

Anatomic Study of the Subthalamus

Estudo do Núcleo Subtalâmico em Cortes de Cérebro com Técnica de Mulligan

Murilo Sousa de Meneses^{1,2}
Guilherme Santos Piedade^{1,2}
Djanira Aparecida da Luz Veronez²
Emanuel Cassou dos Santos³
Daniel Benzecry de Almeida¹

ABSTRACT

Objective: Subthalamic stimulation has become the procedure of choice in most cases of Parkinson's Disease. This article describes subthalamic nucleus coordinates on human anatomical material, to infer the likely location of the target on the patient's brain. **Methods:** The material consisted of 25 coronal brain slices stained using Mulligan's method. A total of 40 subthalamic nuclei were identified and their dimensions were measured. The position of subthalamic nuclei related to the midline, cerebral cortex and red nucleus (RN) was evaluated. **Results:** The major axis length of STN was 10.06 mm (standard-deviation [SD] 1.03 mm) on average and minor axis length was 3.08 mm (SD 0.55 mm). The STN lies at a mean angle of 49.56° (SD, 3.01°) to the midline. The central point is 13.22 mm (SD 0.49 mm) to the midline, 2.23 mm (SD 0.26 mm) inferior to the superior border of RN and 2.89 mm (SD 0.27 mm) lateral to the most lateral border of RN. **Conclusion:** Subthalamic nucleus has constant anatomical relationships with red nucleus and midline, thus permitting their use in the calculus of stereotaxic coordinates for surgery.

Key words: Subthalamic nucleus; Parkinson's Disease; Neuroanatomy; Deep brain stimulation

RESUMO

Objetivo: A cirurgia de estimulação profunda do núcleo subtalâmico (NST) demonstrou grande eficácia no tratamento de pacientes com Doença de Parkinson. Este trabalho pretende caracterizar a morfometria do NST, essencial para a correta inserção do eletrodo e para o acesso cirúrgico da região. **Métodos:** Ao todo, 25 cortes coronais de cérebro foram corados com a técnica de Mulligan para destacar o NST. Os 40 núcleos identificados foram analisados com relação a diferentes parâmetros anatômicos, que mensuram suas dimensões e avaliam a distância do NST ao núcleo rubro, ao córtex cerebral e à linha média. **Resultados:** O núcleo subtalâmico possui diâmetro maior de 10,06 mm (desvio-padrão [DP] 1,03 mm) e diâmetro menor de 3,08 mm (DP 0,55 mm). Sua inclinação em relação ao plano sagital é de 49,56° (DP 3,01°). O ponto central está a 13,22 mm (DP 0,49 mm) da linha média. A distância desse ponto à borda superior do núcleo rubro equivale a 2,23 mm (DP 0,26 mm), e à borda lateral é de 2,89 mm (DP 0,27 mm). **Conclusão:** O núcleo subtalâmico possui relações anatômicas constantes com o núcleo rubro e com a linha média, permitindo o uso dessas estruturas no cálculo das coordenadas estereotáticas para a cirurgia.

Palavras-chave: Núcleo subtalâmico; Doença de Parkinson; Neuroanatomia; Estimulação cerebral profunda

INTRODUÇÃO

A estimulação cerebral profunda (DBS) do núcleo subtalâmico se mostrou superior a intervenções como palidotomia e talamotomia no tratamento cirúrgico da Doença de Parkinson⁸. A cirurgia nos pacientes intolerantes às drogas antiparkinsonianas pode ser superior ao melhor manejo médico, com eficácia semelhante à da levodopa e menos efeitos colaterais^{7,20,22}. O sucesso desse procedimento depende, entretanto, da acurácia na determinação das coordenadas estereotáticas do alvo¹³.

O núcleo subtalâmico (NST) é uma estrutura pequena e oblíqua em relação aos três planos. Isso dificulta sobremaneira o posicionamento do eletrodo, que deve ser inserido

precisamente na região motora, dorsolateral, do NST. Posições anômalas podem trazer sérias consequências, como é o caso de um desvio do estímulo para regiões mais inferiores e mediais do que o necessário. Adentra-se no território límbico do NST e esse erro de coordenadas acarreta um aumento nos índices de depressão grave e de tentativas de suicídio após a cirurgia^{4,21}.

As coordenadas estereotáticas são determinadas por parâmetros anatômicos em exames pré-operatórios e confirmadas fisiologicamente durante o procedimento, seja por estimulação elétrica ou por microregistro^{6,9}. Do ponto de vista anatômico, pode-se determinar as coordenadas pelo método direto, que consiste na visualização do NST em sequências de RM que ofereçam um bom contraste entre substância branca e cinzenta¹⁹. Pode ser difícil, entretanto, diferenciar o núcleo

¹Instituto de Neurologia de Curitiba, Curitiba, Paraná

²Universidade Federal do Paraná, Departamento de Anatomia, Curitiba, Paraná

³Acadêmico de Medicina UFPR

da *pars reticulata* da substância negra^{5,19}. O método indireto calcula as coordenadas com base na identificação na RM da linha intercomissural, entre as comissuras anterior e posterior¹⁸. Todavia, a relação entre o NST e a linha intercomissural foi descrita como variável e inconstante⁵. Alternativamente, a localização estereotóxica do NST pode ser presumida a partir de sua relação com o núcleo rubro, um ponto de referência adjacente que ofereceria maior precisão¹⁹.

O cálculo via núcleo rubro, que demonstrou ser superior ao método direto e ao cálculo baseado na linha intercomissural¹, é baseado no conhecimento das relações anatômicas entre as estruturas do subtálamo. O objetivo desse estudo é caracterizar em peças anatômicas a morfometria do núcleo subtalâmico e sua relação com estruturas como o núcleo rubro, a linha média e o córtex cerebral. Espera-se auxiliar o posicionamento do eletrodo e também discutir vias de acesso alternativas que reduzam morbidades associadas à cirurgia.

MÉTODOS

Obtenção e processamento do material

O material de estudo consiste em 25 cortes coronais de cérebro e, ao todo, 40 núcleos subtalâmicos, provenientes de adultos de ambos os sexos. Núcleos mal visualizados foram descartados. O núcleo rubro foi identificado ao lado do subtalâmico em 18 casos. Os cortes são provenientes do Departamento de Anatomia da Universidade Federal do Paraná e foram devidamente documentados e autorizados para pesquisa. Todos eles tinham espessura de 1,0 cm e, para expor a porção interna mais preservada, foram seccionados com faca profissional para fiambres de 7 polegadas de comprimento e lâmina de aço inox com fio liso, devidamente apoiada em guias metálicos. Ao final, obtiveram-se cortes de 0,5 cm e superfície homogênea.

Com o objetivo de contrastar a substância cinzenta da branca, e assim evidenciar o núcleo subtalâmico, foi usada a técnica de Mulligan modificada por Barnard, Robert e Brown^{2,15,17}. Para tanto, os cortes, anteriormente fixados em formol a 10%, foram lavados em água corrente por um período de 24 horas antes de serem corados.

Técnica histoquímica

Solução A: foi feita uma solução constituída de 40 gramas de

cristais de fenol, 5 gramas de sulfato de cobre, 1,25 mL de ácido clorídrico e 1000 mL de água destilada. Homogeneizou-se a solução, que depois foi aquecida e mantida a 65°C no momento da imersão do material.

Solução B: dissolveu-se 10 gramas de cloreto férrico em 1000 mL de água destilada.

Solução C: dissolveu-se 5 gramas de ferrocianeto de potássio em 1000 mL de água destilada.

Após incubação de 2 minutos na solução A, os cortes foram lavados com água destilada morna e transferidos para a solução B por 3 minutos. Em seguida, foram novamente lavados e colocados na solução C por 1 minuto. Após a incubação, os cortes foram transferidos e conservados em uma solução de formol a 10% acidificada com ácido clorídrico suficiente para que se obtivesse solução final a 2%. Segundo esse método, as regiões de substância cinzenta do cérebro são reveladas em azul.

Processamento e análise das imagens

Todas as imagens foram marcadas com os parâmetros a serem estudados fazendo uso do programa CorelDRAW® e posteriormente foram analisadas no programa ImageJ®. O ImageJ® é um software que permite, após digitalização e calibração das imagens, o cálculo de distâncias em linha reta.

Foram analisados em todos os núcleos os diâmetros maior e menor, e no encontro deles marcou-se o ponto central (Figura 1). A partir desse ponto, foram calculadas distâncias até a linha média, a borda lateral do núcleo rubro, assim como as bordas superior e inferior, todas obedecendo aos planos ortogonais do espaço estereotático (Figura 2). Observaram-se ainda os

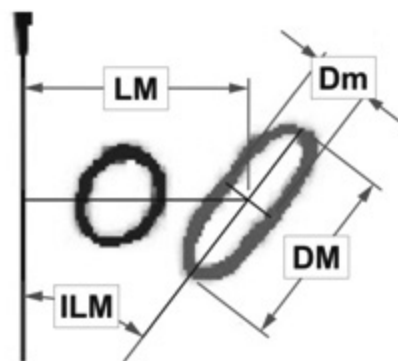


Figura 1: Dimensões do núcleo subtalâmico e relação com a linha média. Dm = diâmetro menor; DM = diâmetro maior; LM = distância à linha média; ILM = inclinação do diâmetro maior em relação à linha média.



Figura 2: Relação do núcleo subtalâmico com o núcleo rubro. BLR = distância à borda lateral do rubro; BSR = distância à borda superior do rubro; BIR = distância à borda inferior do rubro.

pontos de acesso no córtex tangenciando o núcleo caudado e o putâmen, respectivamente, e a distância desses pontos à linha média (Figura 3). Por fim, foi calculada a inclinação do diâmetro maior em relação à linha média.



Figura 3: Relação do núcleo subtalâmico com o córtex cerebral. H1 = distância à linha média do ponto de acesso tangenciando o corpo do núcleo caudado; H3 = distância à linha média no plano transversal do ponto de acesso tangenciando o putâmen; H2 = distância horizontal entre os dois pontos de acesso; V = distância vertical entre os dois pontos de acesso.

Análise estatística

Foram avaliados a média e o desvio-padrão para cada variável. Quando necessário, foi usado o teste *t* com índice de significância $p < 0,05$ e intervalo de confiança de 95%.

Aspectos éticos

Este estudo dispensa aprovação em comitê de ética. Foi autorizado em reunião plenária do Departamento de Anatomia da UFPR.

RESULTADOS

A avaliação dos 40 núcleos subtalâmicos mostrou um diâmetro maior de 10,47 mm (desvio-padrão [DP] 1,09 mm) e um diâmetro menor de 3,48 mm (DP 0,75 mm). O encontro dos dois diâmetros determina o ponto central, que está a 10,87 mm (DP 2,42 mm) da linha média. A inclinação do diâmetro maior em relação ao plano sagital equivale a 49,56° (DP 3,01°). Os desvios-padrão acima do previsto para os diâmetros maior e menor e para a distância à linha média levaram à aplicação do teste *t* para avaliar a significância estatística da diferença desses parâmetros entre os núcleos desacompanhados ($n = 22$) e os núcleos acompanhados de núcleo rubro ($n = 18$). A diferença foi significativa para as três variáveis ($p = 0,029$, $p = 0,0008$ e $p = 0,00001$, respectivamente). O grupo com núcleo rubro apresentou diâmetro maior de 10,06 mm (DP 1,03 mm), diâmetro menor de 3,08 mm (DP 0,55 mm) e distância à linha média de 13,22 mm (DP 0,49 mm) (Tabela 1).

O ponto central está 2,23 mm (DP 0,26 mm) inferior à borda superior do núcleo rubro ($n = 18$). A distância à borda lateral equivale a 2,89 mm (DP 0,27 mm). A distância à borda inferior é de 4,52 mm (DP 1,04 mm).

A reta que passa pelo ponto central tangenciando lateralmente o corpo do núcleo caudado encontra o córtex cerebral a 29,67 mm (DP 5,27 mm) da linha média, e a reta que tangencia medialmente o núcleo lentiforme encontra o córtex a 49,14 mm (DP 4,83 mm), em um ponto 12,21 mm (DP 2,58 mm) inferior. A distância no plano transversal entre os dois pontos é de 19,47 mm (DP 2,78 mm) no córtex cerebral.

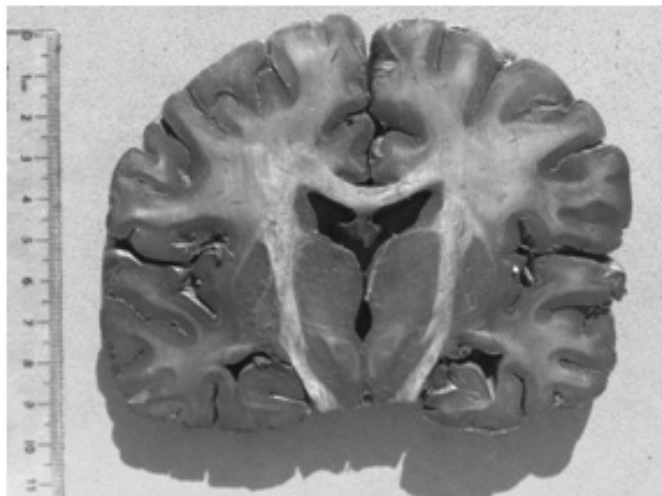


Figura 4: Corte coronal corado com a técnica de Mulligan modificada por Barnard, Robert e Brown.

Table 1. Resultados obtidos por variável

Variável	Resultado (mm)	Desvio-Padrão (mm)
DM	10,06	1,03
Dm	3,08	0,55
LM	13,22	0,49
ILM	49,56°	3,01°
BLR	2,89	0,27
BSR	2,23	0,26
BIR	4,52	1,04
H1	29,67	5,27
H3	49,14	4,83
H2	19,27	2,78
V	12,21	2,58

DISCUSSÃO

A análise da morfologia do núcleo subtalâmico permitiu, de uma maneira geral, certificar a qualidade do material. As médias da inclinação e da distância à linha média foram comparáveis a estudos anatômicos que utilizaram ressonância magnética de

alta resolução com confirmação histológica, como o trabalho de Massey et al.¹⁴, que encontrou uma inclinação de 50,00° e uma distância de 10,00 mm.

A discrepância encontrada entre os subtalâmicos acompanhados e os desacompanhados do núcleo rubro pode ser explicada pela técnica de corte não parametrizada, que permitiu a inclusão no trabalho de peças em níveis milimetricamente distintos no eixo anteroposterior. A aplicação do teste *t* e a seleção das peças acompanhadas de rubro permitiram um refinamento da amostra e uma maior confiabilidade dos dados.

As medidas realizadas com o núcleo rubro são a base do método indireto de localização do subtalâmico. De maneira consagrada, a posição ideal para posicionar o eletrodo está 2,0 mm inferior à borda superior do núcleo rubro e 3,0 mm lateral à borda lateral. Os resultados obtidos permitem concluir, com pequenos desvios-padrão, que o ponto central está mais medial e inferior, em relação ao que é classicamente determinado, diferença já esperada. Trabalhos como o de Andrade-Souza et al.¹, identificando o ponto ideal por meio eletrofisiológico durante o ato cirúrgico, demonstram uma localização mais lateral e superior em relação ao ponto central, devido à subdivisão funcional que o núcleo subtalâmico possui.

Essa segmentação começou a ser identificada em meados dos anos 90 em mamíferos inferiores^{10,16}. Foi comprovada no cérebro humano *in vivo* e de maneira não invasiva por Lambert et al.¹² em 2012, que demonstrou a existência de três territórios fisiologicamente distintos: motor, associativo e límbico. O território motor, utilizado na DBS, é a maior porção e ocupa uma posição dorsolateral³, o que corrobora os achados deste estudo.

As variáveis relacionando o núcleo subtalâmico ao córtex cerebral permitem afirmar que a incisão feita para a trepanação frontal bilateral, tipicamente a 2,0 cm da linha média, pode ser realizada mais lateralmente para reduzir as chances de o eletrodo penetrar o ventrículo cerebral. Quando a trajetória inclui o interior do ventrículo, existe a chance de sangramento venoso durante a cirurgia, que ocorre em 4,1% das estimulações de subtalâmico¹¹. De maneira semelhante, uma trajetória próxima ao putâmen e à ínsula aumentaria o risco de lesão de ramos da artéria cerebral média. É possível guiar o eletrodo apenas pela cápsula interna, reduzindo chances de sangramento e evitando passar através de outros núcleos da base. Para que isso aconteça, a incisão precisa ser feita a pelo menos 3,0 cm

da linha média, e existe uma margem de segurança de 2,0 cm para evitar lesões arteriais. Sugere-se, portanto, uma incisão a 4,0 cm da linha média.

CONCLUSÃO

O núcleo subtalâmico possui relações anatômicas bastante constantes com o núcleo rubro, possibilitando o cálculo das coordenadas estereotáxicas. A distância até a linha média também demonstrou pequena variabilidade, e essa medida deve auxiliar o planejamento cirúrgico. Sugere-se, por fim, que incisões mais laterais talvez possam reduzir as taxas de sangramento durante o procedimento.

REFERÊNCIAS

- Andrade-Souza YM, Schwalb JM, Hamani C, Eltahawy H, Hoque T, Saint-Cyr J, Lozano AM. Comparison of three methods of targeting the subthalamic nucleus for chronic stimulation in Parkinson's disease. *Neurosurgery*. 2005;56(2 Suppl):360-8; discussion 360-8.
- Barnard JW, Roberts JO, Brown JG. A simple macroscopic staining and mounting procedure for wet sections from cadaver brains. *Anat Rec*. 1949;105(1):11-17.
- Benarroch EE. Subthalamic nucleus and its connections: Anatomic substrate for the network effects of deep brain stimulation. *Neurology*. 2008;70(21):1991-5.
- Burkhard PR, Vingerhoets FJ, Berney A, Bogousslavsky J, Villemure JG, Ghika J. Suicide after successful deep brain stimulation for movement disorders. *Neurology*. 2004;63(11):2170-2.
- Cuny E, Guehl D, Burbaud P, Gross C, Dousset V, Rougier A. Lack of agreement between direct magnetic resonance imaging and statistical determination of a subthalamic target: The role of electrophysiological guidance. *J Neurosurg*. 2002;97(3):591-7.
- Deep-brain stimulation for Parkinson's Disease Study Group. Deep-brain stimulation of the subthalamic nucleus or the pars interna of the globus pallidus in Parkinson's disease. *N Engl J Med*. 2001;345(13):956-63.
- Deuschl G, Schade-Brittinger C, Krack P, Volkmann J, Schäfer H, Bötzel K. et al. A randomized trial of deep-brain stimulation for Parkinson's disease. *N Engl J Med*. 2006;355(9):896-908.
- Germano IM. Chronic deep brain stimulation: indications and techniques. In: Germano IM, editor. *Neurosurgical treatment of movement disorders*. Neurosurgical topics of AANS: Park Ridge. 1998. p. 159-168.
- Gorgulho A, De Salles AA, Frighetto L, Behnke E. Incidence of hemorrhage associated with electrophysiological studies performed using macroelectrodes and microelectrodes in functional neurosurgery. *J Neurosurg*. 2005;102(5):888-96.
- Joel D, Weiner I. The connections of the primate subthalamic nucleus: indirect pathways and the open-interconnected scheme of basal ganglia-thalamocortical circuitry. *Brain Res Brain Res Rev*. 1997;23(1-2):62-78.
- Krack P, Batir A, Van Blercom N, Chabardes S, Fraix V, Ardouin C. et al. Five-year follow-up of bilateral stimulation of the subthalamic nucleus in advanced Parkinson's disease. *N Engl J Med*. 2003;349(20):1925-34.
- Lambert C, Zrinzo L, Nagy Z, Lutti A, Hariz M, Foltynie T. et al. Confirmation of functional zones within the human subthalamic nucleus: Patterns of connectivity and sub-parcellation using diffusion weighted imaging. *Neuroimage*. 2012;60(1):83-94.
- Lanotte MM, Rizzone M, Bergamasco B, Faccani G, Melcarne A, Lopiano L. Deep Brain stimulation of the subthalamic nucleus: anatomical, neurophysiological, and outcome correlations with the effects of stimulation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2002;72(1):53-8.
- Massey LA, Miranda MA, Zrinzo L, Al-Helli O, Parkes HG, Thornton JS. et al. High resolution MR anatomy of the subthalamic nucleus: Imaging at 9.4 T with histological validation. *Neuroimage*. 2012;59(3):2035-44.
- Meneses MS, Pedrosa JCM, Fuzza RF, Milano JB. Comparative analysis of human brain slices with three different staining techniques. *Arq Neuropsiquiatr*. 2004;62(2-A):276-81.
- Parent A, Hazrati L. N. Functional anatomy of the basal ganglia. II. The place of subthalamic nucleus and external pallidum in basal ganglia circuitry. *Brain Res Brain Res Rev*. 1995;20(1):128-54.
- Rodrigues H, editor. *Técnicas Anatômicas*. 2 ed. Vitória:Arte Visual; 1998.
- Saint-Cyr JA, Hoque T, Pereira LC, Dostrovsky JO, Hutchison WD, Mikulis DJ. et al. Localization of clinically effective stimulating electrodes in the human subthalamic nucleus on magnetic resonance imaging. *J Neurosurg*. 2002;97(5):1152-66.
- Starr PA, Christine CW, Theodosopoulos PV, Lindsey N, Byrd D, Mosley A, Marks WJ Jr. Implantation of deep brain stimulators into the subthalamic nucleus: technical approach and magnetic resonance imaging-verified lead locations. *J Neurosurg*. 2002;97(2):370-87.
- Teixeira MJ. Estimulação Cerebral Profunda. In: Meneses MS, editor. *Doença de Parkinson*. Guanabara-Koogan: Rio de Janeiro; 2003. p. 229-309.
- Voon V, Krack P, Lang AE, Lozano AM, Dujardin K, Schüpbach M, D'Ambrosia J, Thobois S. et al. A multicentre study on suicide outcomes following subthalamic stimulation for Parkinson's disease. *Brain*. 2008;131(Pt 10):2720-8.
- Weaver FM, Follett K, Stern M, Hur K, Harris C, Marks WJ Jr. et al. Bilateral deep brain stimulation vs best medical therapy for patients with advanced Parkinson disease: A randomized controlled trial. *JAMA*. 2009;301(1):63-73.

CORRESPONDING AUTHOR

*Guilherme Santos Piedade
Departamento de Anatomia
Universidade Federal do Paraná
Curitiba, Paraná
guipiedade@gmail.com*