

VYŠETŘENÍ VERBÁLNÍ PRACOVNÍ PAMĚTI METODOU FUNKČNÍ MR

VERBAL WORKING MEMORY INVESTIGATION USING FUNCTIONAL MRI

původní práce

Zbyněk Tüdös¹
Petr Hlušík²
Pavel Hok²

¹Radiologická klinika UP a FN,
Olomouc

²Neurologická klinika UP a FN,
Olomouc

Přijato: 20. 12. 2010.

Korespondenční adresa:

MUDr. Zbyněk Tüdös
Radiologická klinika FN
I. P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc
e-mail: zbynek.tudos@seznam.cz

Studie vznikla za finanční podpory
vnitřního projektu Lékařské fakulty
Univerzity Palackého v Olomouci
č. 91110241.

SOUHRN

Tüdös Z, Hok P, Hlušík P. Vyšetření verbální pracovní paměti metodou funkční MR

Cíl. Získat normativní výsledky s použitím modifikované aktivační úlohy verbální pracovní paměti u skupiny zdravých osob.

Metoda. U 20 zdravých pravorukých dobrovolníků (10 mužů a 10 žen) jsme pomocí 1,5 T přístroje MR provedli funkční vyšetření verbální pracovní paměti rozpoznávací úlohou (Item Recognition Task). Úloha byla uspořádána v blokovém schématu. K individuální a skupinové statistické analýze jsme využili program FEAT z programové knihovny FSL.

Výsledky. Použitá úloha aktivovala převážně frontální laloky a oblast bazálních ganglií s levostrannou dominancí, dále řečové oblasti temporálních laloků a hippocampy. Méně výrazné byly aktivace v parietálních lalocích. Výrazně byl aktivován mozeček.

Závěr. Získali jsme normativní data k dalšímu využití pro vyšetřování pacientů, jejichž pracovní paměť je nebo by mohla být narušena.

Klíčová slova: fMRI, mapování mozku, verbální pracovní paměť.

SUMMARY

Tüdös Z, Hok P, Hlušík P. Verbal working memory investigation using functional MRI

Aim. To perform functional MRI in a group of healthy volunteers using working memory task to obtain the physiological activation pattern.

Method. We performed functional MRI in 20 healthy right-handed volunteers (10 men and 10 women) to assess their verbal working memory with Item Recognition Task using 1.5T scanner. The task used block design. Single-subject and group fMRI analyses were performed using the FEAT software from FSL library.

Results. The task activated mainly frontal lobes and regions of basal ganglia with left-sided dominance. Speech-related areas of temporal lobes and hippocampi were also recruited. Activations in the parietal lobes were less pronounced. Cerebellum was strongly activated.

Conclusion. We obtained normative data for subsequent examination of patient with working memory impairment.

Key words: fMRI, verbal working memory, brain mapping.

ÚVOD

Funkční magnetická rezonance (fMRI) již dvě dekády slouží jako důležitá metoda umožňující zkoumání mozku a jeho fyziologie. Doménou této metody je mapování především korových, ale i dalších důležitých funkčních mozkových center. Princip metody využívá hemodynamické odpovědi v místě neuronální a synaptické aktivity, kdy současně se zvýšením průtoku krve dochází ke změně poměru oxy- a deoxyhemoglobinu, která vede k měřitelné změně intenzity signálu, neboť oxyhemoglobin se chová jako látka paramagnetická, zatímco deoxyhemoglobin jako látka diamagnetická. Tento fenomén se označuje anglickou zkratkou BOLD (blood oxygenation level dependent) kontrast (1, 2).

Kromě jednoduchých aktivačních úloh, jako jsou motorické či senzorké, je možné použít i úlohy aktivující složitější kognitivní funkce, jako je například řeč, pozornost, pracovní paměť či dokonce emoce u zdravých dobrovolníků a neuro-psychiatrických pacientů (3).

U mnoha neurologických či psychiatrických onemocnění mohou být narušeny četné kognitivní funkce, mimo jiné pracovní paměť, kterou lze pomocí fMRI relativně dobře zkoumat. V zahraniční literatuře lze nalézt práce popisující změny aktivity mozku během úlohy zaměstnávající pracovní paměť prokázané u pacientů s Alzheimerovou nemocí (4), roztroušenou sklerózou (5–7), obsedantně-kompulzivní poruchou (8) atd. Spíše ojedinělé jsou snahy o lokalizace paměťových oblastí v rámci předoperačního plánování (9, 10).

Pracovní (dříve krátkodobá) paměť je vědomou aktivní částí paměti, která umožňuje po krátký časový interval uchovat informace. Mezi modely implementace pracovní paměti pomocí elementárních kognitivních procesů je všeobecně přijímán Baddeleyho koncept rozdělující pracovní paměť na tři subsystémy: fonologickou smyčku, vizuoprostorový náčrtník a centrální výkonnostní smyčku (11, 12). Fonologická smyčka (phonological loop) je část pracovní paměti schopná uchovat informace, které je možné vyjádřit slovy (pojmy, číslice, písmena atd.), tento typ informací se v paměti udrží jen několik vteřin, avšak aktivním vědomým opakováním lze informace udržet po libovolnou dobu. Vizuoprostorový náčrtník (visuospatial sketchpad) umožňuje uchovat zrakové informace o rozmístění objektů v prostoru a jejich vzájemných vztazích, o geometrických tvarech, které nelze jednoduše pojmenovat apod. Centrální výkonnostní smyčka (central executive loop) je pak nadřazená dvěma výše uvedeným a je zodpovědná za další manipulaci s daty udržovanými v obou podřízených subsystémech.

Výzkum pracovní paměti byl výrazně ovlivněn zavedením moderních zobrazovacích metod, mimo fMRI také např. PET a SPECT. Na úrovni základního výzkumu je v současné době například patrná snaha o anatomickou diferenciaci verbální a vizuální složky pracovní paměti a některých exekutivních funkcí (13–16). U klinických studií pak výzkum směřuje k hledání a interpretaci změn aktivity mozku mezi skupinami pacientů s deficitem pracovní paměti a kontrolními skupinami (4–8). Cílem této práce bylo získat normativní data a funkční mapy u zdravých dobrovolníků v průběhu vybrané úlohy aktivující verbální pracovní paměť, aby bylo možno následně přikročit k vyšetřování pacientů s porušenou pracovní pamětí.

MATERIÁL A METODA

Soubor

Do skupiny bylo zařazeno 20 zdravých osob, vše studenti Univerzity Palackého, z nich bylo 10 žen a 10 mužů, průměrný věk $22,5 \pm 1,7$, resp. $24,1 \pm 2,9$ roků. Všichni podepsali informovaný souhlas, všichni popírali předchozí neurologické či psychiatrické onemocnění či vážnější kraniocerebrální trauma. Všichni byli praváci dle Edinburghského dotazníku (17).

Aktivační úloha

V průběhu aktivních běhů byla použita s několika modifikacemi úloha používaná k zapojení verbální pracovní paměti (Smith 1998). V naší verzi jsme pomocí zpětné projekce a zrcátka umístěného na hlavové cívce promítali čtveřici slov. Úkolem účastníků bylo zapamatovat si všechna slova a jejich pozici na projekčním plátně. Po 7 vteřinách se na plátně v jedné ze čtyř možných pozic objevilo testovací slovo, úkolem subjektu bylo manuálně signalizovat, zda nabízené slovo bylo v předcházející čtveřici a na totožné pozici, zda bylo ve čtveřici, ale jinde, či se jedná o slovo dříve neuvedené. Jako kontrolní stav byly se stejným časováním promítány pozice se slovně uvedenou řadovou číslovkou pozice („první“, „druhý“, „třetí“, „čtvrtý“), což si subjekty nemusely pamatovat, a pozice testovací slovo („první“ nebo „druhý“) byla vždy správná. Tento kontrolní stav sloužil ke zrakové stimulaci a udržení pozornosti.

Před uložením do gantry přístroje MR byly subjekty instruovány ohledně provádění úlohy a opakovaně dotazovány na pochopení instrukcí.

Technické parametry přístroje

Všichni dobrovolníci byli vyšetřeni přístrojem Siemens Avanto 1,5T (Erlagen, Německo) s použitím standardní hlavové cívky. Hlava byla pečlivě zafixována molitanovými vycpávkami, aby se minimalizoval pohyb hlavou.

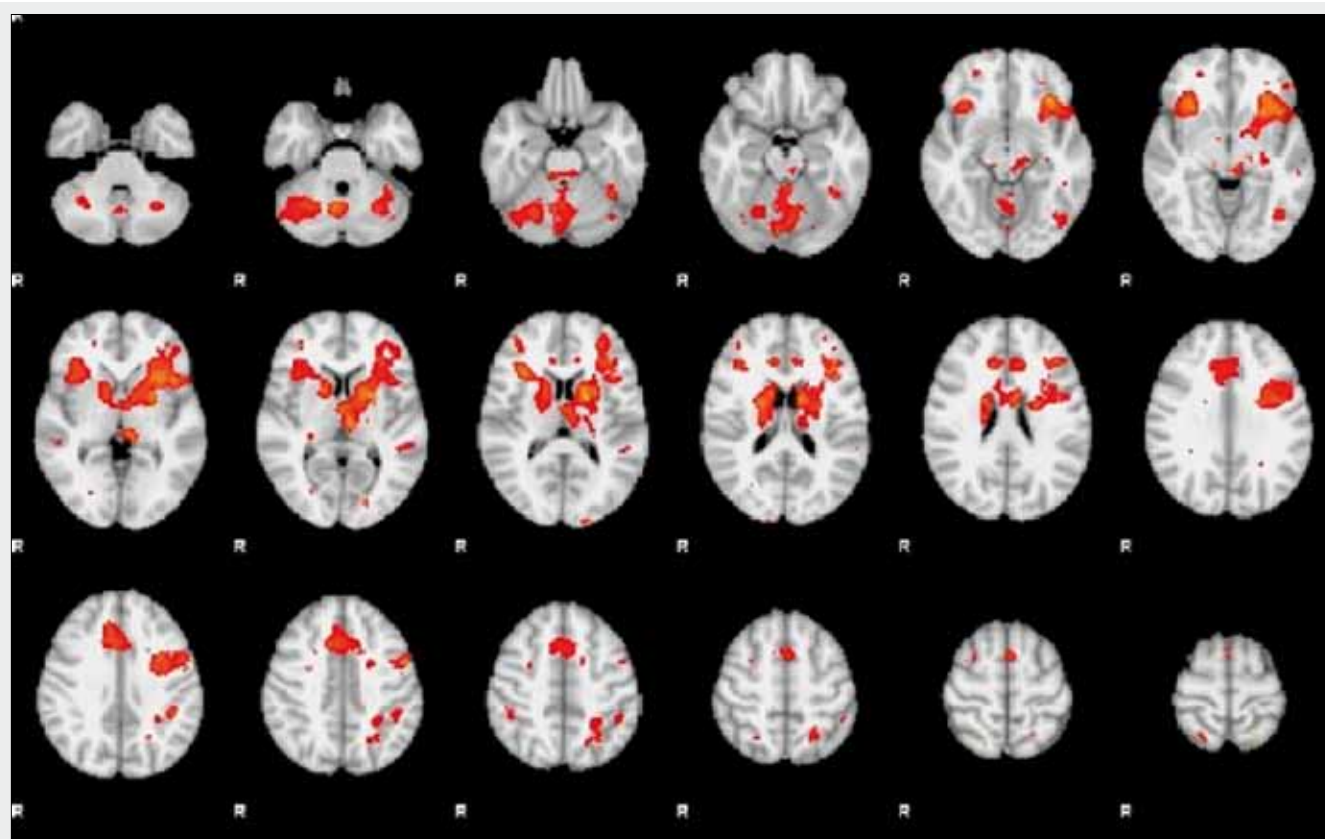
V úvodu sezení byly provedeny morfologické sekvence s vážením T1 a FLAIR, 30 vrstev po 5 mm v axiální rovině paralelní se spojnicí commissura anterior-commissura posterior. Funkční běhy s paměťovou úlohou byly vyšetřeny sekvencí s vážením T2* (BOLD) s parametry TR = 2500 ms, TE = 40 ms, FA = 80°; počet, šíře a orientace řezů byla totožná jako u morfologických vrstev tak, aby umožňovala následné překrytí morfologických a funkčních obrazů. Rozměr zobrazeného pole (FOV) jsme zvolili 220 × 220 mm, čímž jsme při matici 64 × 64 získali velikost jednoho voxelu 3,4 × 3,4 × 5 mm.

V každém šestiminutovém běhu bylo získáno 144 funkčních obrazů.

Na závěr vyšetření byla doplněna sekvence T1 MPRAGE s parametry 144 vrstev po 1,25 mm v sagitální rovině, FOV = 256 × 256 mm, TR = 1900 ms, TE = 3,93 ms, FA = 15°.

Statistická analýza

Získaná data byla zpracována pomocí softwarového nástroje FEAT (FMRI Expert Analysis Tool) verze 5.91, náležející do softwarové knihovny FSL z laboratoře FMRIB.



▲ Obr. 1

Obr. 1. **Funkční mapy skupinové analýzy.** Na obrázku jsou zřetelné oboustranné aktivace především ve ventrolaterální prefrontální kůře, dorzolaterální prefrontální kůře a v bazálních gangliích, výraznější vlevo. Symetrická aktivace předního cingula a suplementární motorické oblasti. Dále jsou aktivace patrné v řečových oblastech temporálních laloků. Méně výrazné jsou aktivace parietálně a okcipitálně. Naopak velmi výrazné jsou aktivace v mozečku.

Fig. 1. **Functional maps of group analysis.** The image shows bilateral activations in dorsolateral prefrontal cortex, ventrolateral prefrontal cortex and basal ganglia, more pronounced in the left hemisphere. Symmetrical activations in anterior cingulum and supplementary motor area are seen. Activated areas are also speech areas in the temporal lobes. There are minor activated areas in the parietal and occipital lobes, whereas activations in the cerebellum are robust.

Na individuální úrovni bylo provedeno následující před-zpracování:

1. korekce pohybu hlavy (motion correction, nástroj MCF-LIRT),
2. odstranění lebky a měkkých tkání hlavy (nástroj BET),
3. prostorová filtrace (smoothing),
4. normalizace celého čtyřrozměrného setu dat multiplikativním faktorem,
5. časová filtrace s horní propustí s použitím shody nejmenších čtverců.

Samotná individuální statistická analýza proběhla s použitím nástroje FILM s lokální autokorelační korekcí. Registrace do standardního prostoru s vysokým rozlišením byla provedena nástrojem FLIRT. Po statistickém zpracování dat jednotlivců byla provedena skupinová analýza FLAME (FMRIB's local analysis of mixed effects) s nastavením pouze fáze 1 (tj. bez závěrečné fáze založené na Metropolis-Hastings Markov Chain Monte Carlo). Ve statistických Z obrazech byla nastavena hodnota pro klastry $Z > 4,8$ a (korigovaný) statistický práh významnosti pro klastry byl nastaven $p = 0,05$.

Anatomická lokalizace aktivovaných oblastí byla provedena pomocí atlasu cytoarchitektonických dat (Jülich) v aplikaci

FSLView, který definuje pravděpodobnost přiřazení mozkových regionů do Brodmannových oblastí.

VÝSLEDKY

Úspěšnost subjektů v určování terčových slov byla velmi dobrá, četnost chyb v průběhu celého sezení byla 0–2 chyby.

Výsledkem skupinové statistické analýzy jsou mapy, kdy byly prokázány oblasti aktivace ve frontálních, parietálních, temporálních a okcipitálních lalocích, v bazálních gangliích a v mozečku (obr. 1). I přes použití vyššího statistického prahu je v oblasti frontálních laloků sledovatelný splývavý charakter aktivací tvořící jeden velký shluk voxelů (klastr), do kterého je oboustranně zavzat dolní frontální lalok, střední frontální lalok, g. cinguli a bazální ganglia. Při vyhledání lokálních maxim v rámci tohoto obrovského klastru jsou maximální aktivace lokalizované do levého gyrus frontalis medialis v Brodmannových areách (BA) 9 a 45, do gyrus frontalis inferior v BA 47, do levého putamen a levého caput nuclei caudati. Aktivace jsou dále zřetelně patrné v levé BA 44, BA 13 a BA 10. Všechny uvedené oblasti aktivovány i v pravé hemisféře, levostranná dominance je však jednoznačná. K největšímu

Tab. 1. **Souhrn aktivovaných shluků (klastřů)**Table 1. **Summary of activated clusters**

Číslo shluku	Anatomická lokalizace/Brodmannova area	Strana	Objem v mm ³	x	y	z	Z _{max}
1	frontální laloky, bazální ganglia		9916	-48	2	42	6,9
	– gyrus frontalis medialis / 9	L		-48	2	42	6,9
	– putamen	L		-18	4	10	6,8
	– gyrus frontalis medialis / 45	L		-40	32	22	6,7
	– gyrus frontalis inferior / 47	L		-36	28	-12	6,2
	– Caput nuclei caudati	L		-16	6	14	6,1
2	vermis	L	1956	8	-62	-32	5,8
3	mozečková hemisféra	P	415	30	-70	-52	5,8
4	mozečková hemisféra	L	380	-40	-68	-26	5,7
5	lobulus parietalis superior / 7	L	331	-28	-64	50	5,4
6	gyrus frontalis medialis / 10	P	166	38	48	10	5,6
7	gyrus parietalis inferior / 40	L	160	-38	-42	34	6,2
8	lobus occipitalis / 19	L	118	-40	-66	-8	5,1
9	gyrus temporalis superior / 22	L	91	-54	-38	16	5,3
10	lobus occipitalis / 18	L	64	-30	-88	2	6,2
11	hippocampus	L	59	-30	-22	-8	5,3
12	gyrus frontalis medius / 9	P	56	28	-2	40	5,0
13	gyrus parietalis inferior / 40	P	48	38	-44	48	5,3
14	lobulus parietalis superior / 7	P	26	24	-60	50	4,7
15	mesencefalon	P	25	10	-26	-8	5,4
16	gyrus frontalis medius / 11	L	19	-28	44	-14	5,1
17	hippocampus	P	16	28	-30	6	4,9
18	lobus occipitalis / 17	P	15	26	-76	2	5,0
19	gyrus temporalis superior / 22	P	13	52	-36	2	5,1
20	gyrus temporalis medius / 21	L	13	-60	-28	-4	5,4

Aktivované oblasti jsou seřazeny dle počtu aktivovaných voxelů, resp. objemu, hodnoty x, y, z udávající souřadnice Talairachova prostoru maximálně aktivovaného voxelu v klastřu, Z_{max} je statistická hodnota Z-skóre tohoto voxelu. Pro klastř č. 1 je uvedeno šest lokálních maxim (voxelů).

Activated areas are listed according to number of active voxels or their volume, the x, y, and z values are coordinates of Talairach's space of the maximally activated voxel within a cluster, Z_{max} is the corresponding Z-score value. Six local peaks are mentioned for cluster No. 1.

klastřu dále náleží stranově symetrické aktivace v předním cingulu (BA 32) a mediální části premotorické oblasti BA 6, také označované jako suplementární motorická area (SMA).

V parietálních lalocích jsou aktivní oblasti patrně oboustranně v prekuneu (BA 7) a v g. supramarginalis (BA 40) s převahou v levé hemisféře. V temporálních lalocích jsou aktivity patrně oboustranně v dorzálních partiích g. temporalis superior (BA 22), v obou hippocampech a v levém gyrus temporalis medius (BA 21). V okcipitálních lalocích se aktivovaly Brodmannovy oblasti 17 a 18. Velmi výrazné oblasti aktivace jsou patrné i ve vermis a obou hemisférách mozečku. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 1.

DISKUSE

Obecně lze říci, že získané výsledky odpovídají našemu očekávání a neodporují obvyklému pohledu na neurofyzilogii paměťových úloh.

Námi použitá úloha měla oproti původnímu uspořádání (13) zdůrazněnu verbální složku, bylo tedy možné předpokládat zdůraznění elementů fonologické smyčky, jejímž principem je udržet verbální informaci v pracovní paměti, což je při

neustálém opakování možné teoreticky po neomezenou dobu (11, 12). Do okruhu této smyčky tedy lze započít jak primární řečovou kůru, tak například oblasti zodpovědné za motorickou složku řeči a její plánování.

V souladu s tímto předpokladem se výrazně aktivovalo levostranné Brocovo expresivní řečové centrum (BA 44, 45) a ventrolaterální prefrontální kortex (BA 47), což je konstantní nález u všech verbálních úloh, aktivace pravostranných zrcadlových oblastí je také běžným jevem (14).

Další klíčovou oblastí pracovní paměti je dorzolaterální prefrontální kortex (BA 46/9), a to jak u verbálních, tak vizuálních úloh, přičemž vizuální úlohy obvykle aktivují symetricky nebo více vpravo (10, 14), zatímco verbální dominantně vlevo (14), což naše výsledky jednoznačně potvrzují.

Perceptivní řečová oblast (Wernickeova) je tradičně lokalizována do zadní části Brodmannovy oblasti 22, v souladu s předpokladem se u pravorukých dobrovolníků dominantně aktivoval levostranný gyrus temporalis superior. K Wernickeho oblasti v širším slova smyslu lze řadit i BA 40 umístěnou v gyrus supramarginalis parietálního laloku, i tato oblast byla aktivní více vlevo. Oblast hippocampů je obvykle spojována spíše s funkcí dlouhodobé paměti, avšak při úlohách verbální pracovní bývají také aktivovány a je jim přisuzována role

v rámci sémantického zpracování slov (18). Obdobně lze interpretovat i aktivaci v BA 21 vlevo.

Z dalších součástí fonologické smyčky se výrazně aktivovaly oblasti mozečku, které zajišťují artikulační složku řeči, a jejich zapojení pamětovými úlohami je obvyklé (14, 19, 20). K artikulační složce fonologické smyčky přispívá i premotorický kortex na mediální ploše BA 6 (suplementární motorická area), která zodpovídá za plánování motorických úkonů včetně svalů mluvidel. Do stejného okruhu pak spadají i bazální ganglia, z nichž se výrazně aktivovalo putamen a caput nuclei caudati, obojí více vlevo. I tento nález odpovídá literatuře (14).

Složka vizuoprostorového náčrtníku se v naší práci spíše neměla mít mnoho šancí uplatnit, přesto jsou patrné aktivity v obou parietálních lalocích v BA 7, která bývá typicky zapojena v průběhu vizuálních pamětových úloh (14, 10), této oblasti se také připisuje funkce vizuomotorické koordinace a také část exekutivních funkcí (14). Do vizuálního okruhu nesporně patří také spíše nevýrazné klastry v sekundární zrakové kůře obou okcipitálních laloků. I v dalších studiích je u verbálních úloh zapojení okcipitálních laloků spíše okrajové (14), může však být výraznější (16).

K funkčnímu zapojení předního cingula (BA 32) dochází při úlohách vyžadujících cílenou pozornost (21, 22), obzvláště pokud se jedná zpracovávání nové informace. Úlohy na krát-

kodobou paměť tuto oblast aktivují velmi často (Wager). Přednímu cingulu je také připisována úloha v rámci centrálních exekutivních funkcí, která by se v naší použitém úkolu mohla projevit jen okrajově.

Za nevýhodu našeho výzkumu lze považovat výraznou aktivaci frontálních laloků a splývání rozsáhlých aktivovaných oblastí, což znemožňuje kvantifikovat stranové rozdíly a např. počítat indexy lateralit na skupinové úrovni – tato evaluace by vyžadovala parcelaci aktivních oblastí pomocí předdefinovaných oblastí zájmu (region of interest). Také je třeba poukázat na úzký věkový rozsah vyšetřovaných subjektů, takže výsledky nelze vztahovat na všechny věkové skupiny.

I přes uvedená omezení lze získané výsledky považovat za uspokojivé stran dalšího využití úlohy pro zkoumání poruch krátkodobé paměti způsobených různými neurologickými a psychiatrickými diagnózami.

ZÁVĚR

Pomocí vlastní modifikace úlohy verbální pracovní paměti jsme vyšetřili skupinu zdravých dobrovolníků a získali normativní data k dalšímu využití pro vyšetřování pacientů, jejichž pracovní paměť je nebo by mohla být narušena.

LITERATURA

1. Ogawa S, Tark DW, Menon R, et al. Intrinsic signal changes accompanying sensory stimulation: functional brain mapping with magnetic resonance imaging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 87: 9860–9862.
2. Ogawa S, Lee TM, Kay AR, et al. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 9868–9872.
3. Matthews PM, Honey GD, Bullmore ET. Applications of fMRI in translational medicine and clinical practice. *Nature Neurosci* 2006; 7: 732–744.
4. Grady CL, Furey ML, Pietrini P, et al. Altered brain functional connectivity and impaired short-term memory in Alzheimer's disease. *Brain* 2001; 124: 739–756.
5. Rachbauer D, Kronbichler M, Ropele S, et al. Differences in cerebral activation patterns in idiopathic inflammatory demyelination using the paced visual serial addition task: an fMRI study. *J Neurol Sci* 2006; 244: 11–16.
6. Staffen W, Mair A, Zauner H, et al. Cognitive function and fMRI in patients with multiple sclerosis: evidence for compensatory cortical activation during an attention task. *Brain* 2002; 125: 1275–1282.
7. Mainiero C, Caramia F, Pozzilli C, et al. fMRI evidence of brain reorganization during attention and memory tasks in multiple sclerosis. *NeuroImage* 2004; 21: 858–867.
8. Henseler I, Gruber O, Kraft S, et al. Compensatory hyperactivations as markers of latent working memory dysfunctions in patients with obsessive-compulsive disorder: an fMRI study. *J Psychiatry Neurosci* 2008; 33(3): 209–215.
9. Braun V, Albrecht A, Kretschmer T. Brain tumour surgery in the vicinity of short-term memory representation – results of neuronavigation using fMRI images. *Acta Neurochir (Wien)* 2006; 148: 733–739.
10. Ibrahim I, Tintera J. fMRI u vizuální pracovní paměti a verbální fluence. *Ces Radiol* 2007; 61(3): 300–303.
11. Baddeley AD. Working memory. *Science* 1992; 225: 556–559.
12. Baddeley AD. The fractionation of working memory. *Proc Natl Acad Sci* 1996; 93: 13468–13472.
13. Smith EE, Jonides J. Neuroimaging analyses of human working memory. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 12061–12068.
14. Wager TD, Smith EE. Neuroimaging studies of working memory: A meta-analysis. *Cognitive, Affective & Behavioral Neuroscience* 2003; 3(4): 255–274.
15. Wolf RC, Vasic N, Walter H. Differential activation of ventrolateral prefrontal cortex during working memory retrieval. *Neuropsychologia*. 2006; 44: 2558–2563.
16. Na DG, Ryu JW, Byun HS. Functional MR Imaging of Working Memory in the Human Brain. *Korean J Radiol* 2000; 1(1): 19–24.
17. Oldfield RC. The assessment and analysis of handedness: The Edinburgh inventory. *Neuropsychologia* 1971; 9: 97–113.
18. Bartha L, Brenneis C, Schocke M. Medial temporal lobe activation during semantic language processing: fMRI findings in healthy left- and right-handers. *Cognitive Brain Research* 2003; 17: 339–346.
19. Durisko C, Fiez JA. Functional activation in the cerebellum during working memory and simple speech tasks. *Cortex* 2010; 46(7): 896–906.
20. Desmond JE, Gabrieli JDE, Wagner AD, et al. Lobular patterns of cerebellar activation in verbal working memory and finger-tapping tasks as revealed by functional MRI. *Journal of neuroscience* 1997; 17: 9675–9685.
21. Brázdil M, Mikl M, Marecek R, Krupa P, Rektor I. Effective connectivity in target stimulus processing: a dynamic causal modelling study of visual oddball task. *Neuroimage* 2007; 35: 827–835.
22. Paus T. Primate anterior cingulate cortex: Where motor control, drive and cognition interface. *Nature Neurosci*. 2001; 2: 417–424.