

České vysoké učení technické v Praze
Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská

Czech Technical University in Prague
Faculty of Nuclear Sciences and Physical
Engineering

Ing. Jaroslav Tintěra, CSc.

Vyšetření kognitivních a verbálních funkcí mozku
funkčním MR zobrazováním: aspekty lokalizace a
lateralizace

Examination of cognitive and verbal functions of
the brain using functional MR imaging: aspects of
localization and lateralization

Summary

Functional magnetic resonance imaging (fMRI) allows noninvasive visualization of the brain activity and serves already two decades as very popular tool for the human brain research. Utilization of this method has almost no borders and today covers from clinical examinations for neuro-surgery planning to studies of connectivity and basic brain networks.

This habilitation lecture deals with the use of fMRI for the study of cognitive functions namely verbal functions, memory and attention. These functions including hearing are investigated with the aspect of its localization and lateralization. These two aspects are studied both in healthy controls and in patients with schizophrenia. Changes in activation and lateralization of hearing function are studied during aging. This work shows that the decrease of verbal functions lateralization allows estimating the family transfer of the disorder for schizophrenia. Stronger activation on the right side can be seen when comparing older population against young subjects and this shift of laterality is independent on the hearing capability.

Despite that the quantification of the brain activity using fMRI is rather controversial the lateralization index can provide objective and relevant information about the brain functions distribution.

Souhrn

Funkční zobrazování magnetickou rezonancí (fMRI) umožňuje neinvazivní zobrazení mozkové aktivity a je tak již dvě dekády velmi populárním nástrojem pro výzkum lidského mozku. Použití této metody téměř nemá hranic a dnes sahá od klinických vyšetření pro neurochirurgické operace až po studium konektivity a základních mozkových sítí.

Tato habilitační práce se zabývá použitím fMRI ke studiu kognitivních funkcí, konkrétně verbální funkce, paměti a pozornosti. Tyto funkce včetně funkce sluchu jsou zkoumány z hlediska lokalizace aktivací a z hlediska laterality. Tyto dva aspekty jsou studovány jak u zdravých jedinců, tak u nemocných se schizofrenií. Změny aktivace i lateralizace sluchových funkcí jsou zkoumány při procesu stárnutí. Práce ukazuje, že pokles laterality rozložení center verbální aktivace umožňuje odhadnout přenos dispozice pro onemocnění schizofrenií. U sluchových center zase dochází při stárnutí k posílení pravé hemisféry a to nezávisle na kvalitě sluchu.

Přestože kvantifikace mozkové aktivity pomocí fMRI je velmi sporná, lateralizační index může poskytnout objektivní a použitelnou informaci o rozložení mozkových center.

Klíčová slova

funkční MR zobrazování, fMRI, kognitivní funkce, lateralizace, schizofrenie, stárnutí sluchu

Keywords

functional MR imaging, fMRI, cognitive functions, lateralization, schizophrenia, hearing during aging

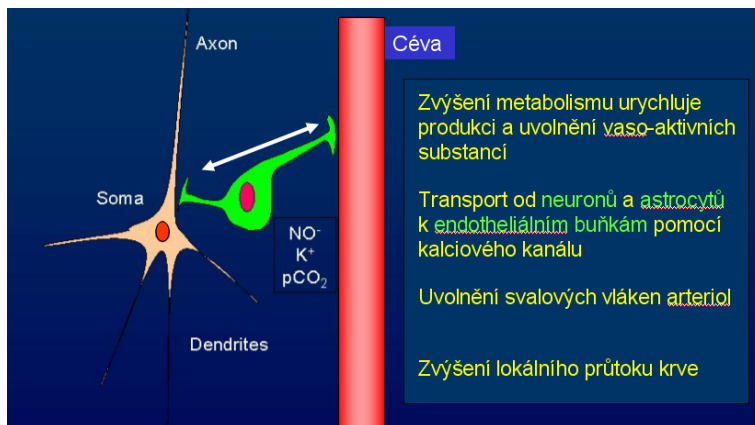
Obsah:

1. Úvod	6
2. Metodika měření fMRI	12
3. Výsledky	
1) Lokalizace verbálních funkcí	14
2) Lokalizace paměťových funkcí	18
3) Lokalizace interference verbální a vizuální informace ..	20
4) Lateralita verbálních funkcí	21
4. Závěr	25
Reference	26

1. Úvod

Jev jaderné magnetické rezonance (NMR) je znám a využíván zhruba od poloviny minulého století (objeven Felixem Blochem a Edwardem Purcellem v roce 1945, Nobelova cena v roce 1952). Do konce 60. let byla metoda využívána zejména pro analýzu chemických sloučenin a v roce 1973 se podařilo Paulu Lauterburovi naměřit první obraz obsahu zkumavky založený na signálu NMR. Poté, v roce 1977, se podařilo Raymondu Damadianovi získat první obraz lidského těla pomocí vlastního tomografu NMR, a to spolu s rozvojem výpočetní techniky otevřelo cestu k prvním klinicky použitelným přístrojům magnetické rezonance. Příchod tomografií, které zobrazovaly řezy lidského těla měřením a rekonstrukcí NMR signálů, lze datovat do poloviny 80. let a od té doby můžeme sledovat stálý vývoj nových zobrazovacích metod magnetické rezonance (*MR imaging – MRI*). Jedním z dalších přelomů v tomto oboru byl objev možnosti zobrazení funkce mozku (*functional MRI – fMRI*) na začátku 90. let (Ogawa 1990, Belliveau 1991). Zejména první polovina této dekády proběhla ve znamení vývoje a optimalizace metod měření a vyhodnocení funkčních obrazů (např. [Bandettini 1993, Friston 1996]). Paralelně probíhala, a lze říci dodnes běží, řada teoretických i experimentálních studií, které by umožnily lépe pochopit a popsat neuro-fyziologický proces mozkové aktivace z hlediska dopadů na měřený signál magnetické rezonance (např. [Kennan 1994, Buxton 1997]).

Mechanismus, umožňující vyšetřování funkční aktivity mozkových center magnetickou rezonancí, je založen na rozdílu lokálního krevního zásobení, tedy na změnách v toku mozkovými cévami a jejich objemu (*Cerebral Blood Flow – CBF, Cerebral Blood Volume – CBV*), a také na oxygenaci krve. Při aktivaci mozkových buněk dochází ke spuštění hemodynamického procesu, který musí vést k uspokojení zvýšené energetické spotřeby aktivovaných neuronálních buněk. Jinými slovy, v místě neuronální aktivity musí dojít ke změně v metabolismu glukózy, a tím také ke zvýšení spotřeby kyslíku. Kyslík je distribuován pomocí krevního hemoglobinu. Zvýšení dodávky kyslíku je zajištěno procesem, který je nazýván neuro-vaskulární vazba. Aktivita neuronů přenese informaci na přilehlé endotheliální buňky arteriol, které způsobí vazodilataci na této (arteriální či kapilární) úrovni, tím se zvýší cévní průsvit, a tedy i průtok krve. Neuro-vaskulární vazba vede nakonec k lokálnímu zvýšení krevního průtoku (zvýšení CBF), lokálnímu zvýšení krevního objemu (zvýšení CBV) a k vyšší lokální koncentraci oxyhemoglobinu oproti klidovému stavu.



Obr. 1 ukazuje schéma neuro-vaskulární vazby: při zvýšení neuronální aktivity dojde tímto mechanismem k lokálnímu zvýšení krevního průtoku, objemu a změně koncentrace oxyhemoglobinu.

I když pro měření fMRI lze využívat změny CBF nebo CBV, nejčastěji je používán tzv. BOLD efekt (*Blood Oxygenation Level Dependent*), který souvisí se změnou oxygenace krve. Téměř veškerý kyslík v krvi je vázán na hemoglobin, na jednu molekulu hemoglobinu mohou být navázány až čtyři molekuly kyslíku. Odkysličený hemoglobin (deoxy-hemoglobin, dHb) má krevní sloučeniny železa ve stavu se čtyřmi nespárovanými elektrony, které tak tvoří značný magnetický moment. Důsledkem je paramagnetické chování dHb na rozdíl od okysličeného hemoglobinu (Hb), který nemá žádný magnetický moment a je diamagnetický. Plně odkysličená krev má susceptibilitu o 0,2 ppm vyšší než plně okysličená krev [Brooks 1987, Thulborn 1982, Weisskoff 1992]. Relativní rozdíl v susceptibilitě paramagnetického dHb a okolní tkáně tvoří lokální nehomogenity magnetického pole, které mohou způsobit pokles signálu MR. Pokud se dynamicky během mozkové aktivace v tomto místě mění koncentrace Hb a dHb, bude se příslušně také měnit signál BOLD MR. Lokální neuronální aktivace způsobí zvýšení krevního průtoku, který je po prvních vteřinách disproporčně vyšší, než je průměrná spotřeba kyslíku tkání. Zvýšená koncentrace Hb oproti klidovému stavu způsobí nárůst BOLD signálu a tedy jednoduše řečeno: během aktivace je MR signál vyšší, během klidu nižší.

Relativní zvýšení BOLD signálu během aktivace je však malé (pouze na úrovni několika procent) a navíc je ovlivněnou řadou inter-individuálně rozdílných parametrů. Detailně je změna BOLD signálu popsána vztahem:

$$\frac{\Delta S_{BOLD}}{S} = TE \cdot B \cdot CBV_0 \cdot K_{hemogl}^{\beta} \cdot (1 - Y_{ven_oxy0})^{\beta} \cdot \left[1 - \left(1 + \frac{\Delta CMRO2}{CMRO2_0} \right)^{\beta} \cdot \left(1 + \frac{\Delta CBF}{CBF_0} \right)^{\alpha - \beta} \right]$$

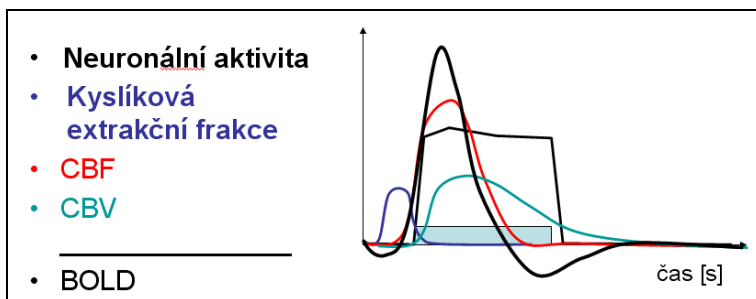
Diagram illustrating the BOLD signal equation with annotations:

- velikost magn. pole** (magnetic field strength) points to B .
- ~ koncentraci hemoglobinu v erytrocytech** (hemoglobin concentration in erythrocytes) points to K_{hemogl}^{β} .
- klidová žilní oxygenace** (baseline venous oxygenation) points to $(1 - Y_{ven_oxy0})^{\beta}$.
- změna extrakce kyslíku (oxygen metabolism)** (change in oxygen extraction) points to $\frac{\Delta CMRO2}{CMRO2_0}$.
- změna CBF (vasodilatační efekt)** (change in Cerebral Blood Flow, vasodilatory effect) points to $\frac{\Delta CBF}{CBF_0}$.

Mimo závislosti na použitém statickém magnetickém poli B a parametru měřicí sekvence TE (echo čas) je vidět řada dalších členů (klidová žilní oxygenace, extrakční a vasodilatační faktor), které ovlivňují změnu BOLD signálu a mají u každého subjektu rozdílnou hodnotu. Výsledkem toho je, že kvantifikace naměřených aktivací pomocí BOLD fMRI je značně obtížná, diskutabilní a v běžné praxi téměř nemožná.

Časová odpověď vaskulárního systému ve formě změny měřeného MR signálu je nazývána „hemodynamic response function“ (HRF). Na obr. 2 je tato zásadní časová závislost zobrazena černou barvou. Průběh je možno charakterizovat počátečním poklesem MR signálu, a to díky přechodně zvýšené koncentraci deoxy-Hb (zvýšení spotřeby kyslíku), poté však nastává výraznější nárůst signálu zvýšením koncentrace diamagnetického oxy-Hb. Po skončení aktivace signál opět klesá, a dokonce krátkodobě dosáhne nižší než původní rovnovážné hodnoty (tzv. „post-activation undershoot“). Tuto HRF lze očekávat jako odpověď na jeden krátký stimul. Konkrétní časová závislost změny signálu pak závisí na formě a délce stimulace. Podle toho rozlišujeme schémata stimulace na tzv. „event related“, kdy se opakují jednotlivé krátké stimuly (události), a na blokové, kdy stimulace trvá delší dobu (obvykle kolem 20-30 s). V případě blokového schématu je hledaná časová odpověď BOLD signálu uvažována jako konvoluce základní HRF a hranatě časové funkce stimulace (0 mimo stimulaci, 1 v době stimulace). Ukazuje se, že díky komplexnosti závislosti BOLD signálu (viz výše uvedený vztah) může i HRF vykazovat značné rozdíly a to nejen inter-individuálně, ale i v jednotlivých oblastech mozku u stejného jednotlivce. To je jeden z důvodů, proč se častěji používá delší stimulace blokovým schématem. Při všech typech stimulace však

měření fMRI probíhá tak, že během střídání stavů se dynamicky měří obrazy mozku (sada vrstev pokrývající celý mozek nebo zájmovou oblast), obvykle kolem 100 časových vzorků s časovým rozlišením TR (nejčastěji kolem 3 s).



Obr. 2 ukazuje modelové časové průběhy fyziologické odpovědi na neuronální aktivitu. Silná černá čára představuje HRF BOLD efektu.

Finální mapy aktivace jsou výsledkem statistického zpracování dynamicky naměřených obrazů. Při jednoduché stimulaci jedním typem stimulu je možné použít korelaci s modelovou funkcí (konvoluce HRF a hranaté stimulační funkce), v případech s více typy stimulace během jednoho měření se obvykle používá obecný lineární model (*general linear model* – *GLM*). Jinou možností je použít některou z multi-variantních statistických metod, zde se nejčastěji používá analýza nezávislých komponent (*independent component analysis* – *ICA*), která není závislá na předem předpokládané modelové funkci.

Statistická mapa je nakonec prahována na obecně akceptované hladině statistické významnosti, spolu s korekcí p na mnohočetná pozorování (každý voxel měřeného objemu mozku a jemu odpovídající časový průběh signálu představuje potenciálně nezávislé měření). Častý praktický problém je právě s přijetím odpovídajícího prahu (resp. jeho korekce), a to opět díky velké variabilitě změn BOLD signálu a různé úrovni fyziologického rušení (včetně nežádoucího pohybu hlavy).

Funkční MRI je především používáno k lokalizaci mozkových aktivit při různých typech specifických stimulací, v posledních letech se také stále více studuje funkční konektivita jednotlivých mozkových sítí (propojených oblastí) a to i pomocí měření bez jakékoli stimulace (tzv. „*resting state*“).

Mnohem složitější je otázka „velikosti“ nebo „síly“ dané aktivace, a to s ohledem na výše uvedené závislosti signálu BOLD a použití statistického vyhodnocení naměřených obrazů. Přesto se pro porovnání velikosti aktivace nejčastěji používá počet statisticky významných voxelů, reprezentujících oblast velmi pravděpodobné aktivace (dále nazývány jako aktivní voxely). Pro mezi subjektové porovnání je samozřejmě nutné dodržet shodné podmínky měření, stimulace i vyhodnocení dat, přesto je zřejmé, že tato metoda má své výše diskutované nedostatky.

Situace je o něco lepší pokud budeme používat index, tedy poměr počtu aktivních voxelů v jednotlivých zkoumaných oblastech. Nejčastěji se k tomuto účelu používá tzv. lateralizační index (LI), který vyjadřuje rozdíl v aktivaci mezi pravou a levou mozkovou hemisférou a je vyjádřen vztahem

$$LI = (n_L - n_P) / (n_P + n_L)$$

kde n_P a n_L reprezentují počet aktivních voxelů v pravé resp. levé hemisféře. U kompletní pravostranné dominance je $LI = -1$, u levostranné je $LI = 1$ a při symetrické aktivaci v obou hemisférách je LI blízký nule.

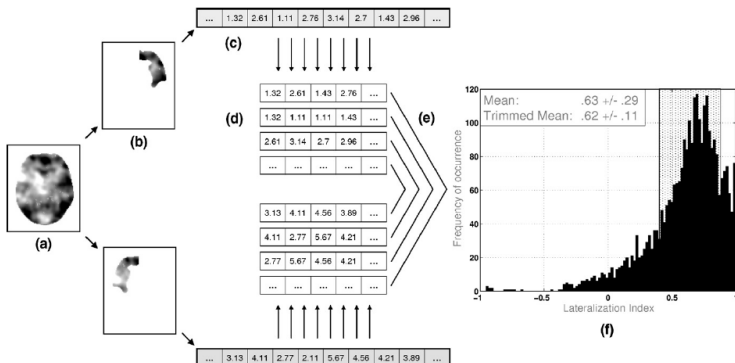
Bohužel i LI je velmi ovlivněn subjektivním výběrem statistického prahu, protože ten silně ovlivňuje počty aktivních voxelů. Bylo navrženo několik metod výpočtu LI , které buď monitorují úroveň statistické signifikance (závislost $LI(t_p)$ nebo $LI(Z_p)$, kde t_p a Z_p je prahová hodnota t či Z podle toho, je-li použit t -test nebo Z -score statistika), nebo jsou na volbě prahu nezávislé [Suarez 2009, Wilke 2006]. Ve všech případech je použita vybraná maska pro oblasti zájmu v levé a pravé hemisféře (při zkoumání lateralizace verbálních funkcí je to např. část inferiorního frontálního laloku, BA 44 a 45 nebo celý frontální lalok) a pouze aktivní voxely z těchto oblastí jsou vzaty do výpočtu LI (data jsou napřed normalizována do standardního prostoru MNI-152).

V případě autorů Suarez et al je pro každou hemisféru kalkulován histogram funkce

$$W(t) \cdot LI(t), \quad \text{kde } W(t)=t^2 \text{ je váhová funkce}$$

a poté do výpočtu LI vstupuje integrální hodnota pod křivkou histogramu odpovídající hemisféry. Autoři zkoumali i další váhové funkce. Zatímco výsledky LI při použití funkce t vyšších řádů (kubická, 4.mocnina, exponenciální) se signifikantně od kvadratické závislosti

nelišily, lineární váhová funkce poskytovala systematicky nižší hodnoty *LI*. Podobně jako v uvedené práci, také pro účely této studie byla použita kvadratická váhová funkce.



Obr. 3 vysvětluje použití metody *Bootstrap* při výpočtu *LI* (převzato z [Wilke 2006]). (a) Výsledná statistická mapa (*t*-hodnot) je maskována vybranými oblastmi zájmu v levé a pravé hemisféře (b). Všechny voxely oblasti převyšující práh t_p jsou konvertovány do kompletního vektoru (c), který je opakovaně náhodně re-vzorkován (d) a z každé kombinace dvojic sub-vektorů je spočten *LI* (e). Získaný histogram *LI* (f) je odprahován tak, že pouze 50% centrální plocha je použita pro další analýzu (šedě vyznačena). Tato procedura je opakována s dalším t_p .

Wilko a Schmithorst navrhli pro výpočet *LI* použití metody *Bootstrap*. V tomto případě jsou všechny voxely maskované oblasti (představující tzv. kompletní vektor o velikosti N) opakovaně náhodně resamplovány s menší velikostí sub-vektoru ($n = k.N$, kde k je mezi $(0,1)$) a z těchto vzorků je počítán *LI*. Náhodné rozložení *LI* má pak formu histogramu, viz obr. 3.

Proces je opakován se zvyšujícím se prahem t_p a ze všech opakování je spočten tzv. vážený průměr (*weighted mean LI*), kde váhová funkce je konstantní pro dané t_p . Při zvyšující se hodnotě prahu stoupá i hodnota váhové funkce, takže tato funkce je přirozeně vzata rovna t . Ze všech iterací je tedy získán vážený průměr *LI*, který není ovlivněn subjektivní volbou statistického prahu.

Poslední možností přirozeného výpočtu *LI* je použít integrální hodnotu t přes maskovanou oblast. To předpokládá normální rozdělení *t*-hodnot.

Jak se ukazuje, některé mozkové funkce jsou vysoce lateralizovány u normální populace (např. verbální funkce), jiné naopak prakticky ne. S rozvojem některých onemocnění nebo během stárnutí mozku může dojít ke změně lateralizace těchto funkcí, a to je i předmětem této studie.

2. Metodika měření fMRI

Všechny zde uváděné výsledky byly získány metodou BOLD fMRI a to na MR systému s hodnotou statického magnetického pole 3T. K měření byla vždy použita multi-kanálová hlavová přijímací RF cívka. Obrazy mozku byly získány sekvencí gradientního echa (GRE) EPI (*echo-planar imaging*) s $TE = 30$ ms a repetičním časem TR přizpůsobeným typu stimulace (u blokového schématu stimulace většinou 3 s, u akustické stimulace jednotlivými podněty v případě akustické stimulace až 8 s).

Stimulace byla prováděna pomocí vlastního stimulačního systému, který je synchronizován s měřením MR tomografu. Tento systém může provádět různé typy vizuální stimulace (obrazy, pokyny pro vyšetřovaný subjekt apod.) nebo akustické stimulace (rozmezí spolehlivě přenášených frekvencí je přibližně v rozsahu 100 Hz – 10 kHz).

Data byla vyhodnocena softwarem SPM8 (*Statistical Parametric Mapping, Wellcome Trust Center for Neuroimaging, London*). Statistickému vyhodnocení předcházela korekce pohybových artefaktů, korekce časového posunu náběru jednotlivých vrstev, prostorové vyhlazení (Gaussovský filtr s jádrem $6 \times 6 \times 6$ mm) a normalizace do standardního prostoru MNI-152. Statistické mapy byly vypočteny pomocí GLM a na individuální úrovni prahovány s $p=0,001$ nebo $p=0,05$ s korekcí na mnohočetná pozorování (*Family wise error – FWE*). Pro porovnání na skupinové úrovni byl používán nekorigovaný $p=0,001$.

Výpočty LI byly prováděny s použitím toolboxu iBrainLaterality (Abbott, Waite, Brain Research Institute, Melbourne) a poté výše popsanou metodou [Suarez 2009] – metoda A, dále použitím toolboxu LI-tool (Wilke, Lidzba, University of Tübingen) s výpočtem pomocí Bootstrap [Wilke 2006] – metoda B, fixního prahu ($t_p = 2$) – metoda C, adaptivního prahu – metoda D. Vyhodnocení metodou integrální hodnoty t – metoda E a hodnocení závislosti $LI(t)$ bylo provedeno ve vlastním programu.

Do této práce přispěla data několika studií mozkových funkcí, v některých případech byl zájem soustředěn na lokalizaci aktivací spojených s danou stimulací, v jiných pak na lateralizaci mozkových funkcí. Proto ve výsledcích jsou odpovídajícím způsobem uvedeny buď typické lokalizace (*aspekt lokalizace*) nebo lateralizační index (*aspekt lateralizace*).

Jako příklad studia lokalizace uveďme studium paměťových funkcí, zatímco příkladem lateralizační studie je sledování verbálního *LI* na skupině rodin s výskytem schizofrenie.

Při studiu lokalizace a lateralizace mozkových aktivací v rámci této studie bylo využíváno následujících typů stimulace:

a) verbální funkce

1. Test verbální fluence:

Při testu verbální fluence subjekt vytváří řadu slov začínajících zadaným písmenem. V tomto případě se jedná o lexikální test (test slovní paměti) a zadávaná počáteční písmena musí být optimalizována z hlediska frekvence slov v daném jazyce. V našem případě byla použita písmena V, R, S, N. Existují i další verze tohoto testu, kdy například subjekt tvoří slova z určité zadané kategorie (např. zvířata, oblečení apod.). Tento test je považován spíše za sémantický.

2. Doplnění slova ve větě:

V tomto případě subjekt vidí nedokončenou větu a jeho úkolem je doplnit chybějící slovo odpovídajícího významu. Test tak může být považován za syntaktický i sémantický.

3. Generace významových sloves:

Subjekt během stimulace vidí podstatné jméno (např. nápis „košile“) a jeho úkolem je vytvářet slovesa, které významově souvisí s daným substantivem (např. práť, oblékat, atd.). Test je sémantickým verbálním testem.

b) paměťové funkce

1. Alfabetický n-back test:

Standardní test krátkodobé paměti, kdy subjekt během stimulace označuje shodu dvou písmen v promítané sekvenci. Nejsnadnější variantou je 2-zpět, kdy cílová shoda dvou písmen odlišuje tyto písmena v časové sekvenci právě o 2. V této studii byla nejčastěji použita právě zmíněná varianta, na vybrané skupině byl proveden i 5-zpět test.

2. **Prostorový n-back test:**

Při tomto testu se používají jednoduché prostorové objekty (barevné čtverce) a úkolem subjektu je sledovat a označovat shodu v prostorovém umístění čtverce.

c) **pozornost**

1. **Stroopův test:**

Stroopův test je jedním z psychologických testů pozornosti, opět existuje řada modifikací a verzí. V tomto testu bylo použito barevných nápisů, které jsou s významem kongruentní (**červená, modrá**) nebo nekongruentní (**červená, modrá**). Subjekt co nejrychleji označuje nekongruentní stav během měření prováděného v „event-related“ schématu stimulace.

3. **Výsledky**

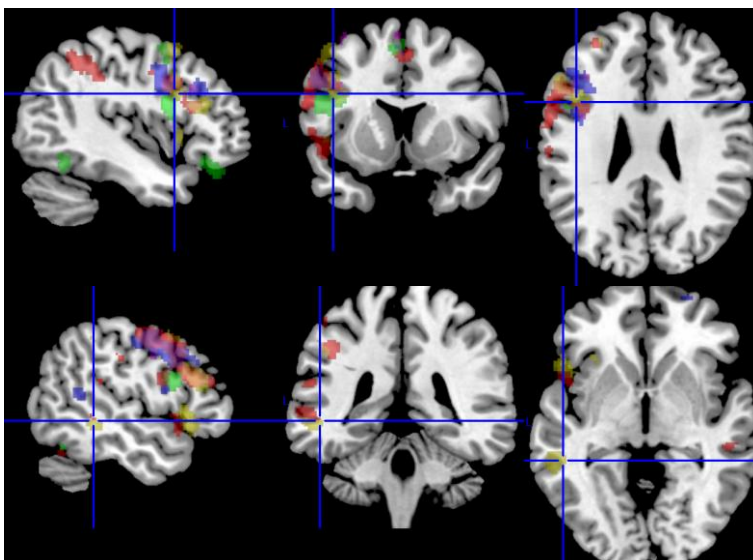
1) **Lokalizace verbálních funkcí**

Přestože většina živočichů komunikuje s ostatními jedinci svého druhu, schopnost komplexně vyjádřit své myšlenky a pomocí řeči je sdílet je unikátní schopností člověka. Řeč má navíc další velmi zajímavou vlastnost z hlediska neuro-fyziologického, a sice to, že její mozková reprezentace je - na rozdíl od řady jiných funkcí - lokalizována převážně v jedné mozkové hemisféře (je lateralizována). Většina funkcí spojených s lidskými smysly je naopak symetricky rozložena v obou hemisférách: motorické funkce, zrak, sluch atd. Lateralizace řeči je zřejmě velmi významným faktorem pro takto výjimečný proces a její případné narušení naopak může být znakem určitého patologického stavu. Zajímavé také je, že valná většina lidí má mozkovou reprezentaci řeči umístěnou v levé mozkové hemisféře (tzv. dominantní), a to i v případě, že se jedná o leváka. Udávané údaje mluví přibližně o 1% pravostranné dominanci řeči u praváků a 13% u leváků.

Řečový proces je však velmi komplexní. Zahrnuje schopnost porozumění (percepce), tvorbu logických větných struktur se správnou syntaxí poskládanou na základě zapamatované slovní zásoby a také schopnost generovat tyto věty. Proto také lze v lidském mozku nalézt několik oblastí, které se svým způsobem podílejí na celkovém procesu řeči. Nejznámější z těchto oblastí je Broccovo centrum (ve spodním čelním laloku), které je spojováno s „vykonáváním“ řeči, a Werneckovo centrum (ve spánkovém laloku), které je percepční. Mimo to ještě můžeme detekovat další oblasti, spojené např. se slovní pamětí (střední čelní lalok). Pokud je verbální úkol složitější a zahrnuje i další logické

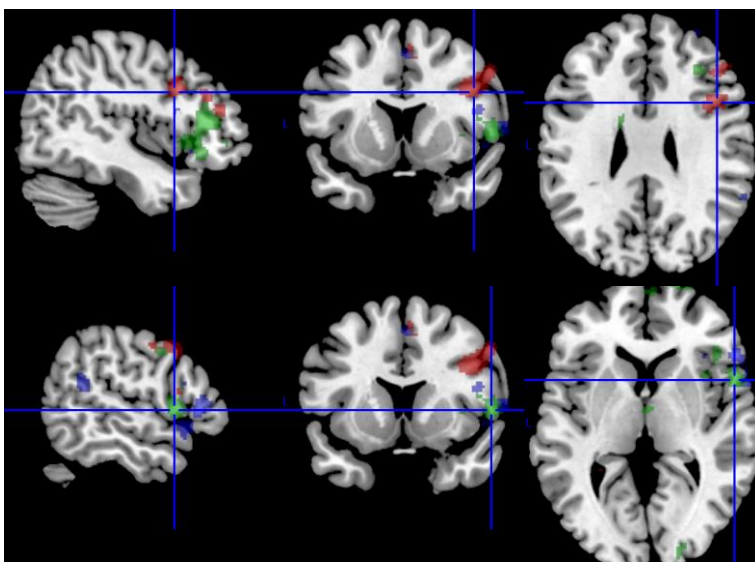
rozhodování nebo namáhá obecnou faktografickou paměť, mohou se zapojovat i další oblasti, a to i z opačné hemisféry.

Obr. 4 ukazuje typické levostranné lokalizace mozkových aktivací při stimulaci testem verbální fluence. Tento test je spíše zaměřen na stimulaci slovní paměti, i proto nacházíme nejvíce aktivaci v levém středním čelním laloku (horní řádek obr. 4). Barevně jsou rozlišeny aktivace pěti zdravých subjektů a tak je možné posoudit i určité rozdíly v lokalizaci aktivace. Ve spodní části obr. 4 je vidět aktivace Broccovy oblasti (čelní lalok) a u některých subjektů i ve Werneckově oblasti (spánkový lalok). Běžně můžeme najít několik shluků – center aktivace: inferiorní frontální lalok (Brocca), střední frontální lalok, mediální povrch frontálního laloku – doplňková motorická oblast (SMA), temporální lalok (Wernecke). Inter-individuální rozdíly jsou však značné a to zejména v rozsahu aktivací (počtu aktivních voxelů), ale i v přesných lokalizacích.



Obr. 4 ukazuje typické levostranné aktivace při testu verbální fluence u 5 zdravých subjektů (rozlišení barevně). V horní části obrázku jsou vidět aktivace ve středním frontálním laloku, zatímco spodní část ukazuje inferiorní frontální lalok a také aktivace v temporálním laloku.

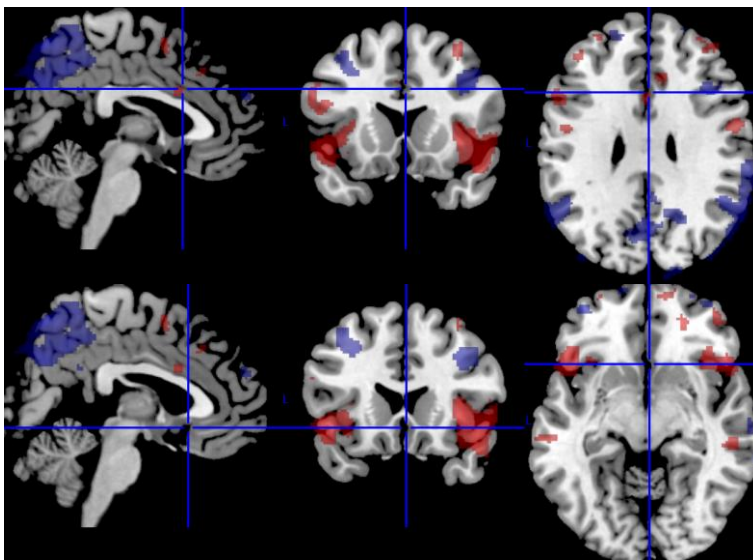
Na obr. 5 je ukázána daleko méně běžná pravostranná aktivace u 3 subjektů a obr. 6 demonstruje bilaterální aktivace při testu verbální fluence u 2 subjektů. Celkově lze shrnout, že na souboru 32 zdravých subjektů (praváci i leváci) přibližně stejné věkové skupiny (20-30 let) byla pravostranná dominance nalezena právě ve 3 případech (9%), což je více než bychom očekávali u náhodně vybrané populace. Tento fakt lze zdůvodnit větším zastoupením leváků ve studii než je zastoupení v populaci. Záměrně zde neuvádím počet bilaterálních aktivací, neboť ten bude záviset na přijaté metodice výpočtu *LI* a bude tedy detailněji probrán v další části.



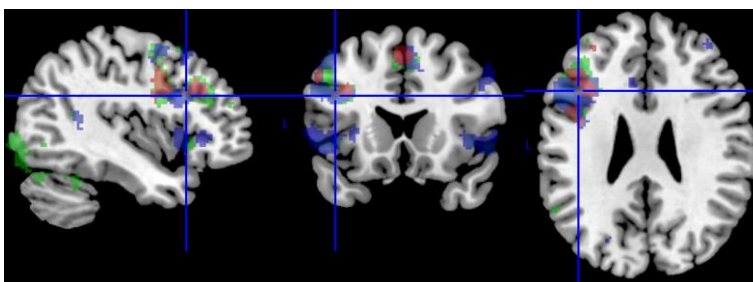
Obr. 5 ukazuje zřídka se vyskytující pravostranné aktivace při testu verbální fluence u 3 zdravých subjektů. V horní části obrázku jsou vidět aktivace ve středním frontálním laloku, zatímco spodní část ukazuje inferiorní frontální lalok.

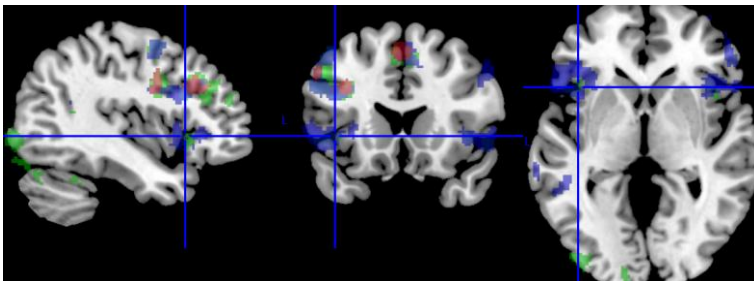
Na stejné skupině dobrovolníků byly provedeny další dvě typické stimulace: doplňování slov ve větě a generování sloves. V těchto případech lze předpokládat možné zapojení dalších mozkových center, a tedy i pokles laterality celkové aktivace. Přesně takový obraz je vidět u vybraného subjektu na obr. 7, kdy barevně jsou tentokrát odlišeny

různé typy stimulace: 1) verbální fluence – červená, 2) doplňování slova ve větě – modrá, 3) generování slovesa – zelená. Pokud by se *LI* počítalo z druhého zmíněného měření, pak jeho hodnota bude výrazně nižší. Více o tomto tématu je uvedeno v části věnované lateralitě.



Obr. 6 ukazuje příklad bilaterální aktivace při testu verbální fluence u 2 zdravých subjektů. V horní části obrázku jsou vidět aktivace ve středním frontálním laloku, zatímco spodní část ukazuje inferiorní frontální lalok. Bilaterální aktivace (snížení LI) bývá spojována s méně optimální neuro-fyziologickou situací a zvýšený výskyt takového rozložení verbálních center můžeme pozorovat např. u schizofrenie.





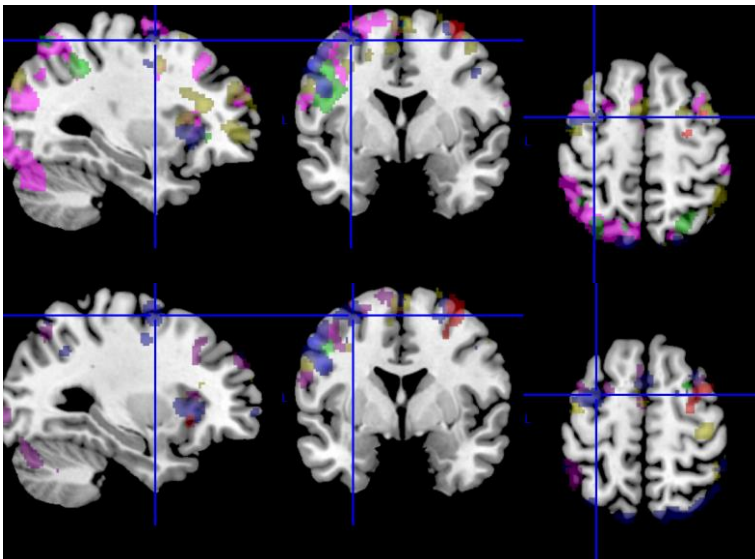
Obr. 7 ukazuje aktivace u vybraného subjektu při testu 1) verbální fluence – červeně, 2) doplňování slova ve větě – modře, 3) generace slovesa – zeleně.

2) Lokalizace paměťových funkcí

Pro testování krátkodobé paměti se nejčastěji používá *n-back* test, kde *n* odráží stupeň obtížnosti. Subjekt indikuje shodu předmětu s předmětem zobrazeným o *n* obrazů dříve. Konkrétně se jednalo buď prostorovou lokalizaci čtverce (poloha se mění v matici 3x3) nebo o písmeno. Nejčastěji je používán *2-back* test, ale jsou jedinci, kteří zvládnou i *5-back*. Zde je znázorněna lokalizace aktivace při *2-back* a *5-back* testu s alfabetyckým nebo *2-back* testu s prostorovým (poloha čtverce) předmětem.

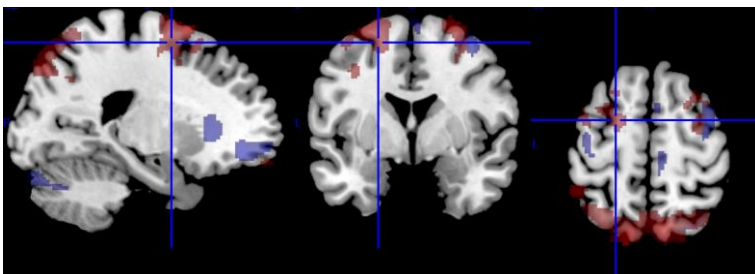
Na obr 8. jsou porovnány výsledky stimulace alfabetyckým *2-back* a *5-back* testem u 5 subjektů. V obou případech je aktivována řada oblastí, avšak v jedné se prakticky všechny ukázané subjekty protínají: oblast horního čelního laloku. Je vidět, že ačkoli všichni dobrovolníci byli praváci, u některých převažuje aktivace vlevo, jindy je jen vpravo, vyskytuje se zde i subjekt s oboustrannou aktivací. Oblast horního čelního laloku je aktivována jak při lehčí verzi testu (*2-back*), tak i při těžší verzi (*5-back*). U většiny vyšetřených subjektů došlo spíše k poklesu aktivace s těžším úkolem, ale u dvou subjektů je naopak rozsah aktivace ve zmíněné oblasti větší. To může souviset i s paměťovou schopností testované osoby: při opravdu těžké úloze subjekt snahu posléze vzdá a aktivace klesne.

Rada dalších oblastí aktivace s velmi inter-individuálním rozdílem v rozsahu i lokalizaci je pravděpodobně spojena s pozorností či přijatou strategií řešení úlohy.



Obr. 8 ukazuje výsledné aktivace u 5 subjektů (barevně rozlišení) při 2-back (horní řada) a 5-back testu (dolní řada). Všichni dobrovolníci mají aktivaci v horním čelním laloku a to vpravo, vlevo nebo bilaterálně.

Další obr. 9 demonstruje aktivace při prostorovém 2-back testu. V tomto případě se jedná o 2 subjekty (mladý dobrovolník – červená, starší dobrovolník - modrá). Aktivace – podobně jako u předchozí verze testu - jsou v horním čelním laloku a stejně jako v předchozím případě nejsou dominantně v jedné hemisféře.



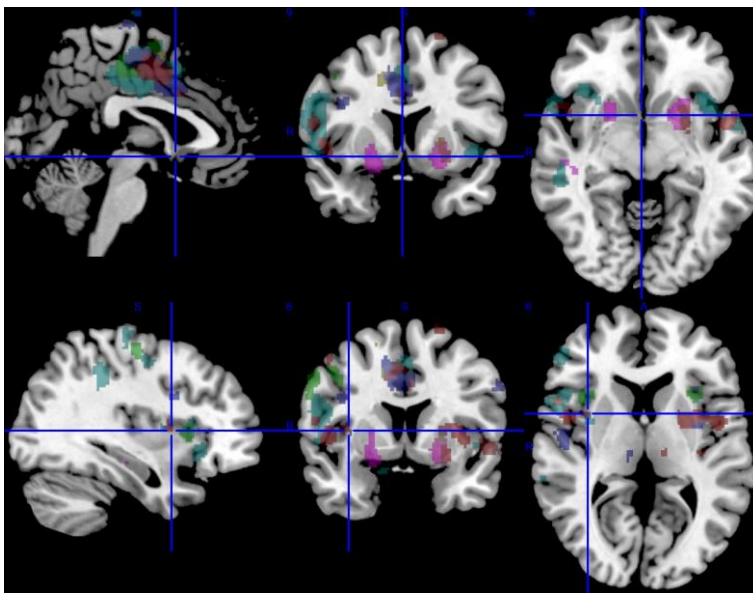
Obr. 9. Aktivace u 2 subjektů (mladý dobrovolník – červená, starší dobrovolník - modrá) při prostorovém 2-back testu. V jednom případě

je mírně rozsáhlejší aktivace v levém frontálním laloku (červená), naopak ve druhém případě je převažující aktivace vpravo. Aktivace v okcipitálním laloku je spojena se zvýšenou pozorností během úkolu.

Na první pohled je vidět proč není lateralizace paměťových center takovým tématem, jako je tomu u verbálních funkcí. Je to dáno zřetelně vyšší heterogenitou lokalizace těchto centrech napříč populací.

3) Lokalizace interference verbální a vizuální informace

Rozhodovací schopnost a reakční čas bývá často testován pomocí Stroopova testu. V tomto případě lze očekávat aktivace v oblasti předního cingula, ale jak ukazuje obr. 10, lze najít aktivace i ve středním cingulu, v obou inzulách a putamen, oboustranně ve frontálním operkulu. Opět je zde vidět jistá variabilita v lokalizaci aktivací mezi různými subjekty (barevně rozlišeno 6 zdravých subjektů).



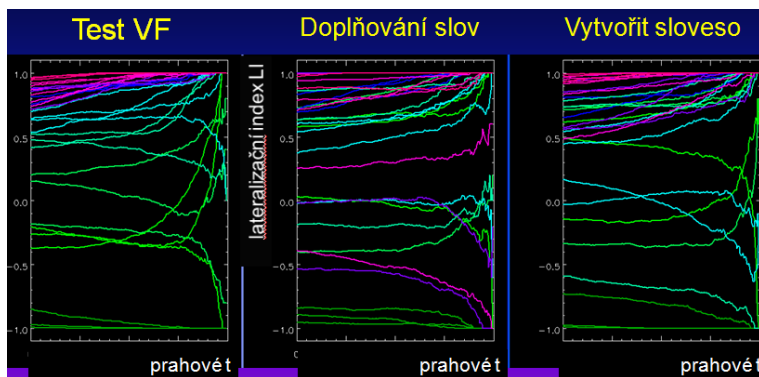
Obr. 10 ukazuje aktivace u Stroopova testu u 6 zdravých subjektů (barevně rozlišeni).

4) Lateralita verbálních funkcí

Již předchozí text naznačil, že posouzení laterality vyjádřené pomocí LI je závislé na řadě okolností. Základní a celkem zřejmý bude vliv zvoleného typu stimulace. Půjde o to zvolit „čistě“ verbální test či úlohu. Jenže to je právě problém: Test verbální fluence je sice nejčastěji v tomto smyslu používán, ale na první pohled je to spíše test slovní paměti. Naopak jiné úkoly mají často tendenci zapojovat i jiná než čistě verbální centra (paměť, logická strategie atd.).

Další problém představuje samotný výpočet LI , založený na poměru počtu aktivovaných voxelů v levé a pravé hemisféře. Tento počet závisí na způsobu vyhodnocení fMRI a finálně na přijaté metodě získání „aktivních“ voxelů: buď volbou statistického prahu, nebo jinou metodou, na volbě prahu nezávislou.

Pro dokumentaci vlivu obou výše zmíněných proměnných je na obr. 14 vynesena závislost LI na prahové hodnotě t_p pro tři uvedené typy verbální stimulace: test verbální fluence, doplňování slov ve větě a generování slovesa k prezentovanému podstatnému jménu. Jednotlivě barevně odlišené křivky reprezentují každý subjekt ze skupiny 32 dobrovolníků.



Obr. 14 demonstruje závislosti $LI(t_p)$ pro tři různé typy verbální stimulace. Každý subjekt ze skupiny 32 dobrovolníků má svou unikátní barvu. Na ose x je prahové t normováno na maximálně dosažené u každého subjektu, aby mohly být závislosti souhrnně prezentovány.

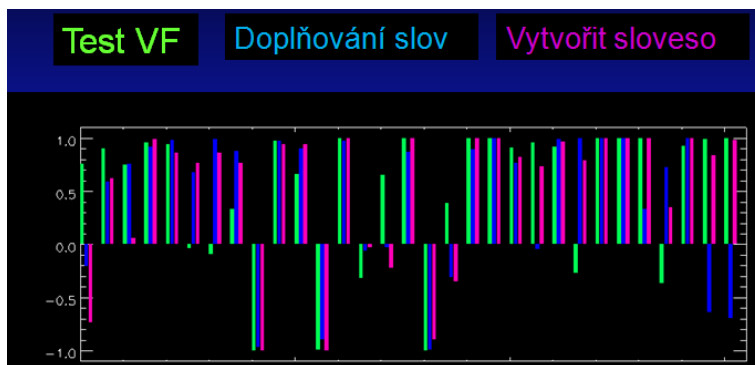
Na první pohled si lze všimnout třech zásadních závěrů:

1) U řady subjektů s nižším *LI* dokonce až do oblasti 80% maximálního *t*, se *LI* při volbě *t* blízké té maximální rychle přibližují ke krajním hodnotám 1 nebo -1. To právě dokumentuje problém se správnou volbou prahového *t* tak, aby byla získána skutečně relevantní hodnota *LI*.

2) Jednotlivé typy stimulace budou poskytovat různý *LI* u stejného subjektu. Ukazuje se, že tendenci k nejnižším *LI* bude mít doplňování slov ve větě (samozřejmě bude extrémně závislé na typu vět), ale také vytváření sloves má pravděpodobně nižší *LI*.

3) Zdaleka ne vždy subjekt s nízkým *LI* při jednom typu stimulace má také nízký *LI* při jiném typu stimulace.

Poslední zmíněný bod ještě lépe dokumentuje obr. 15, který demonstruje sloupcový graf s hodnotou *LI* pro každý subjekt. Pro výpočet *LI* byl použit práh pro *t* na úrovni 80% maximálního *t* v daném měření. Je vidět, že i když hodnota *LI* není stejná, je u většiny subjektů alespoň stejné polarity. Nalezneme však několik jedinců, kdy má *LI* dokonce opačnou polaritu pro různé typy stimulace.



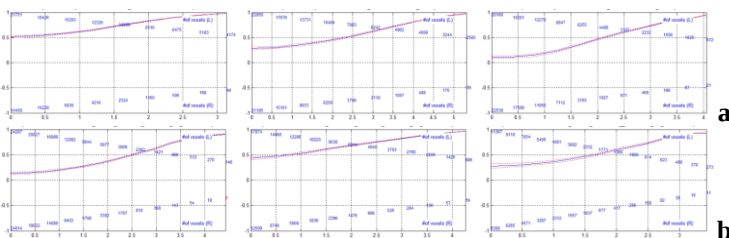
Obr. 15 je sloupcový graf *LI* pro každý subjekt z měřené skupiny. Barevně jsou odlišeny 3 typy verbální stimulace (zleva doprava). Pro výpočet *LI* byla použita statická hodnota prahového *t* na úrovni 80% maximálního *t* v daném měření.

Znalost lateralizace verbálních funkcí může hrát důležitou úlohu ve výzkumu některých onemocnění, jako např. schizofrenie. Několik publikovaných prací (včetně práce provedené na našem pracovišti [Španiel 2003]) prokázalo snížení *LI* u pacientů se

schizofrenií. Práce byla provedena na souboru dvojčat, kdy jeden sourozenec trpěl schizofrenií, zatímco druhý ne. Tento výsledek odstartoval novou studii, do které vstoupilo 9 rodin s opakovaným výskytem schizofrenie. Vždy se jednalo o rodiče a jejich potomka, který onemocněl schizofrenií, zatímco ani jeden z rodičů onemocněl. U všech rodin je však prokázán výskyt schizofrenie u některého z prarodičů.

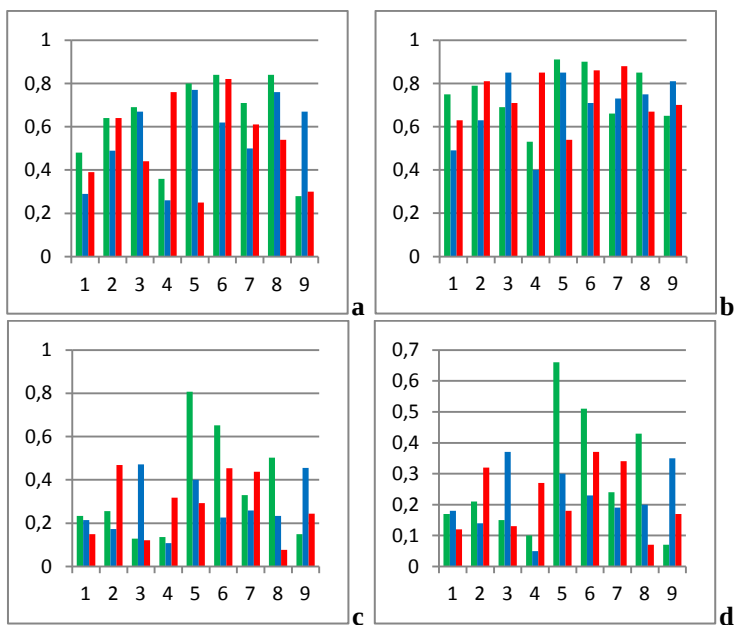
Cílem této studie bylo ověřit hypotézu, že snížený LI u jednoho z rodičů by mohl naznačit, přes kterého z nich se onemocnění mohlo přenést na jejich potomka. V ideálním případě bychom pak našli nižší LI jak u nemocného se schizofrenií, tak u jednoho z jeho zdravých rodičů.

Obr. 16 ukazuje několik příkladů průběhu závislosti $LI(t_p)$ u jednotlivých rodinných příslušníků. Ideální případ potvrzující tuto hypotézu je možné vidět na obr. 16a, zatímco opačný trend na obr. 16b. Graf vlevo ukazuje zdravou rodičovskou větev (u žádného z rodičů tohoto člena prokazatelně nebyl výskyt schizofrenie), uprostřed je graf „přenašeče“ (člena rodiny, jehož jeden z rodičů prokazatelně trpěl schizofrenií) a vpravo je graf nemocného schizofrenik v této rodině.



Obr. 16 demonstruje závislosti $LI(t_p)$ v případě, kdy podporují hypotézu o přenosu poklesu LI při rodinné zátěži a) a naopak kdy rozporují tuto hypotézu b). V levém sloupci jsou grafy členů bez rodinné zátěže, uprostřed členů s rodinnou zátěží („přenašečů“) a vpravo nemocných členů s probíhající schizofrenií.

Ještě jednodušeji lze vyjádřit členění rodinných příslušníků pomocí vypočteného LI . Není však zcela jasné, jaká metoda výpočtu poskytne nejspolehlivější výsledky, a proto jsou zde uvedeny výsledky 4 různých výpočtů LI . Sloupcové grafy na obr. 17 ukazují hodnoty LI pro všechny rodiny a jejich členy (zeleně bez zátěže, modře rodinná zátěž, červeně schizofrenie).



Obr. 17 hodnoty *LI* u všech subjektů (9 rodin) získané a) metodou A, b) metodou B, c) metodou D a d) metodou E. Barevně jsou odlišeni jednotliví členové rodiny: zeleně bez zátěže, modře rodinná zátěž, červeně schizofrenie (zleva doprava).

Na obr. 17 jsou uvedeny pouze čtyři z pěti použitých metod, protože metoda fixního prahu t byla zcela zřetelně nejméně citlivá vůči menším rozdílům v *LI*. Uvedeny jsou tedy: metoda A ([Suarez 2009]), metoda B ([Wilke 2006], Bootstrap), metoda D ([Wilke 2006], adaptivní práh t) a metoda E (integrace t hodnot přes vyhodnocovanou oblast).

Jestliže k ideálnímu případu výskytu nízkého *LI* u dvou rodinných příslušníků (schizofrenik a „přenašeč“), který se v souboru vyskytuje ve 4 případech, připustíme i možnost vyššího *LI* u schizofrenika, ale nízkého *LI* u přenašeče, pak se rozšíří počet hypotéze vyhovujících případů na 8 (metoda A), 6 (metoda B), 7 (metoda D) a 6 (metoda E). Podrobnější rozbor ukáže, že v případě rodiny č. 9 žádná z metod nepodpořila naši hypotézu. Ačkoli můžeme připustit diskuzi o relevantnosti výsledků té či oné metody výpočtu *LI*, pohled na

závislosti $LI(t_p)$ na obr. 16b (přísluší právě této rodině) neumožňuje ani jinou interpretaci než, že LI „přenašeče“ je vždy nejvyšší v této rodině. V tomto případě téměř jistě nemůžeme lateralitu použít k vytvoření závěru o šíření dispozice ke schizofrenii. Naopak při použití metody výpočtu A platí zkoumaná hypotéza v 89% všech případů.

4. Závěr

Uvedené výsledky lze shrnout do několika stručných závěrů:

- 1) Verbální funkce jsou u člověku téměř vždy lateralizovány s dominancí v levé hemisféře.
- 2) Přesná lokalizace aktivace ve frontálním a temporálním laloku je primárně závislá na zvoleném způsobu stimulace, ale i při stejné stimulaci se mohou centra aktivace mezi subjekty mírně lišit. To může způsobovat zmenšení či rozmazání aktivace při skupinové statistice.
- 3) Podobné závěry lze učinit také o lokalizaci dalších testovaných kognitivních funkcí, kdy mimo společná místa aktivace pro většinu subjektů můžeme zaznamenat i značné inter-individuální rozdíly.
- 4) Kvantifikace hemisferální dominance pomocí lateralizačního indexu je závislá na způsobu jeho výpočtu. Bezpochyby objektivnější způsoby výpočtu jsou ty, které jsou nezávislé na subjektivní volbě statistického prahu.
- 5) Všechny 4 testované metody výpočtu LI poskytly podobné výsledky a na omezené skupině (9 rodinách, 27 subjektech) nelze zcela spolehlivě rozhodnout, který způsob výpočtu je nejspolehlivější. Metoda publikovaná v práci [Suarez 2009] nejlépe podpořila hypotézu o možném snížení LI u subjektů s rodinnou zátěží onemocněním schizofrenií (vyhovovala v 8 z 9 případů).
- 6) Hypotézu o snížení LI u rodinných příslušníků s výskytem schizofrenie naše studie podpořila. Samozřejmě ne vždy musí nutně tato situace nastat, ale četnost jejího výskytu v naší studii (až 89%) naznačuje správnost této hypotézy.

Reference

1. Belliveau JW, Kennedy DN, McKinsty RC, Buchbinder BR, Weiskoff RM, Cohen MS, Vevea JM, Brady TJ, Rosen BR: Functional mapping of the human visual cortex by magnetic resonance imaging. *Science*, 254:716-719, 1991
2. Bandettini PA, Jesmanowicz A, Wong EC, Hyde JS: Processing strategies for time-course data sets in functional MRI of the human brain. *Magn Res Med*, 30:161-173, 1993
3. Brooks RA, DiChiro G: Magnetic resonance imaging of stationary blood: a review, *Med Phys* 14:903-913, 1987
4. Buxton R, Frank L: A model for the coupling between cerebral blood flow and oxygen metabolism during neural stimulation. *J Cereb blood Flow Metab*, 14:365-372, 1997
5. Friston KJ: Statistical parametric mapping and other analyses of functional imaging data. In: Toga AW, Mazziota JC (eds) *Brain mapping: the methods*. Academic, New York, 363-386, 1996
6. Kennan RP, Zhong J, Gore JC: Intravascular susceptibility contrast mechanisms in tissue. *Magn Res Med*, 31:9-21, 1994
7. Ogawa S, Lee TM, Nayak AS, Glynn P: Oxygenation-sensitive contrast in magnetic resonance imaging of rodent brain at high field. *Magn Reson Med*, 14:68-78, 1990
8. Suarez RO, Whalen S, Nelson AP, Tie Y, Meadows M-E, Radmanesh A, Goldby AJ: Threshold-independent functional MRI determination of language dominance: A validation study against clinical gold standards, *Epilepsy & Behavior* 16: 288–297, 2009
9. Španiel F, Hájek T, Tintěra J, Harantová P, Dezortová M, Hájek M: Differences in fMRI and MRS in a monozygotic twin pair discordant for schizophrenia (case report). *Acta Psychiat Scand* 107(2):155-158, 2003
10. Thulborn KR, Waterton JC, Matthews PM et al.: Oxygenation dependence of the transverse relaxation time of water protons in whole blood at high field, *Biochem Biophys Acta* 714:265-270, 1982
11. Weisskoff RM, Kühne S: MRI susceptometry: image-based measurements of absolute susceptibility of MR contrast agents and human blood, *Magn Reson Med* 24:375-383, 1992
12. Wilke M, Smithorst VJ: A combined bootstrap/histogram analysis approach for computing a lateralization index from neuroimaging data, *NeuroImage* 33:522–530, 2006

Ing. Jaroslav Tintěra, CSc.

Narozen 30.3.1957 v Praze

E-mail: jati@ikem.cz

Zaměstnavatel:

Institut klinické a experimentální medicíny

Vzdělání:

- | | |
|---------|---|
| 1976-81 | Ing., České vysoké učení technické v Praze,
Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská,
zaměření: Inženýrství pevných látek |
| 1992-96 | CSc., Akademie věd České republiky,
Fyzikální ústav,
obor: fyzika kondenzovaných látek a akustika |

Odborná a pedagogická činnost:

Přednášky: Medicínské využití jaderné magnetické rezonance, Základy použití magnetické rezonance v medicíně

Školitel 13 obhájených bakalářských a diplomových prací a 1 doktorské práce. V současnosti školitel 1 studenta doktorského studia.

Výzkumná činnost a další aktivity:

Funkční MR zobrazování, kardio MR zobrazování

Autor nebo spoluautor 37 článků v mezinárodních recenzovaných časopisech a 34 příspěvků na odborných konferencích v posledních 10 letech