto desde el punto de vista morfológico-estructural como desde el punto de vista funcional (conectividad cerebral), para dejar de considerar a la epilepsia como una enfermedad focal, cuyo sustrato fisiopatológico se encuentra relacionado únicamente con un foco epiléptico, bien localizado, y considerar a la epilepsia como una enfermedad de redes neuronales. Redes, que estarán constituidas por todas aquellas regiones cerebrales, corticales o subcorticales, relacionadas estructural o funcionalmente con el generador de las crisis epilépticas. Una enfermedad donde determinadas estructuras, bien en vecindad o bien a distancia del foco epiléptico, se ven involucradas durante la generación y la propagación de la actividad epiléptica crítica e intercrítica.

1.3.1. Epilepsia como enfermedad de redes neuronales: evidencias morfológico-estructurales.

Diversos estudios de grosor cortical, basados en resonancia magnética, muestran que, por ejemplo, la epilepsia del lóbulo temporal mesial secundaria a una esclerosis de hipocampo no es una enfermedad tan focal como se pensaba (Bernhardt *et al.* , 2010, Bernhardt *et al.* , 2008, Lin *et al.* , 2007). Además de la atrofia hipocámpica propia de la enfermedad, existe una disminución del grosor cortical en regiones extrahipocampales ipsilaterales al foco epiléptico, situadas sobre la región temporal lateral, el opérculo frontal, la región frontal basal, la región prefrontal, el lóbulo paracentral, el giro cingulado y la región parieto-occipital. Pero, además, se encontraron disminuciones significativas del grosor cortical en regiones homónimas del hemisferio contralateral. Por lo que, el grado de afectación estructural, y probablemente también funcional, es mucho más extenso de lo que a priori se podía pensar en una epilepsia que tiene su origen en una estructura tan específica como es el hipocampo. En este sentido, estudios de morfometría cerebral con resonancia magnética, basados en el análisis vóxel a vóxel (Voxel Based Morphometry, VBM), también han demostrado que la disminución de volumen en el hipocampo epiléptico se asocia con una disminución de la sustancia gris, tanto en estructuras límbicas extrahipocampales como en regiones extratemporales, próximas

o distantes del foco epiléptico (Bonilha *et al.* , 2010, Bonilha *et al.* , 2007, Riederer *et al.* , 2008). Estos hallazgos demuestran, que la epilepsia temporal secundaria a una esclerosis de hipocampo se asocia a cambios morfológico-estructurales que se extienden más allá del foco generador de las crisis.

Además, si tenemos en cuenta que la reducción de sustancia gris en pacientes con epilepsia temporal mesial sigue un patrón espacial muy concreto, implicando de manera constante las mismas estructuras cerebrales, se podría sugerir, que este tipo de epilepsia da lugar a una alteración estructural patológica que afecta a una determinada red funcional cerebral, constituida por todas aquellas estructuras conectadas anatómicamente y funcionalmente con el generador inicial de las crisis epilépticas, en este caso en particular, con el hipocampo esclerosado-epiléptico. Por tanto, resultaría también razonable pensar que la excesiva activación metabólica inducida por la generación y propagación de la actividad epiléptica desde las estructuras límbicas, pueda dar lugar a fenómenos de muerte neuronal y fenómenos de plasticidad en circuitos corticales o subcorticales, locales o distantes, que serían los responsables de las alteraciones estructurales encontradas en este tipo de epilepsia.

1.3.2 Epilepsia como enfermedad de redes neuronales: evidencias funcionales (conectividad cerebral).

Como ya se ha señalado anteriormente, la actividad neuronal anómala e hipersíncrona generada durante una crisis epiléptica puede provocar alteraciones estructurales en regiones corticales distantes del área de inicio ictal, bien a través de la propagación de las crisis, bien como consecuencia de su generalización secundaria o del desarrollo de una epileptogénesis secundaria. De esta manera, el foco epiléptico/ictal, puede ser considerado como el iniciador de un circuito o de una red neuronal. Una red, que, potenciada y favorecida por las continuas crisis, dará lugar a la creación de conexiones aberrantes con otras regiones del cerebro, siguiendo las vías de propagación de las crisis epilépticas. Generándose así, una red de conexiones facilitadas que emergen desde la zona de inicio ictal (Tracy *et al.* , 2012).

En la actualidad, esta red de conexiones anómalas puede ser estudiada mediante el uso de técnicas de conectividad funcional cerebral. Estas técnicas se

basan en el estudio de las fluctuaciones espontáneas de la señal BOLD (Blood Oxygen Level Dependent) que ocurren dentro de una determinada red cerebral. En el caso de la epilepsia, nos mostrarán las regiones cerebrales que constituyen la red epileptogénica (Figura 1). En este sentido, diversos estudios han mostrado la existencia de extensas alteraciones de la conectividad cerebral en pacientes con epilepsia (Tracy *et al.* , 2012, Bettus *et al.* , 2009, Liao *et al.* , 2010, Liao *et al.* , 2011, Luo *et al.* , 2011, Luo *et al.* , 2012, Pittau *et al.* , 2012, Zhang *et al.* , 2010). Por ejemplo, en pacientes con epilepsia del lóbulo temporal mesial existe un aumento de la conectividad cerebral entre las estructuras temporales mesiales (origen de las crisis epilépticas) y el lóbulo frontal y parietal ipsilaterales (Liao *et al.* , 2010); así como, con estructuras temporales mesiales contralaterales. Por otra parte, también se ha encontrado que puede existir un aumento (Tracy *et al.* , 2012, Liao *et al.* , 2010), o una disminución, de la conectividad funcional entre las diferentes estructuras temporales mesiales relacionadas con el foco epiléptico (amígdala, hipocampo, polo temporal y córtex entorrinal) (Bettus *et al.* , 2009, Pittau *et al.* , 2012), en función del tiempo de evolución de la epilepsia, de la severidad de las crisis y del grado de afectación estructural de las estructuras mesiales.

Además, en este tipo de epilepsia, se han objetivado reducciones significativas de la conectividad cerebral entre el foco epiléptico y la red de reposo cerebral (“Resting State Network”, sobre todo a nivel del córtex límbico ventromedial prefrontal y del precúneo (Pittau *et al.* , 2012).

En definitiva, todos estos hallazgos ponen de manifiesto que la epilepsia se comporta como una enfermedad de redes neuronales, en la que a partir de una generador inicial numerosas regiones cerebrales se ven implicadas (Tracy *et al.* , 2012). El conocimiento de estas redes, de las estructuras cerebrales que las componen, resultará básico para profundizar en el conocimiento de la fisiopatología de la epilepsia (Liao *et al.* , 2011, Luo *et al.* , 2012, Stufflebeam, 2011). Además, tanto en los estudios de conectividad funcional cerebral como en la cirugía de la epilepsia, resulta fundamental conocer con precisión la distribución espacial de los generadores corticales de la actividad epiléptica, lo cuál constituye el objetivo fundamental de este trabajo de investigación.

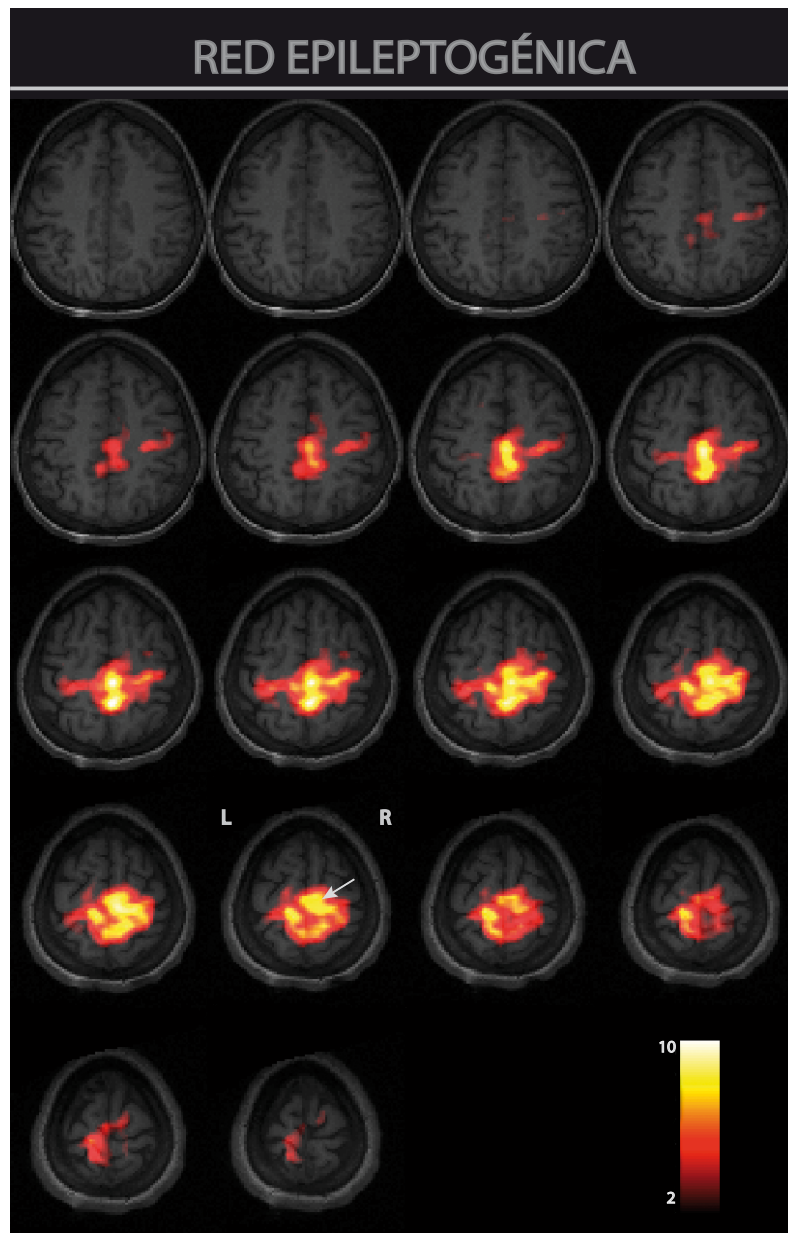


Figura 1. Conectividad funcional cerebral: Redes neuronales.

Figura que muestra la red epileptogénica de un paciente con epilepsia focal frontal derecha, determinada mediante el análisis de componentes independientes de las imágenes de resonancia magnética funcional. La flecha indica la localización de un área de displasia cortical focal, que constituye el sustrato patológico de las crisis. En la imagen se aprecia cómo las áreas de activación relacionadas con la actividad epiléptica intercrítica se extienden más allá de los límites de supuesto “foco” epiléptico, abarcando áreas próximas y distales, incluso en el hemisferio contralateral, conectadas funcional o estructuralmente con dicho “foco”.

1.4. Cirugía funcional de la epilepsia: localización de la zona epileptógena (ZE)

La cirugía funcional de la epilepsia resulta ser un método eficaz para el control de las crisis epilépticas, en aquellos pacientes que no responden de manera adecuada a la medicación antiepiléptica. Esta cirugía se basa en un principio básico y fundamental: “Si la región cortical generadora de las crisis (“zona epileptógena (ZE) o foco epiléptico”) es completamente reseçada, o desconectada, se conseguirá el control de las crisis”. Sin embargo, en la actualidad, no existe ninguna técnica de neuroimagen, o procedimiento neurofisiológico, que determine con precisión la localización ni la extensión de la zona epileptógena. Solamente en aquellos pacientes que quedan libres de crisis tras la cirugía, podemos, por definición, concluir que la zona epileptógena ha sido incluida en la resección. Aún en este supuesto, existe la posibilidad de que la zona epileptógena fuera de menor tamaño que la resección realizada, y que, por tanto, una resección más limitada hubiera sido suficiente para el control de las crisis.

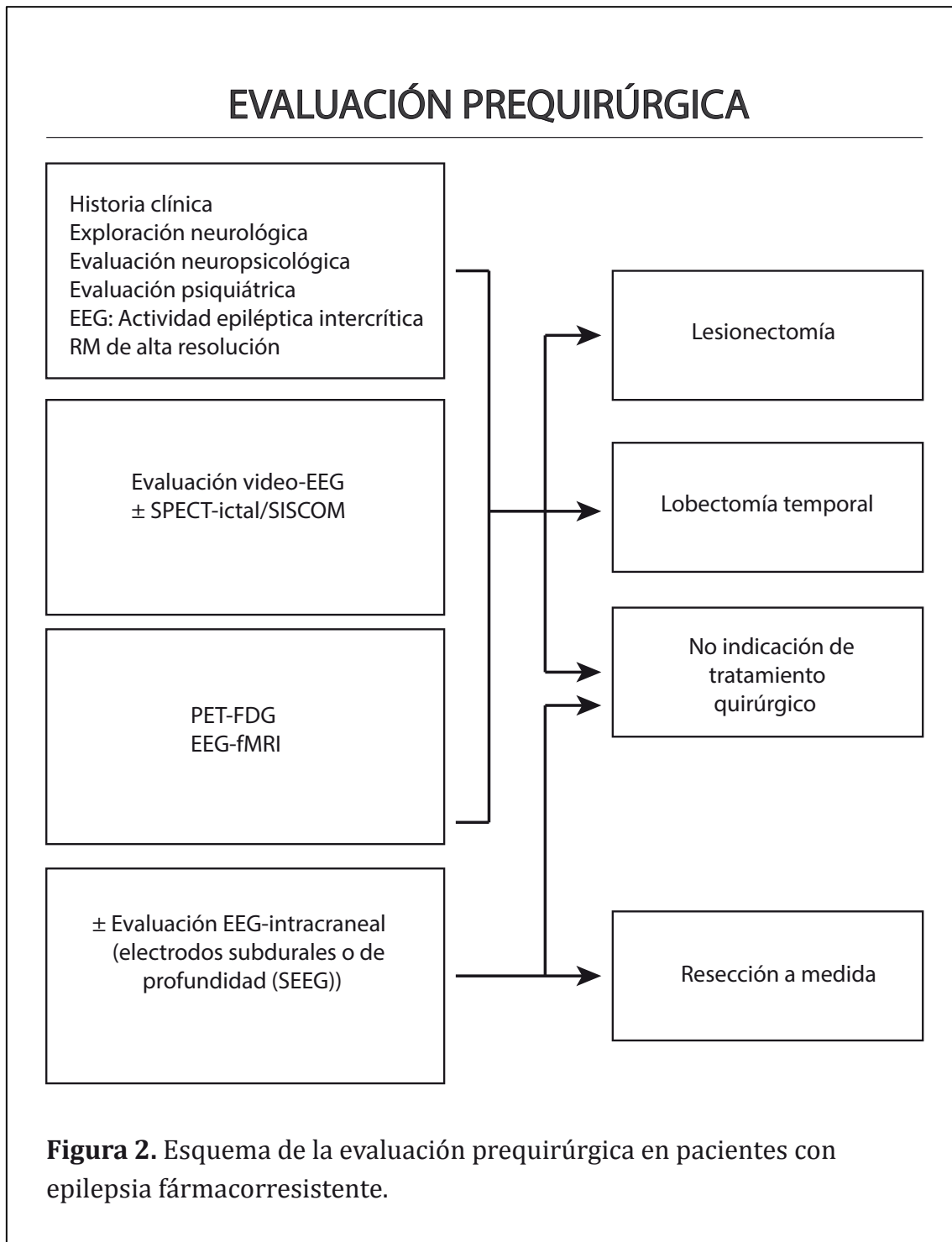
Queda patente así que, a pesar del extenso conocimiento de la epilepsia del que disponemos hoy día, todavía permanece como materia de estudio la localización exacta de los generadores corticales de la actividad crítica e intercrítica, así como las vías de propagación que las crisis utilizan durante su evolución. Por tanto, cualquier procedimiento que permitiera la localización precisa de estos generadores corticales y sus vías de propagación resultaría de vital importancia para mejorar los resultados de la cirugía de la epilepsia.

En general, en la práctica clínica diaria, la localización y la extensión de la zona epileptógena se intenta definir de acuerdo a la evaluación prequirúrgica, que incluye: una historia detallada de las crisis epilépticas, una exploración física y neurológica completa, una evaluación video-EEG prolongada, una resonancia magnética estructural de alto campo con protocolo de epilepsia, y una evaluación neuropsicológica completa (Figura 2).

Generalmente, estas exploraciones se complementan con otras técnicas diagnósticas de creciente complejidad y dificultad técnica, como son: la realización de estudios de neuroimagen funcional (SPECT, PET o RMf-EEG –en fase de

desarrollo-) (Figure 3) o de estudios neurofisiológicos invasivos (con mantas de electrodos subdurales o con electrodos de profundidad). Estos últimos, estarán específicamente indicados en aquellos pacientes en los que la zona epileptógena no queda bien definida durante la evaluación prequirúrgica estándar o en aquellas situaciones en las que la zona epileptógena se encuentra situada en la vecindad de una región cortical elocuente, en cuyo caso, se hace preciso, antes de realizar la escisión quirúrgica, el mapeo funcional de las estructuras corticales circundantes (Figura 2).

La decisión final sobre la localización y la extensión de la zona epileptógena, dependerá de la información obtenida tras la evaluación prequirúrgica, de la interrelación entre los resultados obtenidos mediante las distintas técnicas diagnósticas y de su convergencia en una determinada región cortical. En este proceso, resultará fundamental conocer en profundidad lo que determina cada una de las técnicas diagnósticas, y tener en cuenta sus limitaciones, para evitar cualquier sesgo en la localización de la zona epileptógena.



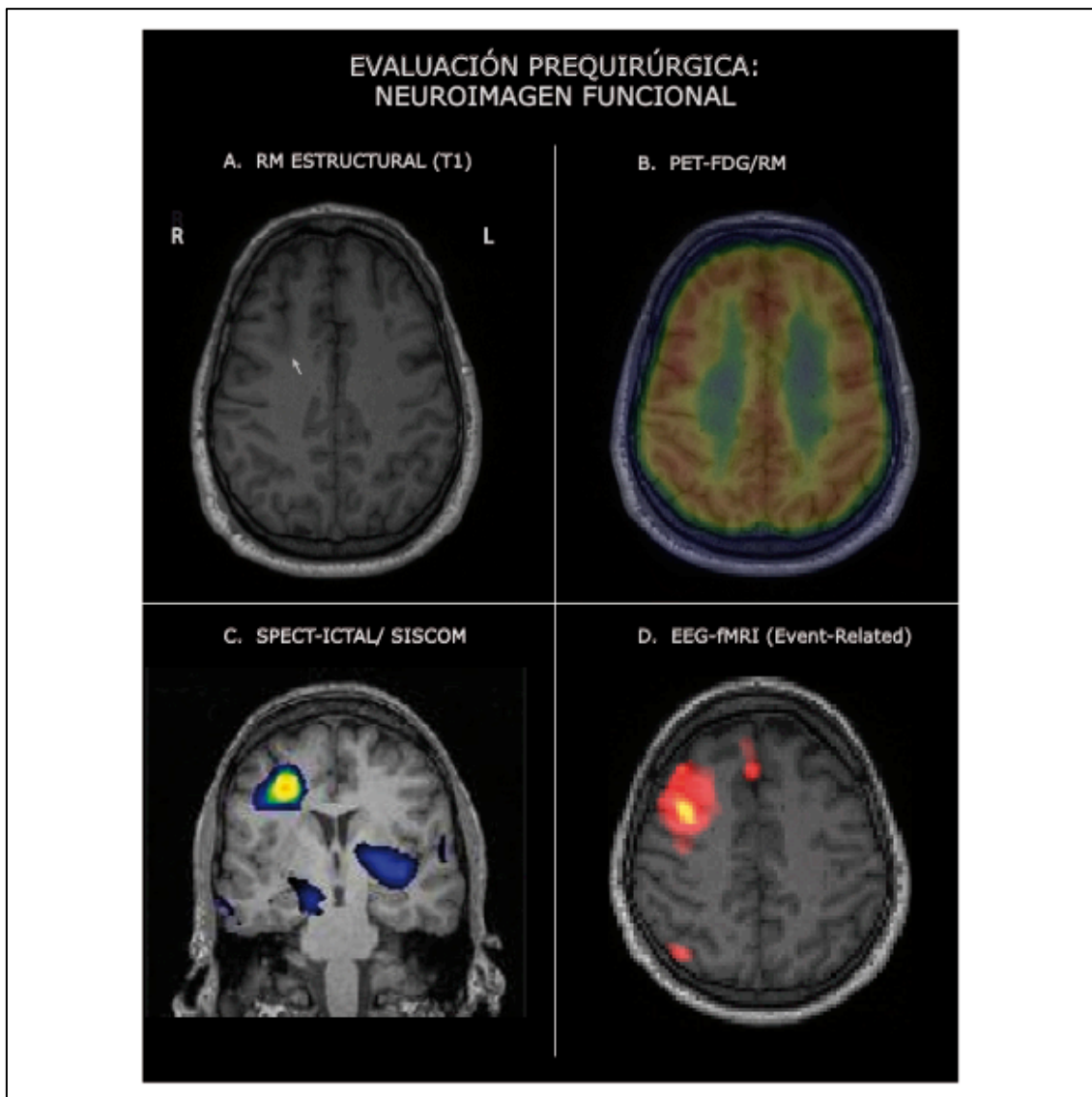


Figura 3. Técnicas de neuroimagen funcional empleadas durante la evaluación prequirúrgica en pacientes con epilepsia fármacorresistente.

En la figura se representan las distintas técnicas de neuroimagen funcional empleadas en la evaluación de un paciente con epilepsia frontal derecha, secundaria a una malformación del desarrollo cortical (Flecha blanca).

En la resonancia magnética estructural (A) se puede observar la existencia de un engrosamiento cortical localizado en el surco frontal superior derecho, asociado a una pobre diferenciación entre la sustancia gris y la sustancia blanca. El PET-FDG corregistrado sobre la resonancia (B) muestra la presencia de una clara región de hipometabolismo focal situado sobre dicha región. A su vez, el SPECT-ictal/SISCOM (C) muestra un aumento significativo de la perfusión cerebral localizado en la porción más inferior y profunda de dicho surco. Por último, el estudio de RMf-EEG interictal, siguiendo el método estándar de análisis (“event-related”), señala un área de activación, bien definida, localizada en la profundidad de la región displásica frontal derecha. Sin embargo, además de ésta, se pueden observar otras áreas de activación, localizadas sobre la región homónima contralateral y sobre la región parietal mesial bilateral, que podrían corresponder a áreas de propagación de la actividad epiléptica intercrítica.

En términos generales, el mejor marcador para localizar la región del córtex desde dónde las crisis son generadas, es la presencia de una lesión en la resonancia magnética (Lee *et al.* , 2005). En este sentido, la identificación de una lesión concordante con las manifestaciones electroencefalográficas ictales e interictales se asocia con un mejor pronóstico tras la cirugía, en términos de libertad de crisis (Berg *et al.* , 2009, Cascino, 2001, Cendes, 2013, Tellez-Zenteno *et al.* , 2010). Además, la resonancia magnética estructural nos proporciona información sobre la naturaleza de la causa subyacente de la epilepsia, nos ayuda a identificar los síndromes epilépticos que son remediables quirúrgicamente y nos provee de información sobre la extensión de la resección tras la cirugía (Cascino, 2008). Entre las posibles causas de epilepsia fármacorresistente, la más frecuente es la esclerosis mesial temporal, (Radhakrishnan *et al.* , 1998, Spencer *et al.* , 2005) y la resonancia magnética permite su detección en el 80-90% de las ocasiones (Cascino, 2008, Cascino *et al.* , 1996, Jack *et al.* , 1990). Sin embargo, hasta en un 20-30% de los pacientes con epilepsia temporal y entre un 20-40% de los pacientes con epilepsia extratemporal no van a presentar una clara lesión en la resonancia (Tellez-Zenteno *et al.* , 2010, Hong *et al.* , 2002). Por esta razón, será necesario el estudio detallado de la actividad epiléptica intercrítica y crítica y la utilización de distintas técnicas de neuroimagen funcional, para localizar la región del cerebro responsable de la generación de las crisis epilépticas.

A continuación, se detallan las distintas técnicas neurofisiológicas y de neuroimagen funcional comúnmente empleadas en la localización de la zona epileptógena.

1.4.1. Estudios neurofisiológicos: Electroencefalograma (EEG)

Los estudios neurofisiológicos no-invasivos (EEG de superficie) nos proporcionan información sobre la distribución cortical de la actividad epiléptica crítica e intercrítica. La actividad intercrítica nos indicará la región del córtex dónde se generan las descargas epilépticas, conocida como “zona irritativa”; por su parte, la actividad crítica nos indicará la región del córtex desde dónde las crisis se originan, denominada como “zona de inicio ictal”.

1.4.1.1. Determinación de la zona irritativa (actividad epiléptica intercrítica)

EEG de superficie

En general, la localización de la actividad epiléptica intercrítica es un buen indicador de la región epileptógena. Sin embargo, serán necesarios varios centímetros cuadrados de córtex, descargando de manera sincrónica, para que dicha actividad pueda ser registrada por los electrodos de superficie. Por lo que, la resolución espacial del EEG de superficie se sitúa en el rango de varios centímetros cuadrados, entre 6 y 10 cm². Debido a esta baja resolución espacial, el estudio preciso de los generadores corticales de la actividad epiléptica intercrítica no es posible con esta técnica (Rosenow and Luders, 2001).

Además, existen otras limitaciones del EEG de superficie que debemos de tener en cuenta. En primer lugar, hay que considerar que la actividad cerebral será atenuada a su paso a través del líquido cefalorraquídeo, meninges y cráneo, por lo que, el EEG de superficie, sólo mostrará una fracción de la actividad epiléptica interictal que acontece realmente (Carreno and Luders, 2008). En segundo lugar, hay que tener presente que la actividad interictal generada en regiones profundas del cerebro, por ejemplo, en la ínsula, o en estructuras de la línea media, por ejemplo, en el giro cingulado, no podrá ser registrada por el EEG de superficie. Por último, hay que recordar que la distribución de las descargas en el EEG de superficie dependerá de la capacidad de conducción de los tejidos que rodean al generador cortical, de las características espaciales del generador, de las vías de propagación de la actividad intercrítica y de la resolución espacial del EEG de superficie. De tal manera que, la

distribución de las descargas epilépticas interictales en superficie puede inducirnos a localizar de manera errónea la región del córtex desde dónde éstas son generadas (Foldvary-Schaefer, 2000).

Por otra parte, no es infrecuente que la zona irritativa sea más extensa que la zona epileptógena. Así lo demuestra el hecho de que con frecuencia se encuentren descargas epilépticas interictales en la región homóloga contralateral, o en otras regiones ipsilaterales al foco epiléptico, sin que éstas tengan, en principio, nada que ver con la zona epileptógena; ya que, una vez reseca la zona epileptógena, los pacientes no presentan nuevas crisis (Chugani *et al.* , 1996, Chugani *et al.* , 1992, Chugani *et al.* , 1990, Gilmore *et al.* , 1994).

EEG-invasivo

El registro de la actividad epiléptica intercrítica mediante estudios de EEG-invasivo, debería permitirnos detectar todas las descargas epilépticas intercríticas, incluso aquéllas generadas en un área cortical pequeña, y poder así delimitar mejor la zona irritativa. Sin embargo, los estudios de EEG-invasivo sólo pueden ser usados para estudiar un área muy limitada del cerebro; una vez implantados, sólo nos proporcionan información de la región del cerebro donde están colocados, y no es infrecuente que la zona irritativa se extienda más allá de los límites que estos electrodos cubren (Boonyapisit *et al.* , 2003). Debido a esta limitación en la capacidad de muestreo, información importante procedente de otras regiones cerebrales puede ser ignorada.

1.4.1.2. Determinación de la zona de inicio ictal (actividad epiléptica crítica)

La zona de inicio ictal es la región del córtex desde la cuál las crisis son generadas. Generalmente, se encuentra contenida en el interior de la zona irritativa (Luders *et al.* , 1993) y constituye el mejor indicador de la zona epileptógena. Sin embargo, es preciso tener en cuenta que la zona de inicio ictal no es sinónimo de zona epileptógena: estas dos regiones no necesariamente siempre coinciden o se solapan completamente la una con la otra. Así, la zona epileptógena puede ser más o menos extensa que la zona de inicio ictal.

Hay situaciones en las que algunos pacientes se quedan libres de crisis incluso sin llegar a resear completamente la zona de inicio ictal. Por ejemplo, en pacientes con tumores benignos en la región temporal mesial y crisis bitemporales documentadas electroencefalográficamente, se puede dar la circunstancia de quedar libres de crisis tras la resección del tumor exclusivamente (Gilmore *et al.* , 1994).

Por otra parte, también puede ocurrir que las crisis persistan a pesar de la resección completa de la zona de inicio ictal: debido a una definición inadecuada de la localización y extensión de esta región por parte de las técnicas de registro EEG o como consecuencia de que la zona epileptógena sea más extensa que la zona de inicio ictal, conteniendo regiones que permanecen silentes, al mismo tiempo, que otras regiones con un umbral más bajo, siendo estas últimas las que generan las crisis que registramos en superficie (Carreno and Luders, 2008).

EEG de superficie

La estimación de la zona de inicio ictal con el EEG de superficie presenta una serie de limitaciones muy importantes, entre las que destacan: 1. La actividad ictal será registrada en superficie cuando una determinada cantidad de córtex se vea involucrada por la crisis. Esto significa que, de manera casi invariable, las crisis han propagado fuera de la zona de inicio ictal cuando son registradas por los electrodos de superficie. Por lo tanto, la distribución en superficie de las crisis puede inducir a error, en cuanto a la localización de la zona de inicio ictal, al tratarse en la mayoría de las ocasiones de un patrón de propagación ictal. 2. El valor localizador del EEG de superficie depende en gran medida de la ubicación de la zona epileptógena. Así, sólo el 47-65% de las crisis extratemporales son lateralizadas correctamente; en contraposición, con el 76-83%, de las crisis originadas en el lóbulo temporal (Walczak *et al.* , 1992). 3. Las crisis originadas en determinadas regiones, como por ejemplo: la región frontal mesial, pueden ser difíciles de registrar o dar lugar a un patrón difuso pobremente localizador.

EEG-invasivo

De igual manera, la determinación precisa de la zona de inicio ictal mediante

técnicas de EEG-invasivo va a verse limitada por las mismas razones que presentaba la localización de la zona irritativa. La principal limitación viene dada por la reducida capacidad de muestreo que ofrecen los estudios de EEG-invasivo. Sólo aquellas crisis originadas en regiones corticales adecuadamente cubiertas con electrodos de EEG-invasivo podrán ser registradas y analizadas (Rosenow and Luders, 2001).

Por tanto, de lo expuesto anteriormente, se deduce que resultan necesarias nuevas técnicas diagnósticas, con una mayor resolución espacial, que nos permitan el estudio preciso de los generadores corticales de la actividad epiléptica crítica e intercrítica.

1.4.2. Neuroimagen funcional: Determinación de la zona epileptógena

Existen diversas técnicas de neuroimagen funcional que pueden emplearse para identificar las regiones corticales disfuncionales relacionadas con la generación y propagación de la actividad epiléptica. De entre estas técnicas destacan: el SPECT ictal/SISCOM (Tomografía por Emisión de Fotón Simple/ SPECT Ictal Sustraído y Corregistrado con la Resonancia Magnética); el PET-FDG (Tomografía por Emisión de Positrones con ¹⁸Fluor-Desoxi-Glucosa) y la Resonancia Magnética Funcional con correregistro EEG (RMf-EEG).

1.4.2.1. Tomografía por emisión de fotón simple ictal (SPECT-ictal/SISCOM)

En la actualidad, el SPECT-ictal es considerado como la técnica de neuroimagen funcional de referencia para la determinación no-invasiva de la zona de inicio ictal (Hong *et al.* , 2002, Drzezga *et al.* , 1999, O'Brien *et al.* , 2004, Won *et al.* , 1999). El SPECT-ictal es una técnica capaz de determinar los cambios de perfusión cerebral que se producen durante una crisis epiléptica, lo cuál permite la visualización y la determinación de las áreas cerebrales que están implicadas tanto en la generación como en la propagación de las crisis epilépticas (la Fougere *et al.* , 2009, Van Paesschen, 2004, Van Paesschen *et al.* , 2007).

El fundamento de esta técnica reside en que las áreas cerebrales implicadas en la generación de las crisis epilépticas experimentarán un aumento muy significativo

de la perfusión cerebral, en respuesta al aumento de la demanda. Para determinar estos cambios de perfusión cerebral se utilizan trazadores específicos que se distribuyen de manera proporcional al flujo sanguíneo cerebral, con capacidad para atravesar la barrera hematoencefálica, fijarse en el interior del tejido cerebral, y permanecer retenidos en el tejido cerebral sin posibilidad de redistribución posterior, el tiempo suficiente para poder adquirir las imágenes con una gammacámara (O'Brien *et al.* , 1998). Los trazadores que con más frecuencia se emplean son: el hexametilpilenamino oxima (HMPAO) y el dímero de etilcisteína (ECD). A su vez, estos trazadores son marcados con un isótopo radiactivo [(Exametazima de Tecnecio (^{99m}Tc))] para permitir su detección, y posterior cuantificación. Una vez realizada la inyección de radiotrazador, existe un periodo ventana de 3-4 horas, en el que el radioisótopo queda fijado dentro de la célula, permitiendo que el paciente pueda ser trasladado al departamento de medicina nuclear una vez recuperado de la crisis.

En cuanto a la interpretación de los resultados, se asume que la región que muestra una mayor y más extensa área de perfusión cerebral representa ser la zona de inicio ictal. Y que, el resto de estructuras que muestran un aumento significativo de la perfusión cerebral, estarían relacionadas con la propagación de las crisis epilépticas.

Sensibilidad y especificidad

La sensibilidad y especificidad del SPECT-ictal/SISCOM en la epilepsia del lóbulo temporal es de más del 90% (Van Paesschen *et al.* , 2007), en la epilepsia secundaria a una malformación del desarrollo cortical del 86% (O'Brien *et al.* , 2004), y en la epilepsia neocortical no-lesional, su sensibilidad diagnóstica varía entre el 41% y el 66% (Lee *et al.* , 2008, Weil *et al.* , 2001).

Aquellos pacientes que muestran un área de hiperperfusión focal, bien definida, concordante con la región epileptógena, presentan una mayor probabilidad de quedar libres de crisis tras la cirugía (OR: 9.1), si la resección incluye dicha área de hiperperfusión focal; por lo que se ha sugerido que el SPECT-ictal/SISCOM podría tener un valor predictivo positivo tras la cirugía en estos pacientes (O'Brien *et al.* , 1998, Knowlton *et al.* , 2008, O'Brien *et al.* , 2000).

Con el fin de mejorar la sensibilidad de los resultados del SPECT-ictal, lo que generalmente se hace es sustraer los cambios de perfusión en condiciones basales, o interictales, a los cambios de perfusión relacionados con las crisis o ictales, para determinar aquellas regiones cerebrales que experimentan un aumento estadísticamente significativo de la perfusión cerebral (mayor de 2-3 desviaciones estándar). Cuando estas regiones de hiperperfusión se superponen sobre la resonancia magnética estructural, se obtiene lo que se conoce como un SISCOM, acrónimo de “*Subtraction Ictal SPECT Coregistered to MRI*”, que mejora en gran medida la sensibilidad y la especificidad del SPECT-ictal; así como, su resolución espacial y anatómica (O'Brien *et al.* , 1998, O'Brien *et al.* , 2000, Cascino *et al.* , 2004, So, 2000). El SISCOM ha mostrado una mayor especificidad en la localización de la región epileptógena (88.2%), una mayor concordancia inter-observador, y un mayor valor predictivo del resultado quirúrgico, que la inspección visual de las imágenes del SPECT ictal e interictal por separado (O'Brien *et al.* , 1998).

Indicaciones

El SPECT-ictal/SISCOM resulta especialmente útil para guiar la colocación de los electrodos de EEG-invasivo, en pacientes con epilepsia focal fármacorresistente, que no muestran una clara lesión en la resonancia, que presentan lesiones uni-hemisféricas muy extensas, o que muestran resultados no congruentes en el curso de la evaluación prequirúrgica (O'Brien *et al.* , 1998). Además, el SPECT-ictal/SISCOM, también podría ser útil en aquellas situaciones en las que una primera cirugía no ha resultado eficaz para el control de las crisis (Wetjen *et al.* , 2006).

Limitaciones

Unas de las principales limitaciones del SPECT-ictal/SISCOM es que nos ofrece una imagen estática de un proceso dinámico, como es, la generación y propagación de las crisis epiléptica. De tal manera, que se hace del todo imposible poder establecer la secuencia temporal de activación de las distintas estructuras cerebrales implicadas en este proceso (Ahnslide *et al.* , 2007, Dupont *et al.* , 2006).

Otra limitación importante, relacionada con la baja resolución temporal que presenta el SPECT-ictal/SISCOM, vendría derivada del tiempo que tarda el radioisótopo en alcanzar el cerebro, alrededor de unos 30 segundos. Por esta razón, el SPECT-ictal nos mostrará, generalmente, tanto la zona de inicio ictal como las áreas de propagación relacionadas con la crisis. De ahí que, en ocasiones, las regiones que muestran un aumento de perfusión más intenso sean las áreas implicadas en la propagación de la actividad epiléptica, y no el área de inicio ictal propiamente dicha. Por esta razón, el SPECT-ictal/SISCOM no debe de ser utilizado en ningún caso como único método diagnóstico para guiar la resección quirúrgica, y sus resultados deben de ser interpretados a la luz del resto de las exploraciones realizadas durante la evaluación prequirúrgica.

1.4.2.2. Tomografía por emisión de positrones con ¹⁸fluor-desoxi-glucosa (PET-FDG)

La tomografía por emisión de positrones con ¹⁸Fluor-Desoxi-Glucosa (PET-FDG) es una técnica de neuroimagen funcional que permite la visualización y cuantificación “in vivo” del metabolismo cerebral (Duncan, 2010).

En epilepsia, el PET-FDG se realiza durante el periodo interictal. El ligando que con más frecuencia se utiliza es el 18-F-fluorodesoxyglucosa (FDG). Este compuesto atraviesa la barrera hematoencefálica y se distribuye en función de las necesidades energéticas de cada región cerebral, es decir, de manera proporcional a la tasa de glicolisis intracerebral. Este compuesto, se fosforila en el interior de las células a FDG-6-fosfato por medio de la hexoquinasa y, a diferencia de la de la Glucosa-6-fostato, no entra en el ciclo de Krebs, permaneciendo sin metabolizar en el espacio intracelular. De tal manera que, midiendo la radioactividad emitida por este ligando, tendremos una representación del índice de consumo regional de glucosa en el cerebro (Sokoloff, 1991).

En general, el PET-FDG mostrará un área de hipometabolismo focal sobre la región del córtex que está implicada en la generación de las crisis epilépticas, (Debets *et al.* , 1990, Swartz *et al.* , 1990, Theodore *et al.* , 1986, Theodore *et al.* , 1997), lo

cuál, resulta de gran utilidad para tratar de delinear la zona epileptógena; sobre todo, en aquellos pacientes con epilepsia focal que no muestran una clara lesión en la resonancia (Kim *et al.* , 2009, Krsek *et al.* , 2008).

Además de mostrar un área de hipometabolismo focal sobre la región del córtex que está implicada en la generación de las crisis epilépticas (Choi *et al.* , 2003, Henry *et al.* , 1992, Henry and Roman, 2011, Swartz *et al.* , 1992, Theodore *et al.* , 1992, Wong *et al.* , 2012), no es infrecuente observar otras áreas de hipometabolismo focal localizadas a distancia del foco epiléptico (hipometabolismo remoto), ipsilaterales o contralaterales, corticales o subcorticales, que, en la mayoría de las ocasiones, simplemente reflejan la relación funcional que guarda el foco epiléptico con el resto de estructuras cerebrales.

Por tanto, el PET-FDG, además de proveer información sobre la localización de la zona epileptogénica, también puede ofrecer información clave sobre la integridad funcional de las estructuras cerebrales relacionadas con la propagación de las crisis epilépticas. En otras ocasiones, estas áreas de hipometabolismo remoto podrían poner en evidencia la existencia de múltiples áreas de epileptogenicidad en un mismo sujeto o la existencia de una patología estructural más extensa, como suele ocurrir en algunos casos de malformaciones del desarrollo cortical, donde múltiples lóbulos cerebrales resultan afectados sin mostrar alteraciones visibles en la resonancia magnética (Wong *et al.* , 2012).

Sensibilidad y especificidad

En pacientes con epilepsia del lóbulo temporal, la sensibilidad del PET-FDG para determinar una región de hipometabolismo focal relacionado con la generación de las crisis epilépticas es muy alta, alrededor del 70-85%, incluso en pacientes sin lesión en la resonancia (Theodore *et al.* , 1986, Theodore *et al.* , 1997, Casse *et al.* , 2002). El hecho de encontrar un foco unilateral de hipometabolismo, en pacientes con epilepsia del lóbulo temporal, predice un resultado satisfactorio tras la cirugía hasta en el 82% de los casos.

En pacientes con epilepsia extratemporal, la sensibilidad de PET-FDG varía entre el 36 y el 93%, con una media del 71%, dependiendo de la localización de la

epilepsia (Desai *et al.* , 2012, Juhasz *et al.* , 2000). En estos pacientes, el hallazgo de un área de hipometabolismo focal concordante con la región epileptogénica, se ha asociado también con una mayor probabilidad de control de las crisis tras la cirugía (Knowlton *et al.* , 2008, da Silva *et al.* , 1997, Henry *et al.* , 1991, Radtke *et al.* , 1993, Ryvlin *et al.* , 1998, Swartz *et al.* , 1989).

Por otra parte, el PET-FDG se ha confirmado como una de las técnicas más sensibles para la identificación de malformaciones del desarrollo cortical, mostrando un área de hipometabolismo focal en el 75% (60-95%) de las ocasiones (Chassoux *et al.* , 2012, Chassoux *et al.* , 2010, Krsek *et al.* , 2009, Lerner *et al.* , 2009). Este hecho, resulta de vital importancia en la evaluación prequirúrgica de aquellos pacientes con epilepsia focal que no muestran una lesión clara en la resonancia magnética; ya que, el sustrato patológico más frecuente en este tipo de pacientes es una displasia cortical focal (Kim *et al.* , 2009, Krsek *et al.* , 2008, Chassoux *et al.* , 2012, Lerner *et al.* , 2009, Salamon *et al.* , 2008).

Existen diversas técnicas encaminadas a mejorar la sensibilidad del PET-FDG, entre ellas, la más común, es el corregistro del PET-FDG con la resonancia magnética (PET-RM). Esta técnica mejora en gran medida la resolución espacial del PET-FDG, permitiendo una mejor delimitación anatómica de las áreas hipometabólicas. Además, el corregistro PET-RM ha demostrado ser más sensible en la detección de áreas de hipometabolismo sutil que pasan desapercibidas a la inspección visual del PET-FDG (71% PET vs 98% PET-RM) (Chassoux *et al.* , 2010, Salamon *et al.* , 2008). De igual manera, la revisión de la resonancia magnética tras la identificación de un área hipometabólica, puede revelar, en algunos casos, anomalías corticales sutiles que habían pasado desapercibidas en primera intención (Lee and Salamon, 2009, Rubi *et al.* , 2011).

En cuanto a la especificidad el PET-FDG, existen pocos estudios en los que se haya contemplado la relación existente entre la resección completa del área de hipometabolismo del PET-FDG y el resultado tras la cirugía (Chassoux *et al.* , 2010, Salamon *et al.* , 2008). En un estudio de 45 pacientes, con epilepsia focal secundaria a una malformación cortical focal, con y sin lesión en la resonancia, la resección completa del área de hipometabolismo determinado mediante el PET-FDG, resultó en el control adecuado de las crisis en el 82% de los pacientes (Salamon *et al.* , 2008). Estos resultados ponen de evidencia la alta especificidad que el PET-FDG

podría tener en la localización de la ZE.

Indicaciones

El PET-FDG estará indicado en aquellos pacientes con epilepsia focal fármacorresistente que no presenten una clara lesión en la resonancia, así como, en aquellos pacientes que muestren resultados poco congruentes en la evaluación prequirúrgica (Theodore *et al.* , 1986).

En la epilepsia temporal mesial, el PET-FDG estaría indicado sólo en aquellos casos en los que no se observe una clara lesión en la resonancia o se sospeche la existencia de una patología dual (Diehl *et al.* , 2003, Salanova *et al.* , 2004); ya que, el PET-FDG, no proporciona ninguna información adicional en el caso de una epilepsia temporal mesial que curse con una semiología, un patrón ictal y una neuroimagen estructural típica.

Limitaciones

La limitación más importante del PET-FDG para localizar de manera precisa la región epileptógena es que, generalmente, el área de hipometabolismo focal se extiende más allá de los límites de la región epileptogénica (Duncan, 2010, Debets *et al.* , 1990, Theodore *et al.* , 1997, Lee and Salamon, 2009). Por esta razón, en principio, no podremos utilizar el PET-FDG para delimitar los bordes de la resección quirúrgica, sino como una técnica de gran utilidad para la planificación de los estudios de EEG-invasivo.

Por otra parte, a la hora de interpretar los resultados del PET-FDG, conviene recordar que no conocemos la verdadera naturaleza del hipometabolismo mostrado por el PET-FDG, ni sus mecanismos ni sus causas subyacentes. Se hipotetiza que puede estar relacionado con varios factores como son: la pérdida celular relacionada con la epilepsia, una disfunción neuronal debido a las crisis repetidas, fenómenos de reorganización sináptica, aumento de la arborización de las dendritas o con la existencia de un área de inhibición alrededor del foco epiléptico que previene de la propagación de la actividad epiléptica (Juhasz *et al.* , 2000, Alkonyi *et al.* , 2009, Juhasz and Chugani, 2011). Pero, en realidad, no conocemos bien sus causas,

siendo, por tanto, muy difícil poder interpretar con exactitud su significado en relación con la ZE.

Por último, a la hora de interpretar los resultados del PET-FDG, no debemos ignorar que el hipometabolismo es fenómeno dinámico, que puede variar a lo largo del tiempo (Breier *et al.* , 1997). En este sentido, se ha observado que existe una asociación entre la frecuencia y severidad de las crisis y la extensión de la región hipometabólica, de tal manera que, a mayor frecuencia de crisis mayor extensión de la región hipometabólica, y viceversa (Benedek *et al.* , 2006).

1.4.3. Resonancia magnética funcional con correregistro EEG (RMf-EEG)

Alrededor de 1940, dos investigadores estadounidenses, Felix Bloch (Stanford) and Edward Purcell (Harvard) de manera independiente describieron los principios de la resonancia nuclear magnética en sus experimentos con compuestos químicos. Treinta años después, Paul Lauterbur, fue el primero en publicar un trabajo sobre las aplicaciones de la resonancia magnética nuclear para producir imágenes. Por sus descubrimientos, Bloch y Purcell, fueron galardonados con el premio Nobel en 1952, y Lauterbur en 2003.

La resonancia magnética se basa en las propiedades de los protones, por ejemplo, del núcleo de las moléculas de agua, y en su comportamiento dentro de un potente campo magnético externo. La imagen de contraste es generada a través de la excitación de los protones por un pulso de radiofrecuencia, la subsiguiente relajación y emisión de la señal es recogida por el escáner.

En 1980, Roy y Sherrington dirigieron una serie de experimentos en perros, gatos y conejos, investigando el flujo sanguíneo cerebral. Su hipótesis era que la actividad cerebral era acompañada por un aumento regional del flujo sanguíneo cerebral. Unos 100 años después, Ogawa, puso de manifiesto que el grado de oxigenación de la hemoglobina podía ser usado con un agente de contraste para la generación de imágenes de resonancia. Estos dos principios constituyen los pilares fundamentales de la resonancia magnética funcional (RMf), que describe cuáles son las regiones cerebrales activadas durante la realización de una tarea determinada.

1.4.3.1. Fundamentos de la resonancia magnética funcional (RMf): contraste BOLD (blood oxygen level dependent)

El contraste BOLD es la técnica más empleada en RMf para determinar los cambios de actividad neuronal asociados con una tarea determinada (Beers and Federico, 2012, Cunningham *et al.* , 2008, Krakow *et al.* , 1999, Rosenkranz and Lemieux, 2010, van Houdt *et al.* , 2010). Este contraste, como su nombre indica, se basa en el estudio del nivel de oxigenación de la sangre. Su fundamento reside en que la desoxihemoglobina posee propiedades paramagnéticas, que hacen, que ésta pueda ser utilizada como un agente de contraste endógeno (Ogawa, 2012, Ogawa and Lee, 1990, Ogawa *et al.* , 1992). Así, los cambios de señal BOLD se derivan de los cambios en la concentración de desoxihemoglobina presente en un determinado tejido (Norris, 2006).

El mecanismo subyacente que genera la señal BOLD es el siguiente: el aumento de la actividad neuronal en una determinada región cerebral, dará lugar a un aumento en el consumo de oxígeno local y a un aumento compensatorio del flujo sanguíneo cerebral (Raichle *et al.* , 2001). Este aumento del flujo sanguíneo cerebral excederá con creces la demanda de consumo oxígeno (Fox and Raichle, 1986, Fox *et al.* , 1988), dando como resultado, una disminución relativa en la concentración de desoxihemoglobina sobre dicha región cerebral. Esta disminución relativa en la concentración de desoxihemoglobina, al ser ésta una molécula con propiedades paramagnéticas, dará lugar a una disminución de las inhomogeneidades del campo magnético local, que serán detectadas como un leve aumento de señal cuando se utilizan secuencias de resonancia específicas, como son, por ejemplo, las secuencias de gradiente de eco.

1.4.3.2. La respuesta hemodinámica.

El cambio en la señal BOLD que se genera a partir de la actividad neuronal se conoce como Respuesta Hemodinámica. Dicha respuesta, sigue una evolución temporal muy característica, en forma de curva sinusoidal (Glover, 1999), en la que se distinguen 3 fases (Figure 4). Inmediatamente tras el estímulo, la señal BOLD desciende brevemente debido a que se produce un aumento en la extracción de oxígeno que da lugar a una disminución en los niveles de oxihemoglobina (Hennig

et al. , 1994). Inmediatamente después, se produce un aumento compensatorio del flujo sanguíneo cerebral, que excede con creces el aumento de la demanda de oxígeno, dando lugar a una disminución paradójica en la proporción de deoxihemoglobina y a un aumento muy marcado de la señal BOLD. Este aumento de señal BOLD, que alcanza su máximo unos 4-7 segundos tras el inicio de la actividad cerebral, constituye el componente principal de la respuesta hemodinámica y es el sustrato fundamental de los estudios de RMf (de Zwart *et al.* , 2005). Posteriormente, la curva de señal BOLD retorna a su situación basal en el transcurso de varios segundos.

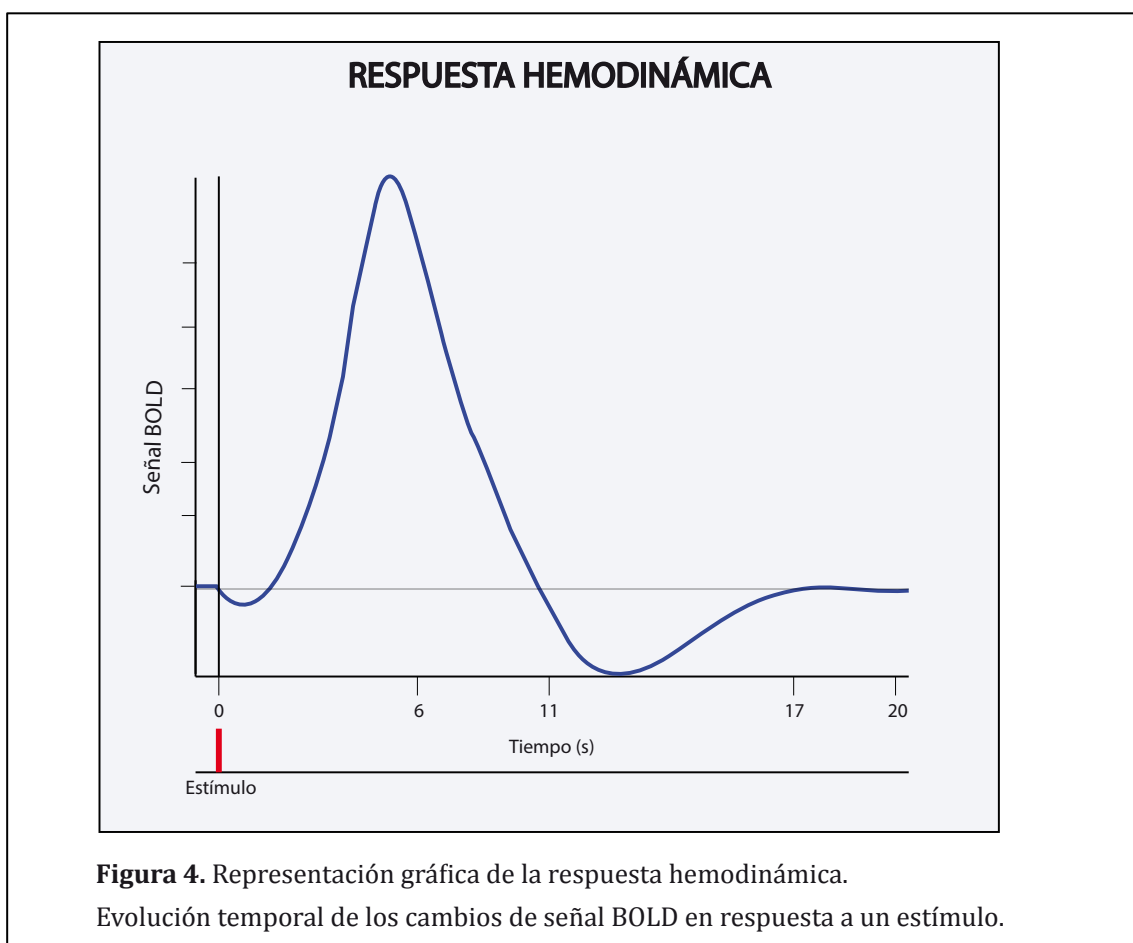


Figura 4. Representación gráfica de la respuesta hemodinámica. Evolución temporal de los cambios de señal BOLD en respuesta a un estímulo.

De lo expuesto anteriormente se deduce que, la resolución temporal de la respuesta hemodinámica se encuentra en el rango de varios segundos (de 4-7 segundos); mientras que, la resolución temporal de actividad neuronal es de pocos milisegundos. Por lo que resulta conveniente tener presente, a la hora de interpretar los resultados de RMf, que la señal BOLD no mide directamente la actividad

neuronal, sino la respuesta hemodinámica relacionada con una determinada actividad cerebral (Beers and Federico, 2012, Cunningham *et al.* , 2008).

1.4.3.3. Resonancia magnética funcional en epilepsia

La resonancia magnética funcional (RMf) es una técnica que permite el estudio y la determinación de los cambios hemodinámicos y/o metabólicos relacionados con la actividad epiléptica, de manera no-invasiva y con una alta resolución espacial (Gotman, 2008, Gotman *et al.* , 2004, Gotman *et al.* , 2006, Gotman and Pittau, 2011). La RMf nos muestra aquellas regiones del cerebro que experimentan un cambio hemodinámico como consecuencia de una descarga epiléptica, y, de esta manera, nos provee de información precisa sobre la localización anatómica de los generadores corticales implicados en la generación de la actividad epiléptica ictal e interictal (Al-Asmi *et al.* , 2003, Bagshaw *et al.* , 2004, Chaudhary *et al.* , 2011, Kobayashi *et al.* , 2006, Lemieux *et al.* , 2001, Salek-Haddadi *et al.* , 2006, Thornton *et al.* , 2010, Zijlmans *et al.* , 2007). Si tenemos en cuenta que los generadores corticales de la actividad epiléptica se encuentran íntimamente relacionados con la zona epileptógena, podríamos considerar que la RMf podría proporcionar información muy valiosa sobre la localización de dicha región, lo cuál, resulta de especial importancia en la cirugía funcional de epilepsia, sobre todo, a la hora de planificar una resección quirúrgica o de guiar la colocación de electrodos de EEG-invasivo.

Para poder estudiar los cambios hemodinámicos relacionados con la actividad epiléptica, se requiere de un registro simultáneo de EEG durante la adquisición de la RMf (RMf-EEG), que permita determinar la localización y el momento exacto en el tiempo en el que tienen lugar las descargas epilépticas. De esta manera, en la RMf-EEG se combina, la alta resolución temporal del EEG con la alta resolución espacial de la resonancia magnética (Zhang *et al.* , 2012), lo cuál constituye una de las principales virtudes de esta técnica.

1.4.3.4. Análisis de los cambios de señal BOLD relacionados con la actividad epiléptica: método “event-related”.

El método que con más frecuencia se utiliza para el análisis de la señal BOLD en epilepsia, es el método “event-related” (Friston *et al.* , 1995, Worsley and Friston,

1995, Worsley *et al.* , 2002). Este método se basa en la hipótesis de que, tras cada descarga epiléptica, se producirá un cambio de señal BOLD de duración e intensidad proporcional a la descarga, localizado sobre la región cortical encargada de su generación. Si nosotros somos capaces de determinar qué vóxeles muestran este cambio de señal BOLD, seremos capaces de determinar la localización de los generadores corticales de dichas descargas epilépticas.

Para conseguir este objetivo, cada descarga epiléptica, identificada durante la adquisición de la RMf-EEG, se convoluciona con una respuesta hemodinámica canónica o estándar, para construir, la llamada respuesta hemodinámica esperada, o, lo que es lo mismo, un modelo de los hipotéticos cambios de señal BOLD que seguirán los vóxeles relacionados con las descargas epilépticas obtenidas. Posteriormente, la señal BOLD de cada vóxel en el cerebro se correlaciona estadísticamente, mediante una regresión general lineal, con el modelo de la respuesta hemodinámica esperada. Cuanto mayor sea la correlación con la respuesta hemodinámica esperada, mayor será la probabilidad de que un vóxel en particular sea activado en relación con el evento de interés, en nuestro caso, una descarga epiléptica interictal.

Generalmente, para seleccionar sólo aquellos vóxeles que muestran una respuesta significativa en relación con la actividad epiléptica, y no debido al azar o a algún otro tipo de artefacto, se utiliza un umbral estadístico elevado ($p < 0.05$), corregido para comparaciones múltiples (Chumbley and Friston, 2009). El grado de correlación estadística de cada vóxel se codifica según una escala de color [(colores cálidos, incrementos de señal BOLD (activaciones); colores fríos, descensos de señal BOLD (inhibiciones)] y se registra con la resonancia magnética estructural; generándose así, los llamados mapas estadísticos paramétricos. Estos mapas estadísticos paramétricos nos ayudarán a visualizar e interpretar los cambios de señal BOLD y a situarlos en su región anatómica correspondiente.

Sensibilidad y especificidad.

La sensibilidad de la RMf-EEG para detectar un cambio de señal BOLD significativo relacionado con la actividad epiléptica intercrítica varía entre el 39% y el 90%, con una media del 57% (Gotman *et al.* , 2006, Al-Asmi *et al.* , 2003, Bagshaw *et al.* , 2004, Kobayashi *et al.* , 2006, Lemieux *et al.* , 2001, Salek-Haddadi

et al. , 2006, Thornton *et al.* , 2010, Federico *et al.* , 2005, Jacobs *et al.* , 2007, Thornton *et al.* , 2010).

En pacientes con epilepsia del lóbulo temporal se han encontrado activaciones focales concordantes con el EEG, hasta en el 80% de los casos. Sin embargo, no es infrecuente encontrar otras activaciones situadas a distancia, sobre la región homónima contralateral o en otras regiones extratemporales, que sugieren la existencia de una alteración funcional más extensa de lo esperado en relación con las descargas focales unilaterales (Kobayashi *et al.* , 2006, Kobayashi *et al.* , 2009). En pacientes con epilepsia del lóbulo frontal se han encontrado resultados muy similares, siendo capaz la RMf-EEG de mostrar activaciones concordantes con la localización de las descargas epilépticas registradas en el EEG de superficie en una proporción muy importante de pacientes.

En cuanto a su especificidad, cuando se comparan los resultados de la RMf-EEG con los obtenidos tras una evaluación con EEG-invasivo, se confirma que las activaciones obtenidas mediante RMf-EEG coinciden con la localización anatómica de la actividad epiléptica intercrítica en un porcentaje muy elevado de los casos, que varía entre el 50% y el 70%, según diversos estudios (Al-Asmi *et al.* , 2003, Salek-Haddadi *et al.* , 2006, Zijlmans *et al.* , 2007, Thornton *et al.* , 2010, Grouiller *et al.* , 2011, Moeller *et al.* , 2009, Thornton *et al.* , 2011, Tyvaert *et al.* , 2008). En el resto de ocasiones ocurre que la RMf-EEG no encuentra activaciones significativas relacionadas con la actividad epiléptica, o que estas activaciones no son concordantes con los hallazgos obtenidos mediante el EEG de superficie. Las razones para esta discrepancia se pueden encontrar en que el EEG de superficie, los registros intracraneales de EEG, y la RMf-EEG, evalúan diferentes fenómenos en relación con las descargas epilépticas (actividad eléctrica vs respuesta hemodinámica) (CUNNINGHAM, 2008; ZHANG 2012). El EEG refleja cambios en la sincronía neuronal cortical, con una resolución temporal de milisegundos; mientras que, la respuesta BOLD mide los cambios hemodinámicos relacionados con las descargas epilépticas, con una resolución temporal en el rango de varios segundos, siguiendo la distribución bifásica de la respuesta hemodinámica. Por otra parte, existen limitaciones inherentes al EEG de superficie, que hacen, que no sea posible observar toda la actividad epiléptica que tiene lugar en la superficie del cerebro. Por ejemplo, aquellas descargas que no sincronizan entre 6-10cm² de córtex no serán registradas

en superficie. En otras ocasiones, las descargas epilépticas representan ser una propagación de su ubicación original, como es el caso de las descargas críticas e intercríticas registradas en pacientes con esclerosis temporal mesial, que, en su mayoría, son el reflejo de la actividad epiléptica generada en hipocampo sobre el córtex temporal lateral. A su vez, también habría que contemplar que los cambios de señal BOLD, aunque casi siempre coinciden con las áreas generadoras de la actividad epiléptica, también, pueden reflejar aquellas regiones implicadas en la propagación relacionadas de las descargas epilépticas, por lo que podrían extenderse más allá de la zona irritativa y no ser concordantes con la localización marcada por el EEG de superficie (GOTMAN, 2005; LAUFS, 2006x2, 2008). Por tanto, debido a la compleja relación que existe entre el EEG de superficie y los generadores corticales de la actividad epiléptica, los hallazgos de la RMf-EEG no van a ser completamente concordantes con el EEG en todas las ocasiones.

En cuanto al valor predictivo de la RMf-EEG existen pocos estudios que comparen los resultados de la RMf-EEG con los resultados posquirúrgicos (Zijlmans *et al.* , 2007, Thornton *et al.* , 2010, Thornton *et al.* , 2011). De estos estudios se desprende que podría existir una buena correlación entre la resección completa de las activaciones mostradas por la RMf-EEG y un resultado excelente tras la cirugía; por el contrario, la resección incompleta de dichas activaciones se podría relacionar con la persistencia de las crisis tras la cirugía. Sin embargo, nuevos estudios con un mayor número de pacientes son necesarios para determinar el valor predictivo de los hallazgos de la RMf-EEG.

Indicaciones.

- La RMf-EEG estaría indicada en todos aquellos pacientes que no presentan una clara lesión en la resonancia magnética o en los que la evaluación prequirúrgica resulte ser no congruente.
- La RMf-EEG podría ser muy útil para guiar la colocación de electrodos de EEG-invasivo, en aquellos pacientes que precisen de estos estudios para la determinación de la zona epileptógena.
- En aquellas situaciones en las que se sospecha la existencia de una epilepsia multifocal, con diversas regiones de inicio ictal.

- En aquellos pacientes con epilepsia focal que curse con un fenómeno de sincronía bilateral secundaria importante, para determinar el origen preciso de las descargas.

Limitaciones.

1. Con las técnicas de análisis actuales (“event-related”), y debido a la baja resolución temporal de la RMf, no es posible, en muchas ocasiones, poder diferenciar las áreas cerebrales implicadas inicialmente en la generación de la actividad epiléptica de aquéllas relacionadas con su propagación por el cerebro. Por esta razón, los estudios de RMf-EEG contribuyen a localizar los generadores corticales de las descargas epilépticas, pero no proveen información precisa acerca de su extensión (Krakow, 2008).

Por otra parte, no es infrecuente observar activaciones en regiones distantes de la potencial ZE (Kobayashi *et al.* , 2006, Groening *et al.* , 2009), por ejemplo, en regiones homónimas del hemisferio contralateral, en estructuras subcorticales o en estructuras relacionadas con la red de reposo cerebral (Resting State Network) (Liao *et al.* , 2011, Luo *et al.* , 2012, Zhang *et al.* , 2009, Zhang *et al.* , 2009). La explicación más plausible para este fenómeno es que estas activaciones reflejan áreas cerebrales implicadas en la propagación de las descargas epilépticas, no necesariamente implicadas en la generación de las descargas. Esta limitación es especialmente evidente en el caso de la RMf-ictal, donde las crisis son modeladas como un evento único, dando lugar a un mapa de activación muy extenso, que mostrará todas las regiones que presenten un cambio de señal significativo en relación con la crisis, haciendo muy difícil poder diferenciar la zona de inicio ictal de aquéllas áreas implicadas en la propagación de las crisis (Moeller *et al.* , 2010, Chaudhary *et al.* , 2011, Thornton *et al.* , 2010, Tyvaert *et al.* , 2008, Aghakhani *et al.* , 2004, Chaudhary *et al.* , 2012, Detre *et al.* , 1995, Di Bonaventura *et al.* , 2006, Federico *et al.* , 2005, Gotman *et al.* , 2005, Kobayashi *et al.* , 2006, Krings *et al.* , 2000, Kubota *et al.* , 2000, Levan and Gotman, 2009, Moeller *et al.* , 2008, Morocz *et al.* , 2003, Tyvaert *et al.* , 2009). La combinación de la RMf-EEG con otras técnicas de neuroimagen funcional, como son el PET-FDG y el SPECT-ictal/SISCOM, podría ser muy útil para poder diferenciar aquellas estructuras que están relacionadas inicialmente con la génesis de la actividad epiléptica, de aquellas que son el resultado de la propagación de la misma, y de esta manera, aumentar la

especificidad de la RMf-EEG para localizar la ZE.

2. La baja sensibilidad mostrada por la RMf-EEG para detectar los cambios de señal BOLD relacionados con la actividad epiléptica en algunos estudios (Al-Asmi *et al.*, 2003). Como posibles causas de este fenómeno se postula que, o bien, las descargas epilépticas son acompañadas de un aumento modesto de la perfusión cerebral, o, lo que es más frecuente, que el periodo basal presente fluctuaciones constantes, disminuyendo así la relación señal-ruido de manera significativa. En ambas situaciones el cambio de señal en el foco epiléptico no sería estadísticamente significativo.

Por otra parte, también hay que considerar que los resultados de la RMf-EEG dependen de la estrategia de análisis empleada. En general, el análisis de la RMf se basa en la asunción de que cada descarga epiléptica es seguida por una respuesta hemodinámica predecible, similar a la respuesta hemodinámica estándar o canónica (Glover, 1999). Sin embargo, varios estudios en epilepsia han mostrado que, hasta en un tercio de los casos, la morfología de la respuesta hemodinámica puede desviarse de la respuesta canónica (Lemieux *et al.*, 2008). Otros trabajos han mostrado que el tiempo para alcanzar el máximo de la respuesta hemodinámica en relación con las descargas, puede diferir del tiempo asumido en la respuesta canónica estándar (5.4 segundos). Si estas variaciones en la respuesta hemodinámica no son tenidas en cuenta, cambios de señal BOLD potencialmente significativos podrían pasar desapercibidos. Para solucionar este problema de falta de especificidad de la respuesta hemodinámica, se han propuesto métodos más flexibles de análisis, que incluyen, por ejemplo, la utilización de las derivadas temporales de la respuesta hemodinámica canónica en el modelo de regresión lineal (Friston *et al.*, 1998) o la inclusión de múltiples respuestas hemodinámicas que alcanzan sus máximos a diferentes tiempos (Bagshaw *et al.*, 2004, Waites *et al.*, 2005). Sin embargo, aún con estas implementaciones, todavía, en el momento actual, un número importante de pacientes siguen sin mostrar activaciones significativas relacionadas con la actividad epiléptica.

3. Finalmente, debido a la dificultad que entraña la adquisición de crisis epilépticas durante la RMf-EEG, esta técnica queda limitada a un grupo muy reducido de pacientes: aquéllos que presentan crisis clínicas o subclínicas, muy

frecuentes, no asociadas con movimientos amplios de la cabeza (Krakow, 2008, Archer *et al.* , 2003). Por esta razón, existen pocos estudios dirigidos específicamente a investigar los cambios de señal BOLD relacionados con la generación y propagación de las crisis epilépticas (Chaudhary *et al.* , 2011).

1.5. Motivo del estudio

A pesar del extenso conocimiento de la epilepsia de que disponemos hoy día, todavía permanece como materia de estudio la localización exacta de los generadores corticales de la actividad epiléptica crítica e intercrítica; así como, de las vías y estructuras cerebrales implicadas en la propagación de las crisis epilépticas. Estos conceptos resultan de vital importancia para poder profundizar en la fisiopatología de la epilepsia, y son esenciales a la hora de la planificación de la cirugía funcional de la epilepsia.

El motivo de la presenta tesis fue el desarrollar un nuevo método de análisis de las imágenes de RMf-EEG que permitiera secuenciar en el tiempo los cambios de señal BOLD relacionados con la actividad ictal e interictal, y, de esta manera, poder indagar en el correlato hemodinámico y metabólico de esta actividad con una resolución temporal y espacial más alta que con los métodos de análisis tradicionales.

El hecho de poder acceder a la secuencia de activación de las diferentes estructuras cerebrales implicadas en la generación y propagación de la actividad crítica e intercrítica nos podría proporcionar información precisa sobre la localización de los sustratos corticales implicados en su génesis, así como, sobre los fenómenos dinámicos que acontecen durante su evolución y desarrollo.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. HIPÓTESIS

La hipótesis fundamental de este trabajo es que el conocimiento de la secuencia temporal de cambios de señal BOLD relacionados con la actividad ictal e interictal podría proporcionar información precisa acerca de la localización de los generadores corticales implicados en la generación y propagación de la actividad ictal e interictal en pacientes con epilepsia focal fármacorresistente.

Este conocimiento sería de gran utilidad para guiar la colocación de estudios de EEG-invasivo y nos permitiría diseñar intervenciones quirúrgicas más precisas, dirigidas específicamente a la resección de los generadores corticales de la actividad epiléptica.

2.2. OBJETIVOS

2.2.1 Objetivo principal

- Desarrollar un nuevo método de análisis de RMf-EEG que nos permita estudiar y conocer la secuencia temporal de cambios de señal BOLD que acontecen durante la generación y la propagación de la actividad ictal e interictal en pacientes con epilepsia focal fármacorresistente.

2.2.2 . Objetivos secundarios

- Determinar mediante el análisis secuencial de las imágenes de RMf-EEG las estructuras corticales y subcorticales implicadas sucesivamente en la generación y propagación de la actividad epiléptica crítica e intercrítica en pacientes con epilepsia focal fármacorresistente.

- Comparar y corregistrar los resultados obtenidos mediante el análisis secuencial de la RMf-EEG con los resultados obtenidos tras la realización de otras técnicas de neuroimagen funcional, consideradas como referencia estándar en la localización no-invasiva de la zona epileptógena, como son, el SPECT-ictal/SISCOM y el PET-FDG.

- Correlacionar los resultados obtenidos mediante el análisis secuencial de la RMf-EEG con los resultados obtenidos tras la colocación de electrodos subdurales, en aquellos pacientes que requieran de su implantación para la localización precisa del área epileptógena.

- Comprobar si tras la extirpación quirúrgica de los generadores corticales de la actividad epiléptica, determinados mediante el análisis secuencial, se consigue un adecuado control de las crisis epilépticas.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Esta tesis está compuesta por 3 estudios (Estudios I, II, III) que examinan el potencial de un nuevo método de análisis de las imágenes de RMf-EEG para localizar los generadores corticales de la actividad epiléptica crítica e intercrítica, así como, las estructuras implicadas en la propagación de las crisis epilépticas.

Los tres estudios fueron aprobados por el comité ético del Hospital Clínic de Barcelona. Todos los pacientes recibieron un consentimiento informado por escrito previo a la realización del estudio, y su participación fue voluntaria.

A todos los pacientes incluidos en el estudio se les realizó una evaluación prequirúrgica completa, que incluyó: una historia clínica detallada, exploración neurológica completa, evaluación video-EEG prolongada, resonancia magnética de alta resolución con protocolo de epilepsia, evaluación neuropsicológica y psiquiátrica completa, SPECT-ictal/SISCOM (Estudios I, II), PET-FDG (Estudio III) y una evaluación con electrodos subdurales (Estudios I, II y III), en aquellos pacientes que requirieron estudios de EEG-invasivo para delimitar la zona epileptógena y/o su relación con áreas corticales elocuentes. La descripción de las características clínicas y neurofisiológicas de la población de estudio se encuentra detallada en cada de uno de los estudios.

Esta tesis se desarrolló en dos fases bien diferenciadas: la primera, consistió en el desarrollo del método de análisis secuencial de las imágenes de RMf-EEG; la segunda, en la validación clínica de los resultados obtenidos mediante dicho método, tras el análisis de la actividad epiléptica ictal e interictal.

3.1 Desarrollo del método de análisis secuencial de las imágenes de RMf-EEG (Fase I: Estudios I y II).

El método de análisis desarrollado en esta tesis se basa en la asunción de que los cambios de señal BOLD relacionados con las crisis epilépticas, o con la actividad epiléptica intercrítica prolongada, son lo suficientemente consistentes, intensos y prolongados (Benar, et al. 2002, Krings, et al. 2000, Kubota, et al. 2000, Lemieux, et al. 2001, Makiranta, et al. 2005, Morocz, et al. 2003, Salek-Haddadi, et al. 2006), como para poder estudiar su evolución espacial a lo largo del tiempo; es decir, para determinar la secuencia temporal y espacial de los cambios de señal BOLD relacionados con la actividad epiléptica de cada sujeto.

Para conseguir este objetivo, en esta tesis, se han desarrollado dos métodos de análisis secuencial de las imágenes de RMf diferentes (“Bloques vs Basal” y “Contraste de Bloques”), que, en esencia, nos permiten conocer la sucesión de cambios de señal BOLD relacionados con la actividad epiléptica ictal e interictal. A continuación, se detallan brevemente estos métodos de análisis secuencial.

3.1.1 Estudio I: Método de análisis secuencial de RMf-EEG (“Bloques vs Basal”)

Las imágenes de RMf fueron procesadas y analizadas utilizando el paquete de software estadístico SPM2 (Statistical Parametric Mapping (SPM), versión 2).

El pre-procesado de las imágenes comprendió los siguientes pasos: realineación de las imágenes, para corregir el artefacto de movimiento; normalización de las imágenes a la plantilla (“template”) del Instituto Neurológico de Montreal (MNI) y suavizado de las imágenes con una función gaussiana de 8 milímetros.

La crisis fueron analizadas como condiciones independientes. Para cada crisis, los periodos preictal (120 segundos previos al inicio clínico de la crisis), ictal (desde el inicio hasta el final de la crisis) y postictal (60 segundos tras la crisis) fueron divididos en bloques de 10 segundos de duración (5 scans en cada bloque). Además, se seleccionó un periodo basal de 20 segundos (10 scans) de duración, que no

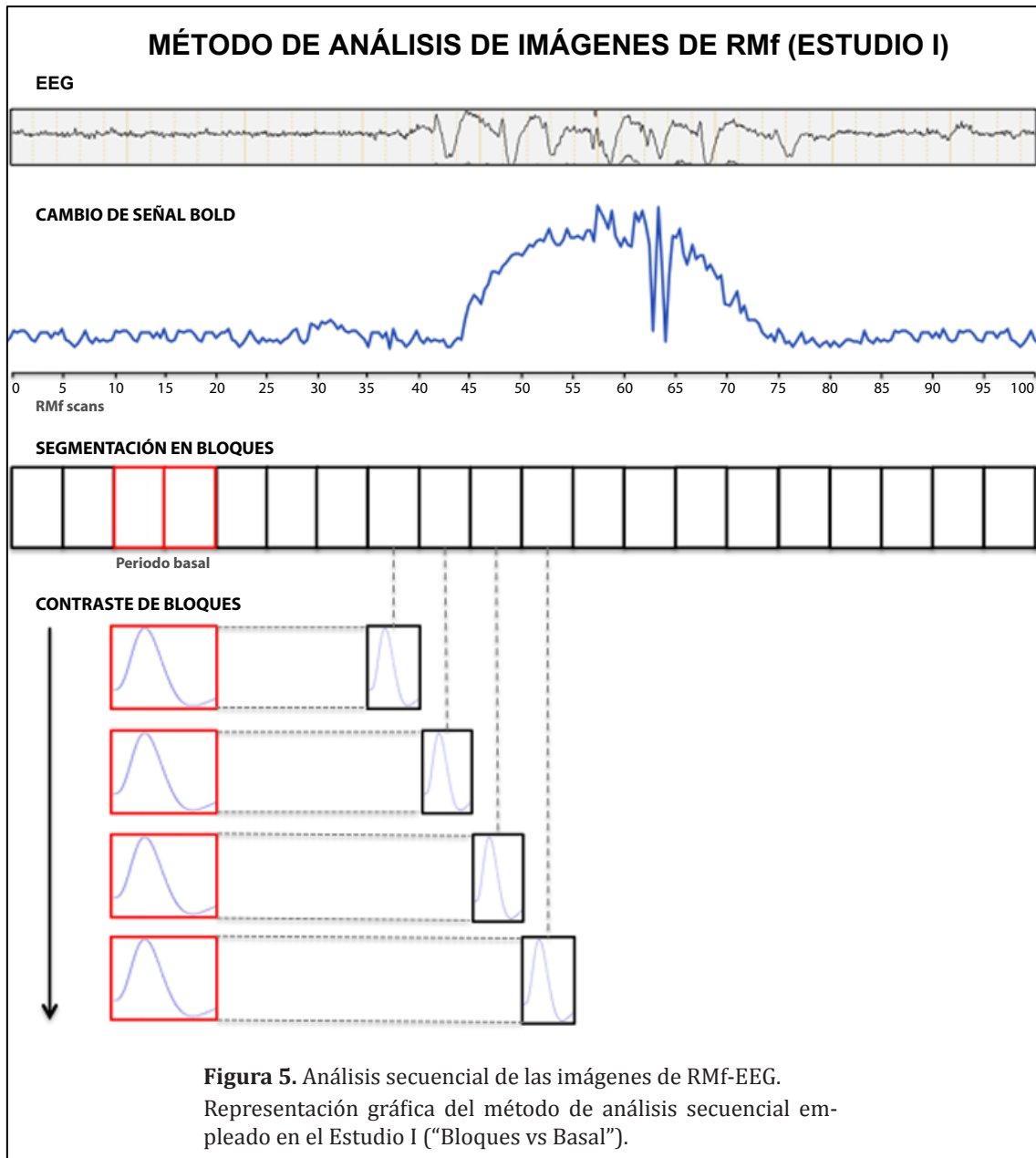
estuviera relacionado con el proceso de generación de las crisis, situado varios minutos antes del inicio ictal. De esta manera se construyó un modelo en el que cada bloque relacionado con las crisis constituyó un regresor independiente dentro de la matriz de diseño. Los parámetros de movimiento obtenidos tras la realineación de las imágenes fueron incluidos en el modelo, como covariables.

La respuesta hemodinámica de cada bloque fue modelada mediante la convolución lineal con una respuesta hemodinámica canónica de igual duración que el bloque. Para poder determinar los cambios de señal BOLD relacionados con la generación y propagación de las crisis a lo largo del tiempo, cada bloque incluido en la matriz de diseño fue contrastado con el periodo basal de 20 segundos (Figura 5).

Todos los contrastes fueron examinados vóxel a vóxel con un umbral estadístico de $p < 0.05$ (t -test), corregido para comparaciones múltiples en el cerebro [(Family Wise Error (FWE))]. Los cambios de señal BOLD fueron clasificados como positivos (activaciones) o negativos (deactivaciones).

Finalmente, los mapas estadísticos resultantes de cada contraste fueron corregidos con el volumen 3D-ponderado en T1 del paciente. De esta manera, los cambios de señal BOLD obtenidos tras la comparación (contraste) de cada bloque con el periodo basal, nos permitieron determinar la secuencia de cambios de señal relacionados con la generación y propagación de las crisis.

Se consideró que el clúster de activación relacionado con el inicio de la crisis era aquél que mostrara: un aumento de señal BOLD en 3 contrastes sucesivos, con una grado de significación estadística de $t > 3$, y que estuviera relacionado temporalmente con el inicio de la crisis marcado por el paciente.



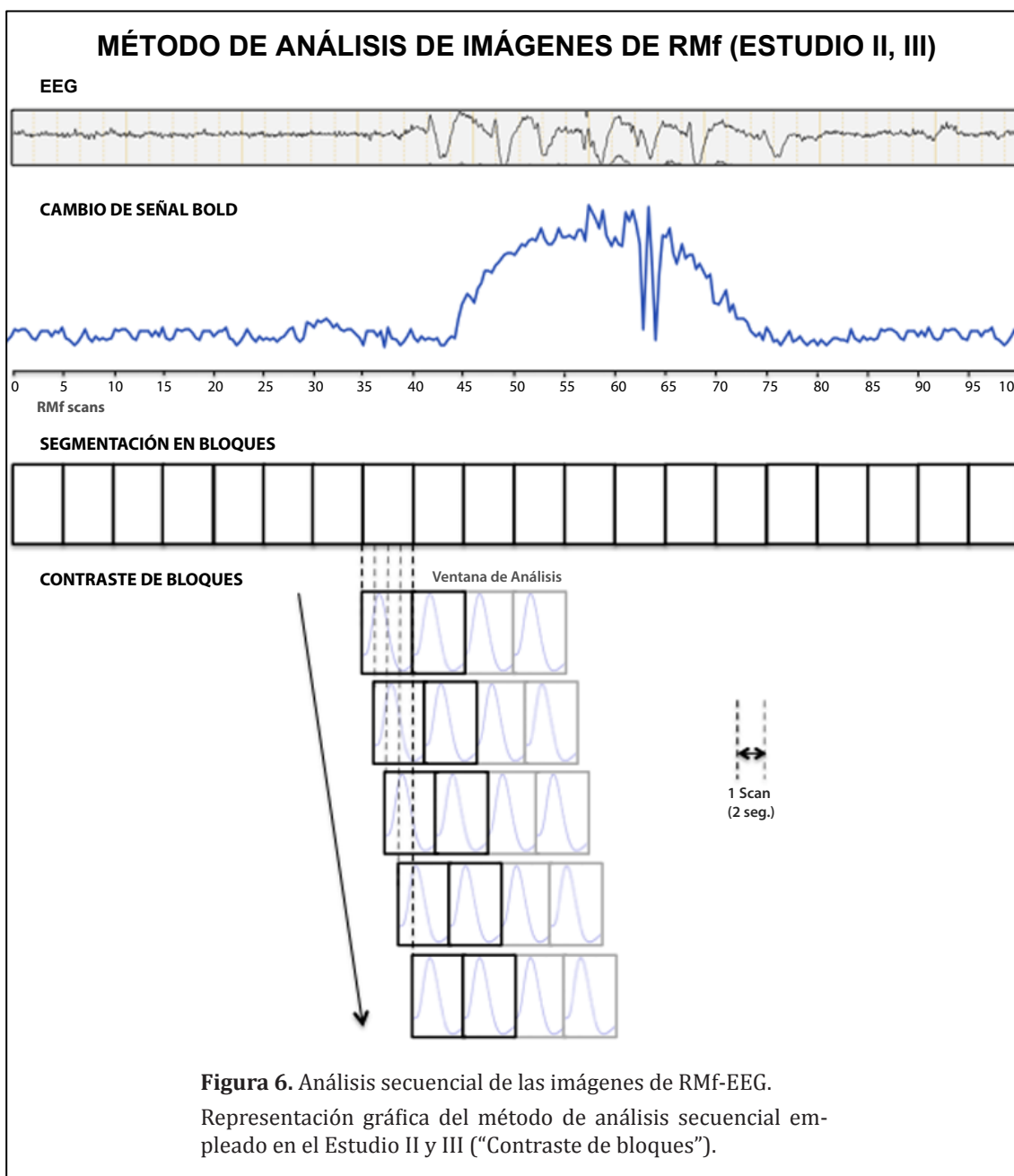
3.1.2 Estudio II: Método de análisis secuencial de RMf-EEG (“Contraste de bloques”)

Las imágenes de RMf fueron procesadas y analizadas utilizando el paquete de software estadístico SPM2 (Estudio II) y SPM8 (Estudio III).

El pre-procesado incluyó: realineación de las imágenes, normalización a la plantilla (“template”) del MNI y suavizado con una función gaussiana de 8 milímetros.

En este método, cada serie de RMf fue dividida en bloques de 10 segundos de duración (correspondiente a 5 imágenes (scans) en cada bloque). Para realizar el análisis secuencial de la señal BOLD se creó una ventana de análisis constituida por 4 bloques consecutivos de imágenes (Figura 6), comenzando desde la primera imagen registrada en cada serie. Los cambios de señal BOLD se determinaron contrastando los dos primeros bloques contenidos en cada ventana de análisis. El segundo bloque fue comparado con el primero, el tercero con el segundo y el cuarto con el tercero. A efectos prácticos, sólo el primer mapa de activación resultante del contraste entre el segundo y el primer bloque de cada ventana de análisis, fue considerado para el posterior análisis de los cambios de señal BOLD relacionados con la actividad epiléptica. Una vez realizado estos contrastes, la ventana de análisis se desplazó un scan hacia delante, repitiéndose el mismo proceso de contrastado de bloques. Deslizando la ventana de análisis un scan hacia delante, a lo largo de todos scans contenidos en una serie, se pudo determinar la diferencia relativa de señal BOLD entre dos bloques consecutivos a lo largo de toda la serie de RMf, o, lo que es lo mismo, una derivada temporal suavizada de la actividad cerebral a lo largo de toda la serie.

Cada contraste fue examinado con un nivel de significación estadística de $p < 0.05$, (t -test), corregido para múltiples comparaciones (FWE). Los cambios de señal BOLD fueron clasificados como positivos (activaciones) o negativos (deactivaciones). Los mapas estadísticos resultantes de cada contraste fueron corregistrados con la imagen 3D ponderada en T1 de cada sujeto.



Se consideraron como respuestas significativas, aquellos clusters de 5 o más vóxeles contiguos que contuvieran, al menos, un vóxel con una $t > 9,7$ ($p < 0,05$, FWE corregidos) y que estuvieran relacionados temporalmente con una crisis epiléptica (Estudio II) o con la actividad epiléptica intercrítica (Estudio III).

Además, en el Estudio III, se consideraron como significativas aquellas respuestas que no superaban el umbral para comparaciones múltiples, pero que presentaban un nivel de significación estadística de ($p < 0,001$), siempre y cuando, estuvieran relacionadas temporalmente de manera consistente con las descargas

intercríticas y localizadas de manera concordante sobre el área irritativa, determinada esta última, mediante el resto exploraciones realizadas durante la evaluación prequirúrgica.

3.2 Validación clínica de los resultados del método de análisis secuencial de las imágenes de RMf-EEG (Fase II: Estudios I, II y III)

En los Estudios I y II se incluyeron 5 pacientes que experimentaron crisis parciales simples o complejas durante la realización de la resonancia magnética funcional. La mediana de edad fue de 34.2 años (rango de edad: 27-38 años). En dos de estos pacientes se realizó un registro continuo de EEG durante la adquisición de las imágenes, para determinar el inicio y el final de las crisis, ya que presentaban crisis epilépticas que cursaban con alteración de conciencia. En el resto, el inicio y el final de las crisis fue señalado por los propios pacientes, al presentar crisis parciales simples (sin alteración del nivel de conciencia) como su tipo habitual de crisis.

Las activaciones relacionadas con la actividad ictal determinadas mediante el análisis secuencial de las imágenes de RMf-EEG fueron comparadas con los resultados obtenidos tras la realización de un SPECT-ictal/SISCOM y con la evaluación prequirúrgica con electrodos de EEG-invasivo, en aquellos pacientes que requirieron la implantación de electrodos subdurales para la delineación de la ZE. En los que finalmente fueron intervenidos, se comprobó si la inclusión de las activaciones relacionadas con la actividad ictal en la resección quirúrgica dejaba a los pacientes libres de crisis.

En el Estudio I, además, los resultados del análisis secuencial fueron comparados con los resultados obtenidos tras la realización de un estudio de componentes independientes (ICA) de las imágenes de resonancia magnética funcional.

El Estudio III se centró en la validación del método de análisis secuencial para el estudio de la actividad epiléptica interictal. Se incluyeron 21 pacientes, en su mayoría en edad pediátrica, con epilepsia focal fármacorresistente evaluados en el Hospital Clínic y en el Hospital San Joan de Déu de Barcelona, entre los años 2009-

2010. Los criterios de inclusión fueron el diagnóstico de una epilepsia parcial extratemporal fármacorresistente, con o sin lesión en la resonancia, y la presencia de frecuente actividad epiléptica intercrítica (brotes o salvas de actividad epiléptica intercrítica) durante la evaluación video-EEG. La mediana de edad de los pacientes fue de 14 años (rango de edad: 5-25 años).

En este estudio las activaciones relacionadas con la actividad epiléptica interictal determinadas mediante el análisis secuencial fueron corregistrados y comparados con la región hipometabólica potencialmente relacionada con la ZE mostrada por el PET-FDG, con los resultados obtenidos tras la evaluación con electrodos de EEG-invasivo y con el resultado tras la cirugía, en aquellos pacientes que requirieron de la implantación de electrodos subdurales para la localización de la ZE o en aquéllos que finalmente fueron considerados buenos candidatos para la cirugía funcional de la epilepsia, respectivamente.

4. RESULTADOS

4.1. ESTUDIO I:

FULL-LENGTH ORIGINAL RESEARCH

Sequential analysis of fMRI images: A new approach to study human epileptic networks

*Antonio Donaire, †Carlos Falcón, ‡Mar Carreno, ‡Nuria Bargallo, §Jordi Rumià, ‡Javier Setoain, §Iratxe Maestro, ‡Teresa Boget, ‡Luis Pintor, §Rolando Agudo, §Merce Falip, and §Santiago Fernández

*Hospital Clínic, Barcelona, Spain; †Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain; ‡Hospital Clínic & Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain; and §Hospital Clínic, Barcelona, Spain

SUMMARY

Purpose: The aim of this study was to introduce a new approach for analysis of functional magnetic resonance imaging (fMRI) data in order to illustrate the temporal development of the blood oxygenation level–dependent (BOLD) signal changes induced by epileptic seizures.

Method: In order to sequentially analyze the fMRI images acquired during epileptic seizures, a continuous series of echo planar imaging (EPI) scans covering the complete period of a seizure was acquired. Data were segmented into 10-s blocks. Each block, representing a unique experimental condition, was contrasted with a neutral (no seizure) baseline condition. Visual comparison of the activations from one block to the next highlighted the course of activations and deactivations during the seizure event. This analysis was applied to three independent seizures of one patient with periorlandic epilepsy secondary to chronic encephalitis: one seizure before epilepsy surgery and two after unsuccessful tailored resection. Observations

were compared to results from invasive subdural electroencephalography (EEG) monitoring, single-photon emission computed tomography (SPECT) coregistered to MRI (SISCOM), and independent component analysis (ICA), a model-free method of BOLD-signal analysis.

Results: The initial increase in BOLD signal occurred 10–40 s before clinical onset in the same location compared to the seizure-onset zone determined by invasive subdural evaluation and SISCOM. Sequential involvement of cortical and subcortical structures was in agreement with SISCOM, intracranial EEG recordings, and ICA results.

Discussion: In selected patients, sequential analysis of changes in BOLD signal induced by epileptic seizures might represent a useful approach for investigating the temporal development of brain activity during epileptic seizures, thereby allowing imaging of those cerebral structures involved in seizure generation and propagation.

KEY WORDS: Ictal-fMRI, Functional neuroimaging, Partial seizures, Epilepsy surgery.

Functional magnetic resonance imaging (fMRI) has been shown to provide valuable information concerning the localization of regions generating interictal epileptiform activity (Detre et al., 1996; Lemieux et al., 2001; Benar et al., 2002; Al Asmi et al., 2003; Archer et al.,

2003a; Aghakhani et al., 2004; Bagshaw et al., 2004; Aghakhani et al., 2006; Bagshaw et al., 2006; Kobayashi et al., 2006a; Salek-Haddadi et al., 2006), prolonged bursts of interictal epileptiform discharges (Detre et al., 1995; Bagshaw et al., 2005; Hamandi et al., 2007), and even focal epileptic seizures (electrographic and clinical seizures) (Jackson et al., 1994; Detre et al., 1995; Krings et al., 2000; Kubota et al., 2000; Morocz et al., 2003; Salek-Haddadi et al., 2003; Federico et al., 2005; Archer et al., 2006; Di Bonaventura et al., 2006; Kobayashi et al., 2006b). However, these studies have shown widespread blood oxygenation level–dependent (BOLD) changes, reflecting both the ictal onset zone as well as those structures involved in seizure propagation, precluding a precise

Accepted March 12, 2009; Early View publication June 1, 2009.

Address correspondence to Antonio Donaire, MD, Epilepsy Unit, Hospital Clínic, C/ Villarroel 170, CP: 08036, Barcelona, Spain. E-mail: donaire@clinic.ub.es

Statistical analysis was conducted by Carlos Falcón, PhD, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain.

Wiley Periodicals, Inc.

© 2009 International League Against Epilepsy

delineation of the cortical area from which the seizures are arising. An explanation for these results is that epileptic seizures have usually been modeled as single events, primarily motivated by theoretical signal-to-noise considerations (Salek-Haddadi et al., 2003), which do not permit inferences regarding the sequence of activation of the different cerebral structures involved in seizure generation and propagation. Nevertheless, in contrast to fMRI studies aimed at evaluating physiologic functions, for which it is essential to perform enough trials under each experimental condition to produce a reliable signal change (given that these changes are very small), the changes in BOLD signal intensity related to epileptic seizures are larger and more sustained than those typically seen related to physiologic conditions. They are also larger and more sustained than those seen in combined electroencephalography (EEG)-fMRI studies of interictal events (Lemieux et al., 2001; Benar et al., 2002; Makiranta et al., 2005), ranging between a 3% and 45% signal increase (Krings et al., 2000; Kubota et al., 2000; Salek-Haddadi et al., 2002; Morocz et al., 2003). Therefore, our working hypothesis was that those changes could be reliable, sustained, and sufficiently consistent to allow us to subdivide and analyze the seizure dataset in consecutive and independent epochs. In this way, we should be able to study the sequential changes in BOLD signal that occur during seizure generation and propagation. Therefore, fMRI might enable investigation of the hemodynamic and metabolic correlates of epileptic seizure activity with high spatial and temporal resolution.

For this purpose, we analyzed three independent seizures of one patient with intractable epilepsy. Data were segmented into 10-s blocks, with each block representing a unique experimental condition that was contrasted to a baseline condition (no seizure related) in the framework of the general linear model (GLM) of analysis. Comparison of the activations from one 10-s block to the next could give access to the course of activations during the seizure event. Regions of activation were compared to results from invasive subdural EEG monitoring and ictal single-photon emission computed tomography (SPECT) coregistered to MRI (SISCOM) in order to evaluate the utility of fMRI in the anatomic location of the seizure-onset zone and those structures involved in seizure propagation. We also compared the observations identified using GLM-based analysis to the results obtained from independent component of analysis (ICA), a data-driven method of analysis.

METHODS

Patient clinical profile

A 35-year-old, right-handed man who had very frequent simple partial seizures (1 seizure/15–30 min) symptomatic of right hemisphere chronic encephalitis underwent a comprehensive presurgical evaluation at the Hospital

Clinic's epilepsy unit (Table 1 and Fig. S1). Patient consent was obtained, and the protocol was approved by the local ethics committee. The patient's typical seizures were characterized by a left thigh, trunk, and right arm somatosensory aura followed by left arm and face clonic movements, without impairment of consciousness, lasting for 30–45 s. Ictal scalp-EEG showed repetitive, and rhythmic, sharp waves over the right hemisphere, maximum in the parietooccipital region, which evolved to a rhythmic theta activity over the right hemisphere (Fig. S1). To delineate the epileptogenic zone precisely and map the eloquent cortex, the patient underwent invasive video-EEG monitoring with subdural electrodes located over the lateral convexity, covering the right peri-rolandic region (8 × 8 electrodes) and medial wall (8 × 2 electrodes) of the frontoparietal lobes, including the precuneus and paracentral gyri. Clinically, all the seizures registered in the invasive evaluation were similar to his typical motor seizures (48 of them preceded by a right thigh, trunk, and right arm somatosensory aura). The evaluation showed that ictal onset zone was located in the right mesial parietal lobe, over the precuneus (Fig. S1). At seizure onset, only three contacts were involved, with the most anterior one located over the primary sensory cortex of the left thigh, as determined by cortical electrical stimulation. Ictal discharges spread, 15–70 s later, to the primary motor cortex of the left thigh, the supplementary sensorimotor area, the right hand somatosensory cortex, and the right superior parietal region (posterior aspect).

At first the patient underwent a tailored resection of the right superior parietal area, sparing the primary somatosensory cortex, which precluded the complete resection of the ictal onset zone. After surgery he displayed no new focal neurologic deficits. Results of histopathologic evaluation were suggestive of Rasmussen encephalitis, and he was seizure-free for 2 months. After this respite, his typical simple motor seizures recurred with a different aura, a nonspecific "cold and tingling" sensation over the left hemibody, including the face and trunk, which could evolve to left arm clonic twitching. He finally underwent a right functional hemispherectomy and has remained seizure-free since the procedure. The decision for this widespread resection was based on the histopathologic result of "Rasmussen encephalitis."

fMRI data acquisition

fMRI imaging was performed on a Signa 1.5 Tesla General Electric MR scanner (GE Medical Systems, Milwaukee, WI, U.S.A.). First, a structural high resolution axial three-dimensional (3D) T₁-weighted image was acquired using a fast spoiled gradient-echo (FSPGR) sequence (1.5 mm thickness).

The functional images were acquired as a series of single-shot gradient-echo planar imaging (EPI) volumes providing T₂*-weighted BOLD contrast (TR/TE = 2,000/

Table 1. Presurgical evaluation workup

Diagnostic test	Description
Video-EEG (presurgery seizure semiology)	Left thigh, trunk, and right arm somatosensory aura evolving to left arm and face clonic movements, without impairment of consciousness.
Ictal scalp-EEG	Repetitive and rhythmic, sharp waves over the right hemisphere, maximal in the parietooccipital region, which evolved into a rhythmic theta activity over the right hemisphere. The seizure onset on surface-EEG was usually preceded by the initial clinical symptoms (a right thigh somatosensory aura) by about 15–30 s.
SISCOM	Area of increased perfusion over the mesial and lateral aspects of the right frontoparietal region (perirolandic area), including primary somatosensory and motor cortex. Ictal-SPECT radioisotope was injected 40 s after the EEG seizure onset. (In this seizure a right side somatosensory aura was not reported.) (SISCOM showed significant hyperperfusions with 3.5 SD above reference)
Invasive-EEG evaluation (Subdural electrodes)	Seventy-two typical seizures characterized by right/left arm focal motor seizures (48 of them preceded by a right thigh, trunk, and right arm somatosensory aura) were recorded in 4 days. The ictal onset zone for all the seizures recorded was located in the right mesial parietal lobe, over the precuneus. At seizure onset, only three contacts were involved: the most anterior ones located over the primary sensory cortex of the left thigh as determined by cortical electrical stimulation. The initial seizure activity preceded clinical seizure onset by 10–20 s; 15–70 s later, ictal discharges spread in a predictable fashion to the primary motor cortex of the left thigh, the supplementary sensorimotor area, the right hand somatosensory cortex, and the right superior parietal region (posterior aspect).

34 ms; FOV = 24 × 24 cm, 64 × 64 pixel matrix; flip angle = 90 degrees; slice thickness 5 mm; gap 1.5 mm, and 20 axial slices per scan). Continuous whole-brain EPI-BOLD volumes were acquired over 11-min, 20-s runs, corresponding to 340 volumes, until at least two seizures were registered. Three fMRI runs were registered in the presurgery study and two at the postsurgery study. During scanning, the patient was monitored by two experienced neurologists (A.D. and M.C.), which ensured that the seizures recorded corresponded to the patient's typical seizures.

Because consciousness was not impaired during the seizures, the patient was asked to indicate the onset and the end of the ictal events by pressing a response button. Times of seizure start and seizure end were automatically registered to be correlated with the functional images.

fMRI analysis

General linear model based-analysis

fMRI images were processed and analysed using SPM2 (Wellcome Department of Cognitive Neurology, University College London, United Kingdom) running on MATLAB (Mathworks, Inc, Natick, MA, U.S.A.) (Friston et al., 1995a,b). Pre-processing steps involved realignment of fMRI series for motion correction, normalization to the Montreal Neurological Institute (MNI) template for activation area labelling and smoothing with a Gaussian kernel of 8 mm. Significant movement artifact was defined as more than 0.5 mm, approximately one-third of a voxel, in either plane of the center of mass image. Seizures were analyzed as independent conditions. For each seizure, the preictal (120 s prior to clinical seizure onset indicated by

the patient), the ictal (from clinical seizure onset to seizure end indicated by the patient), and postictal (60 s after clinical seizure end) periods were divided into 10-s blocks. Each of these blocks (seizure-related) was considered as an independent regressor in the design matrix and labeled using the time from the beginning of the block to the clinical seizure onset (negative and positive values for previous and subsequent blocks, respectively). Therefore, each column of the design matrix corresponded to a 10-s period of the seizure epoch. A separate baseline-regressor of 20 s, assumed temporally unrelated to the seizure generation process, as it was selected several minutes previous to the seizure onset, was also included in the design matrix. Motion parameters obtained from realignment were always included as confounds. The hemodynamic response to each block ("stimulus") was modeled by linear convolution of a time-invariant canonical hemodynamic response function of the same duration as each block. To assess effects of interest, we contrasted each column of the design matrix to the baseline-regressor. All contrasts were examined with a voxel-wise significance level of $p < 0.05$ (t -test), family wise error (FWE) corrected for multiple comparisons across the BOLD responses were classified as positive (activation) and negative (deactivation). Finally, the statistical maps for each 10-s period were overlaid on the patient normalized T₁-weighted MRI. Visual comparison of the changes in seizure-related BOLD signal from one 10-s block to the next allowed us to image the sequence of hemodynamic changes that occurred along the sequence of seizures within the brain.

In order to evaluate whether the seizure-related increase in BOLD signal was time-locked to the clinical seizure

onset or could precede it, we analyzed the 120 seconds preceding the clinical seizure onset (as indicated by the patient). The first activation cluster with a minimum of five contiguous voxels with a $|t| > 3$ (corresponding to $p < 0.05$, FWE-corrected), time-locked/related to the clinical seizure onset, repeated in at least three correlative seizure-blocks, and consistent with the location of the ictal onset was compared and co-registered with the ictal onset zone, determined by intracranial subdural evaluation as well as with the SISCOM results, in order to validate the fMRI activations.

Data-driven analysis: Independent component analysis (ICA) of fMRI data

A second assumption-free method of analysis based on ICA was applied to decompose the time series into spatial and temporal components using the software program MELODIC, freely available in the fMRI of the Brain Software Library (FSL) (<http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl>) (Beckmann & Smith, 2004, 2005). The fMRI datasets were split to analyze seizures independently. After decomposition to identify significantly contributing voxels, the tensor-ICA maps were thresholded by transforming the spatial raw IC estimates into Z-statistic maps (deriving raw IC estimates by the voxel-wise residual standard error of the decomposition) and applying a threshold to these values at a posterior probabilistic level of “activation” ($p > 0.5$) based on a Gaussian/Gamma mixture model fitted to the distribution of spatial Z-values (Beckmann et al., 2006). Each IC was compared to those initial activation clusters with a minimum of five contiguous voxels with a $|t| > 3$ (corresponding to $p < 0.05$, FEW corrected), time-locked to the clinical seizure onset or the peri-ictal (120 s before the clinical seizure onset) period, and coherent with the location of the ictal onset zone. Components that correlated temporally and overlapped spatially with the initial clusters of activation GLM-based were classified as matching.

RESULTS

Presurgery ictal-fMRI

The first registered seizure occurred at the beginning of the period of data acquisition situation that precluded its statistical analysis. The second one lasted for 83 s. The first change in seizure-induced BOLD signal occurred 60 s before the initial clinical manifestations and was characterized by a diffuse decrease in BOLD signal involving cortical and subcortical structures of both hemispheres (Fig. S2).

Figure 1 shows the brain regions displaying seizure-induced positive and negative BOLD-signal changes over time. The initial increase in BOLD signal occurred 40 s before any clinical symptoms. It was located in the right precuneus, just behind the primary somatosensory cortex of the left thigh. At this time, there were also other clusters

of activation located over the right temporal pole, right orbitofrontal region, and left mesial temporal region. Only the cluster located over the right temporal pole evolved along three correlative seizure blocks but not further. From the right precuneus, seizure-related activations spread as follows: to the homotopic left mesial parietal region and the right supplementary sensorimotor area (−10 s); to the right primary somatosensory cortex, the right thalamus, the anterior aspect of mesencephalon, and pons and the left cerebellum (0 s, clinical seizure onset); right primary motor cortex, and the entire supplementary sensorimotor area (10 s, simultaneously with left arm and face clonic movements); and the right cingulate gyrus and both prefrontal and mesial temporal regions (20 s). The right parietofrontal cortico-cortical motor network was also activated (30 s). Simultaneously, a significant decrease in BOLD signal was seen over the entire corpus callosum (10 s) and the left parietofrontal cortico-cortical motor network (30 s, at the same time that this network was activated on the right side). The segment between 60 and 110 s could not be analyzed due to significant movement artifact (4.6 mm of translational motion and 3 degrees of rotational motion). Toward the end of the clinical symptoms, 120 s after the initial increase in BOLD signal, a diffuse decrease in BOLD signal was seen over both hemispheres, involving those structures previously activated during the seizure. However, these changes occurred after an abrupt and marked head motion, leading to a displacement of the head of 1.3 mm in the translational axis and 1.25° in the rotational axis, and should be interpreted with caution.

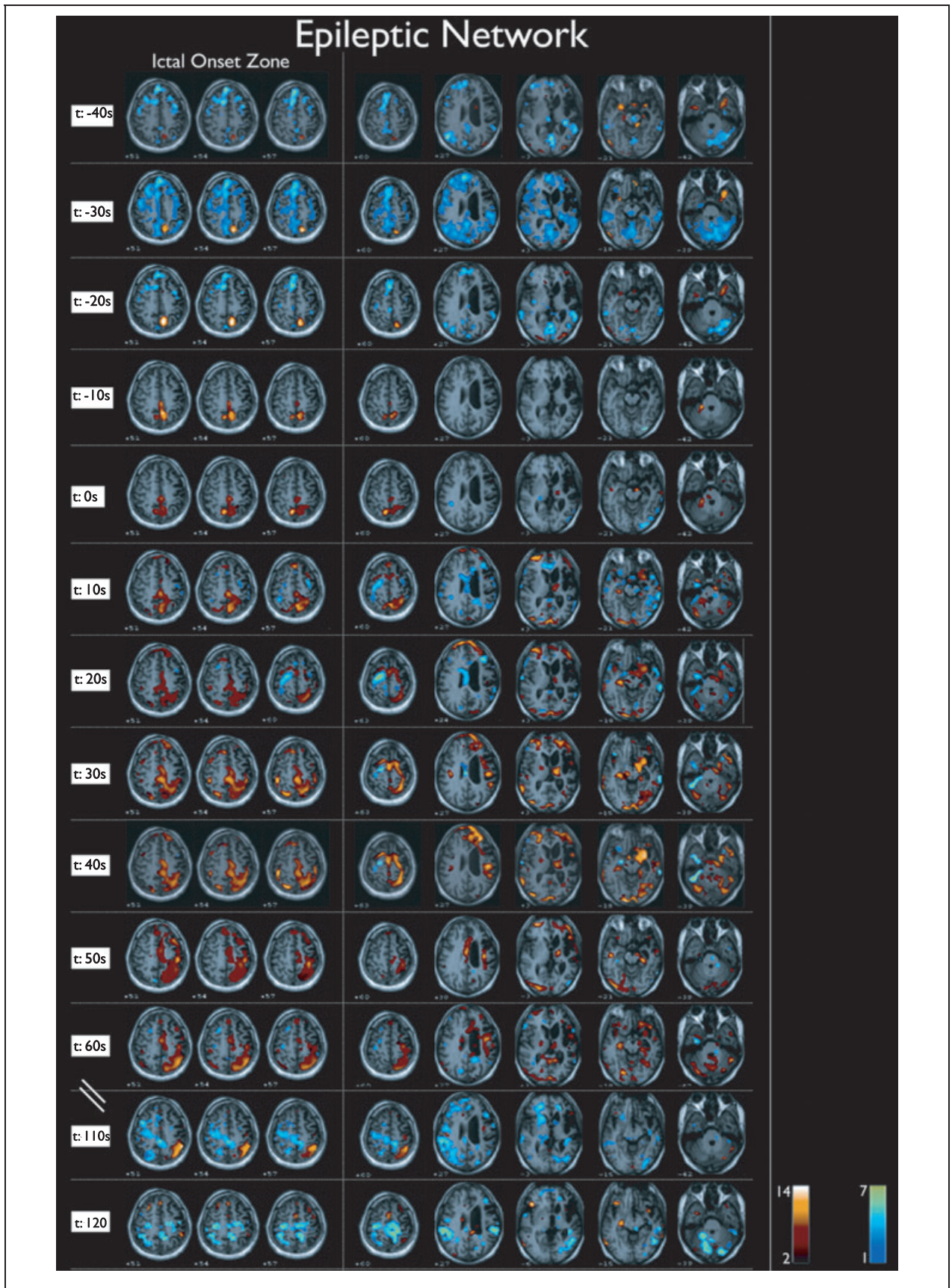
The time course of the change in BOLD signal at the initial cluster of activation had large amplitude, corresponding to a 3.7% increase in BOLD signal, peaking around 60 s into the seizure, followed later by a prolonged undershoot (Figs. 4A–4C).

Postsurgery ictal-fMRI

Two seizures were registered. Seizure frequency at that time was one seizure every 10 min, approximately. Both seizures consisted of a nonspecific “cold and tingling” sensation over the left hemibody of 35 and 17 s in duration, without any accompanying motor symptoms.

Sequential analysis of the MRI signal raw data of both seizures revealed the same pattern of cortical BOLD signal changes (Fig. 2), which was clearly different from the pattern found in the presurgery fMRI study.

The early changes occurred 20 s before the initial clinical symptoms. Again, these were characterized by a diffuse decrease in BOLD signal, more marked over the left hemisphere (−20 s). The initial increase in BOLD signal occurred 10 s before the onset of clinical symptoms and was located in the right hemisphere, over the right mesial primary somatosensory cortex, just at the border of the resection margins (−10 s).



Comparison between presurgery fMRI and subdural electrodes evaluation, SISCOM, and tensor-ICA

The first seizure-related activation cluster ($t: -40$ s) strictly matched the most posterior of the three subdural contacts initially involved in seizure onset (Fig. 3A, B). In addition, the cortical structures involved in early seizure propagation were concordant with those determined by intracranial EEG recordings (see Table 1).

The hyperperfusion depicted by SISCOM included the area involved in the initial increase in BOLD signal, but also some of the structures involved in the early seizure spread (Fig. 3C).

The number of independent components was 42. One of them, the IC 35, consisted of a cluster of activation in the right precuneus and supplementary motor area. This cluster overlapped with the GLM-derived initial-cluster of seizure-related activation and those cerebral structures initially involved in seizure propagation (Fig. 3 bottom part).

DISCUSSION

In this study, we sequentially analyzed the signal changes occurring in three focal epileptic seizures. We visualized the cerebral structures that were involved during the process of seizure generation and propagation. To our knowledge, this is one of the firsts studies (Jackson et al., 1994; Auer et al., 2008) in which a sequential analysis of the seizure-related BOLD-signal changes has been performed and reproduced across several seizures in the same patient. This approach detected the initial activations related to the process of seizure generation with high spatial and temporal resolution. The signal changes occurred before the onset of clinical symptoms and were characterized by a well-circum-

scribed area of increased signal, which colocalized precisely with the location of the seizure onset zone assessed by subdural grids. The analysis showed that there was a cluster of activation statistically significant, time-locked to the clinical seizure onset, and consistent with the location of the ictal onset zone. However, when the preictal period (defined by us as the 120 s prior to the clinical seizure onset) was analyzed, the activation cluster was already present for about 40 s. Therefore, we considered that this cluster of activation time-locked but separated in time (as occurred 40 s before the clinical seizure onset) would be the initial seizure-related cluster of activation. It should be noted that, at this time, there were also other clusters of activation within the brain. However, these could be in relation to the high number of activities that take place in the brain even if a person is in a passive state or, less likely, to some changes in cerebral activity related to the epileptic seizure. The key feature of the seizure-related activations was that evolved coherently in time and space along the seizure period, which means that the seizure-related activations were sustained in time and spread progressively over those structures involved in the seizure propagation process in agreement with the previous clinical information. Therefore, to select the initial cluster of activation seizure-related we have proposed four criteria: (1) that the initial cluster should be statistically significant, (2) time-related to the clinical/EEG seizure onset, (3) sustained in time (repeated in at least three correlative seizure-blocks), and (4) consistent with the location of the ictal onset based on the previous clinical information (namely, the seizure semiology, the ictal-EEG seizure pattern, and the structural MRI). Of course, it should be an ideal situation if we were able to choose the fMRI activation seizure-related completely

Figure 1.

Presurgical ictal-functional magnetic resonance imaging (MRI) study. Temporal sequence and spatial extent of significant blood oxygenation level-dependent (BOLD)-signal changes overlaid on the high-resolution axial T_1 -weighted image "The Epileptic Network." Note the initial increase in BOLD signal 40 s before clinical seizure onset ($t: -40$) over the right precuneus (the ictal onset zone is represented at the right of the vertical dotted line). When the left thigh somatosensory aura occurred ($t: 0$), the right primary somatosensory cortex, the right thalamus, the anterior aspect of mesencephalon and pons, and the left cerebellum were activated. When left arm and face clonic movements appeared ($t: 10$), the increased BOLD signal area extended, involving the right primary motor cortex and the entire supplementary somatosensory-motor area. Note the simultaneous increase in BOLD signal over the right "parietofrontal motor network" and decrease in BOLD signal over the contralateral "parietofrontal motor network" and the corpus callosum. Other areas such as the superior parietal region and the ipsilateral thalamus sustained their BOLD activation throughout the seizure. Toward the end of the seizure ($t: 110$, $t: 120$), a diffuse decrease in BOLD signal was seen over both hemispheres. However, these changes occurred after head movement artifact and should be interpreted with caution.

Epilepsia © ILAE

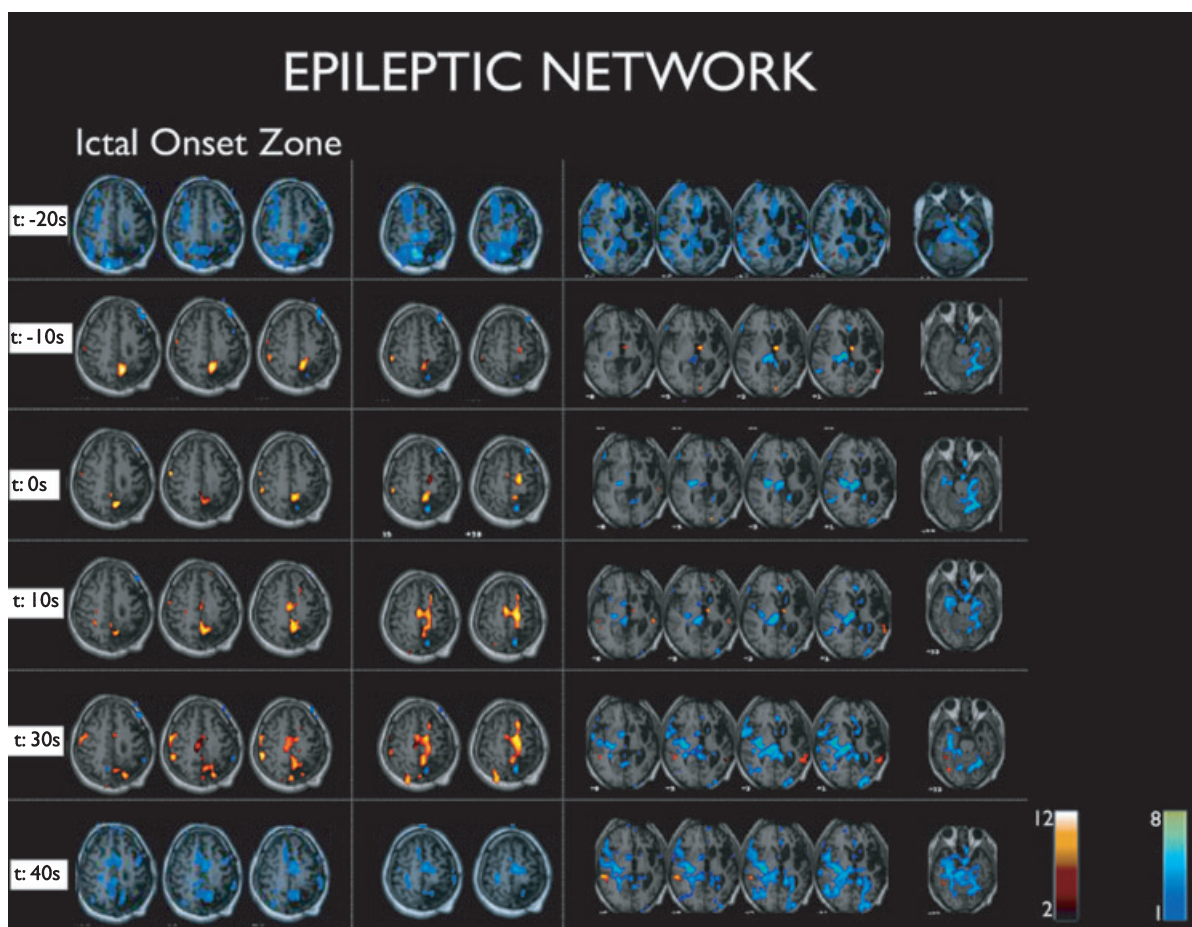


Figure 2.

Postsurgery ictal–functional magnetic resonance imaging (fMRI) study. Temporal sequence and spatial extent of significant BOLD-signal changes overlaid on the high-resolution T_1 -weighted image. Note the significant decrease in BOLD signal over the left lateral frontoparietal region, the mesial parietal region, the supplementary sensorimotor area bilaterally, the splenium and genu of the corpus callosum, the right mesial temporal region and cerebellum, and the left thalamus and pons, 20 s before the initial clinical symptoms ($t: -20$). Ten seconds later ($t: -10$) an increase in BOLD signal was observed over the right mesial parietal region, at the border of the resection margins and the right thalamus. When the initial clinical symptoms appeared ($t: 0$), areas of increased signal were seen over the right parietal region and the superior frontal gyrus; 10 s later ($t: 10$), the ipsilateral supplementary sensorimotor area was also involved. When the seizures finished, a diffuse decrease in BOLD signal was seen over both hemispheres, involving all the structures activated during the seizure.

Epilepsia © ILAE

independently and objectively from the previous clinical information. However, we cannot obviate that, as at the beginning of the seizure generation process there are other activations and deactivations going on within the brain and it is essential to have a prior hypothesis of the location of the ictal onset zone to be able to appropriately select the initial cluster of activation seizure-related.

Furthermore, the extent of the initial BOLD-signal change over the parietal region was smaller, but located inside the ictal onset zone, as shown by invasive EEG recording and SISCOM. This might mean that ictal-fMRI

could detect those initial changes in neuronal activity that take place within the epileptogenic zone, showing changes in neuronal activity not even detected by intracranial EEG recordings.

In addition, with this sequential analysis method we were able to study those structures implicated in seizure propagation (“the epileptic network”). The early changes, initially seen in the right mesial parietal region progressively involved local and distant brain structures. This propagation pattern was similar to the early propagation pattern assessed by invasive subdural electrodes. Ictal

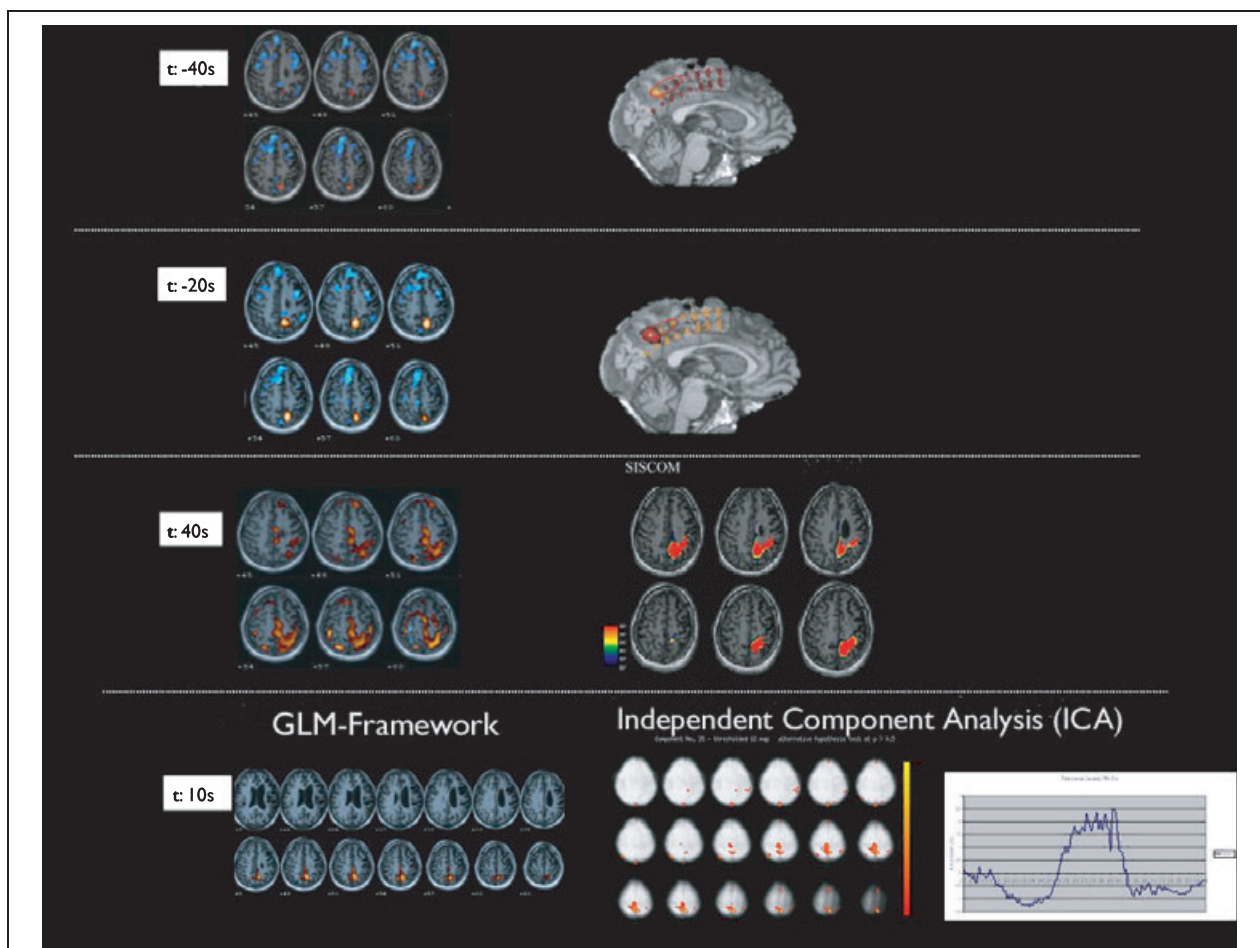


Figure 3.

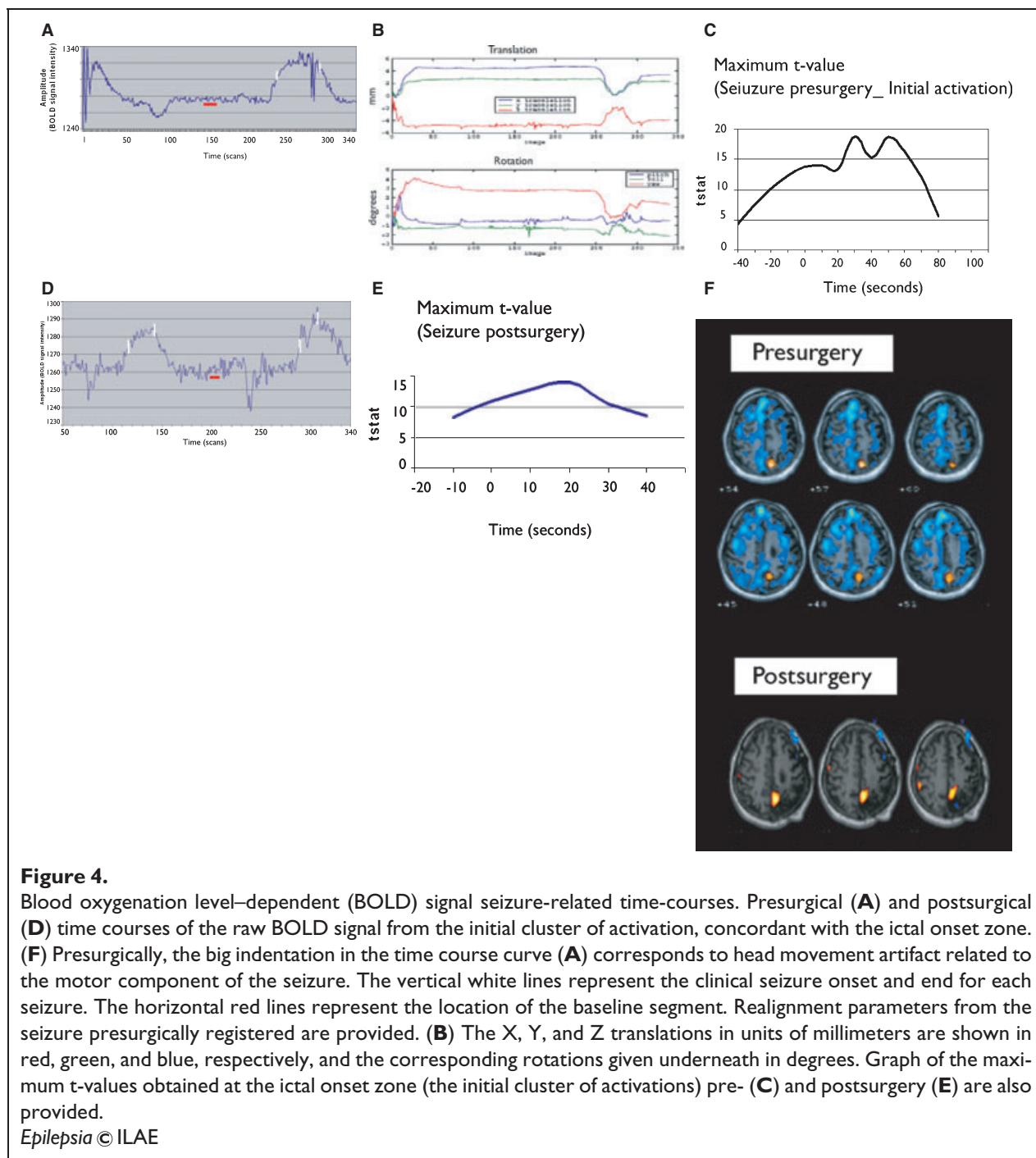
Ictal functional magnetic resonance imaging (fMRI), invasive subdural evaluation, single-photon emission computed tomography (SPECT) coregistered to MRI (SISCOM), and tensor-ICA (independent component analysis) comparison. (A, B) Initial blood oxygenation level-dependent (BOLD) signal changes 40s and 30 s before the clinical seizure onset ($t: -40$, $t: -30$) and coregistration with the ictal onset zone determined by invasive subdural evaluation (red circle). (C). Comparison between the BOLD signal changes 40 s after the clinical seizure onset ($t: -40$) and SISCOM; the radioisotope injection was performed 40 s after the electroencephalography (EEG) seizure onset. Bottom: Comparison of the results from general linear model (GLM) analysis and matching tensor-ICA spatial map. Note that the spatial map corresponding to the independent component no. 35 fit in time and space with the initial clusters of activation obtained from the GLM (30s and 10 s before the clinical onset, respectively).

Epilepsia © ILAE

fMRI showed that even focal seizures activated a large network of remote interconnected cortical and subcortical brain regions, as had also been shown in previous ictal SPECT, SISCOM (O'Brien et al., 2000; Shin et al., 2001; Van Paesschen, 2004), and ictal-fMRI studies (Jackson et al., 1994; Detre et al., 1995; Krings et al., 2000; Kubota et al., 2000; Morocz et al., 2003; Salek-Haddadi et al., 2003; Federico et al., 2005; Archer et al., 2006; Di Bonaventura et al., 2006; Kobayashi et al., 2006b). The expected increase in signal in the frontoparietal areas and basal ganglia in the left hemisphere (Ramsey et al., 1996; Haslinger et al., 2002), contralateral to the hand used to

press the seizure-button, probably did not interfere in the interpretation of the results obtained after sequential analysis, as activations related to press the button did not reach sufficient significance to be displayed in the activation maps seizure-related, so they were neglected. That could be because of the way we analyzed the data (consecutive blocks of 10 s compared to a basal period) and because of the statistical threshold used in this study ($p < 0.05$, few corrected) (Figs. 1 and 2).

Of great interest is the time frame in which changes in the BOLD signal took place. In all three of the analyzed seizures, the increase in signal change preceded the



initial clinical symptoms reported by the patient inside the scanner by 10–40 s. Those changes in BOLD signal could reflect a change in neuronal activity or some energy-consuming phenomenon that occurred seconds to several minutes prior to the emergence of clinical symptoms (Krings et al., 2000; Kubota et al., 2000; Federico et al., 2005; Makiranta et al., 2005; Brevard et al., 2006). Interestingly, on each registered seizure (pre- and postsurgery) the first observed change, even before the

occurrence of the initial increase in BOLD signal seizure-related, was a transient and widespread decrease in signal involving the frontoparietal association areas; including the frontal mesial region, precuneus, and posterior cingulate gyrus, which are part of the “default mode network” of brain function (Fig. S2) (Gusnard et al., 2001; Mazoyer et al., 2001; Raichle et al., 2001; Laureys et al., 2004; Raichle & Snyder, 2007). Negative BOLD responses in these regions have also been

observed during a wide range of cognitive tasks (Mazoyer et al., 2001; Raichle et al., 2001) and motor paradigms, as well as associated with generalized or focal interictal epileptiform discharges (Archer et al., 2003b; Gotman et al., 2005; Hamandi et al., 2006; Laufs et al., 2006, 2007). Deactivations in relation to interictal epileptiform discharges have been found in “default mode” brain areas even prior to the observation of a surface EEG event, reflecting that there is a change in neuronal activity that occurs prior to the discharges seen on the scalp (Hawco et al., 2007; Moeller et al., 2008a, 2008b).

From a statistical point of view, the design employed to analyze the fMRI time series could result in both false positive and false negative activation areas (fallacy of inference), as activation/deactivation maps were obtained from five successive time-points (5 scans of 2 s) in a noisy time series. However, we have to point out that the activation/deactivation maps that resulted were statistically significant (t-stat range: 5–19) (Fig. 4) and concordant with the results obtained by SISCOM and invasive-EEG, so the results might be assumed to be correct, despite the potential statistical limitations. The changes in seizure-related BOLD-signal intensity were robust and sufficiently consistent to allow us to compare every 10-s seizure-block with a basal period. We did not consider analysis of shorter blocks because activation maps obtained using, for example, 6-s blocks and eight 8 s blocks, showed a lot of noise, providing less useful results. A recent study evaluated 26 brief electrographic seizures using combined EEG-fMRI. Ictal discharges lasted an average of 3.5 s (range 2.1–6.2). In this study, when a single seizure was analyzed, the activation was seen in subsets of the very large areas of activation present when a large number of seizures were analyzed (Kobayashi et al., 2006b). Interestingly though, the peaks of a t-test of both maps were very high ($t = 20.5$ in the single seizure and $t = 28.1$ for all the seizures) and occurred at exactly the same locations. These results support the conclusion that short-lasting seizures comprising few scans (even shorter than the five scan-blocks used in our model) might be analyzed independently using the GLM of analysis, providing relevant and reliable information about the location of the seizure-related hemodynamic changes.

We also compared the initial changes in seizure-related BOLD signal estimated using the GLM with those found using ICA, a data-driven method. Data-driven methods have a significant advantage, in that the hemodynamic response function is in effect defined by the dataset, without assumptions about the form of the MRI signal response to neural activation. ICA of fMRI data is capable of revealing areas of epileptic activity in animal models and humans with focal epilepsy (Beckmann & Smith, 2005; Rodionov et al., 2007). Rodionov et al. (2007) in order to assess the potential of ICA to identify the cerebral

generators of interictal epileptiform activity, compared the results obtained after ICA decomposition of fMRI data to those patterns of activation using a GLM-based approach judged to be concordant with the epileptic focus. They found that in seven of eight cases it was possible to identify at least one IC which corresponded to the GLM activations. Therefore, ICA of interictal fMRI was capable of revealing the epileptic regions involved in the generation of interictal epileptiform activity. Based on this ability of ICA to decompose the time series in a set of IC, we used this data-driven method to show that the pattern of activation seizure-related determined by sequential analysis of the BOLD signal using the GLM corresponded to an existent IC of the fMRI dataset. After ICA decomposition of fMRI data, an IC corresponded to the initial seizure-related GLM activations, which were judged concordant to the seizure-onset zone after comparison with SISCOM and subdural invasive-EEG, providing evidence that this two related methods of analysis, as the ICA component was selected from GLM results, were capable of highlighting those areas of brain involved in the seizure generation and propagation process. In addition, ICA of fMRI data could provide some complementary information to the GLM-based analysis, as have been found that ICA can detect some parts of the spatial distribution of the epileptic network related to interictal epileptiform activity (Rodionov et al., 2007), as well as, some parts of the brain networks involved in determined cognitive tasks (Kohler et al., 2008) that cannot be found using the classical approach of a hypothesis-driven analysis like the GLM. The integration of different noninvasive diagnostic modalities such as video-EEG evaluation, SISCOM, ICA, and GLM, improved our ability to detect and define those cerebral regions involved in seizure generation and propagation. Further studies including a high number of patients are necessary to assess the contribution of GLM-based analysis and ICA in accurate localization of the ictal and interictal epileptiform activity brain generators.

Another potential limitation of the study is that simultaneous scalp EEG during fMRI scanning was not acquired. Simultaneous recording to EEG and fMRI enable investigation of the hemodynamic and metabolic correlates of epileptiform activity with high temporal [ms as well as spatial resolution (on the order of millimeters) (Lemieux et al., 2001; Benar et al., 2002; Al Asmi et al., 2003; Archer et al., 2003a; Aghakhani et al., 2004; Bagshaw et al., 2004; Aghakhani et al., 2006; Bagshaw et al., 2006; Kobayashi et al., 2006c; Salek-Haddadi et al., 2006)]. EEG provides precise information on the timing of ictal spiking, which is decisive to model the onset used for fMRI analysis. In addition, simultaneous recording of EEG and fMRI allows a better analysis of the relationship between the different phases of spread of the seizure and regions showing BOLD activation (Salek-Haddadi et al., 2002; Gotman et al., 2006). However, in our study the clinical

seizure onset usually preceded the scalp EEG seizure onset in his typical seizures, so scalp EEG recording was not indispensable to establish seizure onset. From a clinical point of view, an important limitation of this technique is that only very select patients with very frequent seizures, preferable simple partial seizures without head movements, are candidates for scanning in order to avoid movement artifact and to preserve patient safety.

In conclusion, sequential analysis of the seizure-induced BOLD-signal changes in this patient was capable of delineating the seizure-onset zone and those structures related to the process of seizure propagation. The anatomic correlation with intracranial-EEG and SIS-COM was excellent. This approach may significantly improve anatomic localization of the seizure-onset zone by functional mapping relative to the underlying neuronal activity involved in seizure generation and propagation. Further studies including a greater number of patients and seizures are necessary to validate this promising method of analysis of seizure-induced BOLD-signal changes.

ACKNOWLEDGMENTS

This report was supported by Fondo de Investigación Sanitaria PI 050052 and PI 030395 (Spain) and by Fundacio la Marato de TV3 Catalunya PI 060910 (Spain).

We confirm that we have read the Journal's position on issues involved in ethical publication and affirm that this report is consistent with those guidelines.

Disclosure: None of the authors has any conflict of interest to disclose.

REFERENCES

- Aghakhani Y, Bagshaw AP, Benar CG, Hawco C, Andermann F, Dubeau F, Gotman J. (2004) fMRI activation during spike and wave discharges in idiopathic generalized epilepsy. *Brain* 127:1127–1144.
- Aghakhani Y, Kobayashi E, Bagshaw AP, Hawco C, Bénar CG, Dubeau F, Gotman J. (2006) Cortical and thalamic fMRI responses in partial epilepsy with focal and bilateral synchronous spikes. *Clin Neurophysiol* 117:177–191.
- Al Asmi A, Benar CG, Gross DW, Khani YA, Andermann F, Pike B, Dubeau F, Gotman J. (2003) fMRI activation in continuous and spike-triggered EEG-fMRI studies of epileptic spikes. *Epilepsia* 44:1328–1339.
- Archer JS, Briellman RS, Abbott DF, Syngeniotis A, Wellard RM, Jackson GD. (2003a) Benign epilepsy with centro-temporal spikes: spike triggered fMRI shows somato-sensory cortex activity. *Epilepsia* 44:200–204.
- Archer JS, Abbott DF, Waites AB, Jackson GD. (2003b) fMRI “deactivation” of the posterior cingulate during generalized spike and wave. *Neuroimage* 20:1915–1922.
- Archer JS, Waites AB, Abbott DF, Federico P, Jackson GD. (2006) Event-related fMRI of myoclonic jerks arising from dysplastic cortex. *Epilepsia* 47:1487–1492.
- Auer T, Veto K, Dóczi T, Komoly S, Juhos V, Janszky J, Schwarcz A. (2008) Identifying seizure-onset zone and visualizing seizure spread by fMRI: a case report. *Epileptic Disord* 10:93–100.
- Bagshaw AP, Aghakhani Y, Benar CG, Kobayashi E, Hawco C, Dubeau F, Pike GB, Gotman J. (2004) EEG-fMRI of focal epileptic spikes: analysis with multiple haemodynamic functions and comparison with gadolinium-enhanced MR angiograms. *Hum Brain Mapp* 22:179–192.
- Bagshaw AP, Hawco C, Benar CG, Kobayashi E, Aghakhani Y, Dubeau F, Pike GB, Gotman J. (2005) Analysis of the EEG-fMRI response to prolonged bursts of interictal epileptiform activity. *Neuroimage* 24:1099–1112.
- Bagshaw AP, Kobayashi E, Dubeau F, Pike GB, Gotman J. (2006) Correspondence between EEG-fMRI and EEG dipole localisation of interictal discharges in focal epilepsy. *Neuroimage* 30:417–425.
- Beckmann CF, Smith SM. (2004) Probabilistic independent component analysis for functional magnetic resonance imaging. *IEEE Trans Med Imaging* 23:137–152.
- Beckmann CF, Smith SM. (2005) Tensorial extensions of independent component analysis for multisubject fMRI analysis. *Neuroimage* 25:294–311.
- Beckmann CF, Jenkinson M, Woolrich MW, Behrens TE, Flitney DE, Devlin JT, Smith SM. (2006) Applying FSL to the FIAC data: model-based and model-free analysis of voice and sentence repetition priming. *Hum Brain Mapp* 27:380–391.
- Benar CG, Gross DW, Wang Y, Petre V, Pike B, Dubeau F, Gotman J. (2002) The BOLD response to interictal epileptiform discharges. *Neuroimage* 17:1182–1192.
- Brevard ME, Kulkarni P, King JA, Ferris CF. (2006) Imaging the neural substrates involved in the genesis of pentylenetetrazol-induced seizures. *Epilepsia* 47:745–754.
- Detre JA, Sirven JI, Alsop DC, O'Connor MJ, French JA. (1995) Localization of subclinical ictal activity by functional magnetic resonance imaging: correlation with invasive monitoring. *Ann Neurol* 38:618–624.
- Detre JA, Alsop DC, Aguirre GK, Sperling MR. (1996) Coupling of cortical and thalamic ictal activity in human partial epilepsy: demonstration by functional magnetic resonance imaging. *Epilepsia* 37:657–661.
- Di Bonaventura C, Carnfi M, Vaudano AE, Pantano P, Garreffa G, Le Piane E, Maraviglia B, Bozzao L, Manfredi M, Prencipe M, Giallonardo AT. (2006) Ictal hemodynamic changes in late-onset Rasmussen encephalitis. *Ann Neurol* 59:432–433.
- Federico P, Abbott DF, Briellmann RS, Harvey AS, Jackson GD. (2005) Functional MRI of the pre-ictal state. *Brain* 128:1811–1817.
- Friston KJ, Frith CD, Turner R, Frackowiak RS. (1995a) Characterizing evoked hemodynamics with fMRI. *Neuroimage* 2:157–165.
- Friston KJ, Holmes AP, Poline JB, Grasby PJ, Williams SC, Frackowiak RS, Turner R. (1995b) Analysis of fMRI time-series revisited. *Neuroimage* 2:45–53.
- Gotman J, Grova C, Bagshaw A, Kobayashi E, Aghakhani Y, Dubeau F. (2005) Generalized epileptic discharges show thalamocortical activation and suspension of the default state of the brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:15236–15240.
- Gotman J, Kobayashi E, Bagshaw AP, Bénar CG, Dubeau F. (2006) Combining EEG and fMRI: a multimodal tool for epilepsy research. *J Magn Reson Imaging* 23:906–920.
- Gusnard DA, Raichle ME, Raichle ME. (2001) Searching for a baseline: functional imaging and the resting human brain. *Nat Rev Neurosci* 2:685–694.
- Hamandi K, Salek-Haddadi A, Laufs H, Liston A, Friston K, Fish DR, Duncan JS, Lemieux L. (2006) EEG-fMRI of idiopathic and secondarily generalized epilepsies. *Neuroimage* 31:1700–1710.
- Hamandi K, Laufs H, Noth U, Carmichael DW, Duncan JS, Lemieux L. (2007) BOLD and perfusion changes during epileptic generalised spike wave activity. *Neuroimage* 39:608–618.
- Haslinger B, Erhard P, Weilke F, Ceballos-Baumann AO, Bartenstein P, Gräfin von Einsiedel H, Schwaiger M, Conrad B, Boecker H. (2002) The role of lateral premotor-cerebellar-parietal circuits in motor sequence control: a parametric fMRI study. *Brain Res Cogn* 13:159–168.
- Hawco CS, Bagshaw AP, Lu Y, Dubeau F, Gotman J. (2007) BOLD changes occur prior to epileptic spikes seen on scalp EEG. *Neuroimage* 35:1450–1458.
- Jackson GD, Connelly A, Cross JH, Gordon I, Gadian DG. (1994) Functional magnetic resonance imaging of focal seizures. *Neurology* 44:850–856.

- Kohler Ch, Keck I, Gruber P, Lie ChH, Specht K, Tome AM, Lang EW. (2008) Spatiotemporal group ICA applied to fMRI datasets. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*. 2008:4652–4655.
- Kobayashi E, Bagshaw AP, Benar CG, Aghakhani Y, Andermann F, Dubeau F, Gotman J. (2006a) Temporal and extratemporal BOLD responses to temporal lobe interictal spikes. *Epilepsia* 47:343–354.
- Kobayashi E, Hawco CS, Grova C, Dubeau F, Gotman J. (2006b) Widespread and intense BOLD changes during brief focal electrographic seizures. *Neurology* 66:1049–1055.
- Kobayashi E, Bagshaw AP, Grova C, Dubeau F, Gotman J. (2006c) Negative BOLD responses to epileptic spikes. *Hum Brain Mapp* 27:488–497.
- Krings T, Topper R, Reinges MH, Foltys H, Spetzger U, Chiappa KH, Gilsbach JM, Thron A. (2000) Hemodynamic changes in simple partial epilepsy: a functional MRI study. *Neurology* 54:524–527.
- Kubota F, Kikuchi S, Ito M, Shibata N, Akata T, Takahashi A, Sasaki T, Oya N, Aoki J. (2000) Ictal brain hemodynamics in the epileptic focus caused by a brain tumor using functional magnetic resonance imaging (fMRI). *Seizure* 9:585–589.
- Laufs H, Lengler U, Hamandi K, Kleinschmidt A, Krakow K. (2006) Linking generalized spike-and-wave discharges and resting state brain activity by using EEG/fMRI in a patient with absence seizures. *Epilepsia* 47:444–448.
- Laufs H, Hamandi K, Salek-Haddadi A, Kleinschmidt AK, Duncan JS, Lemieux L. (2007) Temporal lobe interictal epileptic discharges affect cerebral activity in “default mode” brain regions. *Hum Brain Mapp*. 28:1023–1032.
- Laureys S, Owen AM, Schiff ND. (2004) Brain function in coma, vegetative state, and related disorders. *Lancet Neurol* 3:537–546.
- Lemieux L, Salek-Haddadi A, Josephs O, Allen P, Toms N, Scott C, Krakow K, Turner R, Fish DR. (2001) Event-related fMRI with simultaneous and continuous EEG: description of the method and initial case report. *Neuroimage* 14:780–787.
- Makiranta M, Ruohonen J, Suominen K, Niinimäki J, Sonkajärvi E, Kiviniemi V, Seppänen T, Alahuhta S, Jäntti V, Tervonen O. (2005) BOLD signal increase precedes EEG spike activity—a dynamic penicillin induced focal epilepsy in deep anesthesia. *Neuroimage* 27:715–724.
- Mazoyer B, Zago L, Mellet E, Bricogne S, Etard O, Houdé O, Crivello F, Joliot M, Petit L, Tzourio-Mazoyer N. (2001) Cortical networks for working memory and executive functions sustain the conscious resting state in man. *Brain Res Bull* 54:287–298.
- Moeller F, Siebner HR, Wolff S, Muhle H, Granert O, Jansen O, Stephani U, Siniatchkin M. (2008a) Simultaneous EEG-fMRI in drug-naïve children with newly diagnosed absence epilepsy. *Epilepsia* 49:1510–1519.
- Moeller F, Siebner HR, Wolff S, Muhle H, Boor R, Granert O, Jansen O, Stephani U, Siniatchkin M. (2008b) Changes in activity of striato-thalamo-cortical network precede generalized spike wave discharges. *Neuroimage* 39:1839–1849.
- Morocz IA, Karni A, Haut S, Lantos G, Liu G. (2003) fMRI of triggerable auras in musicogenic epilepsy. *Neurology* 60:705–709.
- O'Brien TJ, So EL, Mullan BP, Cascino GD, Hauser MF, Brinkmann BH, Sharbrough FW, Meyer FB. (2000) Subtraction peri-ictal SPECT is predictive of extratemporal epilepsy surgery outcome. *Neurology* 55:1668–1677.
- Raichle ME, Snyder AZ. (2007) A default mode of brain function: a brief history of an evolving idea. *Neuroimage* 37:1083–1090.
- Raichle ME, MacLeod AM, Snyder AZ, Powers WJ, Gusnard DA, Shulman GL. (2001) A default mode of brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:676–682.
- Ramsey NF, Kirkby BS, Van Gelderen P, Berman KF, Duyn JH, Frank JA, Mattay VS, Van Horn JD, Esposito G, Moonen CT, Weinberger DR. (1996) Functional mapping of human sensorimotor cortex with 3D BOLD fMRI correlates highly with H₂(15)O PET rCBF. *J Cerebr Blood Flow Metab* 16:755–764.
- Rodionov R, De Martino F, Laufs H, Carmichael DW, Formisano E, Walker M, Duncan JS, Lemieux L. (2007) Independent component analysis of interictal fMRI in focal epilepsy: comparison with general linear model-based EEG-correlated fMRI. *Neuroimage* 38:488–500.
- Salek-Haddadi A, Merschhemke M, Lemieux L, Fish DR. (2002) Simultaneous EEG-Correlated Ictal fMRI. *Neuroimage* 16:32–40.
- Salek-Haddadi A, Lemieux L, Merschhemke M, Friston KJ, Duncan JS, Fish DR. (2003) Functional magnetic resonance imaging of human absence seizures. *Ann Neurol* 53:663–667.
- Salek-Haddadi A, Diehl B, Hamandi K, Merschhemke M, Liston A, Friston K, Duncan JS, Fish DR, Lemieux L. (2006) Hemodynamic correlates of epileptiform discharges: an EEG-fMRI study of 63 patients with focal epilepsy. *Brain Res* 1088:148–166.
- Shin WC, Hong SB, Tae WS, Seo DW, Kim SE. (2001) Ictal hyperperfusion of cerebellum and basal ganglia in temporal lobe epilepsy: SPECT subtraction with MRI coregistration. *J Nucl Med* 42:853–858.
- Van Paesschen W. (2004) Ictal SPECT. *Epilepsia* 45(Suppl. 4):35–40.

SUPPORTING INFORMATION

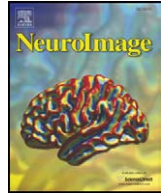
Additional Supporting Information may be found in the online version of this article:

Figure S1. Presurgical evaluation results. (A) Scalp-EEG (electroencephalography) ictal seizure onset (black arrow) showing repetitive sharp waves over the right posterior quadrant. (B) Area of hyperperfusion depicted by SISCOM. (C) Surface representation of the ictal onset zone and seizure propagation pattern determined by subdural EEG evaluation. (Early propagation pattern was defined as seizure activity that occurred in the first 10-s period.) (D) Comparison between the right superior parietal tailored resection and the position of the subdural grid electrodes. Notice that the primary somatosensory cortex was left in place.

Figure S2. Blood oxygenation level-dependent (BOLD) negative signal changes overlaid on the high-resolution axial T₁-weighted image, seen 50 s before the initial clinical manifestations (presurgery study). Note that the left frontoparietal region, including the lateral and mesial aspects, the left cingulate gyrus, and the right mesial superior parietal region were the cortical structures that showed the greatest decrease in BOLD signal. Extensive frontoparietal neuronal damage may explain the asymmetry of initial BOLD decrease, with less pronounced changes in the atrophic regions. Among the subcortical structures, the most relevant ones were: the brainstem reticular activating system (pons and mesencephalon), the thalamic nuclei (left more than right), the substantia nigra, the basal ganglia (left caudate and putamen), and the right cerebellum. Brain activity maps corresponding to 60 and 70 s before the clinical seizure onset are also provided.

Please note: Wiley-Blackwell is not responsible for the content or functionality of any supporting information supplied by the authors. Any queries (other than missing material) should be directed to the corresponding author for the article.

4.2. ESTUDIO II:



Identifying the structures involved in seizure generation using sequential analysis of ictal-fMRI data

Antonio Donaire ^{a,*}, Nuria Bargallo ^{a,b}, Carlos Falcón ^b, Iratxe Maestro ^a, Mar Carreno ^{a,b}, Javier Setoain ^{a,b}, Jordi Rumià ^a, Santiago Fernández ^a, Luis Pintor ^{a,b}, Teresa Boget ^{a,b}

^a Hospital Clínic, Barcelona, Spain

^b Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 18 November 2008

Revised 4 March 2009

Accepted 18 March 2009

Available online 1 April 2009

Keywords:

Seizures

Functional MRI

EEG

Seizure onset zone

Epilepsy surgery

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate if sequential analysis of BOLD signal changes induced by seizures is useful for preoperative identification of the site of seizure onset in patients with pharmaco-resistant focal epilepsy.

Method: We analyzed BOLD raw data from 5 patients with focal medically refractory epilepsy who experienced partial seizures during fMRI as part of a preoperative evaluation. To sequence the changes in BOLD signal seizure-induced, each seizure epoch was divided into groups of five consecutive images (ten-second blocks). *t*-maps were calculated continuously from 120 s before the onset of clinical/EEG seizure onwards by comparing two consecutive groups of five images. Time lag between each comparison was 2 s. Relative changes in BOLD signal between two consecutive groups of five images along the seizure epoch were determined. Results were compared with those of subtraction ictal SPECT coregistered with MRI (SISCOM) and intracranial EEG (2 patients).

Results: A typical seizure was registered in each patient. After sequential analysis, a well-localized and statistically significant (*t*: 7–14) area of signal increase was consistently found at seizure initiation in each patient. This area invariably preceded the onset of clinical/electrical seizure by several seconds (6–52 s); was concordant with SISCOM results in all but one patient; and overlapped with the ictal onset zone determined by intracranial EEG in those 2 patients who underwent invasive-EEG recordings. Complete resection of this initial area of signal increase resulted in seizure remission. Three out of four patients who underwent epilepsy surgery remained seizure-free.

Conclusion: Sequential analysis of ictal-fMRI data may be useful to precisely and non-invasively delineate the ictal onset zone within the brain; and provide insights into the cerebral substrates involved in the generation and propagation of seizures.

© 2009 Elsevier Inc. All rights reserved.

Introduction

The ultimate goal in epilepsy surgery is to determine the minimum amount of cortex to be resected (inactivated or completely disconnected) to produce seizure freedom (Luders et al., 2008). Seizure semiology, a potentially epileptogenic brain lesion, genetic background and particularly the cortical area involved in seizure generation (“seizure-onset zone” (SOZ)) must be considered to infer the location and extension of the epileptogenic zone (Carreño and Luders, 2008). The “gold standard” for SOZ localization in neocortical epilepsy has been surgical implantation of subdural electrodes (Carreño and Luders, 2008; Rosenow and Luders, 2001). A major limitation of these invasive electroencephalography (EEG) recordings is restricted spatial

sampling, which can barely cover a limited portion of the brain. This makes good estimation of the location of the “epileptic focus” before electrode implantation very important, particularly in pharmaco-resistant epileptic patients without lesions on MRI (Koubeissi, 2008). Another methodology widely accepted to define/determine SOZ location is subtraction ictal single-photon emission computed tomography (SISCOM), which can non-invasively evaluate the relative increase in seizure-induced blood flow during the peri-ictal period (Van Paesschen et al., 2007; Van Paesschen, 2004). It is unclear if the areas of increased perfusion depicted by SISCOM represent the seizure-onset zone (SOZ), ictal propagation, or both (Ahnlide et al., 2007; Dupont et al., 2006). Accurate localization of the SOZ in neocortical epilepsy is therefore often quite challenging, yet critically important for successful surgical therapy. There is increasing interest in developing new non-invasive techniques to localize more precisely the SOZ that will translate into improved outcomes after surgery for neocortical epilepsy. Functional MRI (fMRI) with simultaneous-EEG

* Corresponding author. Epilepsy Unit, Hospital Clínic i Provincial, C/Villarroel 170, CP: 08036, Barcelona, Spain. Fax: +34 93 2275783.

E-mail address: donaire@clinic.ub.es (A. Donaire).

recording has been used to evaluate metabolic and hemodynamic changes related to interictal epileptiform activity (Aghakhani et al., 2004; Archer et al., 2003; Bagshaw et al., 2004; Gotman, 2008; Jackson, 2008; Jacobs et al., 2007; Jann et al., 2008; Moeller et al., 2008; Salek-Haddadi et al., 2006), prolonged bursts of interictal epileptiform discharges (Aghakhani et al., 2004; Bagshaw et al., 2005; Detre et al., 1995; Hamandi et al., 2008) and even focal epileptic seizures (Archer et al., 2006; Detre et al., 1995; Di et al., 2006; Federico et al., 2005; Jackson et al., 1994; Kobayashi et al., 2006a,b; Krings et al., 2000; Kubota et al., 2000; Liu et al., 2008; Morocz et al., 2003; Tyvaert et al., 2008). It could be a good tool for detecting functional changes occurring at seizure initiation within the epileptogenic zone because it can detect subtle changes in cerebral activity with very high spatial and temporal resolution. Epilepsy is an abnormal brain state, but available evidence suggests preserved neurovascular coupling between neuronal activity and the metabolic and hemodynamic processes underlying changes in blood oxygen level-dependent (BOLD) signal in response to epileptic activity (Carmichael et al., 2008; Hamandi et al., 2008; Stefanovic et al., 2005). This assumption is fundamental to the application of BOLD-fMRI to the study of the complex hemodynamic changes that occur during epileptic seizures. Ictal-fMRI studies have shown widespread changes in BOLD signal related to seizures reflecting the SOZ and ictal propagation precluding precise delineation of the cortical area from which epileptic seizures are arising. In these studies, epileptic seizures were usually modeled as single events, which prevented elucidation of the temporal and spatial sequence of these signal changes that were seizure-related. Our hypothesis was that sequential analysis of seizure-induced changes in BOLD signals may enable investigation of the successive hemodynamic and metabolic changes associated with focal seizures with high spatial and temporal resolution. This could be applied to locate precisely and non-invasively the exact location of the SOZ.

We analyzed five independent focal seizures from five patients with pharmaco-resistant focal epilepsy who experienced epileptic seizures during ictal-fMRI as part of their preoperative evaluation. We segmented each seizure into ten-second blocks. Each block represented a unique experimental condition that was contrasted continuously with the contiguous ten-second blocks from the onset of seizure onwards to gain access to temporal development of the BOLD signal changes induced by epileptic seizures. The initial seizure-related activations should correspond to the initial changes in neuronal activity within the SOZ. We compared these initial regions of seizure-related activation with the results from invasive subdural evaluation and SISCOM to evaluate the utility of sequential analysis of ictal-fMRI data in the anatomic location of the SOZ.

Methods and patients

This study is part of a larger prospective research program aimed to image the cerebral structures involved in epileptic activity generation using functional MRI. The study design involved patients who experienced simple partial or complex partial seizures during fMRI. From 2004 to 2007, 36 from 356 patients admitted for presurgical evaluation underwent ictal or interictal-fMRI, 25 with simultaneous recording of EEG. All patients underwent comprehensive preoperative evaluation, including clinical history, neurologic examination, long-term monitoring of video-EEG, neuropsychologic assessment, high-resolution structural MRI, SISCOM, and invasive-EEG evaluation with subdural electrodes (if needed). Patients had to have frequent partial

seizures (at least one seizure every to 2–3 h) with or without loss of consciousness to be considered for ictal-fMRI. Patients with secondary generalized tonic-clonic seizures, or hypermotor seizures or complex motor automatisms, were excluded. Patients had to have at least one clinical seizure similar to their typical seizures, with or without simultaneous-EEG coregistration, during fMRI to be included in the study. Patients also had to have (i) an ictal single-photon emission computed tomography (SPECT) with a radioisotope injection time of <40 s from the beginning of the seizure; or (ii) undergone invasive-EEG evaluation with subdural grids to compare the results obtained from ictal-fMRI with those from well-established diagnostic techniques for SOZ localization.

Written informed consent was obtained from all patients. The study protocol was approved by the ethics committee of our hospital.

Acquisition of fMRI data

fMRI was done on a Signa 1.5-Tesla General Electric Magnetic Resonance Scanner (GE Medical Systems, Milwaukee, WI, USA). A structural high-resolution axial three-dimensional T1-weighted image was acquired using a fast spoiled gradient-recalled acquisition (FSPGR) sequence (thickness, 1.5 mm).

Functional images were acquired as a series of single-shot gradient-echo planar imaging (EPI) volumes providing T2-weighted BOLD contrast (repetition time/echo time (TR/TE), 2000/34 ms; field of view (FOV), 24 × 24 cm, 64 × 64 pixel matrix; flip angle, 90°; slice thickness, 5 mm; gap, 1.5 mm; 20 axial slices per scan). Continuous whole-brain EPI-BOLD volumes were acquired over runs of 11 min 20 s, corresponding to 340 scans, until at least one seizure was registered. A maximum of four runs were scheduled per patient. Antiepileptic medication was reduced (one antiepileptic drug was reduced or suppressed) 24 h before scanning to prompt seizures inside the scanner.

The EEG signal was continuously acquired inside the MRI scanner using 27 MRI-compatible electrodes. Data were transmitted from a BrainAmp amplifier (sampling rate, 5 kHz; Brain Products, Munich, Germany) via an optic-fiber cable to the EEG monitor located outside the scanner room.

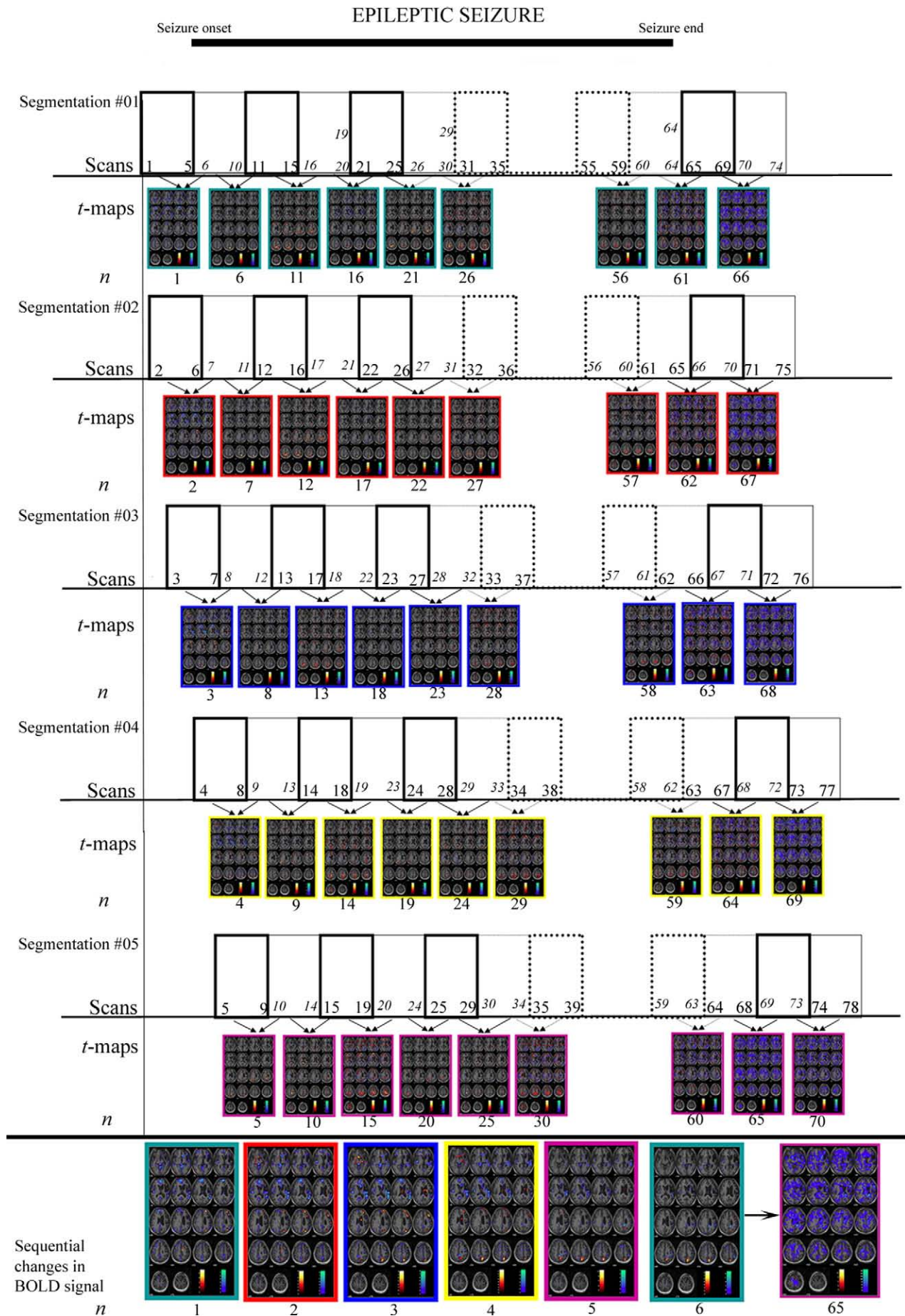
EEGs recorded during MRI were post-processed using Vision Analyzer software (Brain Products). ECG/EOG electrodes were also used. Ballistocardiogram and scanner artifacts were removed, and EEGs reviewed by three experienced epileptologists (M.C., I.M., A.D.); the onset and end of seizures were manually marked. Patients were monitored (I.M., A.D.) during imaging to ensure that the seizures recorded corresponded to their typical seizures.

Patients with epileptic auras (simple partial seizures) were asked to indicate the onset and the end of ictal events by pressing a response button. Times of seizure onset and seizure end were automatically registered, and could be correlated with functional images. Seizure onset and seizure end were determined by simultaneous-EEG recordings if consciousness was impaired.

fMRI analysis

fMRI was processed and analyzed using SPM2 (Wellcome Department of Cognitive Neurology, University College London, London, UK) running on MATLAB (Mathworks Incorporated, Natick, MA, USA). Pre-processing involved realignment of fMRI series for motion correction, normalization to the Montreal Neurological Institute (MNI) template

Fig. 1. Schematic representation of the method to analyze successive changes in BOLD signal seizure-related. The seizure epoch is divided in blocks of five scans (segmentation process). Comparisons (*t*-maps) were continuously obtained by contrasting two consecutive blocks of five scans (arrows). The entire procedure was repeated as many times as the number of the scans contained in each block (segmentation #01–05) but starting one scan further with respect to the previous segmentation process. Each *t*-map was labeled with the number (*n*) of the first scan contained in that comparison. To facilitate visualization of the final sequence of seizure-related changes in BOLD signal obtained after continuously comparing two consecutive blocks of five scans every 2 s, *t*-maps (overlaid on axial T1-weighted MRIs) corresponding to each segmentation process were framed with different colors (green, red, blue, yellow, magenta).



for labeling of activation areas, and smoothing with a Gaussian kernel of 8 mm. The first four scans of each run were not included in the analysis to ensure that the magnetization was steady state.

Statistical analyses was carried out applying the framework of the general linear model (Friston et al., 1995a,b). Seizures were analyzed as independent conditions. For each seizure, pre-ictal (120 s before onset of clinical seizure), ictal (from onset of clinical seizure to seizure end), and post-ictal (60 s after seizure end) periods were divided into ten-second blocks (corresponding to groups of five scans). Each block (seizure-related) was considered as an independent regressor in the design matrix, and was labeled using the number of the first scan of those contained in each ten-second block. Each column of the design matrix therefore corresponded to a ten-second period of the seizure epoch. Motion parameters obtained from realignment were included as confounds in the design matrix. Hemodynamic response to each block was modeled by linear convolution of a time-invariant canonical hemodynamic response function with the box function corresponding to the block. To assess effects of interest, we contrasted each ten-second block with the contiguous block to determine the relative difference in BOLD signal between two contiguous ten-second blocks (Fig. 1). We repeated the entire process (segmentation of the seizure epoch and comparison of contiguous ten-second blocks) but starting the segmentation process of the seizure epoch one scan further with respect to the previous segmentation. We successively repeated the process as many times as the number of scans contained in a ten-second block (five scans per block). Each statistical map (*t*-map) was labeled with the number of the initial scan involved in the comparison (*n*). The time lag between each comparison was 2 s at the end of the process (Fig. 1). We could therefore determine the sequence of relative changes in BOLD signal seizure-related between two contiguous blocks of 10 s every 2 s along the seizure epoch. Contrast was examined with a voxelwise significance level of $p < 0.05$ (*t*-test), family-wise error (FWE) corrected for multiple comparisons across the brain. BOLD responses were classified into positive (activation) and negative (deactivation). *t*-maps for each comparison were overlaid on the patient-normalized T1-weighted MRI. Visual comparison of seizure-related relative changes in the BOLD signal after comparison of one ten-second block to the next ten-second block every 2 s allowed imaging of the sequence of hemodynamic changes that occur along the seizures within the brain by looking at the fMRI data as a film loop.

The first activation cluster with a minimum of five contiguous voxels with a $|t| > 3$ (corresponding to $p < 0.05$ corrected for the multiple comparisons resulting from the number of voxels in the brain), time-locked to the clinical or EEG seizure onset, sustained in time (repeated in at least three correlative comparisons), and whose spatial distribution evolved in agreement with the previous clinical information (namely clinical semiology, ictal-EEG pattern and structural MRI findings) was considered the putative SOZ.

Ictal-fMRI results were compared and coregistered with the SOZ determined by SISCOM and intracranial subdural evaluation (if done) to validate fMRI activations. It is important to notice that the cluster of activation which was compared for validity with SISCOM and invasive-EEG results (and surgical outcome) was selected independently of them. This cluster was coregistered with SISCOM results, and the initial contacts involved in seizure generation depicted by invasive EEG. A peri-ictal perfusion change of > 2 standard deviations above the reference was considered as significant when analyzing SISCOM results.

In patients who underwent epilepsy surgery, inclusion of the putative SOZ determined by ictal-fMRI in resected tissue was assessed on postoperative MRI and correlated with surgical outcome. Post-surgical follow-up period was 3 years in patients #01, #05; 1 year in patient #03; and, 5 months in patient #02.

Results

Ten patients had simple partial or complex partial seizures during fMRI and fulfilled the inclusion criteria. fMRI did not have to be prematurely aborted due to seizure severity in any patient. The acquisition period required to record at least one seizure ranged from 67 s to 31 min (median, 19 min). Seizure-induced raw BOLD signal data could not be analyzed in five patients (50%); two cases with epilepsy partialis continua whose seizures were so frequent that posterior analysis was precluded; two cases with startle epilepsy who experienced an abrupt head movement at seizure onset (axial tonic seizures), and one case who displayed continuous movement artifact along the acquisition period. Clinical characteristics and preoperative evaluation of subjects whose seizures were suitable for sequential analysis are summarized in Table 1. The seizure onset was determined by combined EEG-fMRI in 2 patients (#02, #04) and pointed out by the patient in the other 3, based on the clinical onset

Table 1
Summary of clinical characteristics and presurgical evaluation findings in each subject.

Patient	Age/gender	Age at seizure onset	Seizure semiology	Scalp-EEG seizure onset	RM	SISCOM	Invasive subdural evaluation
#01	38y/M	33y	Abdominal auras, psychic auras (fear), olfactory auras, autonomic auras (urinary urge, tachycardia), piloerection (autonomic seizures) rarely followed by partial loss of consciousness	R ant T	R MTS	R mesial T (hippocampus and parahippocampal gyrus) t: 37 s	
#02	36 y/M	4 y	BAT sz	Gen (max. L F)	L F porencephalic cyst	L F (porencephalic cyst's edge) t: 26 s	
#03	33 y/F	11 y	Psychic aura → automotor sz	R post T	R MTS	R mesial, basal and posterior T t: 32 s	R mesial T region At sz onset, 3 contacts located over the R parahippocampal gyrus were initially involved. — 34 typical were recorded
#04	27 y/F	21 y	Nonspecific aura → R arm tonic sz	L F-C	Normal	L F (Superior frontal gyrus) t: 22 s	
#05	37 y/M	23 y	L somatosensory aura (thigh) → L arm and face clonic sz	R P-O	R Hem. atrophy (progressive)	R F-P region (perirolandic region) t: 40 s	R mesial P (Precuneus) At seizure onset, three contacts were initially involved; the most anterior one located over the primary sensory cortex of the L thigh. — 72 typical szs were recorded

Abbreviations: M, male; F, female; y, year; BAT, bilateral asymmetric tonic; sz, seizure; L, left; R, right; T, temporal; F, frontal; P, parietal; O, occipital; ant, anterior; Gen, generalized; max, maximum; MTS, mesial temporal sclerosis; Hem, hemisphere; t, time of isotope injection after seizure onset; s, seconds.

Table 2

Summary of ictal-fMRI results and their correlation with SISCOm, invasive subdural evaluation and surgery outcome.

Patient	Seizure semiology (fMRI)/duration (seconds)	Location of initial increase in BOLD signal seizure-related (the putative SOZ)	Temporal relationship between the initial BOLD signal increase (fMRI) and clinical/EEG seizure onset	Spatial relationship between SISCOm/subdural electrodes and the putative SOZ (fMRI)	Structures involved in seizure propagation (fMRI)	Epilepsy surgery/seizure outcome
#01	Rising epigastric sensation, piloerection, urinary urge and fear (42 s)	R insular cortex (superior aspect)	fMRI preceded in 10 s the clinical sz onset	No overlap with SISCOm (peri-ictal increase perfusion over the right hippocampus)	R mesial temporal structures (amygdala, hippocampus and parahippocampal gyrus)→R temporal pole→L mesial and lateral temporal homonymous contralateral structures→R basal ganglia, zona tempestas and brainstem nuclei→R orbitofrontal region	R Ant T lobect (including mesial structures)/no sz free (less frequent auras)
#02 (simultaneous EEG-fMRI)	No clinical signs (EEG seizure: 33 s)	L mesial frontal gyrus (mesial aspect)	fMRI preceded in 12 s the EEG sz onset	Partial overlap with SISCOm	L mesial frontal region→SSMA→R frontal homotopic contralateral region→L frontal lobe (lateral aspect) →both mesial temporal regions	Tailored resection/sz free
#03 (subdural electrodes)	Psychic aura (fear)→subtle manual automatisms (LOC) (approx: 45 s)	R hippocampus (body and tail)	fMRI preceded in 52 s the clinical sz onset	Overlap with SISCOm and the SOZ determined by subdural invasive evaluation	R insular cortex →R basal temporal region and R parietal operculum→R frontal lobe (lateral aspect)→homotopic contralateral insular and temporal cortex	R Ant T lobect (including mesial structures)/sz free
#04 (simultaneous EEG-fMRI)	L arm tonic seizure (EEG sz: 48 s)	L superior frontal gyrus (mesial aspect)	fMRI preceded in 6 second the EEG sz onset	Overlap with SISCOm	R frontal (homotopic contralateral region)→bilateral premotor cortex→L SSMA→bilateral basal ganglia (thalamus and striatum), mesial temporal structures and brainstem (mesencephalum and pons)→R cerebellum	Declined epilepsy surgery
#05 (subdural electrodes)	L thigh somatosensory aura→L arm clonic sz (83 s)	Right parietal (mesial aspect: precuneus)	fMRI preceded in 40 s the clinical sz onset	Overlap with SISCOm and the SOZ determined by subdural invasive evaluation	L parietal (homotopic contralateral region)→R perirrolandic region and SSMA→R thalamus→R cingulate gyrus→both mesial temporal and frontal regions→brainstem nuclei and L cerebellum	1st. tailored resection/sz free 2 months (pathology: Rasmussen's encephalitis) 2nd R hemispherect/sz free

Abbreviations: LOC, loss of consciousness; sz, seizure; R, right; L, left; SOZ, ictal onset zone; SSMA, supplementary sensory-motor area; T, temporal; Lobect, lobectomy; hemispherect, hemispherectomy.

of their typical seizures during fMRI scanning (Table 2). The clinical seizure onset in these patients invariably preceded onset of the electroencephalographic seizures as determined by long-term monitoring of video-EEG.

Brain regions that showed seizure-related significant changes in BOLD signal (activations or deactivations) after sequential analysis of fMRI data are summarized in Fig. 2.

Increases in BOLD signal seizure-related (activations)

After sequential analysis, a well-localized increase in BOLD signal was found to precede seizure onset in each patient. This was highly significant, with *t*-values ranging from 7 to 14, and invariably preceded the onset of clinical and/or electrical seizure; 6–52 s for the onset of clinical seizure, and 8–12 s for the onset of EEG seizure. When compared with the area of increased perfusion depicted by SISCOm (Fig. 3), this initial area of signal increase overlapped with SISCOm results in all but one patient (#01). In the latter (who had a paraneoplastic limbic encephalitis with unilateral mesial temporal sclerosis), SISCOm showed a significant peri-ictal increase in perfusion over the right mesial temporal region; ictal-fMRI initially showed a focal increase in BOLD signal over the right insular cortex (anterior and superior aspect) that immediately extended toward the right mesial temporal region (including the hippocampus and amygdala) 4–6 s later (Fig. 3).

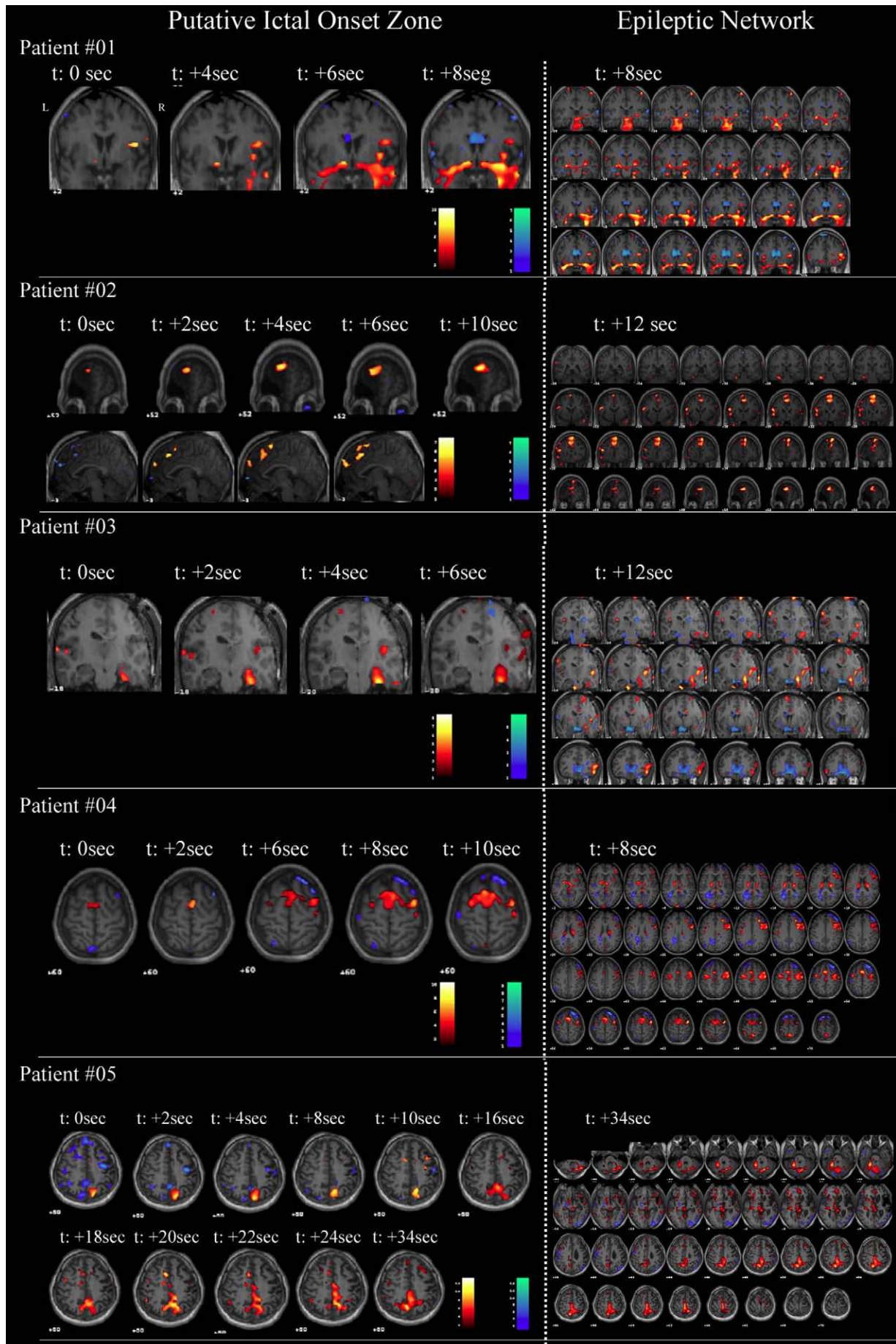
The initial area of activation was concordant with the SOZ determined by subdural electrodes in those 2 patients who under-

went evaluation by invasive EEG (#03, #05) (Fig. 3). Cerebral structures that became activated along the seizure evolution agreed with SISCOm results and with the pattern of seizure propagation determined by invasive subdural evaluation (see Supplementary material Fig. 1).

Additional relevant clinical data such as the semiology and duration of seizures; location of the initial increase in BOLD signal consistent with the putative SOZ; temporal relationship between the onset of clinical/EEG seizure and the seizure-related initial increase in BOLD signal; spatial relationship between SISCOm/subdural electrodes results and the putative SOZ; and the structures involved during the evolution/propagation of seizures determined by sequential analysis of seizure-related raw BOLD signal are summarized in Table 2.

Decreases in BOLD signal seizure-related (deactivations)

Seizure-related initial activations were invariably preceded (by 10–26 s) by a decrease in BOLD signal located close (but also distant) from areas of activation considered to be the putative SOZ (Fig. 4). There was a bilateral and widespread decrease in BOLD signal that involved the putative SOZ, mesial frontal region, posterior cingulum region, parieto-occipital region and basal ganglia. Once the seizure-related initial activations appeared, these widespread negative BOLD signals become scattered and patchy. At the beginning of the seizure, BOLD activation maps showed not only a well-localized region of increased signal consistent with the SOZ, but also a scattered and patchy decrease in BOLD signals.



In contrast, similar patterns of activation and deactivation were not found in those patients who were scanned but did not experience epileptic seizures or epileptic epileptiform activity during fMRI scanning.

BOLD signal seizure-related time-courses

For each seizure, the time-course of changes in the BOLD signal for the first activation clusters with a minimum of five contiguous voxels with a $|t| > 3$ (corresponding to $p < 0.05$ FWE-corrected), time-locked to the onset of clinical or EEG seizure, and coherent with the location of the SOZ as determined by SISCOM and invasive EEG, consistent with the putative SOZ, showed an initial period of decreased signal, lasting for several seconds. This was followed by a prominent increase in BOLD signal at seizure onset, followed by a steady increase in BOLD signal and by a slow return to baseline (Fig. 5). The average increase in BOLD signal was 2.2–4.1%.

Epilepsy surgery results

Four patients underwent epilepsy surgery. Two patients underwent a temporal lobe resection (#01, #03), one patient had a tailored left frontal resection (#02), and the other case (#05), who had chronic encephalitis in the right hemisphere compatible with Rasmussen's encephalitis, initially underwent a right parietal tailored resection which was unsuccessful in terms of seizure control as it did not include the complete seizure onset zone in order to preserve the left foot primary somatosensory cortex. He subsequently underwent a right functional hemispherectomy due to the progressive nature of the underlying disease, and has remained seizure-free (follow-up period ranging between 5 months (#02) to 3 years (#05)). All but one patient (#01), who had limbic encephalitis with a right mesial temporal lobe sclerosis, became seizure-free. In the latter, the semiology and frequency of seizures were almost identical after epilepsy surgery. Regimens of antiepileptic drugs were simplified to one antiepileptic drug in all seizure-free patients.

Discussion

Sequential analysis of ictal-fMRI data allowed determination of temporal development of changes in BOLD signals induced by epileptic seizures. Our method permitted investigation of the cerebral structures that progressively became activated throughout the generation and propagation of the seizure. Sequential analysis of ictal-fMRI data allowed for precise and non-invasive location of the SOZ. In all analyzed seizures, a well-localized focal increase in signal was detected at seizure initiation. Activations then involved additional cortical and subcortical regions, presumably indicating sequential involvement of an epileptic network. Cortical regions initially involved in seizure initiation determined by ictal-fMRI were concordant with the SOZ determined by SISCOM and invasive-EEG studies in all but one patient, in whom initial activation was not concordant with the perictal increase in perfusion depicted by SISCOM (Fig. 3; patient #01). A possible explanation for this discrepancy was that SISCOM results corresponded with some degree of seizure propagation because the seizure-related initial increase in BOLD signal observed over the right insular cortex immediately extended to the right mesial temporal lobe, the region that showed the significant increase in perfusion as depicted by SISCOM. This patient underwent anterior temporal

lobectomy, including the mesial temporal lobe structures but sparing the insular cortex, but the patient continued having almost the same type of seizure at nearly the same frequency as before epilepsy surgery. This surgical outcome showed that mesial temporal lobe structures were not primarily involved in seizure generation, leaving open the possibility that the region responsible for seizure generation may be located over the right insular cortex, as depicted by sequential analysis of seizure-related changes in the BOLD signal.

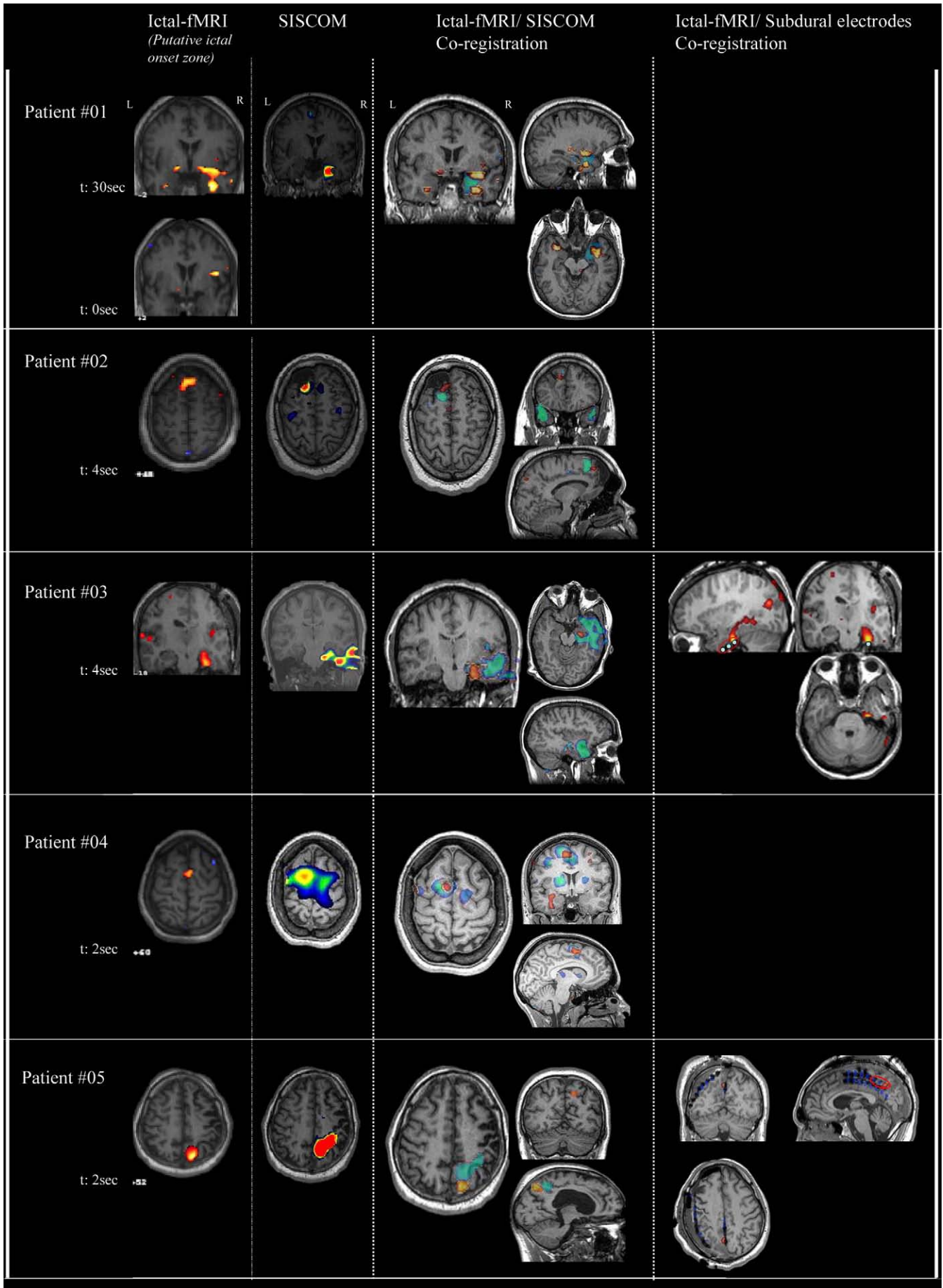
Seizure-related initial activations invariably preceded, by several seconds, the onset of clinical and electroencephalographic seizure in each patient. Ictal-fMRI could show these initial changes in neuronal and metabolic activity which occur within the epileptogenic zone in the period leading to seizures. Such changes cannot be detected by current diagnostic tools. Ictal-fMRI may be an excellent research tool to aid insight into the cerebral structures and mechanisms involved in the generation of epileptic seizures.

Ictal-fMRI studies in humans (Archer et al., 2006; Detre et al., 1995; Di et al., 2006; Federico et al., 2005; Jackson et al., 1994; Kobayashi et al., 2006a,b; Krings et al., 2000; Kubota et al., 2000; Liu et al., 2008; Morocz et al., 2003; Tyvaert et al., 2008) have shown activations in the presumed seizure focus that included the cortical regions involved in seizure generation, but also those involved in seizure propagation. This precluded precise delineation of the neural substrates involved in the genesis of focal epileptic seizures. The haemodynamic changes during an focal motor seizure using fMRI have been described recently (Auer et al., 2008). In this study, the sequence of structures involved in seizure generation and propagation were determined by using an internal reference signal curve identified based on the BOLD signal changes occurred in the symptomatogenic zone along the seizures.

Functional imaging of animal models allowed the functional neuroanatomy contributing to the genesis of seizures to be mapped (Blumenfeld, 2007; Brevard et al., 2006). In a recent ictal-fMRI study in animals (Schridde et al., 2008), *t*-maps were calculated continuously for a group of ten consecutive images from seizure onset onwards compared with the same number of baseline images to characterize the cerebral areas that were involved during generalized seizures induced by bicuculline. This allowed analysis of the temporal relationship between signal changes from baseline along the seizure epoch. In humans, we have shown that it is feasible to divide the seizure epoch into fixed periods of time, and contrast each period with the contiguous period to evaluate the temporal and spatial sequence of changes in the BOLD signal associated with focal epileptic seizures.

Sequential analysis of raw data of seizures showed that in all analyzed seizures, the first change in BOLD signal induced by seizure was characterized by a widespread decrease in BOLD signal which was close (overlapping) but also distant from the putative SOZ, and even preceded activations seen at seizure initiation. These deactivations consistently involved the bilateral mesial parietal cortex (precuneus), medial prefrontal cortex, and the posterior cingulate gyri. These regions have been implicated in the default mode network of the brain (Fransson, 2005; Fransson and Marrelec, 2008; Greicius et al., 2003; Raichle et al., 2001). These areas show greater activity at rest than during a stimulus or a cognitive task. Deactivations in areas related to the default mode network may therefore indicate a widespread nonspecific effect of the changes in neuronal and metabolic activity that occur during the seizure generation process in the baseline state of the brain (Gotman, 2008; Kobayashi et al., 2006a,b).

Fig. 2. Seizure-related significant changes in BOLD signal after sequential analysis of ictal-fMRI data for each patient. The first, well-localized, seizure-induced BOLD activations consistent with the putative IOZ are shown in the left column. Chronologic succession of these seizure-related initial signal changes for each patient are also shown in this column. Brain regions that became involved along the propagation process of the seizure ("epileptic network") at a given time point (*t*) are also provided in the right column. Results were overlaid on high-resolution axial T1-weighted images. To facilitate visualization, displayed changes in BOLD signal are uncorrected for multiple comparisons ($p < 0.001$). Positive BOLD (activations) is shown in yellow-red; negative BOLD (deactivations) in green-blue.



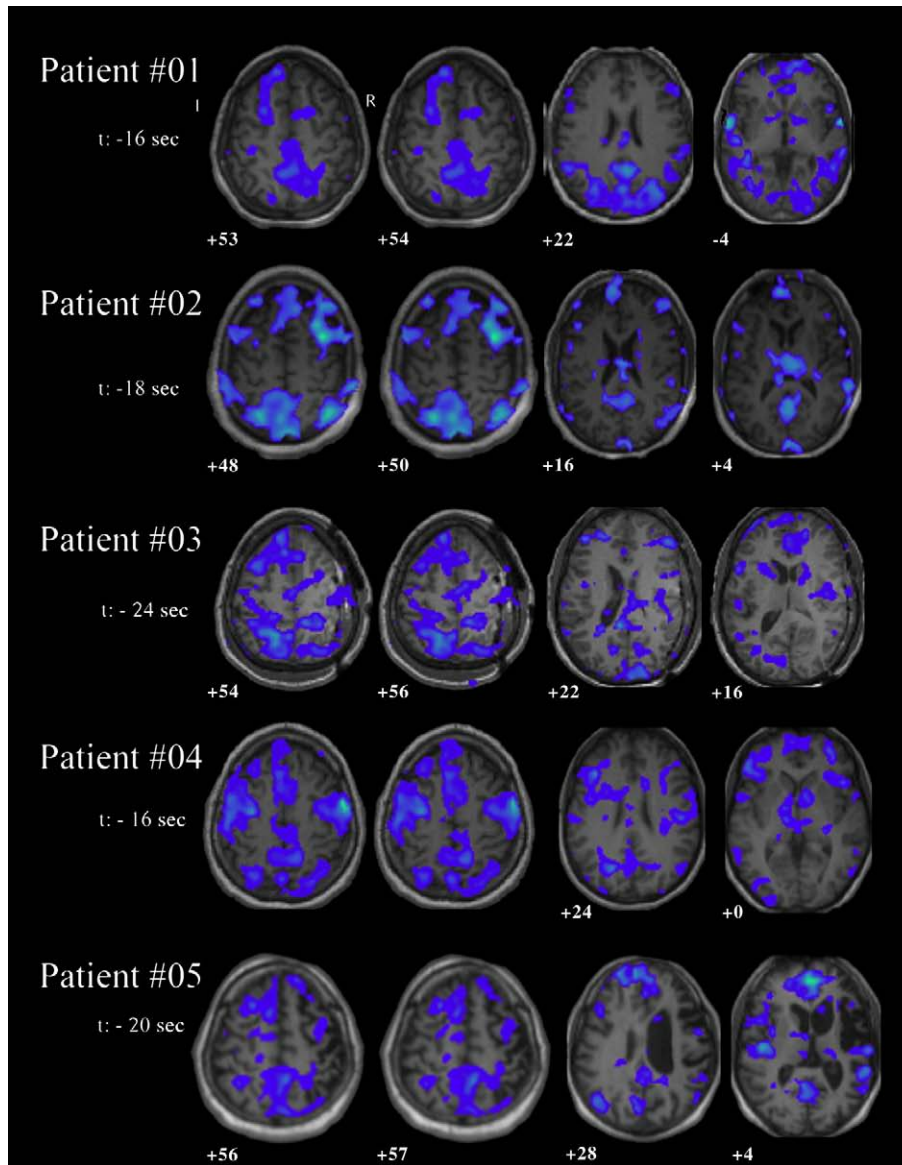


Fig. 4. Negative BOLD signal changes preceding initial activations. In each analyzed seizure, a widespread decrease in BOLD signal close, but also distant, from the areas initially involved in seizure generation was seen. The main deactivation clusters were located bilaterally in the anteromesial frontal cortex, middle parietal lobe, cingulate gyrus and basal ganglia (thalamus). These regions have been implicated in the resting state networks. BOLD signal changes are uncorrected for multiple comparisons ($p < 0.001$) to facilitate visualization. Note the susceptibility artefact related to subdural electrodes in patient #03 (t: time to seizure-related initial increase in BOLD signal).

fMRI response maps were statistical maps, with a threshold, and the inference extracted after contrasting blocks of 10 s (comprising five images each) could lead to false-positive and false-negative results. Results derived from sequential analysis reflect the changes in neuronal and metabolic activity involved in seizure generation because the initial changes in seizure-related BOLD signal were consistent with seizure semiology, scalp-EEG seizure onset, overlapped with hyperperfused brain regions depicted by SISCOM, and strictly matched the SOZ as evaluated by invasive subdural evaluation.

Other potential advantages proffered by this method of analysis of raw BOLD signals could be: (i) obviating the need for a basal period (not seizure-related) to contrast with the seizure period; we

contrasted sequentially two contiguous blocks of five images along the seizure epoch to get the relative difference in BOLD signal between them (instead of the relative difference in BOLD signal between a block of five images and a basal period); (ii) that even brief seizures (<10 s in duration) could be suitable for analysis because the seizure epoch does not have to be compared with a fixed-duration basal period; (iii) that seizure-related movement artifacts do not preclude delineation of the SOZ, always that the patient remained at rest at the beginning of the seizure, because seizure-related changes in cerebral activity preceded the onset of the clinical seizure by several seconds; and (iv) that the sequence of structures involved during the propagation process of the seizure could be imaged if movement artifact does not preclude further analysis.

Fig. 3. Relationship between the IOZ determined by seizure-related sequential analysis of ictal-fMRI data and that determined by SISCOM and invasive subdural evaluation. To illustrate coregistration results, fMRI activations are displayed in yellow–red; SISCOM results in green–blue; and subdural electrodes in blue. The ellipses in the left column represent the contacts initially involved in the SOZ determined by invasive subdural electrodes. Two activation BOLD maps are provided in patient #01; one represents the putative IOZ (t: 0 s) and the other one is concordant with radioisotope injection (t: 30 s). In this patient, SISCOM results overlapping with the activations observed 30 s after the initial changes in seizure-related BOLD signal were seen.

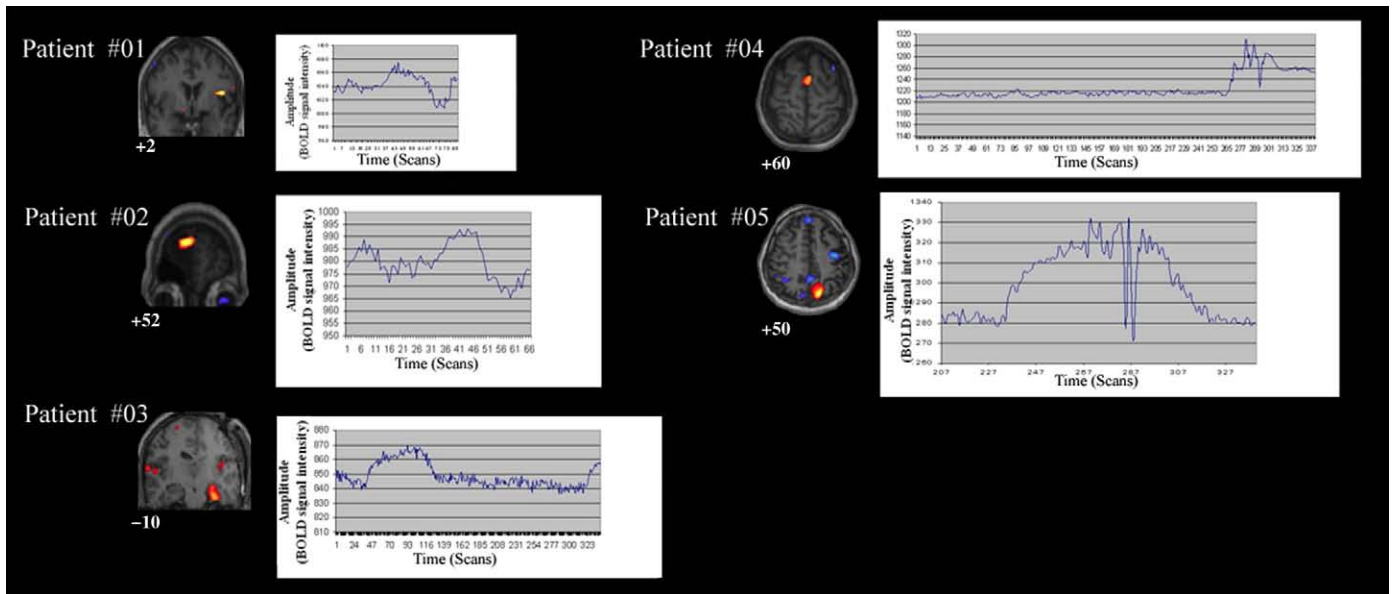


Fig. 5. Time-courses of the seizure-related raw BOLD signal from the initial cluster of activation. This was statistically significant and concordant with the location of the ictal zone determined by SISCOM or subdural electrode evaluation. The big indentation in the time-course curve in patients #04 and 05 correspond to head movement artefact related to the motor component of the seizure.

Caution is required in making inferences of altered neuronal activity based on changes in BOLD signals alone as many comparisons related to voxels in the brain are performed in this method of analysis. Accounting for all the information obtained during preoperative evaluation is required to adequately interpret the sequence of seizure-related changes in BOLD signals. Seizure semiology, interictal and ictal-EEG patterns, and functional neuroimaging studies (e.g., SISCOM, interictal PET (positron emission tomography) must also be considered. To confirm the results from sequential analysis of fMRI data regarding the SOZ, we should compare them to those derived from invasive-EEG studies (the gold standard to determine the SOZ) until further studies confirm if sequential analysis of ictal-fMRI allows for the non-invasive determination of the SOZ. We should also compare both results in order to determine the accuracy of *t*-maps obtained after sequential analysis of fMRI data and T1-weighted images coregistration, which is a key point in order to be able to plan non-invasively a surgical resection.

The main limitation of this study was the small study population. This was due to the constraints of movement artifacts, unpredictability of ictal events, and the infrequency of spontaneous ictal events inside the scanner. This method could therefore be very useful to non-invasively delineate the SOZ in patients with very frequent seizures which do not involve head movements. The clinical value of our method would be higher if we could safely provoke seizures inside the scanner (i.e., due to endovenous injection of pentylentetrazol) (Barba et al., 2007; Calcagni et al., 2002).

Another potential limitation was that simultaneous recording of scalp EEG during fMRI was not acquired in all participants. The onset of clinical seizure in patients without concomitant recording of EEG invariably preceded the onset of electroencephalographic seizure as determined by long-term monitoring of video-EEG. The onset of clinical seizure therefore constituted the best indicator of seizure onset, and recording of scalp EEG was not indispensable to establish seizure onset. However, simultaneous recording of EEG and fMRI enable investigation of the hemodynamic and metabolic correlates of epileptiform activity with high temporal (millisecond) as well as spatial resolution (on the order of millimeters) (Bagshaw et al., 2005; Lemieux et al., 2001; Salek-Haddadi et al., 2006). Thus, concurrent

EEG should always be the gold standard to determine the seizure onset in these studies.

Conclusion

Sequential analysis of ictal-fMRI data could give further insight into the characteristic time and spatial sequence of changes in fMRI signals related to focal epileptic seizures allowing to map the SOZ accurately and non-invasively. Ictal-fMRI may help monitoring of invasive planning and improve surgical outcome in a highly selected group of patients with focal medically refractory epilepsy, namely those who have very frequent seizures, who are potential candidates for resection. Ictal-fMRI could guide implantation of closed-loop stimulation systems, gene-therapy or drug delivery systems directly to the specific brain regions involved in the generation process of seizures in subjects with well-localized, focal medically refractory epilepsy who are not candidates for resection.

Disclosure

The authors report no conflicts of interest.

Acknowledgments

This report was supported by Fondo de Investigación Sanitaria PI 050052 and PI 030395 (Spain) and by Fundacio la Marato de TV3 Catalunya PI 060910 (Spain).

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at [doi:10.1016/j.neuroimage.2009.03.059](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.03.059).

References

- Aghakhani, Y., Bagshaw, A.P., Benar, C.G., Hawco, C., Andermann, F., Dubeau, F., Gotman, J., 2004. fMRI activation during spike and wave discharges in idiopathic generalized epilepsy. *Brain* 127, 1127–1144.
- Ahnlide, J.A., Rosen, I., Linden-Mickelsson, T.P., Kallen, K., 2007. Does SISCOM contribute to favorable seizure outcome after epilepsy surgery? *Epilepsia* 48, 579–588.
- Archer, J.S., Briellman, R.S., Abbott, D.F., Syngnetiotis, A., Wellard, R.M., Jackson, G.D., 2003. Benign epilepsy with centro-temporal spikes: spike triggered fMRI shows somato-sensory cortex activity. *Epilepsia* 44, 200–204.

- Archer, J.S., Waites, A.B., Abbott, D.F., Federico, P., Jackson, G.D., 2006. Event-related fMRI of myoclonic jerks arising from dysplastic cortex. *Epilepsia* 47, 1487–1492.
- Auer, T., Veto, K., Doczi, T., Komoly, S., Juhos, V., Janszky, J., Schwarcz, A., 2008. Identifying seizure-onset zone and visualizing seizure spread by fMRI: a case report. *Epileptic Disord.* 10, 93–100.
- Bagshaw, A.P., Aghakhani, Y., Benar, C.G., Kobayashi, E., Hawco, C., Dubeau, F., Pike, G.B., Gotman, J., 2004. EEG–fMRI of focal epileptic spikes: analysis with multiple haemodynamic functions and comparison with gadolinium-enhanced MR angiograms. *Hum. Brain Mapp.* 22, 179–192.
- Bagshaw, A.P., Hawco, C., Benar, C.G., Kobayashi, E., Aghakhani, Y., Dubeau, F., Pike, G.B., Gotman, J., 2005. Analysis of the EEG–fMRI response to prolonged bursts of interictal epileptiform activity. *NeuroImage* 24, 1099–1112.
- Barba, C., Di, G.D., Pollicchio, D., Bruno, I., Papacci, F., Colicchio, G., 2007. Correlation between provoked ictal SPECT and depth recordings in adult drug-resistant epilepsy patients. *Epilepsia* 48, 278–285.
- Blumenfeld, H., 2007. Functional MRI studies of animal models in epilepsy. *Epilepsia* 48 (Suppl 4), 18–26.
- Brevard, M.E., Kulkarni, P., King, J.A., Ferris, C.F., 2006. Imaging the neural substrates involved in the genesis of pentylentetrazol-induced seizures. *Epilepsia* 47, 745–754.
- Calcagni, M.L., Giordano, A., Bruno, I., Parbonetti, G., Di, G.D., De, R.G., Troncone, L., Colicchio, G., 2002. Ictal brain SPET during seizures pharmacologically provoked with pentylentetrazol: a new diagnostic procedure in drug-resistant epileptic patients. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 29, 1298–1306.
- Carreño, M., Luders, H., 2008. General principles of presurgical evaluation. In: Luders, H. (Ed.), *Textbook of Epilepsy Surgery*. Informa Healthcare, London, pp. 409–422.
- Carmichael, D.W., Hamandi, K., Laufs, H., Duncan, J.S., Thomas, D.L., Lemieux, L., 2008. An investigation of the relationship between BOLD and perfusion signal changes during epileptic generalised spike wave activity. *Magn. Reson. Imaging* 26, 870–873.
- Detre, J.A., Sirven, J.I., Alsop, D.C., O'Connor, M.J., French, J.A., 1995. Localization of subclinical ictal activity by functional magnetic resonance imaging: correlation with invasive monitoring. *Ann. Neurol.* 38, 618–624.
- Di, B.C., Carnfi, M., Vaudano, A.E., Pantano, P., Garreffa, G., Le, P.E., Maraviglia, B., Bozzao, L., Manfredi, M., Prencipe, M., Giallonardo, A.T., 2006. Ictal hemodynamic changes in late-onset Rasmussen encephalitis. *Ann. Neurol.* 59, 432–433.
- Dupont, P., Van Paesschen, W., Palmieri, A., Ambayi, R., Van Loon, J., Goffin, J., Weckhuysen, S., Sunaert, S., Thomas, B., Demaerel, P., Sciot, R., Becker, A.J., Vanbilloen, H., Mortelmans, L., Van Laere, K., 2006. Ictal perfusion patterns associated with single MRI-visible focal dysplastic lesions: implications for the noninvasive delineation of the epileptogenic zone. *Epilepsia* 47, 1550–1557.
- Federico, P., Abbott, D.F., Briellmann, R.S., Harvey, A.S., Jackson, G.D., 2005. Functional MRI of the pre-ictal state. *Brain* 128, 1811–1817.
- Fransson, P., 2005. Spontaneous low-frequency BOLD signal fluctuations: an fMRI investigation of the resting-state default mode of brain function hypothesis. *Hum. Brain Mapp.* 26, 15–29.
- Fransson, P., Marrelec, G., 2008. The precuneus/posterior cingulate cortex plays a pivotal role in the default mode network: evidence from a partial correlation network analysis. *NeuroImage* 42, 1178–1184.
- Friston, K.J., Holmes, A.P., Poline, J.B., Grasby, P.J., Williams, S.C., Frackowiak, R.S., Turner, R., 1995a. Analysis of fMRI time-series revisited. *NeuroImage* 2, 45–53.
- Friston, K.J., Frith, C.D., Turner, R., Frackowiak, R.S., 1995b. Characterizing evoked hemodynamics with fMRI. *NeuroImage* 2, 157–165.
- Gotman, J., 2008. Epileptic networks studied with EEG–fMRI. *Epilepsia* 49 (Suppl 3), 42–51.
- Greicius, M.D., Krasnow, B., Reiss, A.L., Menon, V., 2003. Functional connectivity in the resting brain: a network analysis of the default mode hypothesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 253–258.
- Hamandi, K., Laufs, H., Noth, U., Carmichael, D.W., Duncan, J.S., Lemieux, L., 2008. BOLD and perfusion changes during epileptic generalised spike wave activity. *NeuroImage* 39, 608–618.
- Jackson, G., 2008. EEG–fMRI in the presurgical work-up of patients with partial epilepsy and unclear seizure focus. *Nat. Clin. Pract. Neurol.* 4, 128–129.
- Jackson, G.D., Connelly, A., Cross, J.H., Gordon, I., Gadian, D.G., 1994. Functional magnetic resonance imaging of focal seizures. *Neurology* 44, 850–856.
- Jacobs, J., Kobayashi, E., Boor, R., Muhle, H., Stephan, W., Hawco, C., Dubeau, F., Jansen, O., Stephani, U., Gotman, J., Siniatchkin, M., 2007. Hemodynamic responses to interictal epileptiform discharges in children with symptomatic epilepsy. *Epilepsia* 48, 2068–2078.
- Jann, K., Wiest, R., Hauf, M., Meyer, K., Boesch, C., Mathis, J., Schroth, G., Dierks, T., Koenig, T., 2008. BOLD correlates of continuously fluctuating epileptic activity isolated by independent component analysis. *NeuroImage* 42, 635–648.
- Kobayashi, E., Hawco, C.S., Grova, C., Dubeau, F., Gotman, J., 2006a. Widespread and intense BOLD changes during brief focal electrographic seizures. *Neurology* 66, 1049–1055.
- Kobayashi, E., Bagshaw, A.P., Grova, C., Dubeau, F., Gotman, J., 2006b. Negative BOLD responses to epileptic spikes. *Hum. Brain Mapp.* 27, 488–497.
- Koubeissi, M.Z., 2008. Subdural electrodes. In: Luders, H. (Ed.), *Textbook of Epilepsy Surgery*. Informa Healthcare, London, pp. 641–647.
- Krings, T., Topper, R., Reinges, M.H., Foltys, H., Spetzger, U., Chiappa, K.H., Gilsbach, J.M., Thron, A., 2000. Hemodynamic changes in simple partial epilepsy: a functional MRI study. *Neurology* 54, 524–527.
- Kubota, F., Kikuchi, S., Ito, M., Shibata, N., Akata, T., Takahashi, A., Sasaki, T., Oya, N., Aoki, J., 2000. Ictal brain hemodynamics in the epileptic focus caused by a brain tumor using functional magnetic resonance imaging (fMRI). *Seizure* 9, 585–589.
- Liu, Y., Yang, T., Liao, W., Yang, X., Liu, L., Yan, B., Chen, H., Gong, Q., Stefan, H., Zhou, D., 2008. EEG–fMRI study of the ictal and interictal epileptic activity in patients with eyelid myoclonia with absences. *Epilepsia* 49, 2078–2086.
- Lemieux, L., Salek-Haddadi, A., Josephs, O., Allen, P., Toms, N., Scott, C., Krakow, K., Turner, R., Fish, D.R., 2001. Event-related fMRI with simultaneous and continuous EEG: description of the method and initial case report. *NeuroImage* 14, 780–787.
- Luders, H., Nair, D.G., Widdess-Walsh, P., Bingman, W., 2008. The epileptogenic zone: general principles. *Epileptic Disord.* 8, 1–9.
- Moeller, F., Siebner, H.R., Wolff, S., Muhle, H., Granert, O., Jansen, O., Stephani, U., Siniatchkin, M., 2008. Simultaneous EEG–fMRI in drug-naïve children with newly diagnosed absence epilepsy. *Epilepsia* 49, 1510–1519.
- Morocz, I.A., Karni, A., Haut, S., Lantos, G., Liu, G., 2003. fMRI of triggerable auras in musicogenic epilepsy. *Neurology* 60, 705–709.
- Raichle, M.E., MacLeod, A.M., Snyder, A.Z., Powers, W.J., Gusnard, D.A., Shulman, G.L., 2001. A default mode of brain function. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 676–682.
- Rosenow, F., Luders, H., 2001. Presurgical evaluation of epilepsy. *Brain* 124, 1683–1700.
- Salek-Haddadi, A., Diehl, B., Hamandi, K., Merschhemke, M., Liston, A., Friston, K., Duncan, J.S., Fish, D.R., Lemieux, L., 2006. Hemodynamic correlates of epileptiform discharges: an EEG–fMRI study of 63 patients with focal epilepsy. *Brain Res.* 1088, 148–166.
- Stefanovic, B., Warnking, J.M., Kobayashi, E., Bagshaw, A.P., Hawco, C., Dubeau, F., Gotman, J., Pike, G.B., 2005. Hemodynamic and metabolic responses to activation, deactivation and epileptic discharges. *NeuroImage* 28, 205–215.
- Schridde, U., Khubchandani, M., Motelow, J.E., Sanganahalli, B.G., Hyder, F., Blumenfeld, H., 2008. Negative BOLD with large increases in neuronal activity. *Cereb. Cortex* 18, 1814–1827.
- Tyvaert, L., Hawco, C., Kobayashi, E., LeVan, P., Dubeau, F., Gotman, J., 2008. Different structures involved during ictal and interictal epileptic activity in malformations of cortical development: an EEG–fMRI study. *Brain* 131, 2042–2060.
- Van Paesschen, W., 2004. Ictal SPECT. *Epilepsia* 45 (Suppl 4), 35–40.
- Van Paesschen, W., Dupont, P., Sunaert, S., Goffin, K., Van Laere, K., 2007. The use of SPECT and PET in routine clinical practice in epilepsy. *Curr. Opin. Neurol.* 20, 194–202.

4.3. ESTUDIO III:

FULL-LENGTH ORIGINAL RESEARCH

Identifying the cortical substrates of interictal epileptiform activity in patients with extratemporal epilepsy: An EEG-fMRI sequential analysis and FDG-PET study

*Antonio Donaire, †Antoni Capdevila, *¹Mar Carreño, ‡¹Xavier Setoain, §Jordi Rumià, *Javier Aparicio, ¶Jaume Campistol, #¹Nelly Padilla, ¶Francesc Sanmartí, *Oriol Vernet, **¹Luis Pintor, †¹Teresa Boget, ‡‡Joan Ortells, and §§¹Nuria Bargalló

*Department of Neurology, Hospital Clínic, University of Barcelona, Barcelona, Spain; †Department of Radiology, Hospital de Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain; ‡Department of Nuclear Medicine, CDIC, Hospital Clínic, University of Barcelona, Barcelona, Spain; §Department of Neurosurgery, Hospital Clínic, University of Barcelona, Barcelona, Spain; ¶Department of Pediatric Neurology, Hospital de Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain; #Departments of Maternal-Fetal Medicine and Neonatology, ICGON, Hospital Clínic, University of Barcelona, Barcelona, Spain; **Department of Psychiatry, Hospital Clínic, University of Barcelona, Barcelona, Spain; ††Department of Neuropsychology, Institute of Neuroscience, Hospital Clínic, University of Barcelona, Barcelona, Spain; ‡‡Department of Pediatric Anesthesia, Hospital de Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain; and §§Department of Radiology, Hospital Clínic, University of Barcelona, Barcelona, Spain

SUMMARY

Purpose: The aim of this study was to apply sequential analysis of electroencephalography–functional magnetic resonance imaging (EEG-fMRI) data to study the cortical substrates related to the generation of the interictal epileptiform activity (IEA) in patients with pharmacoresistant extratemporal epilepsy.

Methods: We analyzed fMRI data from 21 children, adolescents, and young adults patients who showed frequent bursts or runs of spikes on EEG, by using the sequential analysis method. We contrasted consecutive fixed-width blocks of 10 s to obtain the relative variations in cerebral activity along the entire fMRI runs. Significant responses ($p < 0.05$, family-wise error (FWE) corrected), time-related to the IEA recorded on scalp EEG, were considered potential IEA cortical sources. These results were compared with those from the fluorodeoxyglucose–positron emission tomography (FDG-PET), intracranial EEG (two patients), and surgery outcome (eight patients).

Key Findings: The typical IEA was recorded in all patients. After the sequential analysis, at least one sig-

nificant blood oxygen level-dependent (BOLD) response spatially consistent with the presumed epileptogenic zone was found. These IEA-related activation areas coincided when superimposed with the hypometabolism depicted by the FDG-PET. These data were also consistent with the invasive EEG findings. Epileptic seizures were recorded in eight patients. A subset of IEA-associated fMRI activations was consistent the activations at seizure-onset determined by sequential analysis. The inclusion of the IEA-related areas in the resection rendered the patients seizure-free (five of eight operated patients).

Significance: The EEG-fMRI data sequential analysis could noninvasively identify cortical areas involved in the IEA generation. The spatial relationship of these areas with the cortical metabolic abnormalities depicted by the FDG-PET and their intrinsic relationship regarding the ictal-onset zone could be useful in epilepsy surgery planning.

KEY WORDS: Epilepsy, Source-location, Epilepsy surgery, Ictal-onset zone, Irritative zone, Neurophysiology.

In epilepsy surgery, it is essential to determine the precise location and the extent of the epileptogenic zone (EZ), which is the cortical area involved in seizure generation that should be resected to control the epileptic seizures (Rose-

now & Luders, 2001). The elucidation of the EZ is a challenging task, especially in patients with extratemporal epilepsy, because a widespread EZ, rapid spreading of ictal electroencephalographic changes, and large areas inaccessible to the scalp electroencephalography (EEG) often characterize this type of epilepsy (Roper, 2009; Ansari et al., 2010). Because of these limitations, a significant proportion of patients with presumed extratemporal epilepsy have to undergo invasive EEG recordings (Spencer, 1998).

In this context, the precise study of the cortical sources involved in the generation of the interictal epileptiform

Accepted December 5, 2012.

Address correspondence to Antonio Donaire, Epilepsy Comprehensive Program, Neurology Department, Hospital Clínic, C/Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain. E-mail: donaire@clinic.ub.es

¹Institut D'investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain.

Wiley Periodicals, Inc.

© 2013 International League Against Epilepsy

activity (IEA) proves crucial. These cortical areas contain intrinsic epileptogenicity and constitute an indirect marker of the brain region involved in seizure generation. Therefore, the region of seizure onset should be found within the area where the IEA is recorded, the so-called irritative zone (IZ) (Asano et al., 2003; Brodbeck et al., 2009). In that respect, simultaneous electroencephalography (EEG) recording and functional magnetic resonance imaging (EEG-fMRI) has emerged as a useful and noninvasive technique that provides valuable information concerning the location of the regions generating IEA (Bagshaw et al., 2005; Salek-Haddadi et al., 2006; Benar et al., 2006; Thornton et al., 2011; Vulliemoz et al., 2011).

Recently, more flexible methods of analysis, such as the dynamic or sequential analysis of the EEG-fMRI data (Tyvaert et al., 2009; Donaire et al., 2009a,b), based on the successive contrast of fixed-width blocks of fMRI scans, have enabled the determination of the temporal development of changes in the blood oxygen level-dependent (BOLD) signal induced by epileptic seizures. These methods allow the precise and noninvasive location of the seizure-onset zone as well as the structures involved in seizure propagation.

In this scenario, we propose to study the cortical substrates of the interictal bursts of repetitive spiking or runs of IEA by using sequential analysis of EEG-fMRI data. These interictal epileptiform events would result in a larger and longer BOLD response than would an individual spike, making them suitable for sequential analysis (Friston et al., 1998; Bagshaw et al., 2004; Jacobs et al., 2008). By assuming that the initial changes in BOLD signal involved in the generation of the IEA represent the cortical substrates of the IEA and that these cortical sources could be intimately related to the EZ, we could noninvasively gather valuable data regarding the location of the EZ.

The aims of this study were the following: (1) To utilize the sequential analysis of the EEG-fMRI data in order to find the cortical sources involved in the generation of the interictal epileptiform discharges; (2) to compare the results by the EEG-fMRI sequential analysis with those found using the [18F]-fluorodeoxyglucose (FDG) positron emission tomography (PET) to assess whether regions of IEA-related BOLD signal change are spatially related to the functionally disabled brain regions depicted by FDG-PET in patients with extratemporal epilepsy; and (3) to compare the presurgical IEA-related areas of activation and the surgical outcome.

MATERIAL AND METHODS

This study included 21 refractory epilepsy young patients from the epilepsy unit in the Hospital Sant Joan de Déu and Hospital Clinic (Barcelona, Spain) recruited during 2009–2010. The inclusion criteria were the presence of pharmacoresistant extratemporal focal epilepsy with or without an MRI lesion and frequent IEA that was defined as more than

10 interictal epileptiform discharges (bursts or runs of interictal epileptic activity) in 10 min of previously recorded long-term video-EEG evaluation.

During the study period, 36 patients were recruited for EEG-fMRI scanning, of whom 21 met the criteria. All patients underwent a comprehensive presurgical evaluation that included an interictal FDG-PET.

The median age of the patients was 14 years (5–25 years). The most common type of epilepsy was frontal-lobe epilepsy (11/21, 52.38%), followed by parietal-lobe epilepsy (7/21, 33.33%). The structural MRI showed no clear structural abnormality in 14 patients, whereas a malformation of cortical development was found in 5, and a perinatal ischemic insult in 2 patients. Clinical characteristics and preoperative evaluation of each patient are summarized in Table 1.

Written, informed consent was submitted by all patients or family relatives. The ethics committees of both institutions approved the study protocol.

Acquisition of the fMRI data

Seventeen subjects and four subjects underwent fMRI in a Signa 1.5-T (General Electric Medical Systems, Milwaukee, WI, U.S.A.) and TIM TRIO 3-Tesla (Siemens, Erlangen, Germany) scanners respectively. Acquisition parameters for the fMRI images are summarized in Table S1. Three runs of continuous BOLD fMRI acquisition were scheduled per patient. The duration of the runs ranged between 11 min 20 s for those registered in a 1.5 T MRI scan and 14 min 36 s for those registered in a 3 T scanner.

Thirty-two EEG channels were continuously acquired inside the MRI scanner using a magnetic resonance (MR)-compatible system (BrainAmp MR; Brain Products GmbH, Munich, Germany). Data were transmitted from the BrainAmp amplifier (sampling rate, 5 kHz; 250 Hz low-pass and 0.03 Hz high-pass filters) via an optic-fiber cable to the EEG monitor located outside the scanner room.

The EEG sets were filtered offline using Brain VisionAnalyzer software (Brain Products). The gradient artifacts were corrected offline following (Allen et al., 2000). Two experienced epileptologists (MC and AD) reviewed the filtered EEGs. The IEA and subclinical or clinical seizures registered during fMRI scanning were manually marked. The spatial distribution, duration, and timing of the IEA were considered for further analysis. The IEA was classified according to their potential field distribution detected on the scalp EEG. When recorded, the subclinical and clinical seizures were classified based on their seizure-onset patterns and were also included in the study. According to the IEA frequency and duration, the interictal discharges were classified as follows: isolated sharp waves, where only one interictal epileptiform discharge (IED) was registered in a scan (TR: 2 s); a *burst* of IEA, where more than two epileptic discharges

Table 1. Patient data at presurgical assessment

Patient	Age/Gender/ Age at onset	Epilepsy type	Seizure semiology	Interictal epileptiform activity	Structural MRI	Etiology	FDG-PET/MRI coregistration ^a
1	14y/M/9y	RP	CPS/automotor sz	R C-P (SBS); R T-P; R F	MRI negative	Cryptogenic	L lat Par
2	14y/M/6y	LT-P	Visual aura → CPS → R face Clonic sz	L T-O; L P-O; L ant T; L F; R ant T	Thickened cortex in the L basal T-O junction MCD	FCD Type IIb	L O (basal) , L T
3	16y/F/3y	L Perirol	R hand SS aura → R arm tonic → GTC sz	L F-C; L C-P	MRI negative	Cryptogenic	L Perirol
4	11y/M/1m	LP	Axial tonic/CPS	L P-O; L C-P (SBS); L F; R F	L Precuneus cystic encephalomalacia	Ischemic	L sup P , L T
5	12y/M/7y	RP	Aura → L clonic → GTC/ Subclinc szs (sleep)	R P (SBS); R P-O; R F	MRI negative	Cryptogenic	R sup P , R Thal
6	9y/F/6y	R F	Hypermotor → L versive sz	R F (SBS); R F-T	Thickened cortex in the R inf F gyrus	FCD Type IIb	R F (basal) , R Insula
7	16y/M/3y	RP	Hypermotor sz	R P (SBS); R C-P-F	MRI negative	Cryptogenic	R P (precun) , Bilat Perirol
8	15y/F/9y	R Perirol	L arm tonic → BAT → GTC sz	R F-C (SBS)	MRI negative	Cryptogenic	R sup F (mes) , R Perirol
9	17y/F/16y	LF	Hypermotor sz	L F (SBS); R F	MRI negative	Cryptogenic	L F polar , L T
10	14y/F/1y	R F	Hypermotor sz	R F (SBS); R F-T; R T	Thickened cortex in the R inf F gyrus	FCD Type IIb	R F Orbitofr , R ant, lat T
11	12y/M/1m	RP	CPS → L versive → GTC sz	R P (SBS); R P-O	R sup P cystic encephalomalacia	Ischemic	R sup P , R lat, mes T
12	8y/M/2y	R C-T	R face Clonic/CPS	R C-T (dipole) NREM; R C-P; L C-T; L C-P	MRI negative	Cryptogenic	R Perirol (Hyper-)
13	10y/F/18m	LF	Hypermotor sz	L F (SBS)	Thickened cortex in the L inf F gyrus (Broca's area)	FCD Type II	L inf F , Bilat Orbitofr, L T
14	17y/F/3y	RP	CPS → L versive → GTC sz	R P (SBS); R F-C D; R P-T	Thickened cortex in the R lat P region	FCD Type IIb	R lat P
15	5y/M/2y	R C-P (CSWS)	Axial tonic → R arm Clonic sz	R C-P (SBS)	MRI negative	Cryptogenic	R post Insula
16	10y/M/3y	LF	Aura → Hypermotor sz	L F (SBS)	MRI negative	FCD Type Ib	L F (orbitofr, cing) , L BG, L T
17	12y/F/2y	LF	BAT sz	L F (SBS); L F-C	MRI negative	FCD Type Ia	L lat F
18	5y/M/2y	LF	Axial tonic sz	L F (SBS); L F-T; R F; R F-C	MRI negative	FCD Type Ib	L lat F , R lat F, L mes F
19	18y/F/1.5y	R F	Axial tonic/CPS	R F (SBS)	MRI negative	Cryptogenic	R inf F
20	21y/F/6y	Startle Epil	BAT sz	R C-P (SBS); R F-C	MRI negative	FCD Type Ia	Bilat Perirol (R>L)
21	25y/M/5y	LF	R versive → BAT → GTC sz	L F (SBS); L F-T	MRI negative	Cryptogenic	L mes F

M, male; F, female, y, years; m, months; R, right; L, left; F, frontal lobe; P, parietal lobe; T, temporal lobe; Perirol, perirolandic region; C, central region; O, occipital region; CSWS, continuous spike-wave during slow sleep; Epil, epilepsy; CPS, complex partial seizure; sz, seizure; GTC, generalized tonic-clonic seizure; Subclin, subclinical; BAT, bilateral asymmetric tonic seizure; SBS: secondary bilateral synchrony; ant, anterior; FCD, Focal cortical dysplasia; Lat, lateral; Sup, superior; Thal, thalamus; Precun, precuneus; Mes, mesial; Orbitofr, orbitofrontal; Hyper-, hypermetabolism in FDG-PET; Bilat, bilateral; post, posterior; Cing, cingulate gyrus; BG, basal ganglia.

^aIn bold are the hypometabolic areas potentially related to the epileptogenic zone.

occurring in temporal proximity were registered in a scan; *runs* of IEA, where repetitive sharp waves lasted more than 2 s and <10 s; and *prolonged runs* of IEA, where repetitive discharges lasted for more than 10 s.

One antiepileptic drug was reduced by 50% to facilitate the recording of prolonged runs of IEA or subclinical seizures, and all patients were sleep deprived 24 h prior to the scan. In seven children, sleep was induced by oral

administration of 3 mg of melatonin 30 min before the scan to facilitate lying still during the scan.

fMRI analysis

The fMRI was processed and analyzed applying sequential fMRI analysis (Donaire et al., 2009a) by means of seqfMRI, a homemade SPM8 (Institute of Neurology, University College London, United Kingdom) toolbox run-

ning on MATLAB (MathWorks Incorporated, Natick, MA, U.S.A.). Preprocessing involved realignment of the fMRI images for motion correction, spatial normalization to the Montreal Neurological Institute (MNI) template, and spatial smoothing with a Gaussian kernel of 8 mm.

For each subject, we selected an fMRI run with a high number of IEAs for further statistical analysis. Sequential analysis was performed by comparing two consecutive blocks within the analysis windows. The analysis window size used in this work was of 44 s (22 scans), split in 10 s fixed-width blocks (five scans). This analysis window was shifted one scan further (2 s) along the entire run in order to obtain the relative variations of consecutive blocks resulting in something like a smoothed temporal derivative of brain activity.

Significant responses were defined as the clusters of 5 or more contiguous voxels with at least one voxel within the cluster with an $t > 9.7$ ($p < 0.05$, FWE corrected) (Friston et al., 1995), time-locked to the IEA recorded on the scalp EEG. T-maps for each contrast were coregistered on the patient-normalized T_1 -weighted MRI.

In addition, significant responses at slightly lower but significant threshold ($t > 5$; $p < 0.001$), which were consistently time-related to the IEA and concordant with the potential location of the irritative zone/EZ, were also considered for further analysis.

In the case of runs or prolonged runs of IEA, and in the case of clinical or subclinical seizures, the relationship between the topographies of the ictal onset foci and the interictal foci (sites where interictal spikes showed significant BOLD signal changes) depicted by sequential analysis was also analyzed.

We selected in each patient the most representative type of IED, such as the IEDs that best represent the location of the EZ based on the previous clinical, neurophysiological, and structural information. We focused mainly on the initial positive responses (activations) related to each epileptic discharge, as we presumed that the positive BOLD provides more information about the cortical substrates of the IEA. Nevertheless, the negative responses (deactivations) related to the IEA were also analyzed.

¹⁸F-FDG-PET/MRI coregistration

The PET images were acquired in three-dimensional mode using Siemens PET/CT (computed tomography) Biograph equipment. Reconstruction was performed using an OSEM (Ordered Subset Expectation Maximisation) algorithm with a matrix of $128 \times 128 \times 64$ and 2.6 mm^3 voxel size.

Both PET and 3D MRI volumes were normalized to the standard MNI space and coregistered. We applied the SPM8 coregistration algorithm based on the optimization of the Normalized Mutual Information function.

The qualitative visual interpretation was performed by a nuclear-medicine expert (XS). Each study was considered

for further analysis when it showed at least one, well-defined, hypometabolic area consistent with the location of the epileptogenic zone.

¹⁸F-FDG PET-MRI/EEG-fMRI interictal epileptiform activity (activation t-maps) coregistration

For each subject, the activation t-maps related to the IEA were coregistered, in turn, to the coregistered ¹⁸F-FDG PET-MRI to compare the location of the significant regions of IEA-related BOLD signal change in relation to the abnormal metabolic cortical regions depicted by FDG-PET.

The activations were classified as concordant when they overlapped totally or partially with the hypometabolic region. Furthermore, we made a distinction between activations that were embedded within the hypometabolic region and activations that were related to the limits of the hypometabolic region. The latter were further subdivided between activations located at the margins of the hypometabolic region (at the boundary line but immediately inside the boundary) and activations located close by (activations found within 2 cm of the hypometabolic region boundary line).

Activations that were located more than 2 cm from the boundary line or in another cerebral lobe other than where the potential EZ was located were considered nonconcordant.

Epilepsy surgery

In patients who underwent a cortical resection, we examined whether the IEA-related activations were included in the resected tissue and correlated these results with the seizure outcome after the epilepsy surgery. In our study, the EEG-fMRI results were not used in the planning of invasive EEG recordings or resections in those that underwent epilepsy surgery.

RESULTS

Simultaneous EEG-fMRI: EEG findings

For all patients, their typical IEDs were recorded during the fMRI scanning (Table S2). Even in those patients where sleep was induced with melatonin, the epileptic discharges registered were similar to the discharges recorded during the long-term video-EEG evaluation. A total of 21 IEA sets were analyzed.

The number of *bursts* of IEA analyzed on each run of fMRI ranged from 6 to 219 (mean 40.14), the number of IEA *runs* ranged 2–25 (mean 8.23; mean duration 6.19 s), and the number of *prolonged IEA runs* ranged from 1 to 11 (mean 4; mean duration 18.02 s). Notice that most of the runs and prolonged runs of IEA corresponded to secondary bilateral synchrony.

Unexpectedly, in eight patients, epileptic seizures were recorded. Four patients had a single ictal event, three patients had two ictal events and one patient with

continuous spikes and waves during slow sleep (CSWS) had 12 subclinical seizures. Overall, the duration of the ictal events ranged from 4 to 69 s. Most of the events were subclinical ictal EEG events. A clinical seizure consisting of a right-hand somatosensory aura was registered (duration 16 s) in Patient 3, who had left perirolandic epilepsy.

Simultaneous EEG-fMRI: changes in the IEA-related BOLD signal

After the sequential analysis, all patients showed at least one cluster of significant increase in IEA-related BOLD signal, corresponding to the initial changes in BOLD signal associated with the generation of the interictal epileptiform events, concordant with the IEA topography and potentially related to the brain region involved in the generation of epileptic activity. The activation areas were synchronous with the interictal epileptiform discharges recorded on the EEGs, but sometimes the changes in BOLD signal preceded the epileptic discharges by 2–4 s.

In 19 (95%) patients, more than one area of significant increase in BOLD signal concordant with the spatial distribution of the IEDs was found at the initial stages of the IEA generation process (Figs. 1, 2; see also Figs. S1 and S3). The number of areas of BOLD activation ranged from 2 to 4 (median 3). The location of the clusters of IEA-related activation within the brain was consistent throughout the interictal epileptiform events analyzed in each patient. However, these activation areas did not occur simultaneously with each interictal epileptic event, but rather each was associated mainly with an interictal event, with each time being independent from the other activations. The significant BOLD IEA-related activation areas initially involved in the generation of the IEA, in each patient, are summarized in Table 2. The activations with the highest t-values were selected. In addition, in 15 patients, activations involving regions remote from the presumed EZ over the contralateral hemisphere homonymous region were found.

The proportion of bursts of IEAs that showed a positive BOLD response was 11.62% for bursts of IEA, 45.60% for runs of IEA, 59.10% for prolonged runs, and 81.81% for epileptic seizures.

Concomitantly or immediately after the initial increase in IEA-related BOLD signal was seen, a widespread decrease in BOLD signal involving both hemispheres was observed. The BOLD negative signal was distributed in a constant way around the hypometabolic region depicted by FDG-PET, but without entering the hypometabolic area, and in the contralateral homotopic cortical region. Other regions involved were the mesial aspects of the frontal, parietal, and occipital lobes, as well as, bilaterally, the perirolandic cortex (Fig. 3; see also Fig. S4).

In the eight patients for whom seizures were recorded during EEG-fMRI scanning, a cluster of seizure-related

BOLD signal increase was found at seizure onset. In all of the patients, the maximal seizure-related increase in the BOLD signal corresponded to one of the IEA-related activation areas that had previously been depicted by sequential analysis (Figs. 1 and 2).

In two patients (17 and 21), an invasive EEG evaluation with subdural electrodes was performed. In Patient 17, four regions of the IEA were detected, located along the primary motor and prefrontal cortex. The location of these regions agreed with the anatomic distribution of the areas of the IEA-related activation (Fig. S1). In addition, three areas of ictal onset were identified by invasive EEG, and these areas colocalized with three of four IEA-related activations depicted by the sequential analysis.

In Patient 21, the invasive EEG recording revealed two extensive regions of interictal epileptiform activity. One involved 10 contacts and was located over the lateral aspect of the frontal lobe; the other one involved six contacts and was located over the mesial aspect of the frontal lobe. A very extensive ictal-onset zone comprising all of the electrodes involved in the interictal epileptiform activity was found by the invasive EEG evaluation. The areas of seizure onset depicted by the invasive EEG were also consistent with the IEA-related activation depicted by the sequential analysis.

Coregistration of FDG-PET and MRI

Visual assessment showed that at least one area of focal cortical hypometabolism on the FDG-PET agreed with the presumed EZ. In 17 patients, between 2 and 4 (median 2) areas of focal decreases in cerebral metabolism were found (Table 1). These regions were distributed in the contiguous lobules or in the homonymous contralateral region and there was no MRI abnormality associated with them. In the patient who presented with CSWS, the FDG-PET showed an area of increased metabolism over the perisylvian region, which was consistent with the location of the region involved in epileptic activity generation.

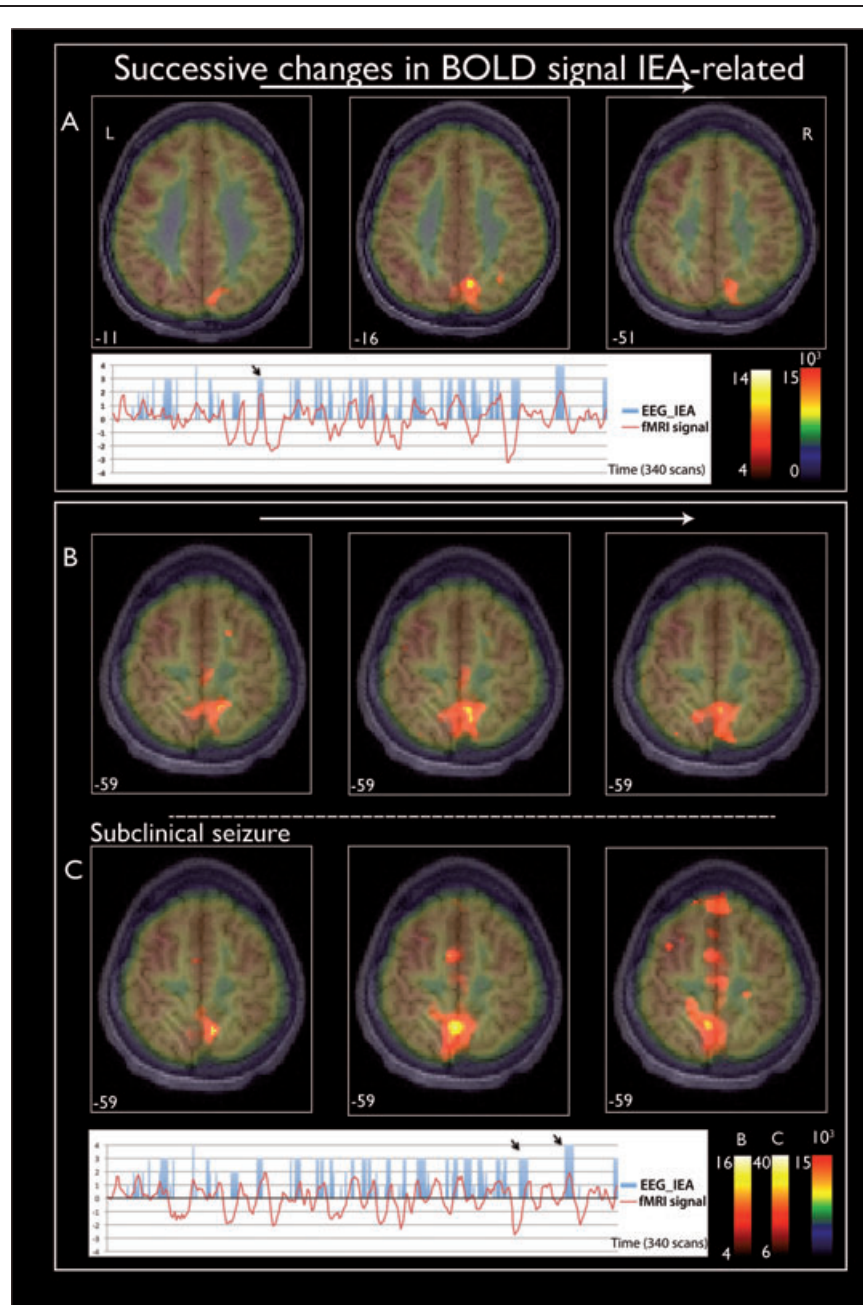
Coregistration of FDG-PET/MRI and EEG-fMRI results

Coregistration of the IEA-related changes in the BOLD signal to the FDG-PET findings showed that the activations associated with the cortical sources of the IEA for each patient were in concordance with the hypometabolic region potentially related to the EZ. Invariably, for each patient, the IEA-related activations were smaller than the hypometabolic region and in 18 patients were located mostly at the margins of the cortical area of decreased metabolism. In just two patients the activations were located exclusively close to the hypometabolic region. The distribution of the clusters of IEA-related BOLD signal in relation to the hypometabolic region depicted by FDG-PET is summarized in Table 2. In the patient showing CSWS, the IEA-related activations were located within the area of increased metabolism (Fig. S3).

Surgery outcome

Eight patients underwent resective epilepsy surgery. Of those, four patients showed a clear MRI lesion consistent with a malformation of cortical development, whereas four did not show a clear MRI lesion. A further 13 patients did not undergo surgery owing to an extensive EZ ($n = 2$) or overlap with eloquent cortical areas ($n = 8$) or because they were awaiting further evaluation ($n = 3$). After epilepsy surgery, five patients remained seizure-free for a period ranging from 1.1 to 2 years. Four of five seizure-free patients showed an MRI structural abnormality consistent with a malformation of cortical development. In all seizure-

free patients but one, the resection included the malformation of cortical development and the IEA-related activations depicted by the sequential analysis. In one patient with an extensive malformation of cortical development near the primary sensory cortex, a limited resection of the malformation was performed to prevent further functional deficits. In this subject, the IEA sequential analysis showed two activations close to the cerebral structural abnormality. One of these activations, located over the primary sensory cortex, remained adjacent to the resected pathological areas (Fig. S2). The patient remains seizure-free 10 months after the surgery; however, very frequent and repetitive epileptic



discharges were found postoperatively over the operated region in the scalp EEG. In all seizure-free patients, the histology of the resected tissue cortex confirmed the presence of a focal cortical dysplasia type IIb as the pathology responsible for the epilepsy (Blumcke et al., 2011).

The remaining three patients who underwent epilepsy surgery manifested improvement with a significant reduction of more than 50% in seizure frequency after surgery. In no case was there a clear lesion on the MRI before surgery, and some IEA-related activations were found just adjacent to the resected pathologic areas (Fig. S1). In all of the patients who experienced seizures after epilepsy surgery, the histology of the resected tissue cortex confirmed the presence of a focal cortical dysplasia type I.

DISCUSSION

This is the first report available to investigate BOLD signal changes related to IEA in children, adolescents, and young adults with extratemporal epilepsy using sequential analysis of the EEG-fMRI data. The main findings in this study were, firstly, that sequential analysis enabled us to map the initial changes in IEA-related BOLD signal in patients with prolonged bursts or a run of spikes recorded during fMRI scanning. Secondly, these changes in IEA-related BOLD signal were spatially consistent with the pattern of FDG-PET-detected hypometabolism and, finally, the complete resection of the brain regions corresponding to the clusters of increased IEA-related BOLD signal, rendered the patients seizure-free. Therefore, these clusters may represent the initial metabolic response to the epileptiform activity and therefore represent their cortical

substrates. These findings are discussed in separate sections below.

Sequential analysis of the EEG-fMRI data: changes in the IEA-related BOLD signal

Sequential analysis of the EEG-fMRI enabled us to study individual interictal events, this being of particular interest in allowing the direct linkage of an individual interictal discharge to the associated changes in BOLD signal (Krakow et al., 2001). As shown in the present study, different cortical foci may be involved in the generation of similar surface interictal events, as we found that similar interictal epileptic events could be independently associated with different activation areas distributed along the IZ. These results are in line with previous EEG-fMRI studies (Federico et al., 2005; Jacobs et al., 2007; Zijlmans et al., 2007; Thornton et al., 2010) that have demonstrated the existence of one or more regions of IED-related BOLD signal change in regions tightly coupled with the area of the brain potentially involved in the generation of the IEA.

In fact, in the patients who underwent invasive EEG studies, the IAE-related activations depicted by the sequential analysis showed a consistent spatial relationship with the cortical areas that displayed frequent and high-amplitude spiking on the subdural EEG evaluation, in agreement with previous EEG-fMRI studies (Bagshaw et al., 2004; Benar et al., 2006; Zijlmans et al., 2007; Thornton et al., 2011). Therefore, our results further demonstrate that the sequential analysis of the fMRI data could be capable of accurately and reliably locating the regions responsible for the IEA generation. However, further studies with more patients undergoing invasive EEG studies are necessary to confirm whether the IEA-related activations depicted by the

Figure 1.

Patient 5. Sequence of changes in BOLD signal associated with the generation of the interictal epileptiform activity (IEA) (**A, B**). Comparison of the changes in IEA-related BOLD signal and the signal changes related to a subclinical seizure (**C**). This patient presented with nonlesional right parietal epilepsy. The discharges analyzed were located over the right parietal lobe. Two independent clusters of activation were found in relation to the IEA. In the upper panel (**A**), the figure illustrates the changes in BOLD signal related to a run of spike and waves of 5 s in duration, corresponding to -2 , 0 , and $+2$ s after the onset to the epileptiform discharge, respectively. In the lower panel (**B, C**), the figure illustrates the successive changes in BOLD signal (at 0 , $+2$, $+4$ s after the EEG onset) associated with a prolonged run of spike and waves over the right hemisphere of 14 s in duration (**B**) and the signal changes related to a subclinical epileptic seizure (**C**) of 16 s in duration (at -2 , 0 , $+2$ s after seizure onset) are displayed. As observed, the area of seizure-related increase in BOLD signal corresponds to the run of the IEA-activation area (lower panel). The activations are displayed as t-statistics thresholded at $p < 0.001$ and uncorrected for multiple comparisons superimposed over the FDG-PET-MRI coregistration. The clusters of IEA-related BOLD signal were consistent with the FDG hypometabolism: one was located at the margins (**A**) and the other within the hypometabolic region (**B**). A graphic representation of the IEA recorded during fMRI scanning is also provided. In the y-axis, the IEA is represented as follows: (1) Isolated sharp waves, (2) Burst of IEA, (3) Runs of IEA, and (4) Subclinical epileptic seizures. The black arrows highlight the epileptic events illustrated in the figure. Time courses of the BOLD signal changes over the whole recording of the initial clusters of activation associated to the IEA illustrated in (**A, B**) are also provided (blue line). The time series were extracted from a region of interest from the initial IEA-related activation, defined by the voxel with the highest t-value in the region and the six voxels adjacent to the six surfaces of the voxel with the highest t-value. The image is shown in neurologic convention (i.e., left of image = patient's left).

Epilepsia © ILAE

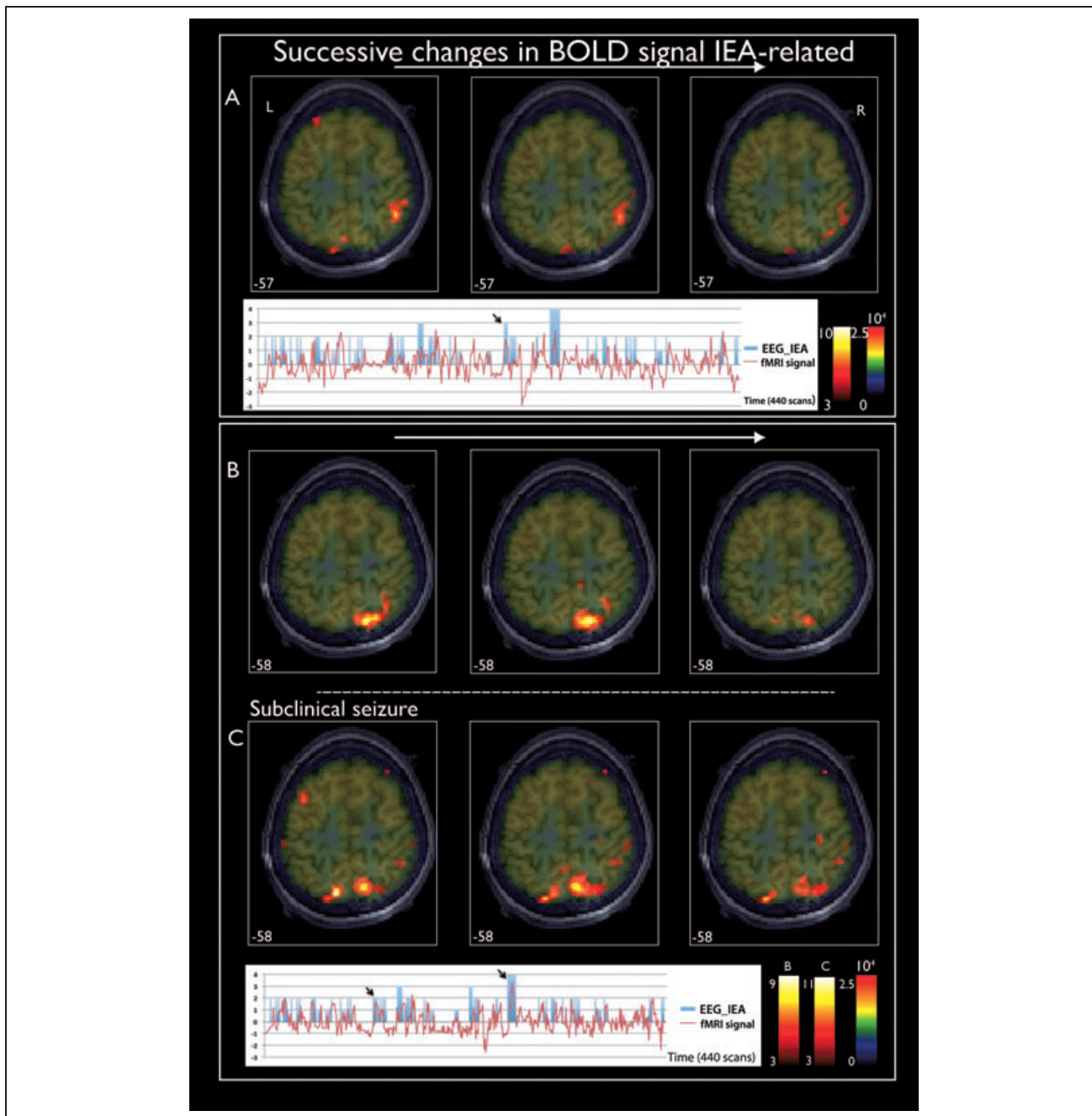
sequential analysis represent an alternative to locate the epileptogenic zone and help guide the presurgical planning and the invasive EEG-electrode placement for patients with extratemporal epilepsy.

In addition, an unexpected finding was that eight patients experienced brief electroencephalographic or clinical seizures, during EEG-fMRI scanning. The recording of interictal and ictal events in the same MRI session offered the opportunity to determine the relationship between the IEA-related activations, and those activations that were related to the ictal-onset zone (IOZ) (Tyvaert et al., 2008). In these patients, who experienced epileptic seizures during fMRI

scanning, a subset of the clusters of increases in BOLD signal corresponding to the IEA zone overlapped with clusters corresponding to the IOZ, suggesting common neuronal generators. Taking into account that the IOZ constitutes the best marker of the epileptogenic zone, sequential analysis of the IEA could indirectly provide useful information regarding the location of the EZ.

Correlation between the IEA-related areas of activation and FDG-PET

To the best of our knowledge, no systematic comparison of the findings of EEG-fMRI with FDG-PET has been per-



formed to date. Our results show a consistent relationship between the IEA-related areas of activation and the hypometabolic regions depicted by FDG-PET. The activation areas potentially related to the cortical sources of the IEA coincided when superimposed, with the cortical metabolic abnormalities determined using the FDG-PET.

Therefore, in view of the high sensitivity depicted by FDG-PET (da Silva et al., 1997; Theodore et al., 1997; Chassoux et al., 2010) for defining areas of cortical hypometabolism that correspond to structural and functional abnormalities involved in the generation of the epileptiform activity, our findings reveal that the activations initially involved in IAE generation found by the sequential analysis could in fact reflect the potential cortical substrates of the IEA recorded on scalp EEG.

In addition, we found that the hypometabolic region was initially spared from the widespread decrease in BOLD signal related to the IEA. Assuming that the negative BOLD signal surrounding the area of decreased metabolism depicted by FDG-PET could reflect reduced synaptic activity or greater γ -aminobutyric acid (GABA)ergic inhibition (Logothetis, 2003; Stefanovic et al., 2005) in order to prevent the epileptic discharges from spreading (Kobayashi et al., 2006), we infer that the hypometabolic region represents a site where the inhibitory mechanisms devoted to restraining epileptic activity are compromised. In this respect, there is some evidence from chronic animal models that the inhibitory restraint is impaired around the region involved in seizure generation (Sloviter, 1987; Cossart et al., 2001). It bears noting that any functional disturbance induced by epileptogenic insults or local pathology around the IEA-cortical sources, particularly any that compromised inhibition there, leads to the recruitment of the different cortical sources involved in IEA and seizure generation more efficient (Trevelyan & Schevon, 2012). Therefore, the area

of decreased metabolism depicted by FDG-PET could represent a proepileptic brain region where the generation of the epileptic discharges is facilitated.

The location of the IEA-related activations in relation to the hypometabolic cortical regions was striking because in the vast majority of the patients the activations were located within the hypometabolism but over the margins, in the area immediately inside or around the boundary of the hypometabolic area. From these results, we infer that the interictal epileptic events could be generated mostly from the interface between the hypometabolic/normometabolic region, in agreement with previous studies that specifically addressed the extent of cortical hypometabolism on the FDG-PET findings and the spatial relationship to the invasive EEG recordings (Juhasz et al., 2000; Alkonyi et al., 2009). These results could have significant implications regarding the invasive EEG and epilepsy surgery planning because only some well-defined areas of the hypometabolic region prove to be epileptogenic, and these areas are located mostly in the margins of the area of decreased metabolism. Recordings with intracranial electrodes have demonstrated that the EZ often extends beyond the lesion identifiable by MRI (Tassi et al., 2002; Widdess-Walsh et al., 2007). Therefore, these specific areas of decreased metabolism concordant with the IEA-related activations should be assessed by invasive EEG to find the specific regions involved in seizure generation and, subsequently, to delineate the cortical regions that should be further resected to render the patient seizure-free.

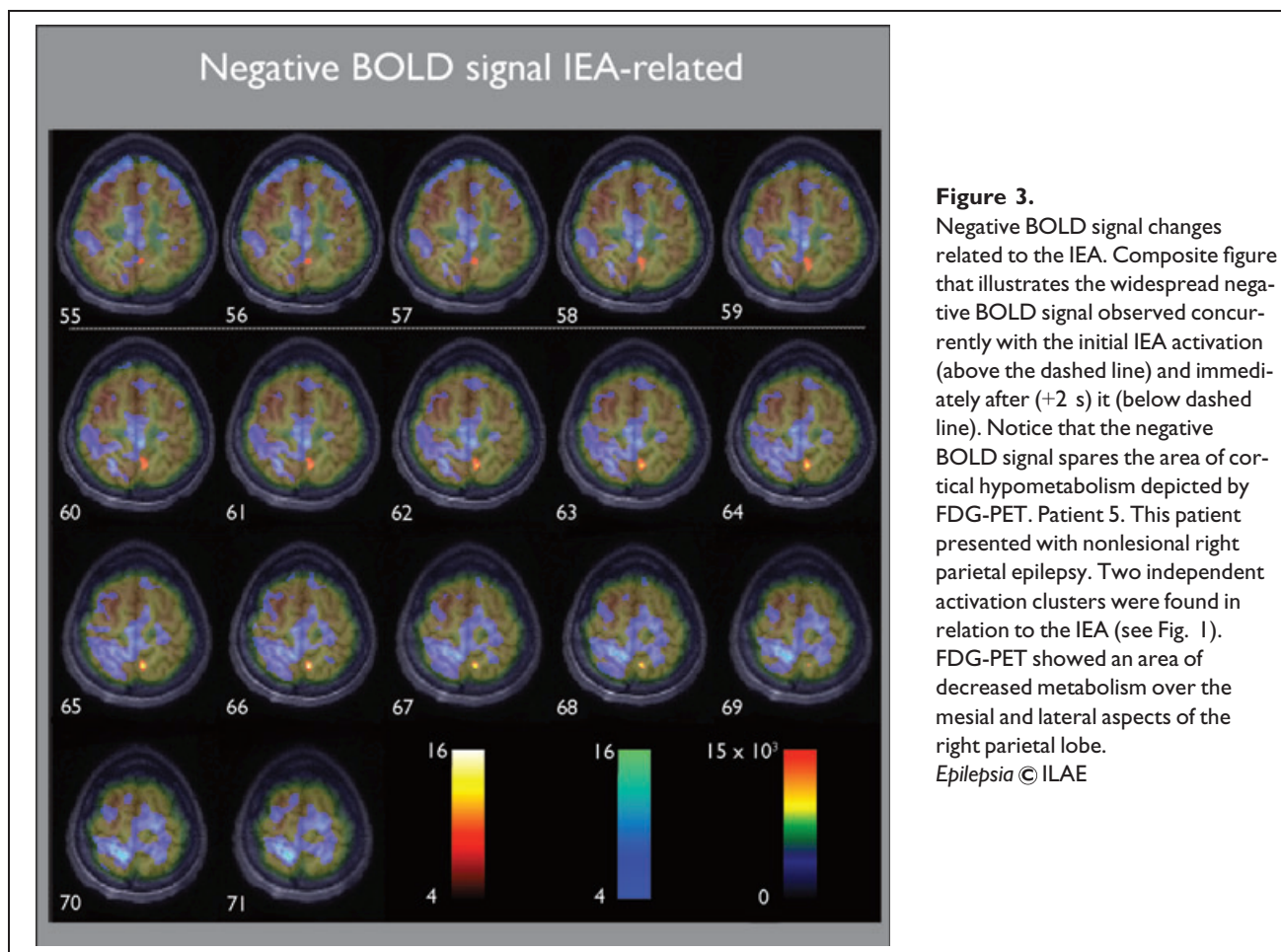
Correlation between the IEA-related areas of activation and surgery outcome

This study found a good correspondence between the location of the IEA-related activations, the area of resection, and surgery outcome in patients that finally underwent

Figure 2.

Patient 14. Sequence of changes in BOLD signal associated with the generation of the interictal epileptiform activity (IEA) (**A, B**). Comparison of the changes in BOLD signal IEA related and the signal changes related to a subclinical seizure (**C**). This patient had right parietal epilepsy due to an extensive malformation of cortical development. The discharges analyzed were located over the right parietal lobe. Two independent clusters of activation were found in relation to the IEA. In the upper panel (**A**), the figure illustrates the changes in BOLD signal related to two consecutive bursts of repetitive epileptiform activity over the right hemisphere, at +2, 4, and 6 s after EEG onset. In the lower panel (**B, C**), the figure illustrates the changes in BOLD signal (at +2, 4, 6 s after the onset) associated with a prolonged run of spikes and waves over the right hemisphere of 10 s in duration (**B**) and the signal changes related to a subclinical epileptic seizure (**C**) of 16 s in duration are displayed (at 0, 2, 4 s after seizure onset). As observed the area of seizure-related increase in BOLD signal correspond to the run of the IEA activation area (lower panel). The activations are displayed as t-statistics thresholded at $p < 0.001$ uncorrected for multiple comparisons overlaid over the FDG-PET-MRI coregistration. The clusters of BOLD signal were in concordance with the FDG hypometabolism. Both were located at the margins of the hypometabolic region (**A, B**). A graphic representation of the IEA recorded during fMRI scanning is also provided. On the y-axis the IEA is represented as: (1) isolated sharp waves, (2) burst of IEA, (3) runs of IEA, and (4) subclinical epileptic seizures. The black arrows highlight the epileptic events illustrated in the figure. Time courses of the BOLD signal change over the whole recording of the initial activation clusters associated with the IEA illustrated in (**A, B**) are also provided (blue line). The time series were taken from a region of interest at the initial cluster of IEA-related activation, defined by the voxel with the highest t-value in the region and the six voxels adjacent to the six surfaces of the voxel with the highest t-value. The image is shown in neurologic convention (i.e., left of image = patient's left).

Epilepsia © ILAE

**Figure 3.**

Negative BOLD signal changes related to the IEA. Composite figure that illustrates the widespread negative BOLD signal observed concurrently with the initial IEA activation (above the dashed line) and immediately after (+2 s) it (below dashed line). Notice that the negative BOLD signal spares the area of cortical hypometabolism depicted by FDG-PET. Patient 5. This patient presented with nonlesional right parietal epilepsy. Two independent activation clusters were found in relation to the IEA (see Fig. 1). FDG-PET showed an area of decreased metabolism over the mesial and lateral aspects of the right parietal lobe. *Epilepsia* © ILAE

epilepsy surgery. Therefore, in those patients in whom the initial IEA-related activations were completely resected, the seizures were under control after surgery. By contrast, those patients in whom the IEA-related activations were adjacent to the resected pathologic areas underwent a marked improvement but the epileptic seizures persisted after surgery. These results agree with previous evidence (Zijlmans et al., 2007; Thornton et al., 2010, 2011) suggesting that the complete resection of the IED-related activations is generally associated with seizure freedom, whereas the finding that areas of activation lying outside of the resection is associated with a poor outcome.

LIMITATIONS

We acknowledge a number of possible limitations in our study. First, flexible analysis methods, such as sequential analysis of fMRI data, will provide the sensitivity to detect the initial changes in BOLD signal related to the generation of the IEA but could also increase the false positive rate (Waites et al., 2005). This may not be a concern if there is a prior hypothesis regarding the location of the potential EZ, but the results could be misleading in situations in which the

electroclinical findings or the neuroimaging studies are not congruent (Masterton et al., 2010). In this case, we suggest the use of the standard “event-related” EEG-fMRI method of analysis, as the first-line approach. Further exploration could proceed using a more flexible model, such as sequential analysis of the EEG-fMRI data. Second, a limited number of patients underwent invasive-EEG evaluation precluding us from elucidating the neuronal correlates of the IEA-related activations depicted by sequential analysis. Nevertheless, in those patients who were studied with invasive-EEG, there was a good correspondence between the cortical substrates and the IEA-related activations. Therefore, further studies including a large number of patients undergoing invasive EEG studies will be needed to elucidate the relationship between the cortical areas involved in the generation of the epileptic events and the IEA-related activations. Third, coregistration EPI and T1 weighted data for the location of BOLD signal change can have errors of several millimeters due to differences in the geometric distortion between the two methods (Studholme et al., 2000). This could explain why some IAE-related BOLD activations were located outside of the area of hypometabolism. We addressed this by comparing individualized t-maps of

Table 2. Results of EEG-fMRI sequential analysis for IEA-related activations. Relationship to FDG-PET, intracranial EEG, and surgery outcome

Patient	IEA-related areas of activation			Localization	(X, Y, Z)	FDG-PET/ Activation areas			icEEG (IEA areas/ concordance)	Resected activations/ (Outcome) ^a
	Activations (n)	t-Values	Voxels			Margins	Within 2 cm	Inside		
1	2	13.10 ^b 7.64 ^c	39 154	R Perirol R P (angular g)	(48, -22, 58) (44, -44, 46)	X				
2	2	12.53 ^b 7.27 ^c	53 69	L O (basal) L mes O	(-20, -86, -16) (-38, -74, -22)		X X			2/2 (I)
3	1	10.46 ^b	46	L Perirol (SI, hand)	(-48, -32, 56)			X		
4	4	10.52 ^b 9.15 ^c 8.40 ^c 5.97 ^c	72 148 28 29	L sup P L sup P L lat P L Perirol	(-30, -58, 54) (-36, -60, 56) (-38, -78, 42) (-56, -32, 54)		X X X X			
5	2	12.18 ^b 40.35 ^b	192 64	R mes P R mes P (precun)	(8, -76, 44) (8, -56, 58)	X			X	
6	3	10.93 ^b 9.61 ^c 9.43 ^c	72 90 23	R F (basal) R F (basal-operc) R F polar	(36, 26, -10) (62, 6, -2) (34, 50, 14)			X X		3/3 (I)
7	1	14.83 ^b	62	L mes P	(-4, -44, 64)			X		
8	2	13.12 ^b 12.30 ^b	101 95	R mes F R mes F	(2, -4, 72) (2, -4, 66)	X X				
9	3	17.93 ^b 12.02 ^b 11.92 ^b	44 86 117	L F polar L F polar L lat F	(-36, 56, -2) (-24, 66, 8) (-44, 44, -16)		X X X			
10	3	19.57 ^b 10.85 ^b 7.40 ^c	52 36 74	R F (basal) R F polar R mes F	(32, 50, -8) (16, 64, -12) (16, 64, 2)	X X X			X	3/3 (I)
11	3	11.09 ^b 8.91 ^c 8.63 ^c	51 41 59	R mes P R lat P R mes P	(2, -58, 26) (40, -62, 44) (6, -66, 66)		X X X			
12	2	20.49 ^b 17.06 ^b	43 40	R F (ins-operc) R F (operc)	(46, 14, 2) (64, 2, 12)			X (Hyper) X (Hyper)		
13	2	14.02 ^b 8.59 ^c	40 14	L inf F (Broca) L inf F	(-60, 8, -4) (-32, 36, -6)	X		X		
14	2	11.04 ^b 9.17 ^c	62 49	R sup P R sup P	(32, -68, 52) (44, -50, 58)		X X			1/2 (I)
15	2	7.12 ^c 7.13 ^c	113 53	R F (ins-operc) R F (ins-post)	(44, -8, 14) (44, -26, 6)	X X				
16	3	8.01 ^c 7.05 ^c 6.82 ^c	70 74 64	L F polar L mes F (cing) L F (basal)	(-16, 44, -18) (0, 36, -2) (-28, 56, -2)	X X X			X	1/3 (III)
17	4	10.80 ^b 9.30 ^c 7.18 ^c 7.81 ^c	44 89 127 27	L Perirol (MI) L F (precentral) L lat F L F (MI)	(-24, -22, 74) (-52, -2, 42) (-32, 24, 50) (-54, -2, 12)	X X X X			4/+	2/4 (II)
18	2	8.04 ^c 6.76 ^c	55 119	L lat F L sup F	(-28, 22, 40) (-16, 0, 56)			X		2/2 (I)
19	3	11.72 ^b 11.38 ^b 9.86 ^b	77 80 80	R F (operc) R F (basal) R F (basal)	(50, 28, 0) (20, 58, 0) (48, 46, -6)	X X X			X	
20	2	17.39 ^b 13.37 ^b	61 47	R mes P (precun) R mes P (SI, foot)	(6, -52, 60) (14, -58, 64)			X		
21	2	14.24 ^b 12.35 ^b	29 93	L lat F L mes F	(-46, 8, 36) (-6, 18, 44)			X X	2/+	1/2 (II)

IEA, interictal epileptiform activity; R, right; L, left; F, frontal; P, parietal; T, temporal; Perirol, perirolandic area; mes, mesial; sup, superior; lat, lateral; post, posterior; Precun, precuneus; Operc, operculum; Ins, insular cortex; Cing, cingulate gyrus; Hyper, hypermetabolic region on FDG-PET; icEEG, intracranial EEG evaluation.

^aSeizure outcome according to Engel classification system (Engel et al., 1993).

^b $p < 0.05$, FWE corrected.

^c $p < 0.001$, uncorrected.

BOLD signal change with each subject's three-dimensional T₁-weighted image, ensuring accurate anatomic location of the area of BOLD signal change. Finally, the low number of patients that underwent epilepsy surgery in this study precluded us for generalizing to a wider sample. Further studies with a higher number of surgical procedures will be needed to establish the relationship between the IEA-related activations depicted by sequential EEG-fMRI analysis and the surgical outcome.

CONCLUSIONS

The present study shows that the IEA activations are related to the FDG-PET hypometabolism and that they occur mostly at the margins of the hypometabolic area. Knowing the spatial distribution of the cortical sources and their representation with respect to the regions of structural or functional abnormalities could be of great benefit to guide the invasive EEG-electrode placement and/or surgical planning in children, adolescents, and young adults with extratemporal epilepsy.

The sequential analysis of EEG-fMRI data may become a noninvasive means to depict the cortical substrates related to the IED generation.

ACKNOWLEDGMENTS

Funding support was provided by grants from the Spanish Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS-PI0890278; FIS-PI080122; FIS-PI060077), ISCIII-MICINN. This work was jointly financed with FEDER funds, European Union. Many thanks go to Rosario Guirao, Nuria Couto, Vanessa Guzmán, and Cristina Cámara, EEG-techs from Hospital Clínic and Hospital Sant Joan de Deu Epilepsy Units. In addition, we would like to recognize to César Garrido, Gemma Lasso, Susana Hernández, and Ramón García, RM-techs from both institutions. Their hard work and dedication were invaluable in the completion of this study. The authors also thank Carles Falcón for his important help and advice.

DISCLOSURE

None of the authors has any conflict of interest to disclose. We confirm that we have read the Journal's position on issues involved in ethical publication and affirm that this report is consistent with those guidelines.

REFERENCES

- Alkonyi B, Juhasz C, Muzik O, Asano E, Saporta A, Shah A, Chugani HT. (2009) Quantitative brain surface mapping of an electrophysiological/metabolic mismatch in human neocortical epilepsy. *Epilepsy Res* 87: 77–87.
- Allen PJ, Josephs O, Turner R. (2000) A method for removing imaging artifact from continuous EEG recorded during functional MRI. *Neuroimage* 12:230–239.
- Ansari SF, Maher CO, Tubbs RS, Terry CL, Cohen-Gadol AA. (2010) Surgery for extratemporal nonlesional epilepsy in children: a meta-analysis. *Childs Nerv Syst* 26:945–951.
- Asano E, Muzik O, Shah A, Juhasz C, Chugani DC, Sood S, Janisse J, Ergun EL, Ahn-Ewing J, Shen C, Gotman J, Chugani HT. (2003) Quantitative interictal subdural EEG analyses in children with neocortical epilepsy. *Epilepsia* 44:425–434.
- Bagshaw AP, Aghakhani Y, Benar CG, Kobayashi E, Hawco C, Dubeau F, Pike GB, Gotman J. (2004) EEG-fMRI of focal epileptic spikes: analysis with multiple haemodynamic functions and comparison with gadolinium-enhanced MR angiograms. *Hum Brain Mapp* 22:179–192.
- Bagshaw AP, Hawco C, Benar CG, Kobayashi E, Aghakhani Y, Dubeau F, Pike GB, Gotman J. (2005) Analysis of the EEG-fMRI response to prolonged bursts of interictal epileptiform activity. *Neuroimage* 24:1099–1112.
- Benar CG, Grova C, Kobayashi E, Bagshaw AP, Aghakhani Y, Dubeau F, Gotman J. (2006) EEG-fMRI of epileptic spikes: concordance with EEG source localization and intracranial EEG. *Neuroimage* 30:1161–1170.
- Blumcke I, Thom M, Aronica E, Armstrong DD, Vinters HV, Palmieri A, Jacques TS, Avanzini G, Barkovich AJ, Battaglia G, Becker A, Cepeda C, Cendes F, Colombo N, Crino P, Cross JH, Delalande O, Dubeau F, Duncan J, Guerrini R, Kahane P, Mathern G, Najm I, Ozkara C, Raybaud C, Represa A, Roper SN, Salamon N, Schulze-Bonhage A, Tassi L, Vezzani A, Spreafico R. (2011) The clinicopathologic spectrum of focal cortical dysplasias: a consensus classification proposed by an ad hoc Task Force of the ILAE Diagnostic Methods Commission. *Epilepsia* 52:158–174.
- Brodbeck V, Lascano AM, Spinelli L, Seeck M, Michel CM. (2009) Accuracy of EEG source imaging of epileptic spikes in patients with large brain lesions. *Clin Neurophysiol* 120:679–685.
- Chassoux F, Rodrigo S, Semah F, Beuvon F, Landre E, Devaux B, Turak B, Mellerio C, Meder JF, Roux FX, umas-Duport C, Merlet P, Dulac O, Chiron C. (2010) FDG-PET improves surgical outcome in negative MRI Taylor-type focal cortical dysplasias. *Neurology* 75:2168–2175.
- Cossart R, Dinocourt C, Hirsch JC, Merchan-Perez A, De Felipe J, Ben-Ari Y, Esclapez M, Bernard C. (2001) Dendritic but not somatic GABAergic inhibition is decreased in experimental epilepsy. *Nat Neurosci* 4:52–62.
- da Silva EA, Chugani DC, Muzik O, Chugani HT. (1997) Identification of frontal lobe epileptic foci in children using positron emission tomography. *Epilepsia* 38:1198–1208.
- Donaire A, Bargallo N, Falcón C, Maestro I, Carreno M, Setoain J, Rumià J, Fernández S, Pintor L, Boget T. (2009a) Identifying the structures involved in seizure generation using sequential analysis of ictal-fMRI data. *NeuroImage* 47:173–183.
- Donaire A, Falcon C, Carreno M, Bargallo N, Rumia J, Setoain J, Maestro I, Boget T, Pintor L, Agudo R, Falip M, Fernandez S. (2009b) Sequential analysis of fMRI images: a new approach to study human epileptic networks. *Epilepsia* 50:2526–2537.
- Federico P, Archer JS, Abbott DF, Jackson GD. (2005) Cortical/subcortical BOLD changes associated with epileptic discharges: an EEG-fMRI study at 3 T. *Neurology* 64:1125–1130.
- Friston KJ, Holmes AP, Poline JB, Grasby PJ, Williams SC, Frackowiak RS, Turner R. (1995) Analysis of fMRI time-series revisited. *Neuroimage* 2:45–53.
- Friston KJ, Fletcher P, Josephs O, Holmes A, Rugg MD, Turner R. (1998) Event-related fMRI: characterizing differential responses. *Neuroimage* 7:30–40.
- Jacobs J, Kobayashi E, Boor R, Muhle H, Stephan W, Hawco C, Dubeau F, Jansen O, Stephani U, Gotman J, Siniatchkin M. (2007) Hemodynamic responses to interictal epileptiform discharges in children with symptomatic epilepsy. *Epilepsia* 48:2068–2078.
- Jacobs J, Levan P, Chander R, Hall J, Dubeau F, Gotman J. (2008) Interictal high-frequency oscillations (80–500 Hz) are an indicator of seizure onset areas independent of spikes in the human epileptic brain. *Epilepsia* 49:1893–1907.
- Juhasz C, Chugani DC, Muzik O, Watson C, Shah J, Shah A, Chugani HT. (2000) Is epileptogenic cortex truly hypometabolic on interictal positron emission tomography? *Ann Neurol* 48:88–96.
- Kobayashi E, Bagshaw AP, Grova C, Dubeau F, Gotman J. (2006) Negative BOLD responses to epileptic spikes. *Hum Brain Mapp* 27: 488–497.
- Krakow K, Messina D, Lemieux L, Duncan JS, Fish DR. (2001) Functional MRI activation of individual interictal epileptiform spikes. *Neuroimage* 13:502–505.
- Logothetis NK. (2003) The underpinnings of the BOLD functional magnetic resonance imaging signal. *J Neurosci* 23:3963–3971.

- Masterton RA, Harvey AS, Archer JS, Lillywhite LM, Abbott DF, Scheffer IE, Jackson GD. (2010) Focal epileptiform spikes do not show a canonical BOLD response in patients with benign rolandic epilepsy (BECTS). *Neuroimage* 51:252–260.
- Roper SN. (2009) Surgical treatment of the extratemporal epilepsies. *Epilepsia* 50(Suppl. 8):69–74.
- Rosenow F, Luders H. (2001) Presurgical evaluation of epilepsy. *Brain* 124:1683–1700.
- Salek-Haddadi A, Diehl B, Hamandi K, Merschhemke M, Liston A, Friston K, Duncan J, Fish D, Lemieux L. (2006) Hemodynamic correlates of epileptiform discharges: an EEG-fMRI study of 63 patients with focal epilepsy. *Brain Res* 1088:158–166.
- Sloviter RS. (1987) Decreased hippocampal inhibition and a selective loss of interneurons in experimental epilepsy. *Science* 2:73–76.
- Spencer SS. (1998) Substrates of localization-related epilepsies: biologic implications of localizing findings in humans. *Epilepsia* 39:114–123.
- Stefanovic B, Warnking JM, Kobayashi E, Bagshaw AP, Hawco C, Dubeau F, Gotman J, Pike GB. (2005) Hemodynamic and metabolic responses to activation, deactivation and epileptic discharges. *Neuroimage* 28:205–215.
- Studholme C, Constable RT, Duncan JS. (2000) Accurate alignment of functional EPI data to anatomical MRI using a physics-based distortion model. *IEEE Trans Med Imaging* 19:1115–1127.
- Tassi L, Colombo N, Garbelli R, Francione S, Lo Russo G, Mai R, Cardinale F, Cossu M, Ferrario A, Galli C, Bramerio M, Citterio A, Spreafico R. (2002) Focal cortical dysplasia: neuropathological subtypes, EEG, neuroimaging and surgical outcome. *Brain* 125:1719–1732.
- Theodore WH, Sato S, Kufta CV, Gaillard WD, Kelley K. (1997) FDG-positron emission tomography and invasive EEG: seizure focus detection and surgical outcome. *Epilepsia* 38:81–86.
- Thornton R, Laufs H, Rodionov R, Cannadathu S, Carmichael DW, Vulliemoz S, Salek-Haddadi A, McEvoy AW, Smith SM, Lhatoo S, Elwes RD, Guye M, Walker MC, Lemieux L, Duncan JS. (2010) EEG correlated functional MRI and postoperative outcome in focal epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 81:922–927.
- Thornton R, Vulliemoz S, Rodionov R, Carmichael DW, Chaudhary UJ, Diehl B, Laufs H, Vollmar C, McEvoy AW, Walker MC, Bartolomei F, Guye M, Chauvel P, Duncan JS, Lemieux L. (2011) Epileptic networks in focal cortical dysplasia revealed using electroencephalography-functional magnetic resonance imaging. *Ann Neurol* 70:822–837.
- Trevelyan AJ, Schevon CA. (2012) How inhibition influences seizure propagation. *Neuropharmacology* Jun 18 [Epub ahead of print].
- Tyvaert L, Hawco C, Kobayashi E, Levan P, Dubeau F, Gotman J. (2008) Different structures involved during ictal and interictal epileptic activity in malformations of cortical development: an EEG-fMRI study. *Brain* 131:2042–2060.
- Tyvaert L, Levan P, Dubeau F, Gotman J. (2009) Noninvasive dynamic imaging of seizures in epileptic patients. *Hum Brain Mapp* 30:3993–4011.
- Vulliemoz S, Carmichael DW, Rosenkranz K, Diehl B, Rodionov R, Walker MC, McEvoy AW, Lemieux L. (2011) Simultaneous intracranial EEG and fMRI of interictal epileptic discharges in humans. *Neuroimage* 54:182–190.
- Waites AB, Shaw ME, Briellmann RS, Labate A, Abbott DF, Jackson GD. (2005) How reliable are fMRI-EEG studies of epilepsy? A nonparametric approach to analysis validation and optimization. *Neuroimage* 24:192–199.
- Widdess-Walsh P, Jeha L, Nair D, Kotagal P, Bingaman W, Najm I. (2007) Subdural electrode analysis in focal cortical dysplasia: predictors of surgical outcome. *Neurology* 69:660–667.
- Zijlmans M, Huiskamp G, Hersevoort M, Seppenwoolde JH, van Huffelen AC, Leijten FS. (2007) EEG-fMRI in the preoperative work-up for epilepsy surgery. *Brain* 130:2343–2353.

SUPPORTING INFORMATION

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article:

Figure S1. Presurgical EEG-fMRI sequential analysis results in a patient with nonlesional left frontal lobe epilepsy (Case 17).

Figure S2. Patient 14. Postoperative T₁-weighted image showing the resected region.

Figure S3. Patient 15. EEG-fMRI sequential analysis results in a patient with continuous spikes and waves during slow sleep (CSWS).

Figure S4. Decrease in BOLD signal IEA related.

Table S1. Acquisition parameters for the acquired fMRI images.

Table S2. EEG-fMRI results: interictal epileptiform activity characteristics.

5. DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

5.1. Método de análisis secuencial de las imágenes de RMf-EEG.

En esta tesis se ha desarrollado un nuevo método de análisis de las imágenes de RMf, que permite visualizar la sucesión de cambios de señal BOLD relacionados con la actividad epiléptica a lo largo del tiempo.

El hecho de poder conocer esta secuencia de cambios de señal BOLD, nos ha proporcionado información sobre los cambios funcionales, metabólicos y/o hemodinámicos, que experimentan aquellas estructuras cerebrales implicadas en la generación y la propagación de la actividad epiléptica. Y así, de manera indirecta, a través de estos cambios, nos ha proporcionado información precisa sobre la localización de los generadores o sustratos corticales relacionados con la actividad ictal e interictal.

5.1.1. Análisis secuencial de las crisis epilépticas: RMf-EEG-ictal.

En los Estudios I y II, el análisis secuencial de las imágenes de RMf-EEG permitió la visualización de las estructuras cerebrales involucradas en la generación y propagación de las crisis epilépticas. Aplicando este método de análisis, se pudo determinar, de una manera no-invasiva, la localización precisa de la zona de inicio ictal en todos los pacientes estudiados.

Al inicio de todas las crisis analizadas, se encontró un área de aumento de señal BOLD (activación) que coincidió con la distribución del patrón ictal registrado en el EEG de superficie; con el aumento de perfusión ictal mostrado por el SPECT-ictal/SISCOM, y con la zona de inicio ictal mostrada por los estudios de EEG-invasivo, en aquellos pacientes que requirieron de la implantación de electrodos subdurales para la determinación de la zona de inicio ictal. Estos resultados, coinciden con los obtenidos por otros grupos de investigación (Moeller, et al. 2010, Tyvaert, et al. 2009), que han utilizado un método de análisis similar al desarrollado en esta tesis; evidenciándose que con el método de análisis secuencial es

posible identificar aquellas regiones cerebrales que están relacionadas con la generación de la actividad epiléptica crítica.

Es importante destacar que, en el Estudio I, los resultados del análisis secuencial fueron comparados con los obtenidos tras realizar un análisis de componentes independientes (ICA) de la señal BOLD. Tras la descomposición de la señal, se comprobó que existía un componente con un patrón de activación muy similar al encontrado mediante el análisis secuencial. El hecho de obtener resultados similares mediante dos técnicas esencialmente diferentes y teniendo en cuenta que, el análisis ICA ha demostrado ser muy útil para determinar las regiones cerebrales involucradas en la generación de la actividad epiléptica crítica e intercrítica (Beckmann & Smith 2005, Levan, et al. 2010, Rodionov, et al. 2007), da consistencia a los resultados obtenidos mediante el análisis secuencial de las imágenes de RMf-EEG.

Otro hallazgo relevante fue, que en los Estudios I y II, las activaciones relacionadas con la zona de inicio ictal precedieron en varios segundos a las manifestaciones clínicas y/o electroencefalográficas de cada una de las crisis analizadas. Esta observación coincide con estudios previos de RMf-EEG, que han mostrado la existencia de cambios de señal BOLD que anteceden, hasta en varios minutos, el inicio electro-clínico de las crisis (Brevard, et al. 2006, Federico, et al. 2005a, Krings, et al. 2000, Kubota, et al. 2000, Makiranta, et al. 2005). A la luz de estos resultados, se podría especular que el análisis secuencial de la RMf-EEG es capaz de detectar aquellos cambios en la actividad neuronal que tienen lugar en el interior de la zona epileptógena, justo al inicio de las crisis epilépticas; cambios que, por otra parte, pasan desapercibidos para los actuales métodos diagnósticos. Por esta razón, nuestro método podría ser un instrumento de investigación excelente para el estudio de las estructuras cerebrales y de los mecanismos neurales implicados inicialmente en la generación de las crisis.

Por otra parte, el análisis secuencial de las imágenes de RMf-EEG también permitió la visualización de las estructuras cerebrales implicadas progresivamente en la propagación de las crisis. Así, las activaciones inicialmente observadas en la zona de inicio ictal evolucionaron de manera coherente en tiempo y espacio;

extendiéndose progresivamente a estructuras cerebrales próximas o distales, corticales o subcorticales, alejadas del foco inicial, pero interconectadas funcionalmente con éste.

Esta capacidad del método secuencial de mostrar aquellas regiones cerebrales implicadas en la propagación de las crisis, permite determinar, con mucha precisión, cuáles son las estructuras que conforman la red epileptogénica de cada sujeto. Este conjunto de estructuras interrelacionadas funcionalmente que constituyen la red epileptogénica, permanece ampliamente desconocido en el momento actual, siendo el análisis secuencial un método no-invasivo que, debido a su alta resolución espacial, nos puede proporcionar una ventana inmejorable para su estudio y mejor comprensión.

5.1.2. Análisis secuencial de la actividad epiléptica interictal: RMf-EEG-interictal

En el Estudio III, se utilizó el análisis secuencial de las imágenes de RMf-EEG para el estudio de la actividad epiléptica intercrítica en pacientes con epilepsia focal extratemporal.

El resultado principal de este estudio fue que el análisis secuencial permitió la determinación no-invasiva de los generadores corticales relacionados con la generación de la actividad intercrítica. En todos los pacientes incluidos en el estudio se encontró, al menos, un área de activación potencialmente relacionada con la región cortical implicada en la generación de las descargas epilépticas intercríticas. Estas activaciones fueron sincronas con la actividad epiléptica registrada en el EEG y concordantes con la distribución espacial del potencial eléctrico registrado en superficie.

Asimismo, cabe destacar que en 19/21(95%) de los pacientes estudiados, se encontró más de un área de activación (entre 2-4) relacionadas con la generación de descargas epilépticas que presentaban una morfología y una distribución similar en el EEG de superficie. Estas activaciones no ocurrieron de manera simultánea con cada descarga, sino de manera alternante e independiente, apareciendo una u otra como sustrato cortical principal de las descargas, en cada ocasión, a lo largo del

registro. Esta observación, coincide con lo que generalmente ocurre al realizar estudios de EEG-invasivo, dónde se observa que descargas epilépticas con similar distribución en el EEG de superficie están producidas por generadores corticales diferentes, distribuidos a lo largo de la zona irritativa (Ray, et al. 2007, Tao, et al. 2007, Tao, et al. 2005).

Por tanto, podríamos pensar que el análisis secuencial nos puede proporcionar información precisa sobre los diferentes generadores corticales implicados en la generación de las descargas epilépticas intercríticas. Lo que supone una mejora sustancial en la resolución espacial del EEG de superficie para determinar la zona irritativa y un gran avance, a la hora de poder conocer los generadores corticales de la actividad epiléptica intercrítica registrada en cada paciente, de una manera no-invasiva, sin necesidad de estudios de EEG-invasivo.

Sin embargo, la verdadera dimensión del hecho de poder conocer los sustratos corticales de la actividad intercrítica vino dada por el hallazgo inesperado de que 8 pacientes experimentaron crisis epilépticas clínicas o subclínicas durante la realización de la RMf-EEG. Esta situación, nos brindó la oportunidad única de poder comparar las activaciones relacionadas con la actividad ictal e interictal en un mismo sujeto (Tyvaert, et al. 2008). Así, en este grupo de pacientes, se observó que algunas de las activaciones relacionadas con la actividad interictal se solapaban espacialmente con las activaciones correspondientes a la zona de inicio ictal. De tal manera que, si tenemos en cuenta que la zona de inicio ictal es el mejor marcador que tenemos de la zona epileptógena, y que ésta coincidió espacialmente con uno de los generadores corticales relacionados con la actividad epileptiforme intercrítica, se podría concluir que el estudio de los sustratos corticales relacionados con la actividad epileptiforme intercrítica puede proveer información muy útil para localizar la zona epileptógena.

5.2. Cambios de señal BOLD negativa relacionados con la actividad epiléptica y su relación con la red de reposo cerebral “Default mode network”.

Tanto en las crisis epilépticas como en la actividad epiléptica intercrítica, el primer cambio de señal BOLD observado se caracterizó por una disminución de la

señal BOLD (desactivación) transitoria y ampliamente distribuida por la red de reposo cerebral (“Default mode network”) (Fransson 2005, Fransson & Marrelec 2008, Greicius, et al. 2003, Raichle, et al. 2001). Esta disminución de señal BOLD ocurrió, en el caso de la actividad crítica, entre 10 y 60 segundos, antes de que la primera activación relacionada con las crisis fuera observada (Estudio I y II). En el caso de la actividad epileptiforme intercrítica, la disminución de señal ocurrió de manera simultánea o inmediatamente después de que la primera activación se hiciera evidente (Estudio III).

Si tenemos en cuenta que la red de reposo cerebral muestra mayor actividad en reposo, y que, en cambio, se desactiva durante la realización de una tarea cognitiva o en relación a un estímulo, podríamos pensar que las desactivaciones encontradas en nuestro estudio indican la existencia de un cambio difuso en la actividad de base del cerebro, que tiene lugar, como consecuencia del proceso de generación de las crisis epilépticas o de la actividad epiléptica intercrítica (Gotman 2008, Kobayashi, et al. 2006b, Kobayashi, et al. 2006c).

En el caso de la actividad epiléptica intercrítica (Estudio III), la distribución de la señal BOLD negativa tuvo otra particularidad. Además de observarse sobre las estructuras de la red de reposo cerebral, se dispuso de manera constante alrededor de la zona hipometabólica relacionada con la actividad epiléptica, pero sin llegar a penetrar en el interior de dicha área. Esta disposición podría reflejar, por una parte, la existencia de un descenso de la actividad sináptica o una mayor actividad inhibitoria mediada por el GABA (Logothetis 2003, Stefanovic, et al. 2005) alrededor del área hipometabólica, en aras de prevenir la eventual propagación de la actividad epiléptica intercrítica (Kobayashi, et al. 2006b).

Por otra parte, la ausencia de señal BOLD negativa en el interior de dicha área podría indicar que el hipometabolismo mostrado por el PET-FDG representa ser una región donde los mecanismos encaminados a prevenir la propagación de las descargas están comprometidos (Trevelyan & Schevon 2012), y, por tanto, un lugar donde la generación de las descargas está facilitada. En este sentido, existen estudios en modelos animales de epilepsia crónica que muestran evidencia de que los mecanismos que previenen la propagación de las descargas se encuentran alterados

en las regiones corticales relacionadas con la generación de la actividad epiléptica (Cossart, et al. 2001, Sloviter 1987). Sin embargo, todavía hoy día, no se conoce bien cuál es el significado ni cuáles los mecanismos que dan lugar al hipometabolismo mostrado por el FDG-PET.

5.3. Diferencias con el método de análisis estándar de RMf (“Event Related”)

El método de análisis secuencial nos ofrece la posibilidad de estudiar la sucesión de cambios de señal BOLD relacionados con la actividad epiléptica ictal e interictal, a lo largo del tiempo. Este conocimiento nos permite determinar, con una resolución temporal y espacial muy alta, la localización de la zona de inicio ictal (Estudio I, II) y de los sustratos corticales relacionados con la actividad epiléptica intercrítica (zona irritativa) (Estudio III). Esta habilidad constituye la principal diferencia entre el método de análisis secuencial y método de análisis estándar (“Event-Related”) ampliamente utilizado en el estudio de la actividad epileptiforme ictal (Archer, et al. 2003b, Detre, et al. 1995, Di Bonaventura, et al. 2006a, Federico, et al. 2005b, Jackson 2008, Kobayashi, et al. 2006b, Kobayashi, et al. 2006c, Krings, et al. 2000, Kubota, et al. 2000, Liu, et al. 2008, Morocz, et al. 2003, Tyvaert, et al. 2008) e interictal (Aghakhani, et al. 2004, Archer, et al. 2003a, Bagshaw, et al. 2004, Detre, et al. 1995, Gotman 2008, Hamandi, et al. 2008, Jackson 2008, Jacobs, et al. 2007, Jann, et al. 2008, Moeller, et al. 2008, Salek-Haddadi, et al. 2006).

Los estudios de RMf-EEG ictal que han seguido el método estándar de análisis, han mostrado activaciones muy extensas en relación con las crisis epilépticas, que incluyen: la zona de inicio de ictal y las diferentes regiones cerebrales relacionadas con la propagación de la actividad epiléptica, haciendo imposible cualquier inferencia sobre la zona de inicio ictal propiamente dicha. La razón de estos resultados radica en que las crisis epilépticas son modeladas como un único evento, impidiendo toda posibilidad de poder determinar la evolución temporal de los cambios de señal BOLD relacionados con las crisis.

Algo similar ocurre con el estudio de la actividad epiléptica intercrítica. En este caso, todas las descargas epilépticas intercríticas con similar distribución en el

EEG de superficie son modeladas como si constituyeran un evento único. De manera que, las activaciones resultantes de este análisis representan ser un promedio de las estructuras cerebrales implicadas tanto en la generación como en la propagación de la actividad epiléptica intercrítica. Por lo que, de nuevo, no será posible hacer ninguna inferencia sobre los generadores corticales propiamente dichos (Moeller, et al. 2011).

Otra diferencia fundamental, entre el método de análisis secuencial de las imágenes de RMf y el método estándar, “event-related”, es que, con el análisis secuencial hemos sido capaces de obtener al menos un área de activación significativa relacionada con la actividad epiléptica intercrítica en todos los pacientes estudiados. En cambio, con el método estándar un porcentaje considerable de sujetos estudiados, entre el 10-60%, no muestran activaciones significativas relacionadas con la actividad epiléptica intercrítica (Al-Asmi, et al. 2003, Bagshaw, et al. 2004, Federico, et al. 2005b, Gotman, et al. 2006, Jacobs, et al. 2007, Kobayashi, et al. 2006a, Lemieux, et al. 2001, Salek-Haddadi, et al. 2006, Thornton, et al. 2010a, Zijlmans, et al. 2007). Este hecho demuestra que el método de análisis secuencial, al estudiar las descargas epilépticas intercríticas de manera independiente, podría tener una sensibilidad superior al método estándar para determinar los sustratos corticales de dicha actividad intercrítica.

5.4. Comparación y corrección de los resultados obtenidos mediante el análisis secuencial de la RMf-EEG con el SPECT-ictal/ SISCOM y el FDG-PET.

En los estudios I y II, las activaciones relacionadas con el inicio de las crisis, es decir, las activaciones potencialmente relacionadas con la zona de inicio ictal, fueron comparadas con el área de hiperperfusión mostrada por el SPECT-ictal/SISCOM. En todos los pacientes, excepto en uno, las activaciones coincidieron espacialmente con el área de aumento de perfusión mostrada por el SPECT-ictal/SISCOM. Además, las estructuras que fueron activadas progresivamente a lo largo de la evolución de las crisis, coincidieron, a su vez, con las áreas de hiperperfusión marcadas por el SPECT-ictal/SISCOM. Estos resultados ponen de relieve que las activaciones relacionadas con las crisis muestran, en realidad, aquellas áreas

cerebrales que están implicadas en la generación y propagación de las crisis epilépticas.

El único paciente en el que las activaciones relacionadas con las crisis no coincidieron con el área de aumento de perfusión peri-ictal, pertenece al Estudio II. En este caso, el paciente presentaba una esclerosis mesial temporal derecha secundaria a una encefalitis límbica paraneoplásica. En este paciente, el SPECT-ictal/SISCOM mostró un área de hiperperfusión focal sobre el hipocampo derecho; mientras que, la RMf-EEG mostraba un área de activación inicial localizada sobre la porción más anterior de la ínsula derecha, que, en pocos segundos, propagaba hacia las estructuras mesiales temporales ipsilaterales, incluyendo el hipocampo y la amígdala derecha. La explicación más plausible para esta discrepancia podría ser que los resultados mostrados, bien por el SPECT-ictal/SISCOM, o bien, por la RMf-EEG, se correspondieran con las áreas de propagación de las crisis epilépticas, más que con la zona de inicio ictal propiamente dicha. De hecho, este paciente fue intervenido quirúrgicamente: se le realizó una lobectomía anterior derecha, que incluyó las estructuras mediales (amígdala e hipocampo). El resultado tras la cirugía fue que las crisis persistieron con igual frecuencia y semiología clínica que antes de la cirugía. Lo cual, ponía de evidencia que las estructuras mesiales no constituían la zona epileptógena en este paciente, dejando abierta la posibilidad de que fuera la ínsula anterior la estructura cerebral responsable de la generación de las crisis, como indicaba el análisis secuencial de las imágenes de RMf-EEG. Para intentar dilucidar la localización precisa de la zona epileptógena, un tiempo después de la publicación del Estudio II, a este paciente se le realizó una nueva RMf-EEG y un PET-FDG ictal, coincidiendo con uno de sus clusters habituales de crisis. El resultado fue que, tanto la RMf-EEG como el PET-FDG ictal, mostraron un área de activación inicial y un aumento de metabolismo significativo sobre la ínsula anterior derecha, respectivamente; demostrándose así, que la zona epileptogénica en este paciente se encontraba situada en el córtex insular, como mostraba la RMf-ictal inicial, y no sobre el hipocampo derecho, como mostraba el SPECT-ictal/SISCOM. Este ejemplo, nos da una idea de la alta resolución temporal y espacial que el método de análisis secuencial posee para localizar la zona de inicio ictal en aquellos pacientes que presentan una crisis epiléptica durante la adquisición de las imágenes de RMf.

En el Estudio III, las áreas de activación inicialmente relacionadas con la actividad epiléptica intercrítica fueron comparadas con el área de hipometabolismo/la zona hipometabólica mostrada por el PET-FDG. El corregistro de dichas áreas mostró que las activaciones relacionadas con la actividad epiléptica intercrítica coincidían espacialmente con el área hipometabólica mostrada por el PET-FDG. De tal manera que, si tenemos en cuenta la alta sensibilidad mostrada por el PET-FDG (Chassoux, et al. 2010, da Silva, et al. 1997, Theodore, et al. 1997) para definir las áreas corticales que están implicadas en la generación de la actividad epiléptica, el hecho de que las activaciones mostradas por la RMf-EEG se solaparan con las regiones que mostraban un déficit metabólico, da soporte a la hipótesis de que las activaciones encontradas con el método de análisis secuencial, muestran, en realidad, cuáles son los sustratos corticales de la actividad epiléptica interictal registrada en el EEG de superficie.

Por otra parte, las activaciones relacionadas con la actividad epileptiforme intercrítica fueron de menor tamaño que el área hipometabólica mostrada por el PET-FDG, que, con frecuencia, se extiende más allá de la zona epileptógena propiamente dicha, y se localizaron, en la mayoría de los casos, en los márgenes de dicha área; es decir, en la zona de transición entre el hipometabolismo y el parénquima cerebral normal (Duncan 2010, Lee & Salamon 2009). Por lo que se podría asumir, que las activaciones (cambios de señal BOLD) relacionadas con la actividad epiléptica muestran aquellas áreas que poseen mayor actividad epiléptica intrínseca dentro del área de hipometabolismo mostrada por el PET-FDG. Aquellas regiones que están implicadas directamente en la generación de la actividad epiléptica intercrítica. En este sentido, existen estudios previos de EEG-invasivo que han puesto de evidencia que los sustratos corticales de la actividad epiléptica se sitúan con frecuencia en esta zona de transición entre el hipometabolismo y el parénquima normal (Alkonyi, et al. 2009, Juhasz, et al. 2000).

La consecuencia práctica de estos resultados sería que, a la hora de planificar la colocación de los estudios de EEG-invasivo, éstos deberían contemplar toda la región hipometabólica mostrada por el FDG-PET, con el fin de poder estudiar con detalle aquellas activaciones situadas en sus márgenes y poder determinar así, cuáles de ellas están involucradas en la generación de las crisis epilépticas.

5.5. Correlación de los resultados obtenidos mediante el análisis secuencial de la RMf-EEG con los estudios de EEG-intracraneal.

En los estudios I y II, las activaciones relacionadas con el inicio de las crisis coincidieron espacialmente con la zona de inicio ictal determinada mediante EEG invasivo, evidenciándose, de esta manera, que el análisis secuencial de las imágenes de RMf-EEG es capaz de determinar aquellas estructuras cerebrales que están implicadas en la generación de las crisis. De hecho, en el Estudio I, la zona de inicio ictal determinada mediante EEG-invasivo fue más extensa que las activaciones iniciales relacionadas con la generación de las crisis epilépticas. De lo que se podría deducir, que la RMf-EEG es capaz de detectar aumentos o cambios de actividad neuronal que acontecen en el interior de la zona de inicio ictal, antes de que puedan ser detectados por los electrodos de EEG-invasivo. Esto supondría admitir la posibilidad de que la especificidad de la RMf-EEG para determinar la zona de inicio ictal podría ser incluso mayor que la de los estudios de EEG-intracranial, considerados como el “gold-standar” en el momento actual (Rosenow & Luders 2001). Sin embargo, serían necesarios más estudios, con un mayor número de pacientes, para poder afirmar que la RMf-EEG es más específica que el EEG-invasivo a la hora de determinar la zona de inicio ictal.

Por otra parte, el patrón de propagación determinado mediante el análisis secuencial fue muy similar al patrón de propagación mostrado por los estudios de EEG invasivo. Por lo que, de nuevo, se pone de manifiesto que el análisis secuencial puede ser muy útil para determinar aquellas estructuras que se ven implicadas en la propagación de las crisis y, por tanto, muy útil para dilucidar las estructuras cerebrales que conforman la red epileptogénica de cada sujeto. Este conocimiento haría posible diseñar intervenciones quirúrgicas más selectivas, encaminadas a interrumpir las principales vías de propagación de la actividad epiléptica, y a mejorar nuestro entendimiento sobre las consecuencias estructurales y neurocognitivas que las crisis epilépticas recurrentes ocasionan.

En el estudio III, las activaciones relacionadas con la actividad intercrítica coincidieron con los electrodos que mostraban mayor frecuencia de actividad

epiléptica. De lo que se desprende, que el método de análisis secuencial podría ser capaz de determinar de una manera precisa, fiable y no-invasiva, aquellas regiones corticales responsables de la generación de la actividad epiléptica intercrítica. En este sentido, estudios previos con EEG-invasivo han mostrado que la RMf-EEG es capaz de determinar los sustratos corticales relacionados con la actividad epileptiforme intercrítica (Bagshaw, et al. 2004, Benar, et al. 2006, Thornton, et al. 2011, Zijlmans, et al. 2007).

Es de destacar que las activaciones relacionadas con la actividad epiléptica intercrítica no sólo coincidieron con los electrodos que mostraban mayor frecuencia de actividad interictal; sino que, algunas de estas activaciones también se solaparon con los electrodos envueltos en la zona de inicio ictal. Este hecho resulta de especial importancia, ya que revela que el estudio de la actividad epiléptica intercrítica podría ofrecernos información fiable sobre la localización de la zona de inicio ictal, que representa ser el mejor marcador conocido de la zona epileptógena. Sin embargo, más estudios, con un mayor número de pacientes serían necesarios para confirmar si las activaciones determinadas mediante el análisis secuencial representan un marcador de la zona epileptógena.

5.6. Relación entre las activaciones relacionadas con la actividad epiléptica ictal e interictal y los resultados tras la cirugía funcional de la epilepsia.

En los Estudios I y II se pudo comprobar que la resección completa de las activaciones relacionadas con el inicio de las crisis resultó en la supresión de las mismas tras la cirugía. Por el contrario, en los pacientes que persistieron las crisis tras la resección quirúrgica, se pudo comprobar que las activaciones relacionadas con el inicio de las crisis no habían sido reseçadas por completo. Estos resultados ponen de manifiesto que la resección incompleta de las activaciones relacionadas con la zona de inicio ictal podría asociarse con la recurrencia de las crisis tras la cirugía.

Del mismo modo, en el estudio III, también se encontró que existía una buena correspondencia entre la resección completa de todas las activaciones relacionadas con la generación de la actividad intercrítica y la consecución de un resultado excelente tras la resección quirúrgica. En todos los pacientes libres de crisis,

las activaciones relacionadas con la actividad epiléptica intercrítica fueron reseca­das por completo, a excepción de un paciente, en el que no fue posible la resección de todas las áreas de activación. En este caso, a pesar de quedar libre de crisis, el EEG de superficie mostró abundante actividad epiléptica intercrítica sobre la región donde se localizaba el área de activación que no pudo ser reseca­da. Lo que significa que este paciente se encuentra en alto riesgo de recurrencia de crisis, al permanecer en su lugar un área con epileptogenicidad intrínseca muy activa. En este sentido, la persistencia de actividad epiléptica intercrítica se ha establecido como un factor independiente de mal pronóstico tras la cirugía (Knowlton, et al. 2008, Kobayashi, et al. 2006a).

5.7. Limitaciones del estudio.

En primer lugar, cabría destacar que los métodos de análisis flexibles, como es el caso del análisis secuencial de las imágenes de RMf-EEG, pueden proporcionar una alta sensibilidad para detectar los cambios de señal relacionados con la generación de la actividad crítica e intercrítica; pero, también, pueden aumentar la proporción de falsos positivos (Waites, et al. 2005). Por esta razón, aunque los mapas de activación y deactivación (*t*-maps) resultantes del análisis secuencial son sometidos a un umbral estadístico muy restrictivo ($P < 0.05$, corregido para comparaciones múltiples en todo el cerebro), debemos ser prudentes a la hora de extraer conclusiones sobre la localización de los sustratos corticales relacionados con la generación y propagación de la actividad epiléptica crítica e intercrítica, basándonos exclusivamente en estos mapas de activación. En cualquier circunstancia, los resultados obtenidos deben ser interpretados en función de toda la información recogida durante la evaluación prequirúrgica, incluyendo: la semiología clínica, el patrón EEG ictal e interictal, la resonancia magnética, el patrón neuropsicológico y los resultados del SPECT-ictal/SISCOM y el PET-FDG. Sólo así estaremos en disposición de poder interpretar correctamente el conjunto de activaciones y deactivaciones relacionadas con la actividad epiléptica que el análisis secuencial nos ofrece. Por tanto, cabe tener muy presente que la información que nos proporciona este método, no es suficiente, por sí misma, para la planificación quirúrgica de los pacientes con epilepsia fármacorresistente.

Respecto al estudio de la actividad ictal (Estudio I y II), una limitación muy importante es que sólo un reducido número de pacientes son susceptibles de poder ser estudiados con RMf-ictal. Únicamente, aquellos que presenten crisis muy frecuentes, o en clusters, que no se acompañen de movimientos exagerados de la cabeza serán candidatos a esta técnica. Por otra parte, la impredecibilidad de las crisis hace que sea todavía más difícil registrar crisis durante la RMf. Sin embargo, aunque sean pocos los pacientes susceptibles de ser examinados, la información que provee la RMf-ictal es tan relevante para la planificación de la estrategia quirúrgica más adecuada, que merece la pena realizarla en aquellos pacientes con crisis focales frecuentes o clusters de crisis o en aquellos pacientes que presentan crisis reflejas a algún estímulo.

Otra limitación importante es que, en el estudio III, sólo un número muy reducido de pacientes fueron evaluados con EEG-invasivo. Este hecho hace que no sea posible establecer directamente cuál es la relación que existe entre las activaciones relacionadas con la actividad epileptiforme intercrítica y sus sustratos corticales. Sin embargo, en aquellos pacientes que fueron estudiados con EEG-intracranial se observó que esta correlación era excelente.

De igual manera, sólo 8 pacientes fueron intervenidos quirúrgicamente. De los resultados postquirúrgicos se desprende que, en aquellos pacientes en los que no se consigue la resección completa de todas las activaciones relacionadas con la actividad interictal, las crisis persisten. Sin embargo, debido al reducido número de pacientes que fueron intervenidos en este estudio, no nos es posible generalizar esta asunción.

Por tanto, serán necesarios más estudios, que incluyan a un mayor número de pacientes que sean estudiados con EEG-invasivo e intervenidos quirúrgicamente, para poder establecer la relación que existe entre las activaciones relacionadas con la actividad epiléptica intercrítica determinadas mediante el análisis secuencial de RMf-EEG, sus sustratos corticales y el resultado postquirúrgico tras la resección de estas activaciones.

6. CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

Las principales conclusiones que se derivan de estas tesis se pueden resumir como sigue:

1. El análisis secuencial de las imágenes de RMf-EEG desarrollado en esta tesis permite visualizar la sucesión de cambios hemodinámicos (señal BOLD) relacionados con las estructuras cerebrales que progresivamente son activadas durante la generación y propagación de la actividad ictal e interictal.

2. Tanto los cambios de señal BOLD relacionados con la zona de inicio ictal como los relacionados con los sustratos corticales de la actividad epiléptica interictal, coincidieron espacialmente con el área de hiperperfusión mostrada por el SPECT-ictal/SISCOM o con el área de hipometabolismo mostrada por el PET-FDG, respectivamente.

3. Los cambios de señal BOLD relacionados con la actividad epiléptica ictal e interictal determinados mediante el análisis de las imágenes de RMf-EEG se correspondieron anatómicamente con los resultados obtenidos tras la realización de estudios de EEG-invasivo.

4. La resección completa de los generadores corticales de la actividad epiléptica, determinados mediante el análisis secuencial, se correspondió con el control de las crisis tras la cirugía. Por el contrario, su resección parcial o incompleta se relacionó con la persistencia de las mismas. Este hecho pone de manifiesto la habilidad del método de análisis secuencial para la determinación no-invasiva de la zona epileptógena.

5. De todo lo anterior se demuestra que el nuevo método de análisis de RMf-EEG propuesto en esta tesis permite profundizar en el conocimiento y en la comprensión de la secuencia espacio-temporal de cambios de señal BOLD relacionados con las crisis epilépticas y la actividad epiléptica intercrítica; permitiendo determinar de manera no-invasiva y precisa la localización de la zona de inicio ictal, así como los generadores corticales de la actividad epiléptica intercrítica.

7. BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFÍA

Aghakhani Y, Bagshaw AP, Benar CG, Hawco C, Andermann F, Dubeau F, Gotman J. (2004) fMRI activation during spike and wave discharges in idiopathic generalized epilepsy. *Brain* 127:1127-1144.

Ahnlide JA, Rosen I, Linden-Mickelsson Tech P, Kallen K. (2007) Does SISCOM contribute to favorable seizure outcome after epilepsy surgery? *Epilepsia* 48:579-588.

Al-Asmi A, Benar CG, Gross DW, Khani YA, Andermann F, Pike B, Dubeau F, Gotman J. (2003) fMRI activation in continuous and spike-triggered EEG-fMRI studies of epileptic spikes. *Epilepsia*. 44:1328-1339.

Alkonyi B, Juhasz C, Muzik O, Asano E, Saporta A, Shah A, Chugani HT. (2009) Quantitative brain surface mapping of an electrophysiologic/metabolic mismatch in human neocortical epilepsy. *Epilepsy Res.* 87:77-87.

Archer JS, Abbott DF, Waites AB, Jackson GD. (2003a) fMRI "deactivation" of the posterior cingulate during generalized spike and wave. *NeuroImage* 20:1915-1922.

Archer JS, Briellmann RS, Syngeniotes A, Abbott DF, Jackson GD. (2003b) Spike-triggered fMRI in reading epilepsy: involvement of left frontal cortex working memory area. *Neurology* 60:415-421.

Bagshaw AP, Aghakhani Y, Benar CG, Kobayashi E, Hawco C, Dubeau F, Pike GB, Gotman J. (2004) EEG-fMRI of focal epileptic spikes: analysis with multiple haemodynamic functions and comparison with gadolinium-enhanced MR angiograms. *Hum.Brain Mapp.* 22:179-192.

Beckmann CF, Smith SM. (2005) Tensorial extensions of independent component analysis for multisubject FMRI analysis. *NeuroImage* 25:294-311.

Beers CA, Federico P. (2012) Functional MRI applications in epilepsy surgery. *Can J Neurol Sci* 39:271-285.

Benar CG, Gross DW, Wang Y, Petre V, Pike B, Dubeau F, Gotman J. (2002) The BOLD response to interictal epileptiform discharges. *Neuroimage.* 17:1182-1192.

Benar CG, Grova C, Kobayashi E, Bagshaw AP, Aghakhani Y, Dubeau F, Gotman J. (2006) EEG-fMRI of epileptic spikes: concordance with EEG source localization and intracranial EEG. *Neuroimage.* 30:1161-1170.

Benedek K, Juhasz C, Chugani DC, Muzik O, Chugani HT. (2006) Longitudinal changes in cortical glucose hypometabolism in children with intractable epilepsy. *J Child Neurol* 21:26-31.

Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, van Emde Boas W, Engel J, French J, Glauser TA, Mathern GW, Moshe SL, Nordli D, Plouin P, Scheffer IE. (2010) Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia* 51:676-685.

Berg AT, Kelly MM. (2006) Defining intractability: comparisons among published definitions. *Epilepsia* 47:431-436.

Berg AT, Mathern GW, Bronen RA, Fulbright RK, DiMario F, Testa FM, Levy SR. (2009) Frequency, prognosis and surgical treatment of structural abnormalities seen with magnetic resonance imaging in childhood epilepsy. *Brain* 132:2785-2797.

Berg AT, Vickrey BG, Testa FM, Levy SR, Shinnar S, DiMario F, Smith S. (2006) How long does it take for epilepsy to become intractable? A prospective investigation. *Ann Neurol* 60:73-79.

Bernhardt BC, Bernasconi N, Concha L, Bernasconi A. (2010) Cortical thickness analysis in temporal lobe epilepsy: reproducibility and relation to outcome. *Neurology* 74:1776-1784.

Bernhardt BC, Worsley KJ, Besson P, Concha L, Lerch JP, Evans AC, Bernasconi N. (2008) Mapping limbic network organization in temporal lobe epilepsy using morphometric correlations: Insights on the relation between mesiotemporal connectivity and cortical atrophy. *NeuroImage* 42:515-524.

Bettus G, Guedj E, Joyeux F, Confort-Gouny S, Soulier E, Laguitton V, Cozzone PJ, Chauvel P, Ranjeva J-P, Bartolomei F, Guye M. (2009) Decreased basal fMRI functional connectivity in epileptogenic networks and contralateral compensatory mechanisms. *Human Brain Mapping* 30:1580-1591.

Blume WT, Lders HO, Mizrahi E, Tassinari C, Van Emde Boas W, Engel J. (2001) Glossary of Descriptive Terminology for Ictal Semiology: Report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. *Epilepsia* 42:1212-1218.

Bonilha L, Elm JJ, Edwards JC, Morgan PS, Hicks C, Lozar C, Rumboldt Z, Roberts DR, Rorden C, Eckert MA. (2010) How common is brain atrophy in patients with medial temporal lobe epilepsy? *Epilepsia* 51:1774-1779.

- Bonilha L, Rorden C, Halford JJ, Eckert M, Appenzeller S, Cendes F, Li LM. (2007) Asymmetrical extra-hippocampal grey matter loss related to hippocampal atrophy in patients with medial temporal lobe epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 78:286-294.
- Boonyapisit K, Najm I, Klem G, Ying Z, Burrier C, LaPresto E, Nair D, Bingaman W, Prayson R, Luders H. (2003) Epileptogenicity of focal malformations due to abnormal cortical development: direct electrocorticographic-histopathologic correlations. *Epilepsia* 44:69-76.
- Breier JI, Mullani NA, Thomas AB, Wheless JW, Plenger PM, Gould KL, Papanicolaou A, Willmore LJ. (1997) Effects of duration of epilepsy on the uncoupling of metabolism and blood flow in complex partial seizures. *Neurology* 48:1047-1053.
- Brevard ME, Kulkarni P, King JA, Ferris CF. (2006) Imaging the neural substrates involved in the genesis of pentylentetrazol-induced seizures. *Epilepsia* 47:745-754.
- Carreno M, Luders H. (2008) General principles of presurgical evaluation. In PhD HOLdM, (ed) *Textbook of Epilepsy Surgery*. Informa Healthcare, UK, pp. 409-422.
- Cascino GD. (2001) Advances in neuroimaging: surgical localization. *Epilepsia* 42:3-12.
- Cascino GD. (2008) Neuroimaging in epilepsy: diagnostic strategies in partial epilepsy. *Semin Neurol* 28:523-532.
- Cascino GD, Buchhalter JR, Mullan BP, So EL. (2004) Ictal SPECT in Nonlesional Extratemporal Epilepsy. *Epilepsia* 45:32-34.
- Cascino GD, Trenerry MR, So EL, Sharbrough FW, Shin C, Lagerlund TD, Zupanc ML, Jack CR, Jr. (1996) Routine EEG and temporal lobe epilepsy: relation to long-term EEG monitoring, quantitative MRI, and operative outcome. *Epilepsia* 37:651-656.
- Casse R, Rowe CC, Newton M, Berlangieri SU, Scott AM. (2002) Positron emission tomography and epilepsy. *Mol Imaging Biol* 4:338-351.
- Cendes F. (2013) Neuroimaging in investigation of patients with epilepsy. *Continuum (Minneapolis)* 19:623-642.

Chassoux F, Landre E, Mellerio C, Turak B, Mann MW, Daumas-Duport C, Chiron C, Devaux B. (2012) Type II focal cortical dysplasia: electroclinical phenotype and surgical outcome related to imaging. *Epilepsia* 53:349-358.

Chassoux F, Rodrigo S, Semah F, Beuvon F, Landre E, Devaux B, Turak B, Mellerio C, Meder JF, Roux FX, umas-Duport C, Merlet P, Dulac O, Chiron C. (2010) FDG-PET improves surgical outcome in negative MRI Taylor-type focal cortical dysplasias. *Neurology*. 75:2168-2175.

Chaudhary UJ, Carmichael DW, Rodionov R, Thornton RC, Bartlett P, Vulliemoz S, Micallef C, McEvoy AW, Diehl B, Walker MC, Duncan JS, Lemieux L. (2012) Mapping preictal and ictal haemodynamic networks using video-electroencephalography and functional imaging. *Brain* 135:3645-3663.

Chaudhary UJ, Duncan JS, Lemieux L. (2011) Mapping hemodynamic correlates of seizures using fMRI: A review. *Hum.Brain Mapp*. DOI: 10.1002/hbm.21448.

Choi JY, Kim SJ, Hong SB, Seo DW, Hong SC, Kim BT, Kim SE. (2003) Extratemporal hypometabolism on FDG PET in temporal lobe epilepsy as a predictor of seizure outcome after temporal lobectomy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 30:581-587.

Chugani HT, Da Silva E, Chugani DC. (1996) Infantile spasms: III. Prognostic implications of bitemporal hypometabolism on positron emission tomography. *Ann Neurol* 39:643-649.

Chugani HT, Shewmon DA, Sankar R, Chen BC, Phelps ME. (1992) Infantile spasms: II. Lenticular nuclei and brain stem activation on positron emission tomography. *Ann Neurol* 31:212-219.

Chugani HT, Shields WD, Shewmon DA, Olson DM, Phelps ME, Peacock WJ. (1990) Infantile spasms: I. PET identifies focal cortical dysgenesis in cryptogenic cases for surgical treatment. *Ann Neurol* 27:406-413.

Chumbley JR, Friston KJ. (2009) False discovery rate revisited: FDR and topological inference using Gaussian random fields. *NeuroImage* 44:62-70.

Commission on Classification and Terminology (ILAE) otILAE. (1981) Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. From the Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia* 22:489-501.

Commission on Epidemiology and Prognosis (ILAE) ILAE. (1993) Guidelines for epidemiologic studies on epilepsy. Commission on Epidemiology and Prognosis, International League Against Epilepsy. *Epilepsia* 34:592-596.

Cossart R, Dinocourt C, Hirsch JC, Merchan-Perez A, De Felipe J, Ben-Ari Y, Esclapez M, Bernard C. (2001) Dendritic but not somatic GABAergic inhibition is decreased in experimental epilepsy. *Nat Neurosci* 4:52-62.

Cunningham CJ, Zaamout Mel F, Goodyear B, Federico P. (2008) Simultaneous EEG-fMRI in human epilepsy. *Can J Neurol Sci* 35:420-435.

da Silva EA, Chugani DC, Muzik O, Chugani HT. (1997) Identification of frontal lobe epileptic foci in children using positron emission tomography. *Epilepsia* 38:1198-1208.

Dasheiff RM, McNamara D, Dickinson L. (1986) Efficacy of second line antiepileptic drugs in the treatment of patients with medically refractive complex partial seizures. *Epilepsia* 27:124-127.

de Zwart JA, Silva AC, van Gelderen P, Kellman P, Fukunaga M, Chu R, Koretsky AP, Frank JA, Duyn JH. (2005) Temporal dynamics of the BOLD fMRI impulse response. *NeuroImage* 24:667-677.

Debets RM, van Veelen CW, Maquet P, van Huffelen AC, van Emde Boas W, Sadzot B, Overweg J, Velis DN, Dive D, Franck G. (1990) Quantitative analysis of 18/FDG-PET in the presurgical evaluation of patients suffering from refractory partial epilepsy. Comparison with CT, MRI, and combined subdural and depth. EEG. *Acta Neurochir Suppl (Wien)* 50:88-94.

Desai A, Bekelis K, Thadani VM, Roberts DW, Jobst BC, Duhaime AC, Gilbert K, Darcey TM, Studholme C, Siegel A. (2012) Interictal PET and ictal subtraction SPECT: Sensitivity in the detection of seizure foci in patients with medically intractable epilepsy. *Epilepsia*. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2012.03686.x

Detre JA, Sirven JI, Alsop DC, O'Connor MJ, French JA. (1995) Localization of subclinical ictal activity by functional magnetic resonance imaging: correlation with invasive monitoring. *Ann Neurol* 38:618-624.

Di Bonaventura C, Carnfi M, Vaudano AE, Pantano P, Garreffa G, Le Piane E, Maraviglia B, Bozzao L, Manfredi M, Prencipe M, Giallonardo AT. (2006a) Ictal hemodynamic changes in late-onset rasmussen encephalitis. *Ann Neurol* 59:432-433.

Di Bonaventura C, Vaudano AE, Carni M, Pantano P, Nucciarelli V, Garreffa G, Maraviglia B, Prencipe M, Bozzao L, Manfredi M, Giallonardo AT. (2006b) EEG/fMRI study of ictal and interictal epileptic activity: methodological issues and future perspectives in clinical practice. *Epilepsia* 47 Suppl 5:52-58.

Diamantis A, Sidiropoulou K, Magiorkinis E. (2010) Epilepsy during the Middle Ages, the Renaissance and the Enlightenment. *J Neurol* 257:691-698.

Diehl B, LaPresto E, Najm I, Raja S, Rona S, Babb T, Ying Z, Bingaman W, Luders HO, Ruggieri P. (2003) Neocortical temporal FDG-PET hypometabolism correlates with temporal lobe atrophy in hippocampal sclerosis associated with microscopic cortical dysplasia. *Epilepsia* 44:559-564.

Drzezga A, Arnold S, Minoshima S, Noachtar S, Szecsi J, Winkler P, Romer W, Tatsch K, Weber W, Bartenstein P. (1999) 18F-FDG PET studies in patients with extratemporal and temporal epilepsy: evaluation of an observer-independent analysis. *J Nucl Med* 40:737-746.

Duncan JS. (2010) Imaging in the surgical treatment of epilepsy. *Nat Rev Neurol* 6:537-550.

Dupont P, Van Paesschen W, Palmini A, Ambayi R, Van Loon J, Goffin J, Weckhuysen S, Sunaert S, Thomas B, Demaerel P, Sciot R, Becker AJ, Vanbilloen H, Mortelmans L, Van Laere K. (2006) Ictal perfusion patterns associated with single MRI-visible focal dysplastic lesions: implications for the noninvasive delineation of the epileptogenic zone. *Epilepsia* 47:1550-1557.

Federico P, Abbott DF, Briellmann RS, Harvey AS, Jackson GD. (2005a) Functional MRI of the pre-ictal state. *Brain* 128:1811-1817.

Federico P, Archer JS, Abbott DF, Jackson GD. (2005b) Cortical/subcortical BOLD changes associated with epileptic discharges: an EEG-fMRI study at 3 T. *Neurology*. 64:1125-1130.

Fisher RS, Boas WvE, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, Engel J. (2005) Epileptic Seizures and Epilepsy: Definitions Proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia* 46:470-472.

Foldvary-Schaefer N. (2000) Focal epilepsy and surgical evaluation. In Levin KH, Luders H, (eds) *Comprehensive Clinical Neurophysiology*. Saunders Company, Philadelphia, pp. 481-496.

- Fox PT, Raichle ME. (1986) Focal physiological uncoupling of cerebral blood flow and oxidative metabolism during somatosensory stimulation in human subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83:1140-1144.
- Fox PT, Raichle ME, Mintun MA, Dence C. (1988) Nonoxidative glucose consumption during focal physiologic neural activity. *Science* 241:462-464.
- Fransson P. (2005) Spontaneous low-frequency BOLD signal fluctuations: an fMRI investigation of the resting-state default mode of brain function hypothesis. *Hum Brain Mapp* 26:15-29.
- Fransson P, Marrelec G. (2008) The precuneus/posterior cingulate cortex plays a pivotal role in the default mode network: Evidence from a partial correlation network analysis. *NeuroImage* 42:1178-1184.
- Friston KJ, Fletcher P, Josephs O, Holmes A, Rugg MD, Turner R. (1998) Event-related fMRI: characterizing differential responses. *Neuroimage*. 7:30-40.
- Friston KJ, Holmes AP, Poline JB, Grasby PJ, Williams SC, Frackowiak RS, Turner R. (1995) Analysis of fMRI time-series revisited. *NeuroImage* 2:45-53.
- Gilman JT, Duchowny M, Jayakar P, Resnick TJ. (1994) Medical intractability in children evaluated for epilepsy surgery. *Neurology* 44:1341-1343.
- Gilmore R, Morris H, 3rd, Van Ness PC, Gilmore-Pollak W, Estes M. (1994) Mirror focus: function of seizure frequency and influence on outcome after surgery. *Epilepsia* 35:258-263.
- Glover GH. (1999) Deconvolution of impulse response in event-related BOLD fMRI. *NeuroImage* 9:416-429.
- Gotman J. (2008) Epileptic networks studied with EEG-fMRI. *Epilepsia* 49 Suppl 3:42-51.
- Gotman J, Benar CG, Dubeau F. (2004) Combining EEG and FMRI in epilepsy: methodological challenges and clinical results. *J Clin Neurophysiol* 21:229-240.
- Gotman J, Grova C, Bagshaw A, Kobayashi E, Aghakhani Y, Dubeau F. (2005) Generalized epileptic discharges show thalamocortical activation and suspension of the default state of the brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:15236-15240.
- Gotman J, Kobayashi E, Bagshaw AP, Benar CG, Dubeau F. (2006) Combining EEG and fMRI: a multimodal tool for epilepsy research. *J. Magn Reson. Imaging*. 23:906-920.

Gotman J, Pittau F. (2011) Combining EEG and fMRI in the study of epileptic discharges. *Epilepsia*. 52 Suppl 4:38-42. doi: 10.1111/j.1528-1167.2011.03151.x.:38-42.

Greicius MD, Krasnow B, Reiss AL, Menon V. (2003) Functional connectivity in the resting brain: a network analysis of the default mode hypothesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:253-258.

Groening K, Brodbeck V, Moeller F, Wolff S, van Baalen A, Michel CM, Jansen O, Boor R, Wiegand G, Stephani U, Siniatchkin M. (2009) Combination of EEG-fMRI and EEG source analysis improves interpretation of spike-associated activation networks in paediatric pharmaco-resistant focal epilepsies. *NeuroImage* 46:827-833.

Gross RA. (1992) A brief history of epilepsy and its therapy in the Western Hemisphere. *Epilepsy Res.*:12:65-74

Grouiller F, Thornton RC, Groening K, Spinelli L, Duncan JS, Schaller K, Siniatchkin M, Lemieux L, Seeck M, Michel CM, Vulliemoz S. (2011) With or without spikes: localization of focal epileptic activity by simultaneous electroencephalography and functional magnetic resonance imaging. *Brain*. 134:2867-2886.

Hamandi K, Laufs H, Noth U, Carmichael DW, Duncan JS, Lemieux L. (2008) BOLD and perfusion changes during epileptic generalised spike wave activity. *NeuroImage* 39:608-618.

Hennig J, Ernst T, Speck O, Deuschl G, Feifel E. (1994) Detection of brain activation using oxygenation sensitive functional spectroscopy. *Magn Reson Med* 31:85-90.

Henry T, Sutherling WW, Engel J, Jr., Risinger MW, Levesque MF, Mazziotta JC, Phelps ME. (1992) Interictal cerebral metabolism in partial epilepsies of neocortical origin. *Epilepsy Res*. 108(2-3):174-182.

Henry TR, Roman DD. (2011) Presurgical epilepsy localization with interictal cerebral dysfunction. *Epilepsy Behav*. 20:194-208.

Henry TR, Sutherling WW, Engel J, Jr., Risinger MW, Levesque MF, Mazziotta JC, Phelps ME. (1991) Interictal cerebral metabolism in partial epilepsies of neocortical origin. *Epilepsy Res* 10:174-182.

Hermanns G, Noachtar S, Tuxhorn I, Holthausen H, Ebner A, Wolf P. (1996) Systematic testing of medical intractability for carbamazepine, phenytoin, and

phenobarbital or primidone in monotherapy for patients considered for epilepsy surgery. *Epilepsia* 37:675-679.

Hong KS, Lee SK, Kim JY, Lee DS, Chung CK. (2002) Pre-surgical evaluation and surgical outcome of 41 patients with non-lesional neocortical epilepsy. *Seizure* 11:184-192.

Jack CR, Jr., Sharbrough FW, Twomey CK, Cascino GD, Hirschorn KA, Marsh WR, Zinsmeister AR, Scheithauer B. (1990) Temporal lobe seizures: lateralization with MR volume measurements of the hippocampal formation. *Radiology* 175:423-429.

Jackson G. (2008) EEG-fMRI in the presurgical work-up of patients with partial epilepsy and unclear seizure focus. *Nat Clin Pract Neurol* 4:128-129.

Jacobs J, Kobayashi E, Boor R, Muhle H, Stephan W, Hawco C, Dubeau F, Jansen O, Stephani U, Gotman J, Siniatchkin M. (2007) Hemodynamic responses to interictal epileptiform discharges in children with symptomatic epilepsy. *Epilepsia*. 48:2068-2078.

Jann K, Wiest R, Hauf M, Meyer K, Boesch C, Mathis J, Schroth G, Dierks T, Koenig T. (2008) BOLD correlates of continuously fluctuating epileptic activity isolated by independent component analysis. *Neuroimage*. 42:635-648.

Juhasz C, Chugani DC, Muzik O, Watson C, Shah J, Shah A, Chugani HT. (2000) Is epileptogenic cortex truly hypometabolic on interictal positron emission tomography? *Ann.Neurol*. 48:88-96.

Juhasz C, Chugani HT. (2011) Positron emission tomography: glucose metabolism in extratemporal lobe epilepsy. In Chugani HT, (ed) *Neuroimaging in Epilepsy*. Oxford University Press, NY, USA, pp. 141-155.

Kim DW, Lee SK, Chu K, Park KI, Lee SY, Lee CH, Chung CK, Choe G, Kim JY. (2009) Predictors of surgical outcome and pathologic considerations in focal cortical dysplasia. *Neurology* 72:211-216.

Knowlton RC, Elgavish RA, Bartolucci A, Ojha B, Limdi N, Blount J, Burneo JG, Ver HL, Paige L, Faught E, Kankirawatana P, Riley K, Kuzniecky R. (2008) Functional imaging: II. Prediction of epilepsy surgery outcome. *Ann.Neurol*. 64:35-41.

Kobayashi E, Bagshaw AP, Benar CG, Aghakhani Y, Andermann F, Dubeau F, Gotman J. (2006a) Temporal and extratemporal BOLD responses to temporal lobe interictal spikes. *Epilepsia*. 47:343-354.

Kobayashi E, Bagshaw AP, Grova C, Dubeau F, Gotman J. (2006b) Negative BOLD responses to epileptic spikes. *Hum. Brain Mapp.* 27:488-497.

Kobayashi E, Grova C, Tyvaert L, Dubeau F, Gotman J. (2009) Structures involved at the time of temporal lobe spikes revealed by interindividual group analysis of EEG/fMRI data. *Epilepsia.* 50:2549-2556.

Kobayashi E, Hawco CS, Grova C, Dubeau F, Gotman J. (2006c) Widespread and intense BOLD changes during brief focal electrographic seizures. *Neurology.* 66:1049-1055.

Krakow K. (2008) Imaging epileptic activity using functional MRI. *Neurodegener Dis* 5:286-295.

Krakow K, Woermann FG, Symms MR, Allen PJ, Lemieux L, Barker GJ, Duncan JS, Fish DR. (1999) EEG-triggered functional MRI of interictal epileptiform activity in patients with partial seizures. *Brain* 122 (Pt 9):1679-1688.

Krings T, Topper R, Reinges MH, Foltys H, Spetzger U, Chiappa KH, Gilsbach JM, Thron A. (2000) Hemodynamic changes in simple partial epilepsy: a functional MRI study. *Neurology* 54:524-527.

Krsek P, Maton B, Korman B, Pacheco-Jacome E, Jayakar P, Dunoyer C, Rey G, Morrison G, Ragheb J, Vinters HV, Resnick T, Duchowny M. (2008) Different features of histopathological subtypes of pediatric focal cortical dysplasia. *Ann Neurol* 63:758-769.

Krsek P, Pieper T, Karlmeier A, Hildebrandt M, Kolodziejczyk D, Winkler P, Pauli E, Blumcke I, Holthausen H. (2009) Different presurgical characteristics and seizure outcomes in children with focal cortical dysplasia type I or II. *Epilepsia* 50:125-137.

Kubota F, Kikuchi S, Ito M, Shibata N, Akata T, Takahashi A, Sasaki T, Oya N, Aoki J. (2000) Ictal brain hemodynamics in the epileptic focus caused by a brain tumor using functional magnetic resonance imaging (fMRI). *Seizure* 9:585-589.

la Fougere C, Rominger A, Forster S, Geisler J, Bartenstein P. (2009) PET and SPECT in epilepsy: a critical review. *Epilepsy Behav* 15:50-55.

Lee JJ, Lee SK, Lee SY, Park KI, Kim DW, Lee DS, Chung CK, Nam HW. (2008) Frontal lobe epilepsy: clinical characteristics, surgical outcomes and diagnostic modalities. *Seizure* 17:514-523.

Lee KK, Salamon N. (2009) [18F] fluorodeoxyglucose-positron-emission tomography and MR imaging coregistration for presurgical evaluation of medically refractory epilepsy. *AJNR Am.J.Neuroradiol.* 30:1811-1816.

Lee SK, Lee SY, Kim KK, Hong KS, Lee DS, Chung CK. (2005) Surgical outcome and prognostic factors of cryptogenic neocortical epilepsy. *Ann Neurol* 58:525-532.

Lemieux L, Laufs H, Carmichael D, Paul JS, Walker MC, Duncan JS. (2008) Noncanonical spike-related BOLD responses in focal epilepsy. *Hum Brain Mapp* 29:329-345.

Lemieux L, Salek-Haddadi A, Josephs O, Allen P, Toms N, Scott C, Krakow K, Turner R, Fish DR. (2001) Event-related fMRI with simultaneous and continuous EEG: description of the method and initial case report. *Neuroimage*. 14(3):780-787.

Lerner JT, Salamon N, Hauptman JS, Velasco TR, Hemb M, Wu JY, Sankar R, Donald SW, Engel J, Jr., Fried I, Cepeda C, Andre VM, Levine MS, Miyata H, Yong WH, Vinters HV, Mathern GW. (2009) Assessment and surgical outcomes for mild type I and severe type II cortical dysplasia: a critical review and the UCLA experience. *Epilepsia*. 50:1310-1335.

Levan P, Gotman J. (2009) Independent component analysis as a model-free approach for the detection of BOLD changes related to epileptic spikes: a simulation study. *Hum. Brain Mapp*. 30:2021-2031.

Levan P, Tyvaert L, Moeller F, Gotman J. (2010) Independent component analysis reveals dynamic ictal BOLD responses in EEG-fMRI data from focal epilepsy patients. *Neuroimage*. 49:366-378.

Liao W, Zhang Z, Pan Z, Mantini D, Ding J, Duan X, Luo C, Lu G, Chen H. (2010) Altered Functional Connectivity and Small-World in Mesial Temporal Lobe Epilepsy. *PLoS ONE* 5:e8525.

Liao W, Zhang Z, Pan Z, Mantini D, Ding J, Duan X, Luo C, Wang Z, Tan Q, Lu G, Chen H. (2011) Default mode network abnormalities in mesial temporal lobe epilepsy: A study combining fMRI and DTI. *Human Brain Mapping* 32:883-895.

Lin JJ, Salamon N, Lee AD, Dutton RA, Geaga JA, Hayashi KM, Luders E, Toga AW, Engel J, Jr., Thompson PM. (2007) Reduced neocortical thickness and complexity mapped in mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *Cereb Cortex* 17:2007-2018.

Liu Y, Yang T, Yang X, Liu I, Liao W, Lui S, Huang X, Chen H, Gong Q, Zhou D. (2008) EEG-fMRI study of the interictal epileptic activity in patients with partial epilepsy. *J Neurol Sci* 268:117-123.

Logothetis NK. (2003) The Underpinnings of the BOLD Functional Magnetic Resonance Imaging Signal. *The Journal of Neuroscience* 23:3963-3971.

- Luders HO, Burgess R, Noachtar S. (1993) Expanding the international classification of seizures to provide localization information. *Neurology* 43:1650-1655.
- Luo C, Li Q, Lai Y, Xia Y, Qin Y, Liao W, Li S, Zhou D, Yao D, Gong Q. (2011) Altered functional connectivity in default mode network in absence epilepsy: A resting-state fMRI study. *Human Brain Mapping* 32:438-449.
- Luo C, Qiu C, Guo Z, Fang J, Li Q, Lei X, Xia Y, Lai Y, Gong Q, Zhou D, Yao D. (2012) Disrupted Functional Brain Connectivity in Partial Epilepsy: A Resting-State fMRI Study. *PLoS ONE* 7:e28196.
- Magiorkinis E. (2010) Hallmarks in the history of epilepsy: Epilepsy in antiquity. *Epilepsy Behav.* 17:5.
- Makiranta M, Ruohonen J, Suominen K, Niinimäki J, Sonkajarvi E, Kiviniemi V, Seppänen T, Alahuhta S, Jantti V, Tervonen O. (2005) BOLD signal increase precedes EEG spike activity--a dynamic penicillin induced focal epilepsy in deep anesthesia. *NeuroImage* 27:715-724.
- Moeller F, Levan P, Muhle H, Stephani U, Dubeau F, Siniatchkin M, Gotman J. (2010) Absence seizures: individual patterns revealed by EEG-fMRI. *Epilepsia.* 51:2000-2010.
- Moeller F, Maneshi M, Pittau F, Gholipour T, Bellec P, Dubeau F, Grova C, Gotman J. (2011) Functional connectivity in patients with idiopathic generalized epilepsy. *Epilepsia.* 52:515-522.
- Moeller F, Siebner HR, Wolff S, Muhle H, Boor R, Granert O, Jansen O, Stephani U, Siniatchkin M. (2008) Changes in activity of striato-thalamo-cortical network precede generalized spike wave discharges. *NeuroImage* 39:1839-1849.
- Moeller F, Tyvaert L, Nguyen DK, Levan P, Bouthillier A, Kobayashi E, Tampieri D, Dubeau F, Gotman J. (2009) EEG-fMRI: adding to standard evaluations of patients with nonlesional frontal lobe epilepsy. *Neurology.* 73:2023-2030.
- Morocz IA, Karni A, Haut S, Lantos G, Liu G. (2003) fMRI of triggerable auras in musicogenic epilepsy. *Neurology* 60:705-709.
- Norris DG. (2006) Principles of magnetic resonance assessment of brain function. *J Magn Reson Imaging* 23:794-807.
- O'Brien TJ, So EL, Cascino GD, Hauser MF, Marsh WR, Meyer FB, Sharbrough FW, Mullan BP. (2004) Subtraction SPECT coregistered to MRI in focal

malformations of cortical development: localization of the epileptogenic zone in epilepsy surgery candidates. *Epilepsia* 45:367-376.

O'Brien TJ, So EL, Mullan BP, Cascino GD, Hauser MF, Brinkmann BH, Sharbrough FW, Meyer FB. (2000) Subtraction peri-ictal SPECT is predictive of extratemporal epilepsy surgery outcome. *Neurology* 55:1668-1677.

O'Brien TJ, So EL, Mullan BP, Hauser MF, Brinkmann BH, Bohnen NI, Hanson D, Cascino GD, Jack CR, Jr., Sharbrough FW. (1998) Subtraction ictal SPECT co-registered to MRI improves clinical usefulness of SPECT in localizing the surgical seizure focus. *Neurology* 50:445-454.

Ogawa S. (2012) Finding the BOLD effect in brain images. *NeuroImage* 62:608-609.

Ogawa S, Lee TM. (1990) Magnetic resonance imaging of blood vessels at high fields: in vivo and in vitro measurements and image simulation. *Magn Reson Med* 16:9-18.

Ogawa S, Tank DW, Menon R, Ellermann JM, Kim SG, Merkle H, Ugurbil K. (1992) Intrinsic signal changes accompanying sensory stimulation: functional brain mapping with magnetic resonance imaging. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:5951-5955.

Pittau F, Grova C, Moeller F, Dubeau F, Gotman J. (2012) Patterns of altered functional connectivity in mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 53:1013-1023.

Radhakrishnan K, So EL, Silbert PL, Jack CR, Jr., Cascino GD, Sharbrough FW, O'Brien PC. (1998) Predictors of outcome of anterior temporal lobectomy for intractable epilepsy: a multivariate study. *Neurology* 51:465-471.

Radtke RA, Hanson MW, Hoffman JM, Crain BJ, Walczak TS, Lewis DV, Beam C, Coleman RE, Friedman AH. (1993) Temporal lobe hypometabolism on PET: predictor of seizure control after temporal lobectomy. *Neurology* 43:1088-1092.

Raichle ME, MacLeod AM, Snyder AZ, Powers WJ, Gusnard DA, Shulman GL. (2001) A default mode of brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:676-682.

Ray A, Tao JX, Hawes-Ebersole SM, Ebersole JS. (2007) Localizing value of scalp EEG spikes: a simultaneous scalp and intracranial study. *Clin. Neurophysiol.* 118:69-79.

Riederer F, Lanzenberger R, Kaya M, Prayer D, Serles W, Baumgartner C. (2008) Network atrophy in temporal lobe epilepsy: a voxel-based morphometry study. *Neurology* 71:419-425.

Rodionov R, De MF, Laufs H, Carmichael DW, Formisano E, Walker M, Duncan JS, Lemieux L. (2007) Independent component analysis of interictal fMRI in focal epilepsy: comparison with general linear model-based EEG-correlated fMRI. *Neuroimage*. 38:488-500.

Rosenkranz K, Lemieux L. (2010) Present and future of simultaneous EEG-fMRI. *MAGMA* 23:309-316.

Rosenow F, Luders H. (2001) Presurgical evaluation of epilepsy. *Brain* 124:1683-1700.

Rubi S, Setoain X, Donaire A, Bargallo N, Sanmarti F, Carreno M, Rumia J, Calvo A, Aparicio J, Campistol J, Pons F. (2011) Validation of FDG-PET/MRI coregistration in nonlesional refractory childhood epilepsy. *Epilepsia* 52:2216-2224.

Ryvlin P, Bouvard S, Le Bars D, De Lamrie G, Grgoire MC, Kahane P, Froment JC, Mauguire F. (1998) Clinical utility of flumazenil-PET versus [18F]fluorodeoxyglucose-PET and MRI in refractory partial epilepsy. A prospective study in 100 patients. *Brain* 121:2067-2081.

Salamon N, Kung J, Shaw SJ, Koo J, Koh S, Wu JY, Lerner JT, Sankar R, Shields WD, Engel J, Jr., Fried I, Miyata H, Yong WH, Vinters HV, Mathern GW. (2008) FDG-PET/MRI coregistration improves detection of cortical dysplasia in patients with epilepsy. *Neurology*. 71:1594-1601.

Salanova V, Markand O, Worth R. (2004) Temporal lobe epilepsy: analysis of patients with dual pathology. *Acta Neurol Scand* 109:126-131.

Salek-Haddadi A, Diehl B, Hamandi K, Merschhemke M, Liston A, Friston K, Duncan JS, Fish DR, Lemieux L. (2006) Hemodynamic correlates of epileptiform discharges: an EEG-fMRI study of 63 patients with focal epilepsy. *Brain Res* 1088:148-166.

Sloviter RS. (1987) Decreased hippocampal inhibition and a selective loss of interneurons in experimental epilepsy. *Science (New York, N.Y.)* 235:73-76.

So EL. (2000) Integration of EEG, MRI, and SPECT in localizing the seizure focus for epilepsy surgery. *Epilepsia* 41 Suppl 3:S48-54.

Sokoloff L. (1991) Measurement of local cerebral glucose utilization and its relation to local functional activity in the brain. *Adv Exp Med Biol* 291:21-42.

Spencer SS, Berg AT, Vickrey BG, Sperling MR, Bazil CW, Shinnar S, Langfitt JT, Walczak TS, Pacia SV. (2005) Predicting long-term seizure outcome after resective epilepsy surgery: the multicenter study. *Neurology* 65:912-918.

Stefanovic B, Warnking JM, Kobayashi E, Bagshaw AP, Hawco C, Dubeau F, Gotman J, Pike GB. (2005) Hemodynamic and metabolic responses to activation, deactivation and epileptic discharges. *Neuroimage*. 28:205-215.

Stufflebeam MS. (2011) Localization of focal epileptic discharges using functional connectivity magnetic resonance imaging. *Journal of Neurosurgery* 114:6.

Swartz B, Halgren E, Delgado-Escueta AV, Mandelkern M, Gee M, Quinones N, Bлахd WH, Repchan J. (1989) Neuroimaging in patients with seizures of probable frontal lobe origin. *Epilepsia* 30(5).

Swartz BE, Halgren E, Delgado-Escueta AV, Mandelkern M, Feldstein P, Maldonado H, Ropchan J, Bлахd W, Walsh GO, Quinones N, et al. (1990) Multidisciplinary analysis of patients with extratemporal complex partial seizures. I. Intertest agreement. *Epilepsy Res* 5:61-73.

Swartz BE, Tomiyasu U, Delgado-Escueta AV, Mandelkern M, Khonsari A. (1992) Neuroimaging in temporal lobe epilepsy: test sensitivity and relationships to pathology and postoperative outcome. *Epilepsia* 33:624-634.

Tao JX, Baldwin M, Hawes-Ebersole S, Ebersole JS. (2007) Cortical substrates of scalp EEG epileptiform discharges. *J.Clin.Neurophysiol.* 24:96-100.

Tao JX, Ray A, Hawes-Ebersole S, Ebersole JS. (2005) Intracranial EEG substrates of scalp EEG interictal spikes. *Epilepsia*. 46:669-676.

Tellez-Zenteno JF, Hernandez Ronquillo L, Moien-Afshari F, Wiebe S. (2010) Surgical outcomes in lesional and non-lesional epilepsy: a systematic review and meta-analysis. *Epilepsy Res* 89:310-318.

Theodore WH, Holmes MD, Dorwart RH, Porter RJ, Di Chiro G, Sato S, Rose D. (1986) Complex partial seizures: cerebral structure and cerebral function. *Epilepsia* 27:576-582.

Theodore WH, Sato S, Kufta C, Balish MB, Bromfield EB, Leiderman DB. (1992) Temporal lobectomy for uncontrolled seizures: the role of positron emission tomography. *Ann Neurol* 32:789-794.

Theodore WH, Sato S, Kufta CV, Gaillard WD, Kelley K. (1997) FDG-positron emission tomography and invasive EEG: seizure focus detection and surgical outcome. *Epilepsia* 38(1):81-86.

Thornton R, Laufs H, Rodionov R, Cannadathu S, Carmichael DW, Vulliemoz S, Salek-Haddadi A, McEvoy AW, Smith SM, Lhatoo S, Elwes RD, Guye M, Walker MC, Lemieux L, Duncan JS. (2010a) EEG correlated functional MRI and postoperative outcome in focal epilepsy. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry*. 81:922-927.

Thornton R, Vulliemoz S, Rodionov R, Carmichael DW, Chaudhary UJ, Diehl B, Laufs H, Vollmar C, McEvoy AW, Walker MC, Bartolomei F, Guye M, Chauvel P, Duncan JS, Lemieux L. (2011) Epileptic networks in focal cortical dysplasia revealed using electroencephalography-functional magnetic resonance imaging. *Ann.Neurol*. 70:822-837.

Thornton RC, Rodionov R, Laufs H, Vulliemoz S, Vaudano A, Carmichael D, Cannadathu S, Guye M, McEvoy A, Lhatoo S, Bartolomei F, Chauvel P, Diehl B, De MF, Elwes RD, Walker MC, Duncan JS, Lemieux L. (2010b) Imaging haemodynamic changes related to seizures: comparison of EEG-based general linear model, independent component analysis of fMRI and intracranial EEG. *Neuroimage*. 53:196-205.

Tracy JI, Osipowicz K, Spechler P, Sharan A, Skidmore C, Doucet G, Sperling MR. (2012) Functional connectivity evidence of corticocortico inhibition in temporal lobe epilepsy. *Human Brain Mapping*.

Trevelyan AJ, Schevon CA. (2012) How inhibition influences seizure propagation. *Neuropharmacology*.

Tyvaert L, Hawco C, Kobayashi E, Levan P, Dubeau F, Gotman J. (2008) Different structures involved during ictal and interictal epileptic activity in malformations of cortical development: an EEG-fMRI study. *Brain*. 131:2042-2060.

Tyvaert L, Levan P, Dubeau F, Gotman J. (2009) Noninvasive dynamic imaging of seizures in epileptic patients. *Hum.Brain Mapp*. 30:3993-4011.

Van Houdt PJ, de Munck JC, Zijlmans M, Huiskamp G, Leijten FS, Boon PA, Ossenblok PP. (2010) Comparison of analytical strategies for EEG-correlated fMRI data in patients with epilepsy. *Magn Reson.Imaging*. 28:1078-1086.

Van Paesschen W. (2004) Ictal SPECT. *Epilepsia* 45 Suppl 4:35-40.

Van Paesschen W, Dupont P, Sunaert S, Goffin K, Van Laere K. (2007) The use of SPECT and PET in routine clinical practice in epilepsy. *Curr Opin Neurol* 20:194-202.

Waites AB, Shaw ME, Briellmann RS, Labate A, Abbott DF, Jackson GD. (2005) How reliable are fMRI-EEG studies of epilepsy? A nonparametric approach to analysis validation and optimization. *Neuroimage*. 24:192-199.

Walczak TS, Radtke RA, Lewis DV. (1992) Accuracy and interobserver reliability of scalp ictal EEG. *Neurology* 42:2279-2285.

Weil S, Noachtar S, Arnold S, Yousry TA, Winkler PA, Tatsch K. (2001) Ictal ECD-SPECT differentiates between temporal and extratemporal epilepsy: confirmation by excellent postoperative seizure control. *Nucl Med Commun* 22:233-237.

Wetjen NM, Cascino GD, Fessler AJ, So EL, Buchhalter JR, Mullan BP, O'Brien TJ, Meyer FB, Marsh WR. (2006) Subtraction ictal single-photon emission computed tomography coregistered to magnetic resonance imaging in evaluating the need for repeated epilepsy surgery. *J Neurosurg* 105:71-76.

Won HJ, Chang KH, Cheon JE, Kim HD, Lee DS, Han MH, Kim IO, Lee SK, Chung CK. (1999) Comparison of MR imaging with PET and ictal SPECT in 118 patients with intractable epilepsy. *AJNR Am J Neuroradiol* 20:593-599.

Wong CH, Bleasel A, Wen L, Eberl S, Byth K, Fulham M, Somerville E, Mohamed A. (2012) Relationship between preoperative hypometabolism and surgical outcome in neocortical epilepsy surgery. *Epilepsia* 53:1333-1340.

Worsley KJ, Friston KJ. (1995) Analysis of fMRI time-series revisited--again. *NeuroImage* 2:173-181.

Worsley KJ, Liao CH, Aston J, Petre V, Duncan GH, Morales F, Evans AC. (2002) A general statistical analysis for fMRI data. *NeuroImage* 15:1-15.

Zhang J, Liu W, Chen H, Xia H, Zhou Z, Wang L, Mei S, Liu Q, Li Y. (2012) EEG-fMRI validation studies in comparison with icEEG: a review. *Int J Psychophysiol* 84:233-239.

Zhang Z, Lu G, Zhong Y, Tan Q, Liao W, Chen Z, Shi J, Liu Y. (2009a) Impaired perceptual networks in temporal lobe epilepsy revealed by resting fMRI. *J Neurol* 256:1705-1713.

Zhang Z, Lu G, Zhong Y, Tan Q, Liao W, Wang Z, Wang Z, Li K, Chen H, Liu Y. (2010) Altered spontaneous neuronal activity of the default-mode network in mesial temporal lobe epilepsy. *Brain Res* 1323:152-160.

Zhang Z, Lu G, Zhong Y, Tan Q, Yang Z, Liao W, Chen Z, Shi J, Liu Y. (2009b) Impaired attention network in temporal lobe epilepsy: a resting fMRI study. *Neurosci Lett* 458:97-101.

Zijlmans M, Huiskamp G, Hersevoort M, Seppenwoolde JH, van Huffelen AC, Leijten FS. (2007) EEG-fMRI in the preoperative work-up for epilepsy surgery. *Brain* 130:2343-2353.

