

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**Desenvolvimento da Técnica de Voxels Ponderados
para Lateralização da Memória por
Ressonância Magnética Funcional**

– Tese de Doutorado –

Daniel de Moraes Branco

Orientador: Jaderson Costa da Costa

Co-orientador: Alexandra Golby



Porto Alegre, outubro de 2006

À **Cristiane**, minha querida e muito amada esposa, que por mais de 7 anos tem me ajudado, acompanhado e apoiado ao longo da minha trajetória acadêmica e profissional. Sua presença deu muito mais sentido à concretização deste trabalho e de outros projetos de vida.

Aos meus pais, **Pércio** e **Jane**, e à minha irmã, **Bianca**, cujos valores e exemplos constituem os alicerces daquilo que eu sou e de tudo o que eu faço.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. **Jaderson Costa da Costa**, que por mais de 10 anos tem sido meu orientador não apenas na minha vida científica, como também na vida pessoal. Seu exemplo e história são modelos não apenas para mim, mas também para toda uma geração de neurocientistas, e certamente guiarão meus passos futuros no mundo da Neurociência e da Neurotecnologia.

À Profa. Dra. **Alexandra Golby**, pelas oportunidades oferecidas, pela co-orientação deste trabalho e por ter viabilizado a execução dos experimentos científicos relatados nesta tese.

Ao **Stephen Whalen**, coordenador do Golby Lab e responsável pela aquisição de imagens de todos os sujeitos incluídos neste trabalho.

Ao **Ralph Suarez**, pelas preciosas discussões sobre os índices de lateralização.

Ao **Jamie O'Shea**, pela programação dos recursos computacionais necessários para execução deste trabalho.

Ao **Raul Nogueira** e à **Camille Siqueira**, por terem me oferecido um lar e uma grande amizade em Boston.

Aos meus pais, novamente, e aos meus sogros, **Rosa Maria Benvenuto Andrade** e **Antonio Carlos Canabarro Andrade**, por terem dado todo o apoio logístico no Brasil enquanto nos encontrávamos no exterior.

Ao Hospital São Lucas da PUCRS, por ter me dado a oportunidade de iniciar meus estudos e experimentos em Ressonância Magnética Funcional.

MOTIVAÇÃO E ESTRATÉGIA DE DESENVOLVIMENTO DA TESE

Há 10 anos, o aluno vem desenvolvendo pesquisas na área de mapeamento cerebral. Tudo começou no Serviço de Neurologia da PUCRS, com estudos de mapeamento por estimulação elétrica cortical em pacientes do Programa de Cirurgia da Epilepsia do Hospital São Lucas. O principal artigo originado nesse período, intitulado *Functional Variability of the Human Cortical Motor Map: Electrical Stimulation Findings in Periolandic Epilepsy Surgery* e publicado no *Journal of Clinical Neurophysiology*, foi anexado a esta tese.

Por ocasião da inauguração do Instituto de Pesquisas Biomédicas da PUCRS, o aluno passou a desenvolver pesquisas em eletrofisiologia celular no Laboratório de Neurociências (Neurolab) com bolsa de iniciação científica da Fapergs. Já na residência de Neurologia, o aluno teve a oportunidade de acompanhar o desenvolvimento das dissertações de mestrado de 3 alunos do Programa de Pós Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da PUCRS: Fábio Santos, que utilizou ressonância magnética funcional (RMF) para pesquisar a lateralização e localização das áreas cerebrais de linguagem; Vitor Hugo Machado, que comparou o teste de Wada com a RMF na lateralização da memória verbal; e Amauri Dallacorte, que buscou identificar a área motora suplementar por RMF.

Esta tese é continuação da pesquisa iniciada pelo aluno durante o período de residência médica no Serviço de Neurologia do Hospital São Lucas da PUCRS, sob orientação exclusiva do Prof. Dr. Jaderson Costa da Costa. A pesquisa apresentada nesta tese foi desenvolvida através de um projeto conjunto entre o Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da PUCRS e o Departamento de Neurocirurgia do Brigham and Women's Hospital

da Harvard Medical School. A co-orientadora em Harvard foi a Profa. Dra. Alexandra Golby e o orientador geral da pesquisa foi o Prof. Dr. Jaderson Costa da Costa. Os anexos contêm três artigos publicados ao longo dessa pesquisa: *Functional MRI of memory in the hippocampus: Laterality indices may be more meaningful if calculated from whole voxel distributions*, publicado na revista *Neuroimage*; *Ressonância Magnética Funcional de Memória: Onde Estamos e Onde Podemos Chegar* e *Functional MRI Memory Mapping for Epilepsy Surgery Planning: A Case Report*, ambos publicados no *Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology (JECN)*.

“The reasonable man adapts himself to the world, but the unreasonable man tries to adapt the world to him—therefore all progress depends upon the unreasonable man”.

Samuel Butler (1835-1902)

SUMÁRIO

Dedicatória	ii
Agradecimentos	iii
Motivação e Estratégia de Desenvolvimento da Tese	iv
Sumário	vii
Lista de Abreviaturas e Unidades	x
Glossário	xiv
Lista de Figuras	xvi
Lista de Tabelas	xviii
Resumo	xix
Abstract	xxiii
1. Introdução	26
2. Referencial Teórico	27
2.1. Tipos de Memória	27
2.2. Memorização & Consolidação	29
2.3. Ressonância Magnética Funcional	31
2.3.1. Princípios Físicos	31
2.3.2. Paradigmas	34
2.3.3. Contrastes e Mapas de Ativação	37
2.4. Lobo Temporal Medial	39
2.4.1. Relevância Clínica	39

2.4.2. Métodos de Avaliação	41
2.4.3. Lateralização de Memória por RMF	42
3. Objetivos	46
3.1. Objetivo Geral	46
3.2. Objetivos Específicos	46
4. Metodologia	48
4.1. Recrutamento e Seleção	48
4.1.1. Sujeitos Normais	48
4.1.1.1. Delineamento	48
4.1.1.2. Critérios de Inclusão	49
4.1.1.3. Critérios de Exclusão	49
4.1.1.4. Recrutamento	49
4.1.2. Pacientes	50
4.2. Ressonância Funcional	51
4.2.1. Paradigma Cognitivo	51
4.2.1.1. Estímulos	51
4.2.1.2. Memorização	52
4.2.1.3. Reconhecimento	56
4.2.2. Aquisição de Imagens	57
4.2.3. Processamento Estatístico de Imagens	57
4.2.4. Índices de Lateralização	63
4.2.4.1. IL por Quantificação de Voxels Abaixo $P = 0,1$	63
4.2.4.2. IL por Distribuição Ponderada de Voxels “Positivos”	66
4.2.4.3. IL por Distribuição Ponderada de Todos os Voxels	68
4.3. Teste do Amobarbital Sódico	72

5. Resultados	73
5.1. Pacientes	73
5.2. Memorização	75
5.2.1. Mapas de Ativação	75
5.2.2. Lateralização Extra-Hipocampal	84
5.2.3. Lateralização Hipocampal Anterior em Sujeitos Normais	90
5.2.4. Lateralização Hipocampal Anterior em Pacientes	97
5.2.5. O Efeito da Memorização Efetiva	98
5.2.6. O Efeito dos Voxels Negativamente Correlacionados	99
5.3. Reconhecimento	101
6. Discussão	108
7. Conclusões	116
8. Perspectivas	119
9. Referências Bibliográficas	123
10. Anexos	131
Termo de Consentimento Informado para Sujeitos Normais(em inglês)	131
Termo de Consentimento Informado para Pacientes(em inglês)	139
Controle de Segurança de Ressonância Magnética (em inglês)	147
Escala da Destreza Manual (em inglês)	148
Artigo Original Publicado na Neuroimage (em inglês)	149
Artigo Original Publicado na Neuroimage (em português)	160
Artigo de Revisão Publicado no JECN	172
Artigo de Relato de Caso Publicado no JECN	178
Artigo Original Publicado no <i>Journal of Neurophysiology</i>	184

LISTA DE ABREVIATURAS E UNIDADES

A_D – Área sob a curva de distribuição de voxels do lado direito

A_E – Área sob a curva de distribuição de voxels do lado esquerdo

AEF – Análise de Efeitos Fixos (*fixed effects analysis*)

AER – Análise de Efeitos Randômicos (*Random-Effects Analysis*)

ANOVA – Análise de Variância

BOLD – Dependente do Nível Oxigenação Sangüínea (do inglês, *Blood-Oxygenation-Level Dependent*)

CA – Califórnia

cm – Centímetro

D – Direita

DP – Desvio-Padrão

E – Esquerda

EEG – Eletrencefalograma

EMT – Esclerose Mesial Temporal

ELT – Epilepsia do Lobo Temporal

EPI – Imagem Ecoplanar (do inglês, *EchoPlanar Imaging*)

EUA – Estados Unidos da América

GE – *General Electric*

gl – Graus de Liberdade

HC – Hipocampo

HCA – Hipocampo Anterior

IEE – Intervalo Entre Estímulos

IL – Índice de Lateralização:

+ Por convenção, números positivos indicam lateralização para esquerda (sinal pode ser omitido)

- Por convenção, números negativos indicam lateralização para direita

IL_m – Índice de Lateralização Médio

IL_{TAS} – Índice de Lateralização do Teste do Amobarbital Sódico

LT – Lobo Temporal

LTD – Depressão de Longa Duração (do inglês, *Long Term Depression*)

LTM – Lobo Temporal Medial

LTP – Potenciação de Longa Duração (do inglês, *Long Term Potentiation*)

MA – Maryland

MLG – Modelo Linear Geral (*General Linear Model*)

min – Minuto

mm – Milímetro

MMS – Mudança Média de Sinal (*mean signal change*)

MNI – Montreal Neurological Institute

MPE – Mapa Paramétrico Estatístico (*Statistic Parametric Map – SPM*)

MPET – Mapa Paramétrico Estatístico de Valores *T*

MPRAGE – Eco-Gradiente Rápido Preparado por Magnetização (do inglês, *Magnetization Prepared RAPid Gradient Echo*)

MRER – Método Relacionado a Eventos Rápidos

MRI – Imagem por Ressonância Magnética (do inglês, *Magnetic Resonance Imaging*)

ON – Ontario

PA – Pennsylvania

Pc – Paciente

PET – Tomografia por Emissão de Pósitrons (do inglês, *Positron Emission Tomography*)

- P_{P1} – Ponderado pela distribuição $1-P$, incluindo apenas voxels positivos
- P_{P2} – Ponderado pela distribuição $2(1-P)$, incluindo apenas voxels positivos
- P_{PTudo} – Ponderado pela distribuição $1-P$, incluindo todos os voxels
- P_{PV1} – Ponderado pela distribuição V1
- P_{PV2} – Ponderado pela distribuição V2
- P_T – Ponderado pela distribuição T
- PyEPL – Biblioteca de Programação de Experimentos em Python (*Python Experiment Programming Library*)
- QtVx – Quantificação de Voxels
- QtVx10 – Quantificação de Voxels com Valores de P Abaixo de 0.1
- RDI – Regiões de Interesse
- REML – Probabilidade Máxima Restrita (do inglês, *Restricted Maximum Likelihood*)
- RF – Radiofrequência
- RHD – Resposta Hemodinâmica
- RI – Rhode Island
- RM – Ressonância Magnética
- RMF – Ressonância Magnética Funcional
- RU – Reino Unido
- s – Segundo
- SPM – Mapeamento Paramétrico Estatístico (do inglês, *Statistical Parametric Mapping*)
- T – Tesla
- TAS – Teste do Amobarbital Sódico
- TCE – Traumatismo Crânio-Encefálico
- TE – Tempo de Eco
- TR – Tempo de Repetição

TX – Texas

V1 – Distribuição estatística em forma de V número 1

V2 – Distribuição estatística em forma de V número 2

WI – Wisconsin

GLOSSÁRIO

Bloco – Intervalo de tempo durante uma tarefa caracterizado por conter estímulos de um mesmo tipo. Tarefas que seguem um paradigma em bloco são constituídas de diversos blocos, de dois ou mais tipos, em seqüência.

Condição – Estado de funcionamento cerebral caracterizado através de uma ação específica, ativa ou passiva, realizada pelo sujeito. Em paradigmas em bloco, cada bloco costuma estar restrito a uma única condição.

Controle – Porção da tarefa utilizada como controle para a condição ativa.

Evento – Apresentação de um estímulo. Tarefas que seguem um paradigma relacionado a eventos são constituídas de diversos eventos em seqüência. Neste caso, os eventos de diversos tipos são aleatoriamente apresentados, impedindo a formação de blocos.

Fatia – Imagem bidimensional de uma seção do cérebro (com qualquer orientação).

Paradigma – Conjunto de características de uma tarefa. Uma tarefa, por exemplo, pode se caracterizar por um paradigma em bloco ou relacionado a eventos.

Repouso – Subtipo de controle onde o sujeito tipicamente não faz nada em especial.

Seqüência – Conjunto de volumes cerebrais em formato EPI adquiridos durante uma tarefa.

Quando referente ao tipo de imagem adquirida pelo aparelho de RM, “seqüência” significa o conjunto (ou seqüência) de fenômenos físicos responsáveis pela geração do sinal de RM.

Sessão – Conjunto de várias seqüências de RMF e, portanto, várias tarefas.

Tarefa – Conjunto dos estímulos apresentados e das ações executadas pelos sujeitos durante uma única seqüência de RMF. Este termo também pode ser empregado para indicar a porção “ativa” de uma tarefa. Neste caso, a porção ativa ou a tarefa propriamente dita receberia o parâmetro +1 no cálculo de contrastes, enquanto que a porção passiva,

também chamada de repouso ou condição de controle, receberia o parâmetro 0 ou -1, conforme a situação.

Volume – Conjunto de imagens cerebrais bidimensionais que formam uma única imagem tridimensional do cérebro.

Voxel – Unidade de Volume (equivalente 3D do “pixel”)

LISTA DE FIGURAS

RT1. Paradigma em bloco	34
RT2. Paradigma relacionado a eventos	36
RT3. Mapa de ativações genérico	38
M1. Modalidades de estímulos	52
M2. Óculos de vídeo utilizados para apresentação de estímulos	53
M3. Tela-tipo do programa de apresentação de estímulos	54
M4. Caixa de botões	55
M5. Matriz gráfica “novos > repetidos”	59
M6. Matriz gráfica “lembrados > repetidos	60
M7. Matriz gráfica “novos > repetidos” utilizando efeitos fixos	61
M8. Matriz gráfica para tarefa de reconhecimento	62
M9. Cálculo de índices de lateralização ponderados	65
M10. Cálculo de índices de lateralização utilizando voxels positivos e negativos (a)	69
M11. Cálculo de índices de lateralização utilizando voxels positivos e negativos (b)	70
R1. Mapa de grupo: padrões: “novos > repetidos”	76
R2. Mapa de grupo: padrões: “lembrados > repetidos”	77
R3. Mapa de grupo: cenas: “novos > repetidos”	78
R4. Mapa de grupo: cenas: “lembrados > repetidos”	79
R5. Mapa de grupo: palavras: “novos > repetidos”	80
R6. Mapa de grupo: palavras: “lembrados > repetidos”	81
R7. Mapa de grupo: padrões + cenas + palavras: “novos > repetidos”	82
R8. Mapa de grupo: padrões + cenas + palavras: “lembrados > repetidos”	83
R9. Lateralização de múltiplas regiões: “novos > repetidos”	85
R10. Lateralização de múltiplas regiões: “lembrados > repetidos”	88

R11. Índices de lateralização em sujeitos normais para padrões, cenas e palavras	92
R12. Índices de lateralização no hipocampo anterior em pacientes e controles	94
R13. Índices de lateralização: controles e pacientes: “lembrados > repetidos”	99
R14. Índices de lateralização por voxels negativamente correlacionados (a)	100
R15. Índices de lateralização por voxels negativamente correlacionados (b)	101
R16. Mapa de grupo para padrões, tarefa de reconhecimento (a)	102
R17. Mapa de grupo para padrões, tarefa de reconhecimento (b)	103
R18. Mapa de grupo para cenas, tarefa de reconhecimento (a)	104
R19. Mapa de grupo para cenas, tarefa de reconhecimento (b)	105
R20. Mapa de grupo para palavras, tarefa de reconhecimento (a)	106
R21. Mapa de grupo para palavras, tarefa de reconhecimento (b)	107

LISTA DE TABELAS

M1. Perfil demográfico dos controles	50
R1. Perfil demográficos dos pacientes	74
R2. Lateralizações aproximadas em múltiplas regiões	90
R3. Índices de lateralização obtidos por análise de efeitos randômicos	96

RESUMO

Introdução

A memória é uma das funções corticais superiores mais complexas e é fundamental para o funcionamento normal do ser humano, sendo o hipocampo uma área que tem sido consistentemente indicada como crítica para a codificação de novas memórias. A memória pode ser subdividida em declarativas (que podem ser reproduzidas verbalmente) e não declarativas (ou procedurais). As memórias declarativas podem ainda ser subdivididas em episódicas (relacionadas a um evento bem definido no tempo) e semânticas (com pobre identificação temporal). A lateralização da memória declarativa pode ser útil para o planejamento cirúrgico relacionado à epilepsia do lobo temporal medial (LTM), já que a ressecção de um dos LTM pode completamente livrar determinados tipos de pacientes de crises epiléticas. Atualmente, o método de eleição para determinar reserva funcional de memória nos LTM tem sido o teste do amobarbital sódico (TAS). Mais recentemente, no entanto, a ressonância magnética funcional (RMF) tem sido proposta como um método alternativo para esse fim. A maioria dos estudos de RMF tem calculado índices de lateralização (IL) de memória no LTM utilizando apenas voxels acima de determinado limiar estatístico arbitrário. Nesta tese, nós hipotetizamos que ILs por RMF poderiam ser confiavelmente extraídos de distribuições inteiras de voxels, compreendendo todos os valores positivos de T, onde a contribuição de cada voxel para o cálculo do IL seria ponderada pela sua respectiva significância estatística. Hipotetizamos também que os ILs obtidos de pacientes que estejam dois ou mais desvios-padrão distantes do IL médio do grupo controle podem ser mais clinicamente relevantes do que ILs pouco diferentes da média normal ou que não sejam comparados a um grupo controle.

Metodologia

Treze sujeitos saudáveis tiveram RMF de memória e cinco pacientes com epilepsia tiveram tanto RMF como TAS. Foram estudados três modalidades de estímulos: padrões, cenas e palavras. Essas modalidades possuem graus de “verbalizabilidade” distintos, sendo as palavras os estímulos mais verbalizáveis; e padrões, os menos verbalizáveis. Foram realizadas três tarefas de memorização, cada uma utilizando uma modalidade de estímulos específica, e cada uma sendo executada dentro de uma única seqüência de RMF. Em cada tarefa, 88 estímulos foram apresentados utilizando o MRER (método relacionado a eventos rápidos ou, do inglês, *event-related*), dos quais 44 foram apresentados somente uma vez (condição “novos”) e 2 foram apresentados 22 vezes cada um (condição “repetidos”).

Em sujeitos submetidos ao TAS, em cada hemisfério foram separadamente injetados 112,5 mg de amobarbital sódico. Após confirmação do efeito da droga, a dominância hemisférica para memória foi avaliada através da apresentação de 8 objetos ao sujeito. Após retorno do eletrencefalograma (EEG) e do exame neurológico à normalidade, foi realizado um teste de reconhecimento de objetos.

Os índices de lateralização foram calculados de duas formas básicas: i) pela abordagem clássica de comparar o número de voxels ativadas nos dois lados de uma RDI específica (Quantificação de Voxels, QtVx), e ii) pela comparação entre as áreas abaixo das curvas de distribuição de voxels ponderadas estatisticamente tanto por valores de T (P_T), como por valores de P (P_{P1} e P_{P2}), onde apenas voxels com valores de T positivos (portanto, positivamente correlacionados com a tarefa) foram incluídos.

Resultados

ILs diferiram entre materiais [$F(2,114) = 9,41, P < 0,0005$] e entre técnicas [$F(3,111) = 4,74, P < 0,005$]. Para todas as técnicas, padrões tenderam a lateralizar para a direita, palavras para a esquerda, e cenas intermediariamente. Palavras diferiram significativamente

de padrões [$t(92) = 3,37, P < 0,005$], e houve uma tendência para a diferença entre padrões e cenas ($P = 0,064$) e cenas e palavras ($P = 0,077$). Em nível de indivíduo, a técnica QtVx10 produziu as lateralizações mais fortes, abrangendo toda a faixa de valores entre -1 e +1. As distribuições ponderadas, devido ao maior número de voxels menos significativos, produziram lateralizações menores, mas a variabilidade entre sujeitos diminuiu consideravelmente em comparação à QtVx10. Todas as técnicas ponderadas diferiram significativamente de QtVx10— P_T vs. QtVx10: [$t(65) = 2,34, P < 0,05$] P_{P1} vs. QtVx10: [$t(65) = 2,62, P < 0,05$]; P_{P2} vs. QtVx10: [$t(65) = 2,37, P < 0,05$]—mas não entre si.

ILs calculados por distribuições ponderadas foram mais consistentes, com desvios-padrão no grupo controle aproximadamente 50% menores do que aqueles obtidos pela técnica QtVx10. Além disso, as distribuições ponderadas conseguiram identificar desvios maiores do que 2 DPs utilizando AEF nos dois pacientes com TAS claramente lateralizados para a direita e lesões no LTM esquerdo, enquanto que os desvios obtidos por QtVx10 permaneceram menores do que 2 DPs.

Conclusões

Nós acreditamos que este estudo fornece boas evidências de que, para um dado paciente, o índice de lateralização isoladamente (i.e., sem referência à população normal) pode não ser suficiente para determinar se existe uma organização anômala de funções de memória no LTM. Portanto, o ideal é comparar a lateralização de pacientes com aquelas derivadas de um grupo normal de controle, o que é possibilitado pelo uso de RMF. Na nossa amostra, os ILs ponderados produziram uma diferenciação mais clara entre pacientes e o grupo de referência (maiores distâncias em termos de DP) do que ILs baseados em limiares estatísticos, já que ILs ponderados produzem menor variabilidade. Esse efeito é ainda mais intenso quando os três tipos de materiais são analisados conjuntamente, sugerindo que o

estudo de memória por RMF, utilizando ILs ponderados e análise de efeitos fixos (AEF) é o mais adequado para aplicação na clínica.

ABSTRACT

Introdução

Memory is a fundamental cognitive function for the normal functioning of humans, being the hippocampus an area that has consistently indicated as critical for encoding of new memories. Memory can be categorized into declarative (which can be verbally reproduced) and non declarative (or procedural). Declarative memory can still be split into episodic memory (related to an event well defined in time) and semantic memory (with poor temporal identification). Memory lateralization may be useful for surgical planning related to the medial temporal lobe (MTL), since the resection of one of the MTLs my completely free determined patients from seizures. Currently, the method of choice to determine functional reserve of memory has been the Intracarotid Amobarbital Procedure (IAP). More recently, however, functional MRI (fMRI) has been proposed as an alternative method for that. Most fMRI memory studies have calculated lateralization indices (LI) in the MTL from suprathreshold voxels only, but the selection of threshold remains highly arbitrary. We hypothesized that LIs could be reliably extracted from the distribution of voxels encompassing all positive T statistical values, each weighted by their own statistical significance. We also hypothesized that patient LIs that are two or more standard deviations (SD) away from the control group mean LI may be more clinically relevant than LIs that are not compared to control group.

Methodology

Thirteen healthy subjects had memory fMRI, and five epilepsy patients had both fMRI and the Intracarotid Amobarbital Procedure (IAP). The fMRI task consisted of encoding

patterns, scenes, and words. These three materials present distinct degrees of verbalizability, words being the most verbalizable and patterns, the least. Every subject was submitted to three encoding tasks, one for each stimulus modality and each one was executed in a single fMRI sequence. In each task, 88 stimuli were presented in an event-related design; 44 were presented only once (“novel” condition) and 2 were presented 22 times each (“repeated” condition).

In subjects submitted to IAP, each hemisphere was independently injected 112.5 mg of sodic amobarbital. After confirmation of drug effect, hemispheric dominance for memory was evaluated by presenting the subject 8 objects. After return of electroencephalographic and neurologic exam to normal, subjects were submitted to a recognition task.

Laterality indices were calculated by two basic ways: i) by the classic approach of comparing the number of activated voxels on each side of a determined region of interest (Voxel Count, QtVx), and ii) by comparing the areas below the voxel distribution curves, weighted by either T (P_T) or P values (P_{P1} e P_{P2}), where only voxels with positive T values (and therefore positively correlated with the task) were included.

Results

ILs differed between materials [$F(2.114) = 9.41$, $P < 0.0005$] and techniques [$F(3.111) = 4.74$, $P < 0.005$]. For all techniques, patterns tended to right-lateralize; words, left-lateralize; and scenes, lateralize intermediately. Words significantly differed from patterns [$t(92) = 3.37$, $P < 0.005$], and there was a tendency for a difference between patterns and scenes ($P = 0.064$) and scenes and words ($P = 0.077$). For each subject, the QtVx10 technique produced the strongest lateralizations, encompassing the whole range between -1 and +1. The weighted distributions, due to a greater number of less significant voxels, produced smaller lateralizations, but the variability between subjects decreased considerably in comparison to

QtVx10. All weighted techniques significantly differed from QtVx10— P_T vs. QtVx10: [$t(65) = 2.34, P < 0.05$] P_{P1} vs. QtVx10: [$t(65) = 2.62, P < 0.05$]; P_{P2} vs. QtVx10: [$t(65) = 2.37, P < 0.05$]—but not from each other.

LIs calculated using weighted distributions were more consistent, with standard-deviations in the control group 50% smaller than those obtained with QtVx10. Moreover, the weighted distributions were able to identify deviations larger than 2 SDs when fixed-effects analysis was applied to the two patients whose IAP clearly lateralized to the right and who had lesions in the left MTL, while deviations obtained by using QtVx10 remained smaller than 2 SDs.

Conclusions

We believed this study provides good evidence that for a given patient, a single LI (with no reference to a control population) may not be enough to determine anomalous organization of memory function in the MTL. Therefore, the ideal strategy is to compare the laterality in patients with those derived from a normal control group, which is possible by using fMRI. In our sample, wheighted LIs produced clearer differentiation between patients and the control group (larger SDs) than LIs based on statistical thresholds, since wheighted LIs yield smaller variability. This effect is still more intense when the three material types are jointly analyzed, which suggests that the study of memory by fMRI, using wheighted LIs and fixes-effects analysis, is the most suitable for clinical applications.

1. INTRODUÇÃO

Na última década, testemunhamos um grande avanço nas áreas de cirurgia da epilepsia e mapeamento cerebral. Apesar das conquistas dos últimos anos e do maior acesso da população a tratamentos e exames inovadores na área da Neurologia, estamos ainda vivendo apenas o início de um século que promete revolucionar as Neurociências, o tratamento das doenças neurológicas e o entendimento da cognição humana e da natureza da consciência. Essa tese objetiva acrescentar um pequeno tijolo aos alicerces dessa grande construção de novos conhecimentos. Mais especificamente, esperamos contribuir para que exames de mapeamento cerebral por ressonância magnética funcional se tornem cada vez mais úteis na prática clínica.

Os resultados apresentados nesta tese possivelmente serão úteis para o médico interessado em intervir cirurgicamente em áreas cerebrais críticas para a memória, como o lobo temporal medial e outras regiões corticais de associação. Da mesma forma, poderão se beneficiar neurocientistas que estejam em busca de um melhor entendimento sobre os mecanismos subjacentes da memória, função que subserve praticamente todas as demais atividades do cérebro. Por fim, ela sugere futuros caminhos e alternativas metodológicas que poderão ser valiosas também para o estudo de outras funções corticais superiores, assim como da distribuição espacial dessas funções ao longo do córtex cerebral, sua conectividade estrutural através de fibras da substância branca, e seu comportamento temporal em termos do ordenamento de ativação de diversas regiões funcionalmente relacionadas.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

A memória, quando vista do “macro”, i.e., quando estudada em seres vivos e, particularmente, em seres humanos, se apresenta como uma das funções corticais superiores mais complexas. Ao contrário de funções como linguagem ou atenção, é difícil elaborar tarefas neuropsicológicas ou paradigmas de RMF que testem isoladamente a memória. Isso decorre do fato de que ela está presente, nas suas diversas formas, praticamente o tempo todo, como base de todas as demais funções. Não é possível, por exemplo, conceber “linguagem” sem pensar que, para falar, uma determinada pessoa precisa *lembrar* das palavras que poderiam ser utilizadas para selecionar dentre elas as mais adequadas e efetivamente pronunciá-las.

Do ponto de vista “micro”, no entanto, a memória é possivelmente a função que tem sido melhor entendida nas últimas décadas, através de estudos eletrofisiológicos e bioquímicos. Principalmente, a associação dos fenômenos de LTP (do inglês, *Long Term Potentiation*) e LTD (do inglês, *Long Term Depression*) com a memória nos tem permitido compreender que esses mecanismos (Izquierdo 2002), que estão difusamente distribuídos por diversas regiões corticais, participam de um verdadeiro “corpo de funções cognitivas” globalmente conhecido como *Memória*, que subserve praticamente todas as demais funções do nosso cérebro.

2.1.1. Tipos de Memória

Quando estudada em seres humanos, a memória é mais facilmente compreendida se subdividida em diferentes categorias. Assim sendo, as memórias podem ser subdivididas, de acordo com o seu conteúdo, em memórias declarativas e não declarativas (Izquierdo 2002). As memórias declarativas, também conhecidas como *explícitas*, podem ser voluntariamente informadas (ou declaradas) em forma de linguagem, e podem ser divididas em memórias *episódicas* e memórias *semânticas* (Portuguez 1998; Cummings and Mega 2003). As memórias episódicas se referem a fatos e eventos ocorridos em um momento específico no passado. As memórias semânticas representam o conhecimento adquirido ao longo da vida, sem que se saiba precisamente quando aquela informação foi obtida. Dessa forma, podemos lembrar de determinada viagem feita a Atenas em determinado ano (memória episódica), mas dificilmente lembraremos quando foi que aprendemos que Atenas é a capital da Grécia (memória semântica). As memórias não declarativas, ou *implícitas*, também são conhecidas como memórias *procedurais*, e representam o conjunto de informações armazenado no nosso cérebro que codificam a execução de determinadas atividades ou tarefas. Dessa forma, podemos utilizar a memória semântica para dizer que sabemos andar de bicicleta, a memória episódica para lembrar da última vez que andamos de bicicleta, mas precisaremos da memória procedural para lembrar como se anda em bicicleta e efetivamente sair pedalando.

Através da observação clínica, percebemos que as memórias mais frágeis são as memórias episódicas. Logo após, vêm as memórias semânticas e por fim as memórias procedurais. Dessa forma, um paciente que sofre de alguma doença cortical degenerativa, por exemplo, irá primeiro começar a esquecer as memórias episódicas (o que almoçou, onde esteve); após, perderá a memória semântica (o nome do filho ou simplesmente poderá não reconhecer mais o filho); e por último perderá a memória procedural, como por exemplo escovar os dentes ou, em casos extremos, até mesmo caminhar (Izquierdo). É claro que essa é

uma “regra geral”, e na prática o que observamos de fato são perdas concomitantes dos três tipos de memória, com intensidades variáveis de pessoa para pessoa, e também dependentes do tipo e gravidade da doença.

2.1.2. Memorização & Consolidação

As memórias podem ser classificadas também de acordo com a sua duração. Elas podem durar apenas alguns segundos (memória de trabalho), como toda a vida. A memória de trabalho é a mais curta das memórias. Muitos autores nem a consideram um tipo de memória propriamente dito, pois ela está muito mais envolvida com a tarefa de comparar informações recém chegadas do ambiente com aquelas previamente armazenadas do que propriamente servir como um repositório de informações. Ela constitui, por assim dizer, o conteúdo da nossa experiência consciente e varia dinamicamente a cada instante. Ela consegue armazenar apenas uma pequena quantidade de informação e seu conteúdo dura apenas alguns segundos ou no máximo poucos minutos, precisando ser transferido para um sistema de maior capacidade para que a informação não seja perdida. Embora possua baixa capacidade de armazenamento, as regiões responsáveis pela memória de trabalho estão sujeitas a plasticidade e podem sofrer alterações dessa capacidade através de treinamento (Olesen, Westerberg et al. 2004). O exemplo clássico da memória de trabalho é o número de telefone que decoramos apenas até discá-lo e depois logo esquecemos (muitas vezes, antes mesmo de terminar a ligação). Se aquela informação, por algum motivo, é considerada útil para o indivíduo, ela é transferida para circuitos neuronais mais permanentes. Nesse momento, inicia-se um processo de armazenamento da informação que pode resultar em memórias mais ou menos permanentes (vários minutos ou horas—memória de curta duração—ou várias horas, dias ou meses—memórias de longa duração).

Como esse armazenamento ocorre, quais áreas cerebrais estão envolvidas e como essas áreas se relacionam ainda não é algo suficientemente entendido. No entanto, a própria experiência clínica e alguns casos de traumatismo craniano ou ressecção cirúrgica nos permitem inferir que as informações vão sendo gradualmente “transferidas” da memória de curta duração para a memória de longa duração. Isso fica muito claro em casos como o do paciente H.M. (Scoville and Milner 1957), que após ressecção cirúrgica de ambos os lobos temporais teve amnésia retrógrada completa dos 19 meses e parcial dos 3 anos prévios à cirurgia. Em outros casos, no entanto, as informações aparentemente entram na memória de longo prazo sem passar pela memória de curto prazo. Em 1969, Warrington e Scoville (Warrington and Scoville 1969) relataram o caso de um paciente de 28 anos que, após um traumatismo cranioencefálico aos 17 anos, passou a não conseguir realizar tarefas instruídas por comandos verbais complexos, dando a impressão de que não lembrava exatamente o que havia sido solicitado. No entanto, não apresentava prejuízo na memória verbal de longo prazo.

Em uma série de experimentos bioquímicos, Izquierdo e colaboradores demonstraram que a memória de curta e de longa duração surge de processos paralelos e independentes (embora compartilhando as mesmas estruturas anatômicas) e não de processos seqüenciais (Izquierdo, Medina et al. 1999). Ou seja, não existe uma real “transferência” de informações da memória de curto prazo para a memória de longo prazo. O que ocorre é que a mesma informação é codificada simultaneamente por dois sistemas. O sistema relacionado à memória de curta duração é essencialmente bioquímico, enquanto que a memória de longa duração se sustenta em processos mais lentos de *plasticidade neuronal* (através de LTP). Dessa forma, é possível interferir em laboratório diretamente em um ou outro sistema, bloqueando a memória de curta ou de longa duração. Portanto, quando se fala em *consolidação da memória*, estamos nos referindo ao tempo que o processo de sedimentação da memória de longa duração leva para ser concluído. Nos primeiros momentos desse processo, a memória de longa duração é

altamente volátil e a informação, apesar de ainda estar presente e acessível através da memória de curta duração, pode facilmente não ser consolidada (e, conseqüentemente, esquecida). Muitos fatores são conhecidos por interromper esse processo, como por exemplo traumas e diversos tipos de drogas, mas provavelmente a maior causa de não consolidação seja a própria entrada de novas informações no sistema, que acaba por consolidar apenas as memórias com maior impacto emocional ou que simplesmente surgiram com maior frequência.

No entanto, do ponto de vista anatômico, as estruturas responsáveis pela formação da memória de curta e longa duração são basicamente as mesmas, quais sejam o hipocampo, o córtex entorrinal, giro denteado e outras regiões do lobo temporal. Essas estruturas se comunicam com outras regiões do cérebro, como o córtex pré-frontal (relacionado com a memória de trabalho, que participa na formação da memória de longa duração, mas não na de curta duração), e córtices de associação parietal (este, especialmente importante para a memória de curta duração), occipital e cingulado anterior (Izquierdo 2002).

2.2. Ressonância Magnética Funcional

2.2.1. Princípios Físicos

A ressonância magnética funcional se sustenta nos mesmos princípios físicos da ressonância nuclear magnética, que permitem a construção de imagens tomográficas detalhadas do cérebro e que não serão discutidos em detalhes nesta tese.

A evolução da tecnologia de ressonância magnética (RM) para ressonância magnética funcional (RMF) iniciou com os estudos de Linus Pauling e Charles Coryell, que em 1936 investigaram as propriedades da molécula de hemoglobina (Pauling and Coryell 1936).

Nesses estudos, eles descobriram que a hemoglobina possui propriedades magnéticas diferentes, dependendo do seu estado de oxigenação. A oxihemoglobina é diamagnética (relativamente indiferente ao campo magnético), enquanto que a deoxihemoglobina é paramagnética (atraída pelo campo magnético). A molécula de hemoglobina completamente desoxigenada possui uma susceptibilidade magnética aproximadamente 20% maior do que a hemoglobina completamente oxigenada.

Objetos com susceptibilidade magnética causam decaimento da magnetização transversal com conseqüente diminuição do sinal de RM em imagens ponderadas em T_2^* , como são as imagens ecoplanares (EPI) de RMF. Dessa forma, o sinal de RM causado pela hemoglobina deveria ser mais intenso quando o sangue está altamente oxigenado do que quando ele está privado de oxigênio. Essa hipótese foi verificada pela primeira vez, em tubo de ensaio, por Thulborn e colegas nos anos 80 (Thulborn, Waterton et al. 1982).

Ao longo do anos 80, foram realizadas as primeiras tentativas de utilizar RM para estudo da fisiologia cerebral. O estudo da fisiologia por RM é um tanto mais complicado do que o estudo da anatomia, pois os contrastes-padrão de RM se baseiam nas propriedades do hidrogênio, elemento amplamente distribuído pelo corpo humano, e com diferentes concentrações em diferentes tecidos. As reações metabólicas, no entanto, causam apenas alterações muito sutis na concentração de hidrogênio em determinado tecido, impedindo que a RM seja utilizada para aferição direta de eventos fisiológicos. Por isso, pesquisadores passaram a buscar alternativas de aferição indireta de metabolismo, como alterações de fluxo sanguíneo, por exemplo. Em 1890, Sherrington já dizia que “o cérebro possui um mecanismo intrínseco pelo qual seu fluxo sanguíneo pode ser variado localmente em correspondência com variações locais de atividade funcional” (Roy and Sherrington 1890). Baseado nesse conhecimento prévio, Ogawa e colegas conseguiram demonstrar em 1990 que, manipulando o nível de oxigenação sanguínea (através da concentração de oxigênio no ar respirado por

ratos), é possível diferenciar vasos com sangue oxigenado de vasos com sangue venoso em imagens de RM ponderadas em T_2^* . Este é considerado o primeiro estudo de RMF (Ogawa, Lee et al. 1990) e o contraste entre as imagens com sangue oxigenado e com sangue venoso foi posteriormente denominado “contraste BOLD” (do inglês, *Blood-Oxygenation-Level Dependent*). Em um estudo posterior (Ogawa and Lee 1990), Ogawa variou o grau de anestesia dos ratos, alterando conseqüentemente o nível de atividade metabólica cerebral, demonstrando também que o contraste BOLD pode também ser elicitado por variações do metabolismo cerebral isoladamente.

Hoje, o contraste BOLD é utilizado em exames de rotina de RMF. O aumento da atividade neuronal causado por determinada tarefa ou ação realizada pelo sujeito causa um discreto aumento da extração de oxigênio pelos tecidos e um grande aumento da perfusão cerebral regional. Por conseqüência, ocorre um aumento da concentração de oxihemoglobina com relação à deoxihemoglobina, o que finalmente causa aumento do sinal T_2^* .

2.2.2. Paradigmas

Após o descobrimento do efeito BOLD, o grande desafio técnico passou a ser o desenvolvimento de metodologias que utilizassem de forma eficiente o contraste produzido por diferentes níveis de oxigenação sangüínea. Diversas barreiras técnicas foram e continuam sendo superadas na área da RMF: i) O sinal BOLD é fraco. A variação de sinal na prática em tarefas motoras (que tipicamente produzem os sinais mais intensos) é da ordem de 2-3%; ii) É uma medida indireta de atividade neuronal, e o mecanismo que correlaciona as variáveis de atividade neuronal e de intensidade de sinal BOLD ainda não é completamente entendido; iii) Tanto o movimento de cabeça como o ruído dentro do aparelho de RM comumente causam

artefatos; iv) Ainda existe grande variabilidade inter- e intra-sujeitos (McGonigle, Howseman et al. 2000; Smith, Beckmann et al. 2005).

Para superar todas essas dificuldades, pesquisadores passaram a aplicar métodos estatísticos à RMF, de forma semelhante à já realizada em estudos de PET. A forma de lidar com as incertezas listadas acima passou a ser a obtenção de muitas imagens do cérebro em diferentes “estados” ou “condições”, organizados em “paradigmas”, para que a diferença entre elas pudesse ser estatisticamente determinada. O mais simples desses paradigmas é o “paradigma em bloco”. No paradigma em bloco, duas ou mais condições são comparadas em uma mesma seqüência através de dois ou mais blocos. Sujeitos podem alternar blocos de tarefa propriamente dita (como mexer a mão, por exemplo), com blocos de controle. As imagens obtidas durante cada um dos tipos de blocos podem então ser comparadas estatisticamente.

Apesar de simples, os paradigmas de bloco podem ser extremamente poderosos (Liu 2004). De fato, os paradigmas em bloco são o que apresentam o maior poder de detecção de atividade cerebral, pois cada bloco resulta na sobreposição da resposta hemodinâmica referentes a vários eventos de um mesmo tipo (relacionados a uma mesma condição). Isso facilita a diferenciação das respostas hemodinâmicas típicas de cada condição. A figura RT1 apresenta o diagrama de um paradigma em bloco típico.



Figura RT1. No paradigma em bloco, um número fixo de volumes cerebrais funcionais é adquirido em cada intervalo de tarefa e de controle. No exemplo acima, existem apenas duas

condições (ou dois tipos de blocos), que podem ser comparadas entre si através de contrastes estatísticos.

Uma das principais desvantagens dos paradigmas em bloco, no entanto, é que cada condição precisa ser previamente estabelecida. Por exemplo, num estudo de codificação de memória, o paradigma pode consistir de imagens desconhecidas (que precisam ser memorizadas) e imagens conhecidas (que já foram memorizadas). Nesse caso, o pesquisador deve previamente selecionar essas imagens e preencher cada bloco com imagens de um único tipo. Mas caso queiramos que uma das condições seja aquela das imagens memorizadas com sucesso durante a tarefa, precisaremos aferir *a posteriori* quais foram as imagens efetivamente memorizadas e quais foram as imagens esquecidas pelo sujeito. Nesse caso, os blocos de imagens desconhecidas (compostos por uma seqüência de eventos de um mesmo tipo) se desintegrariam e no seu lugar restariam eventos aleatoriamente alternados de imagens previamente desconhecidas memorizadas com sucesso e imagens previamente desconhecidas que não foram memorizadas (ou memorizadas e esquecidas). A análise de eventos aleatoriamente alternados e condições definidas *a posteriori* se tornaram possíveis a partir do desenvolvimento do paradigma relacionado a eventos (*event-related paradigm*).

A partir da descoberta por Buckner et al. em 1996 (Buckner, Bandettini et al. 1996) de que eventos isolados são capazes de produzir resposta hemodinâmica—apesar desta ser menos intensa do que aquela vista nos paradigmas em bloco (1% vs. 2-3%)—os pesquisadores em neuroimagem funcional passaram a poder desenvolver paradigmas relacionados a eventos cada vez mais avançados, criativos e complexos. Os primeiros estudos desse tipo buscavam medir, para cada estímulo discreto apresentado, a resposta hemodinâmica associada, cuja duração varia entre 10 e 15s. Esses paradigmas eram pouco eficientes, pois cada seqüência de 100 estímulos podia durar até 1500s ou 25 min. Ainda em

1996, Boynton e colaboradores demonstraram que a resposta hemodinâmica gerada por cada estímulo depende da intensidade e da duração do estímulo e que as respostas a estímulos sucessivos não interagem (Boynton, Engel et al. 1996). Portanto, seria possível apresentar estímulos com intervalos muito mais curtos e separar matematicamente as respostas hemodinâmicas médias de cada um dos tipos de estímulo. A condição para isso, no entanto, é que a ordem de apresentação dos estímulos de cada tipo seja aleatória e que o intervalo entre os estímulos também varie aleatoriamente. Esse tipo de paradigma relacionado a eventos com intervalo entre estímulos (IEE) curto é chamado de *fast event-related* ou paradigma relacionado a eventos rápidos. A figura RT2 apresenta um exemplo semelhante ao que foi utilizado nesta tese.

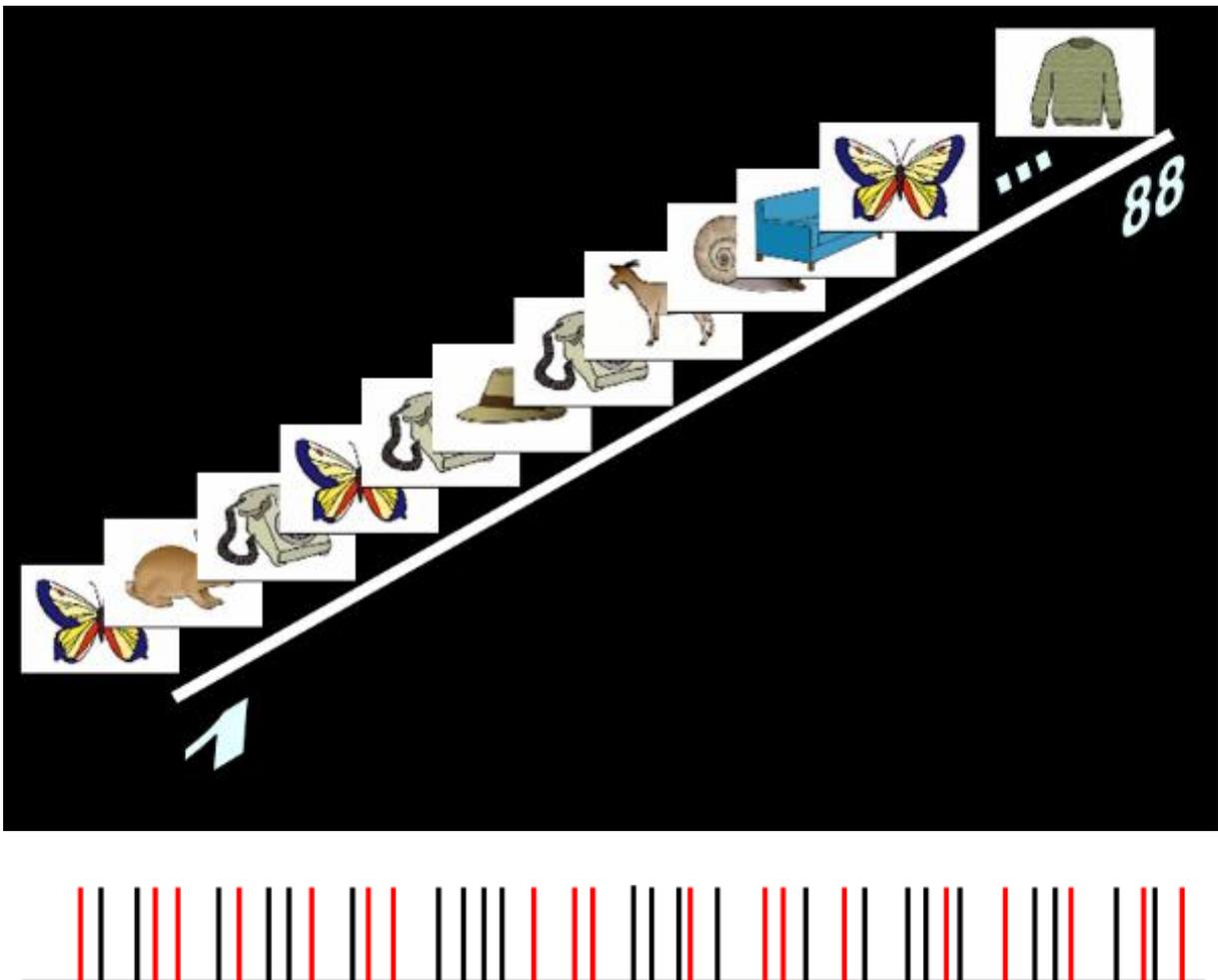


Figura RT2. A figura representa um paradigma relacionado a eventos. Duas condições estão presentes: imagens que aparecem repetidamente (telefone e borboleta) e imagens que aparecem apenas uma vez (demaís). A seqüência de pulsos na parte inferior da figura representa um paradigma relacionado a eventos rápidos. Tanto a ordem das imagens quanto o intervalo entre elas é randômico (as duas condições são representadas respectivamente em vermelho e preto).

Paradigmas relacionados a eventos já foram utilizados para avaliação de memorização de palavras, mostrando lateralização para o LTM esquerdo (Richardson, Strange et al. 2003), e de estímulos não verbais, sem lateralização definida (Fernandez, Weyerts et al. 1998). Mas os paradigmas em bloco têm sido o principal método utilizado para obter as lateralizações de LTM na maioria dos estudos, que demonstraram uma importante influência do grau de “verbalidade” do material memorizado.

2.2.3. Contrastes e Mapas de Ativação

Independentemente do paradigma utilizado, ele deverá sofrer uma análise estatística com o objetivo de identificar a resposta hemodinâmica referente a cada condição. Após o processamento estatístico da seqüência temporal de imagens funcionais, é preciso gerar os mapas de ativação funcional. Mas o processamento estatístico não gera esses mapas automaticamente; ele apenas identifica a resposta hemodinâmica referente às condições presentes no paradigma. Para gerar os mapas finais, é preciso informar ao modelo como essas condições serão comparadas uma com a outra. Para isso, são utilizados “contrastes”. Em um paradigma com duas condições A e B (seja em bloco ou relacionado a eventos), podemos testar quais áreas foram ativadas por A, mas não por B, ou por B, mas não por A. Podemos

calcular também as ativações referentes às duas condições juntas ou a cada uma isoladamente. Para cada uma dessas situações, precisaremos de um contraste diferente.

A figura RT3 apresenta um mapa de ativação com a respectiva representação gráfica do paradigma e do contraste utilizado.

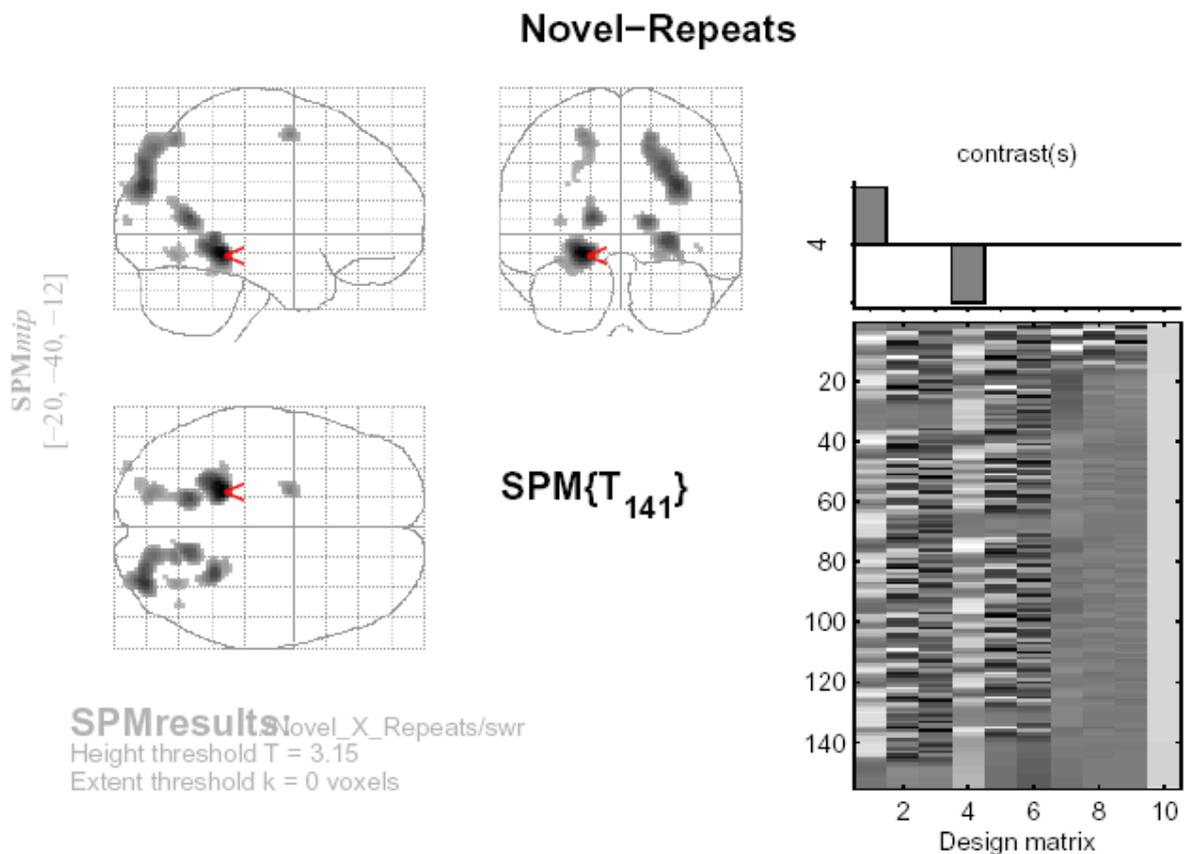


Figura RT3. Tela de resultados típica do programa SPM. As ativações estão representadas dentro do “cérebro de vidro”. O paradigma é representado na forma de colunas, à D. O paradigma acima possui 141 graus de liberdade, conforme calculado pelo SPM, e possui 9 colunas. As condições “novos” e “repetidos” estão representadas nas colunas 1 e 4, respectivamente. A coluna 7 contém um regressor que elimina os primeiros itens da condição “repetidos” da análise, pois as primeiras apresentações dos itens repetidos configuram na prática itens novos para o sujeito. Adjacente às colunas 1, 4 e 9, duas outras colunas representam regressores de tempo e dispersão, que servem para minimizar determinados artefatos tipicamente presentes em paradigmas relacionado a eventos. Perceba os intervalos

randômicos entre os eventos apresentados nas colunas 1 e 4 e como os eventos de ambas as colunas são complementares. Quando ocorre evento em uma coluna (faixa branca), a outra fica escura. As ativações demonstradas na figura foram obtidas durante a memorização de padrões por um dos sujeitos-controle discutidos nessa tese. Veja também seção de Metodologia para maiores informações.

2.3. Lobo Temporal Medial

2.3.1. Relevância Clínica

Os lobos temporais mediais são essenciais para processos de codificação e recuperação de memória declarativa (Scoville and Milner 1957; Squire and Zola-Morgan 1991; Squire 1992; Eichenbaum 2000). Como o LTM é um local freqüente de foco epiléptico refratário ao tratamento medicamentoso, pacientes selecionados podem se beneficiar de ressecção cirúrgica do LTM afetado. Entretanto, é essencial que se entenda previamente a uma cirurgia as contribuições relativas de cada um dos dois LTMs (particularmente a contribuição do LTM contra-lateral) com relação à função de memória para evitar déficit de memória pós-cirúrgico (Branco, Whalen et al. 2005; Branco and Da Costa 2006). Para isso, testagem de memória é realizada de rotina na avaliação pré-operatória em centros de cirurgia da epilepsia de referência. Medidas de lateralização de memória podem ajudar na avaliação da reserva funcional em ambos os lados e na definição quanto a indicação ou não de cirurgia e até que ponto estender a ressecção (Akanuma, Koutroumanidis et al. 2003).

Ao contrário da lateralização de linguagem, que costuma ser mais consistente intra-sujeitos, a lateralização da memória, é complexa, pois varia de acordo com o tipo de material memorizado (Kelley, Miezin et al. 1998; Golby, Poldrack et al. 2001; Golby, Poldrack et al.

2002), com a estratégia de memorização (Tulving, Kapus et al. 1994; Nyberg, McIntosh et al. 1996; Habib, Nyberg et al. 2003), e mesmo com o estágio de processamento de memória estudado (codificação x reconhecimento, por exemplo). Além disso, a memória não pode ser conscientemente controlada de forma tão simples como a linguagem.

Tradicionalmente, em estudos de lesões cirúrgicas, o LTM esquerdo tem sido mais relacionado com a memorização de estímulos verbais (Ivnik, Sharbrough et al. 1987; Frisk and Milner 1990), enquanto que o LTM direito tem sido mais relacionado com a memorização de estímulos não verbais ou visuais (Smith and Milner 1981; Spiers, Burgess et al. 2001). Mais recentemente, essa lateralização de memória relacionada a material foi também observada por estudos de RMF nos lobos frontais (Wagner, Poldrack et al. 1998; McDermott, Buckner et al. 1999) e nos LTMs (Martin, Wiggs et al. 1997; Kelley, Miezin et al. 1998; Golby, Poldrack et al. 2001; Golby, Poldrack et al. 2002). No entanto, em nenhum desses estudos, a dicotomia de memória verbal à esquerda e memória visual à direita foi estabelecida tão claramente quanto a lateralização de linguagem para a esquerda. De fato, esses estudos demonstram que existe uma “tendência” ou “preferência” de lateralização conforme o tipo de material, onde, na prática, os dois LTM estão concomitantemente envolvidos em maior ou menor grau.

Outro aspecto pouco estudado da ativação hipocampal por RMF é a diferença de lateralização em diferentes regiões do hipocampo ou do LTM. A experiência clínica em pacientes com distúrbios de memória após ressecção do LTM anterior sugere que as regiões anteriores sejam cruciais para a memorização de novas informações. No entanto, a maior parte dos estudos funcionais revela ativações principalmente nas regiões posteriores do hipocampo e do LTM (Stern, Corkin et al. 1996; Gabrieli, Brewer et al. 1997; Detre, Maccotta et al. 1998; Fernandez, Weyerts et al. 1998; Kelley, Miezin et al. 1998; Dupont, Van de Moortele et al. 2000; Kirchoff, Wagner et al. 2000; Golby, Poldrack et al. 2001). Isso

pode estar relacionado com artefatos de susceptibilidade presentes nas regiões anteriores (Glover and Law 2001) ou com a influência de ativações em áreas adjacentes ao LTM posterior, como giro fusiforme e outras regiões occipitais, que naturalmente se ativam em tarefas de memorização de estímulos visuais. Etapas de pré-processamento, como suavização e normalização podem fazer as ativações occipitais se expandirem artificialmente para as regiões posteriores do LTM.

2.3.2. Métodos de Avaliação

Tradicionalmente, o Teste do Amital Sódico (TAS ou Teste de Wada) tem sido empregado para o estudo da lateralização de memória (Wada and Rasmussen 1960; Milner, Branch et al. 1962). O TAS consiste na injeção de amobarbital sódico, um anestésico, na artéria carótida interna, causando uma desativação temporária do hemisfério cerebral ipsilateral. Durante o período de inatividade hemisférica, é realizada testagem neuropsicológica para determinar a função cognitiva sustentada pelo lado contra-lateral. O TAS foi desenvolvido inicialmente para determinar lateralização de linguagem, mas tem sido comumente utilizado para lateralização de memória também. Como um teste de memória, no entanto, o TAS sofre diversos problemas: tem resolução espacial e temporal pobre; ainda não está claro se o seu efeito é causado por desativação direta ou por deafferentação de estruturas do LTM (particularmente as regiões posteriores, supridas pela circulação posterior)(Jack, Nichols et al. 1989); não pode ser prontamente repetido (Simkins-Bullock 2000); é invasivo (acarretando em riscos relacionados à cateterização (Dion, Gates et al. 1987)). Mesmo assim, porque o TAS simula os efeitos da ablação cirúrgica e em função da experiência de diversos centros com o exame, ele é considerado padrão-ouro para avaliação pré-operatória de lateralização de memória (Akanuma, Koutroumanidis et al. 2003).

Mais recentemente, técnicas de neuroimagem funcional, como a Tomografia por Emissão de Pósitrons (PET) e a ressonância magnética funcional (RMF), têm sido avaliadas como potenciais substitutas à técnica de TAS (Akanuma, Koutroumanidis et al. 2003). A RMF é particularmente promissora para o estudo da memória por ser não-invasiva, ter muito boa resolução espacial, ser facilmente repetida, e permitir o estudo de múltiplas funções cerebrais. Além disso, sua capacidade de identificar ativações nos LTMs durante memorização já foi bem demonstrada em sujeitos normais (Stern, Corkin et al. 1996; Gabrieli, Brewer et al. 1997; Kelley, Miezin et al. 1998; Dolan and Fletcher 1999; Martin 1999; Schacter and Wagner 1999; Golby, Poldrack et al. 2001), e em pacientes com epilepsia (Bellgowan, Binder et al. 1998; Detre, Maccotta et al. 1998; Killgore, Glosser et al. 1999; Dupont, Van de Moortele et al. 2000; Jokeit, Okujava et al. 2001; Deblaere, Backes et al. 2002; Golby, Poldrack et al. 2002; Richardson, Strange et al. 2003).

2.3.3. Lateralização de Memória por RMF

Apesar dessas vantagens, ainda existem diversos problemas não resolvidos com relação ao uso de RMF para determinação de lateralização de memória. Um desses problemas está relacionado com o uso de limiares estatísticos arbitrários para definir o que é considerado uma ativação válida e o que não é. A maior parte dos estudos que utilizaram RMF para mapeamento clínico de memória seguiram a abordagem padrão de arbitrariamente selecionar um limiar estatístico, normalmente um valor de P que na literatura varia de 0.00003 a 0.01 (Bellgowan, Binder et al. 1998; Detre, Maccotta et al. 1998; Killgore, Glosser et al. 1999; Dupont, Van de Moortele et al. 2000; Jokeit, Okujava et al. 2001; Deblaere, Backes et al. 2002; Golby, Poldrack et al. 2002; Richardson, Strange et al. 2003). Devido ao fato de que a pesquisa com RMF se baseia fundamentalmente em mapas de ativação, nenhum estudo de

memória utilizou em sua análise voxels fracamente ativados, os quais podem ser úteis se considerarmos que o limiar estatístico foi escolhido arbitrariamente. Esses voxels podem ser particularmente importantes para a região do LTM, que geralmente apresenta ativações fracas em tarefas de memória devido a artefatos locais de susceptibilidade (Glover and Law 2001) e ao fato de que essas regiões estão continuamente ativadas (Buckner, Wheeler et al. 2001), levando a pequenas mudanças relativas do nível de atividade neural entre condições de tarefa e de controle.

Ativações fracas resultam em mapas paramétricos estatísticos (MPE) que contêm voxels com valores de T baixos. Como os índices de lateralização (IL) são tradicionalmente calculados utilizando apenas voxels com valores de T acima de um determinado ponto arbitrário, o cálculo dos ILs pode ser tornar impossibilitado se apenas poucos ou nenhum voxel obtiver um valor de T acima do limiar. Para complicar ainda mais o uso de limiares arbitrários, limiares que normalmente resultam em aproximadamente o mesmo nível de ativação, i.e., mesmo número de voxels ativados em determinada região de interesse (RDI), variam amplamente de sujeito para sujeito. E no mesmo sujeito, diferentes limiares podem resultar em ILs para lados opostos. Alguns estudos têm tentado utilizar limiares mais baixos para incluir também voxels estatisticamente menos significativos no cálculo do IL, possibilitando o cálculo ILs em um número maior de sujeitos, mas poucos têm explorado o uso de metodologias absolutamente independentes de limiar (Nagata, Uchimura et al. 2001). Isso é parcialmente devido ao fato de que LIs têm sido principalmente utilizados para avaliar lateralização de linguagem (Desmond, Sum et al. 1995; Binder, Swanson et al. 1996; Springer, Binder et al. 1999; Deblaere, Backes et al. 2002; Rutten, Ramsey et al. 2002; Adcock, Wise et al. 2003; Sabbah, Chassoux et al. 2003), a qual tende a envolver amplas regiões de ativação e tipicamente resulta em uma alta relação sinal/ruído. Além disso, como existe relativamente um grande número de voxels ativados nas regiões de linguagem, uma

simples comparação por quantificação dos números de voxels ativados em cada lado do cérebro é normalmente suficiente para identificar o lado dominante. Regiões do LTM, no entanto, são pequenas e sua lateralização depende de muitas variáveis, conforme discutido acima. Nessa tese, nós hipotetizamos, portanto, que lateralizações de LTM extraídas da total distribuição de voxels, onde cada um é ponderado pelo seu respectivo peso estatístico, podem ser mais consistentes do que aquelas calculadas apenas comparando o número de voxels ativados em cada lado acima de um determinado limiar arbitrário.

Um outro ponto relevante, e que raramente é discutido na literatura, é a comparação quantitativa de ILs obtidos de pacientes com aqueles obtidos de controles saudáveis. Embora seja possível calcular índices de lateralização por TAS, a maioria dos centros descreve os resultados do TAS de uma forma qualitativa (direita, esquerda ou bilateral), já que os escores de TAS são normalmente obtidos de um número limitado de estímulos. A RMF, no entanto, permite o cálculo de uma gama muito maior de ILs numéricos, que podem ser comparados com a lateralização média da população. Um TAS mostrando o lado esquerdo dominante para memória, por exemplo, apesar de identificar a dominância do paciente, diz pouco sobre como a lateralização para a esquerda daquele determinado paciente se compara com relação à lateralização média da população, que também será para a esquerda. Portanto, nós também hipotetizamos nesta tese que a lateralização de memória por RMF de um paciente que esteja dois ou mais desvios-padrão (DP) além da lateralização média do grupo controle possa ser clinicamente significativa para avaliação pré-operatória.

Nesta tese, nós focamos principalmente no estudo do hipocampo anterior, já que a lobectomia temporal medial normalmente inclui o LTM anterior, mas não suas porções mais posteriores. Evidência clínica dessas ressecções sugere que o hipocampo anterior (HCA) é crítico para a memorização de novas informações, mas muitos estudos de RMF têm revelado ativações mais intensas na região do hipocampo posterior (Stern, Corkin et al. 1996; Detre,

Maccotta et al. 1998; Kelley, Miezin et al. 1998; Dupont, Van de Moortele et al. 2000; Kirchhoff, Wagner et al. 2000; Golby, Poldrack et al. 2001; Powell, Koepp et al. 2005). Se isso é secundário a um sinal fraco de RMF no HCA, levando a uma predominância de voxels fracamente ativados, ou ao suavizamento de áreas posteriores ao LTM altamente ativadas, como os giros fusiforme e lingual, ainda não está claro. Nós portanto comparamos a lateralização por RMF no hipocampo anterior (HCA) durante tarefas de memorização em sujeitos normais e pacientes utilizando a abordagem padrão de quantificação de voxels ($QtVx$) com as lateralizações obtidas utilizando todos os voxels ponderados pelo seu peso estatístico, com o objetivo de encontrar uma melhor correlação entre RMF do HCA e os achados clínicos. Outras regiões, entretanto, também foram parcialmente avaliadas. Nós testamos três tipos de ponderação: um utilizando estatística T e dois com base na estatística P (mais superficialmente, foram testados também ponderações que também incluíam voxels com valores de T negativos—ou $P > 0,5$). Para identificar qual tipo de ponderação é o mais consistente (menos variável), nós utilizamos o desvio-padrão (DP) do grupo controle saudável como indicador de variabilidade. Para validar a nossa abordagem, nós selecionamos cinco pacientes para os quais a lateralização de memória tinha sido previamente estabelecida por TAS bilateral e avaliamos em que extensão os ILs nesses pacientes, calculados pelos três diferentes tipos de ponderação, podiam ser diferenciados da lateralização média do grupo controle.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Desenvolver e aplicar técnica de cálculo de lateralização de memória independente de limiar estatístico, e comparar as lateralizações obtidas por essa técnica com índices de lateralização tradicionais (baseados no uso de limiares estatísticos) e com índices de lateralização obtidos pelo Teste do Amital Sódico (TAS).

3.2. Objetivos Específicos

1. Identificar e quantificar diferenças de lateralização de memória causadas pela memorização de imagens com diferentes graus de “verbalizidade”, como palavras, cenas e padrões.

2. Produzir mapas de ativação de memória individuais e de grupo para identificação das principais regiões cerebrais correlacionadas com a codificação de novas memórias.

3. Produzir mapas de ativação e índices de lateralização com foco na região do hipocampo anterior.

4. Desenvolver programa de computador para apresentação de estímulos visuais através de paradigma relacionado a eventos.

5. Estudar diferenças entre ativações causadas somente por imagens novas (contraste “novos > repetidos”) e aquelas causadas por imagens novas que foram posteriormente reconhecidas (contraste “lembrados > repetidos”).

6. Avaliar importância de voxels negativamente correlacionados com a seqüência de estímulos.

7. Estudar efeito combinado de palavras, cenas e padrões por análise de efeitos fixos em pacientes e sujeitos normais.

4. METODOLOGIA

4.1. Recrutamento e Seleção

O recrutamento de controles e pacientes para esta pesquisa, assim como a aquisição das imagens, foi conduzido no Departamento de Neurocirurgia do Brigham & Women's Hospital, em Boston, Massachusetts, EUA (<http://www.brighamandwomens.com>). O estudo recebeu aprovação do Comitê de Ética (Institutional Review Board) do Partners HealthCare (<http://www.partners.org> - instituição que representa todos os hospitais de ensino da Escola de Medicina de Harvard), e todos os sujeitos assinaram consentimento livre e esclarecido (Anexo 1).

4.1.1. Sujeitos Normais

4.1.1.1. Delineamento

Tanto sujeitos normais como pacientes foram prospectivamente inseridos no estudo. O delineamento que melhor se aproxima do que foi utilizado nesta tese é o de “quase-experimento”. Isso decorre do fato de que nossa principal unidade de medida não foram sujeitos, mas sim diversos índices de lateralização obtidos de diversos modos em diferentes sujeitos, tanto casos, como controles. O estudo poderia ser também considerado uma série de

casos, haja visto que apenas cinco pacientes foram incluídos na análise. No entanto, como o nosso objetivo principal não foi o de comparar casos e controles, mas sim o de comparar diferentes técnicas para cálculo de índices de lateralização, o termo “quase-experimento” é o que melhor se aplica neste caso.

4.1.1.2. Critérios de inclusão

Sujeitos deveriam ser destros e ter inglês como língua nativa, podendo ser de qualquer etnia. Faixa etária deveria estar entre 18 e 35 anos. Todos os sujeitos deveriam possuir pelo menos segundo grau (high school) completo.

4.1.1.3. Critérios de exclusão

Sujeitos não deveriam possuir história médica passada de distúrbios neurológicos e/ou psiquiátricos.

4.1.1.4. Recrutamento

Treze sujeitos saudáveis (7 mulheres e 6 homens) foram incluídos na pesquisa. O recrutamento foi realizado através de cartazes espalhados pelo campus da Escola de Medicina de Harvard e através de um website de classificados populares chamado Craigslist (<http://boston.craigslist.org>). Cada voluntário recebeu uma compensação de 40 dólares americanos por duas horas de participação no estudo. A média de idade foi de 25,2 anos (DP = 4,1 anos). A tabela M1 apresenta o perfil demográfico dos sujeitos saudáveis recrutados.

Sujeitos	Sexo	Idade	Etnia
(Registro)			
5106	F	22	Caucasiano
5108	M	22	Caucasiano
5109	F	22	Caucasiano
5111	M	29	Caucasiano
5112	F	32	Caucasiano
5113	F	26	Árabe
5114	F	23	Caucasiano
5115	M	26	Caucasiano
5117	F	23	Caucasiano
5119	F	22	Caucasiano
5120	M	33	Caucasiano
5121	F	27	Caucasiano
5122	F	20	Asiático

Tabela M1. Perfil demográfico dos controles.

Para este estudo, não foi calculado o número necessário de sujeitos. Simplesmente, escolhemos um número sugerido pela literatura para pesquisas em RMF (Desmond and Glover 2002) e que satisfazia os objetivos do presente estudo.

4.1.2. Pacientes

Foram incluídos neste estudo 5 pacientes. Todos possuíam epilepsia e realizaram TAS bilateral, necessário para cálculo de um IL_{TAS} . Eles foram inseridos prospectivamente no estudo e foram todos provenientes do Ambulatório de Neurocirurgia (Neurosurgery Clinic) do Brigham & Women's Hospital, originários de uma coorte de 8 pacientes que tiveram tanto TAS quanto RMF. Três foram excluídos porque o TAS foi realizado unilateralmente. A tabela R1 apresenta os dados clínicos referentes a cada paciente. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Partners Healthcare Inc.

4.2. Ressonância Funcional

4.2.1. Paradigma Cognitivo

O paradigma cognitivo foi desenvolvido para demonstrar efeitos tanto de memorização como de reconhecimento no LTM e em outras regiões cerebrais.

4.2.1.1. Estímulos

Foram estudados três modalidades de estímulos nessa pesquisa: padrões, cenas e palavras (figura M1). Essas modalidades possuem graus de “verbalizabilidade” distintos, sendo as palavras os estímulos mais verbalizáveis; e padrões, os menos verbalizáveis (Golby, Poldrack et al. 2001). Além disso, cada uma das modalidades podia ser subdividida em dois tipos, conforme figura M1.

Padrões foram obtidos de locais diversos na Internet; cenas foram obtidas de bancos de dados Corel (Corel Corp., Ottawa, ON, Canadá); e palavras foram extraídas do Toronto Word Pool (Friendly, Franklin et al. 1982).



Figura M1. Modalidades de estímulos. As palavras utilizadas foram em inglês em vista da população estudada.

4.2.1.2. Memorização

Foram realizadas nos controles três tarefas de memorização, cada uma utilizando uma modalidade de estímulos específica, e cada uma sendo executada dentro de uma única seqüência de RMF. Em cada tarefa, 88 estímulos foram apresentados utilizando o MRER (método relacionado a eventos rápidos ou, do inglês, *event-related*), dos quais 44 foram apresentados somente uma vez (condição “novos”) e 2 foram apresentados 22 vezes cada um (condição “repetidos”). Os estímulos do tipo “novos”, conforme resultado da tarefa de reconhecimento, puderam ser subclassificados em “novos lembrados” e “novos esquecidos”. As ativações observadas durante a memorização foram estudadas pelos contrastes “novos > repetidos” e “lembrados > repetidos”.

Os estímulos foram apresentados através de óculos de vídeo compatíveis com aparelhos de RM (Resonance Technology, Los Angeles, CA, EUA, <http://www.mrvideo.com>, figura M2). Esse tipo de dispositivo possui a vantagem de envolver todo o campo visual na apresentação do estímulo, evitando distratores externos. Ele também ajuda a diminuir a ansiedade que ocorre em muitas pessoas ao entrar no aparelho de RM, pois torna-se mais difícil perceber a restrição de espaço no núcleo do magneto. Durante a aquisição de imagens estruturais do cérebro, os óculos foram utilizados para entretenimento dos sujeitos, com apresentação de documentários sobre a vida marinha.



Figura M2. Óculos de vídeo utilizados para apresentação de estímulos.

Cada estímulo foi apresentado por 2000 ms, e o intervalo entre estímulos (IEE) variou aleatoriamente entre 1000 e 1500 ms. O uso de IEEs irregulares é uma exigência do MRER e tem por objetivo causar uma dessincronização dos picos de resposta hemodinâmica (RHD) que, caso contrário, se sobreporiam, impedindo a análise estatística do sinal. A ordem de apresentação dos 88 estímulos de cada tarefa foi randomizada, assim como foi a ordem de execução das tarefas.

Os estímulos em cada tarefa, além de pertencerem à categoria “novos” ou à categoria “repetidos”, podiam ser também de dois subtipos: padrões podiam ser irregulares ou regulares; cenas, externas ou internas; e palavras, concretas ou abstratas. Dos 44 itens “novos”, 22 pertenciam a uma dessas categorias e 22 à outra. Idem para os 44 itens “repetidos”. Os sujeitos deveriam indicar através de um aperto de botão, a qual categoria cada estímulo pertencia. Na tela (figura M3), abaixo de cada estímulo, uma linha indicava qual botão deveria ser utilizado para indicar cada categoria (o botão da direita ou o da esquerda). Além de conduzir a resposta comportamental (aperto de botão) de cada estímulo, a caixa de botões (Current Designs Inc., Philadelphia, PA, EUA, <http://www.curdes.com>, figura M4) também informava ao computador de registro sobre cada pulso de radiofrequência (RF) emitido pelo aparelho de RM.

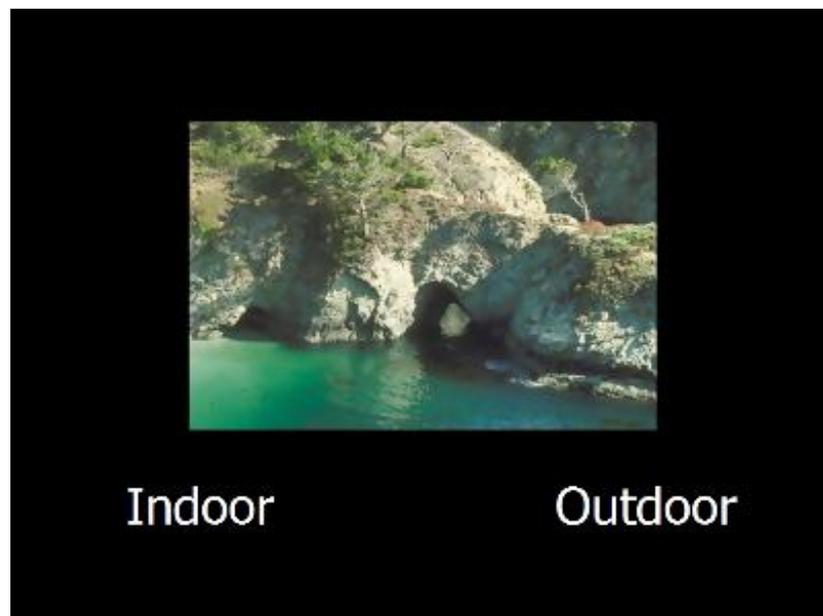


Figura M3. Apresentação de estímulo com instruções (tela típica deste estudo). O sujeito deveria apertar o botão esquerdo se a cena fosse interna (indoor), ou o direito se fosse externa (outdoor).



Figura M4. Caixa de botões. Apenas botões esquerdo (verde) e direito (azul) foram utilizados.

A apresentação dos estímulos foi inteiramente controlada por um programa, chamado “pyMem”, desenvolvido no próprio laboratório (pelo próprio aluno). Esse programa foi baseado na biblioteca de programação “pyEPL” (Python Experiment Programming Library) do Laboratório de Memória Computacional da Universidade da Pennsylvania (Philadelphia, PA, EUA) e roda em plataforma Linux; nesta pesquisa, em um computador portátil Dell (Round Rock, TX, EUA). Além de planejar (randomizar) e executar a apresentação dos estímulos, esse programa registra também o momento, com resolução de milissegundos, em que cada apertado de botão e cada pulso de radiofrequência (RF) foi recebido pelo computador. Esse registro foi posteriormente utilizado para a geração de vetores contendo os marcadores de tempo (timestamps) de cada estímulo, necessários para processamento do sinal de RMF pelo MRER.

4.2.1.3. Reconhecimento

A tarefa de reconhecimento foi realizada em controles de forma muito semelhante à de memorização, embora ela tenha sido realizada algumas vezes fora do aparelho de RM, por questões de tempo. Em pacientes, ela não foi realizada devido à longa extensão dos protocolos de memorização e reconhecimento combinados. Quando realizada fora do aparelho, a tarefa de reconhecimento serviu basicamente para subclassificar os estímulos “novos” da tarefa de memorização em “novos lembrados” e “novos esquecidos”.

Assim como na memorização, no reconhecimento também foram apresentados 88 estímulos em cada tarefa. Para cada uma das cinco modalidades de estímulos, foi realizada uma tarefa de reconhecimento. Dos 88 estímulos, 44 eram exatamente os mesmos 44 estímulos “novos” da respectiva tarefa de memorização (que no reconhecimento foram chamados de “antigos”), e 44 eram estímulos que não haviam sido apresentados durante a memorização (chamados de “distratores”). O sujeito deveria indicar através da caixa de botões se o estímulo sendo apresentado era antigo ou se era um distrator. Conforme as respostas, os estímulos das tarefas de reconhecimento puderam ser subclassificados em “antigos corretos” (corretamente identificados como antigos), “antigos incorretos” (antigos identificados como distratores), “distratores corretos” (corretamente identificados como distratores), e “distratores incorretos” (distratores identificados como antigos). Essas 4 condições permitem o cálculo de diversos tipos de contrastes. Nesta pesquisa, utilizamos para as tarefas de reconhecimento, os contrastes “estímulos corretamente lembrados > linha de base” e “todos estímulos previamente apresentados > linha de base” (contrastos com melhor consistência na produção de mapas de ativação).

4.2.2. Aquisição de Imagens

As imagens funcionais foram adquiridas com um aparelho de RM de 3T modelo Signa (General Electric, Milwaukee, WI, EUA). A bobina de RF foi posicionada ao redor da cabeça da forma padrão (mesma para exames de encéfalo de rotina), e suportes laterais foram utilizados para imobilização da cabeça. Os volumes cerebrais funcionais foram adquiridos através de uma seqüência do tipo EPI espiral para reduzir os artefatos de suscetibilidade da região temporal (Glover and Lai 1998). Cada volume de 29 fatias axiais (5mm de espessura) foi completamente adquirido em 2s. Volumes foram adquiridos continuamente, sem nenhum intervalo. Resolução espacial planar foi de 3,75 mm, TR de 2000 ms, TE de 40 ms, ângulo de inclinação de 68°, campo de visão de 24 cm, e matriz foi de 64 x 64 pixels. Imagens spin-eco ponderadas em T₂ foram adquiridas para todas as fatias funcionais adquiridas (matriz = 512 x 512). Um volume MPRAGE (do inglês, *Magnetization Prepared RAPid Gradient Echo*) ponderado em T₁ foi adquirido para servir como base para sobreposição das imagens funcionais (matriz = 256 x 256).

4.2.3. Processamento Estatístico de Imagens

As imagens funcionais foram convertidas do formato General Electric (GE) original para formato ANALYZE (próprio do programa SPM2) através de um código de MatLab desenvolvido no próprio laboratório. Correção de movimento foi realizada pelo programa SPM2 (Wellcome Department of Imaging Neuroscience, London, RU). Normalização para o espaço MNI (em referência ao Montreal Neurological Institute) foi realizada para permitir a análise das mesmas regiões de interesse (RDI) em todos os sujeitos, inclusive pacientes. A validade da normalização de imagens de pacientes é bastante discutível, já que cérebros

lesionados podem resultar em distorções da anatomia e ativações artefatuais após a normalização. Em nossa amostra de pacientes, no entanto, as lesões eram discretas e restritas ao lobo temporal, o que provavelmente resultou em mínimo ou nenhum prejuízo devido ao processo de normalização. Após normalização, foi realizada suavização das imagens utilizando um *kernel* gaussiano de 8 mm, com o objetivo de diminuir “artefatos de fronteira” (relacionados à transição de tecidos).

Após seqüências de pré-processamento (correção de movimento, normalização e suavização), o processamento estatísticos das séries temporais foi também realizado em SPM2. O modelo linear geral (MLG), que demonstra através de uma matriz gráfica (*design matrix*) a relação entre as diversas condições de um experimento, foi criado a partir de vetores (séries de números) que continham o momento exato da apresentação de cada uma das imagens. Covariáveis de movimento não foram incorporadas ao modelo. Com base nos arquivos de registro gerados pelo programa de apresentação pyMem durante o experimento, um segundo programa em Python, também desenvolvido pelo aluno, foi utilizado para gerar vetores para as condições “novos”, “novos lembrados”, “novos esquecidos” e “repetidos” (referentes à memorização); e “antigos corretos”, “antigos incorretos”, “distratores corretos” e “distratores incorretos” (referentes ao reconhecimento).

Em uma análise de primeiro nível (*first level analysis*), respostas referentes a cada estímulo foram modeladas através de um paradigma relativo a eventos (*event-related design* (Friston, Fletcher et al. 1998)), onde a funções delta referentes a cada evento foram convoluídas com a função de resposta hemodinâmica para a criação de regressores representativos de cada uma das condições, os quais foram organizados na forma de matrizes gráficas (figuras M5-M8). As matrizes gráficas foram elaboradas de três formas diferentes para as tarefas de memorização, conforme o contraste desejado. A primeira forma (figura M5) foi utilizada para o cálculo do contraste “novos > repetidos” individualmente para cada

modalidade de estímulo; a segunda forma (figura M6) foi utilizada para cálculo do contraste “lembrados > repetidos”; e a terceira forma (figura M7) foi utilizada para o cálculo do contraste “novos > repetidos” da combinação de todas as três modalidades de estímulo estudadas (análise de primeiro nível—intra-sujeito—e de efeitos fixos (AEF—do inglês, *fixed-effects analysis*)—entre materiais). Para as tarefas de reconhecimento, a matriz foi elaborada de uma forma apenas para todos os contrastes (figura M8). Um cofator chamado “novidade” foi incluído para lidar com as primeiras aparições dos estímulos repetidos, pois elas funcionam na verdade como estímulos novos.

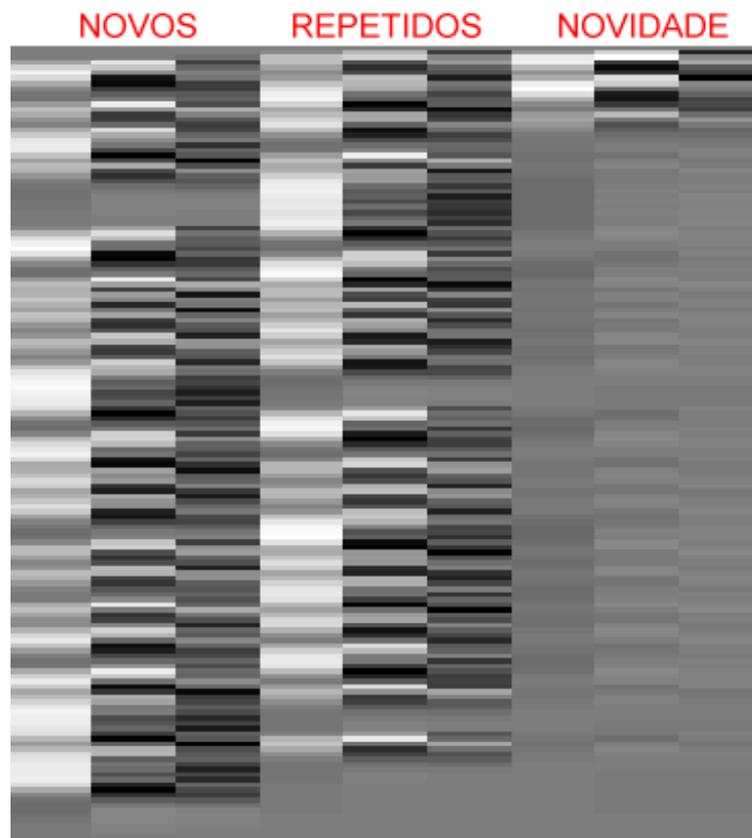


Figura M5. Exemplo de matriz gráfica para cálculo do contraste “novos > repetidos” (por se tratar de um estudo pelo MRER, os intervalos dentro de cada coluna são randômicos e portanto variam de seqüência para seqüência). As duas primeiras triplas de colunas representam as condições “novos” e “repetidos”. A primeira coluna de cada tripla contém

efetivamente o início da apresentação de cada estímulo e as outras duas representam derivativos de dispersão e de tempo. A terceira tripla informa ao modelo que os primeiros itens repetidos equívalem na prática a itens novos.

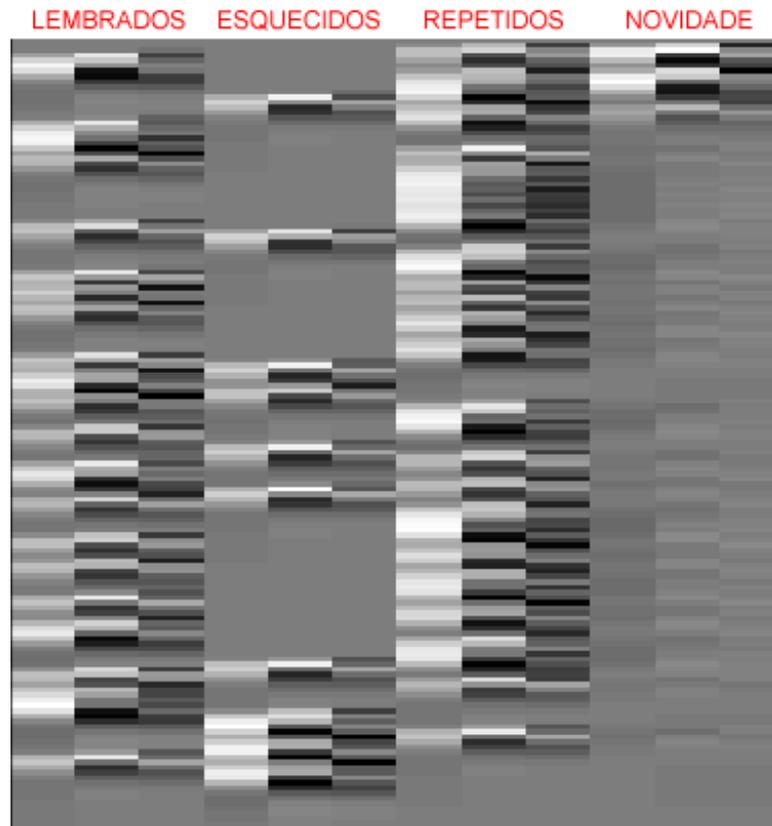


Figura M6. Exemplo de matriz gráfica para cálculo do contraste “lembrados > repetidos”. A diferença para a matriz da figura M5 é que aqui os itens novos foram subdivididos em itens lembrados e itens esquecidos. Naturalmente, a quantidade de itens lembrados e esquecidos varia de sujeito para sujeito, ao contrário da matriz da figura M5, cujas condições (itens novos e repetidos) sempre possuem 44 itens.

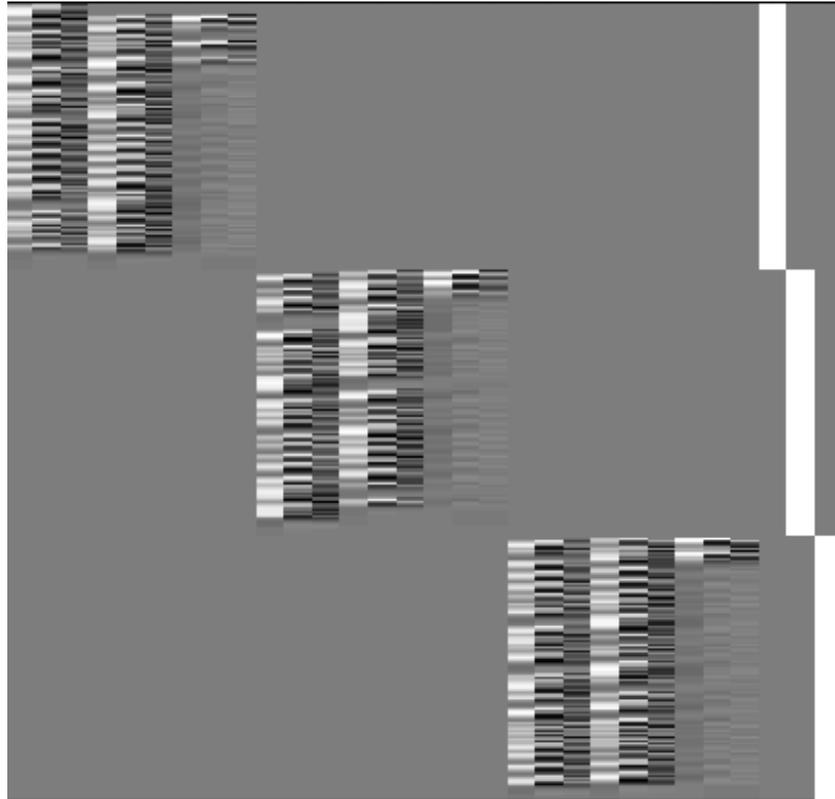


Figura M7. Exemplo de matriz gráfica para cálculo do contraste “novos > repetidos” utilizando uma combinação de três tarefas, uma para cada modalidade de estímulo. Esta matriz consiste simplesmente no agrupamento de três matrizes como a da figura M5. Esse tipo de matriz produz resultados inespecíficos com relação à modalidade de estímulo, mas é mais sensível, pois incorpora três vezes mais informação do que uma matriz como a da figura M5.

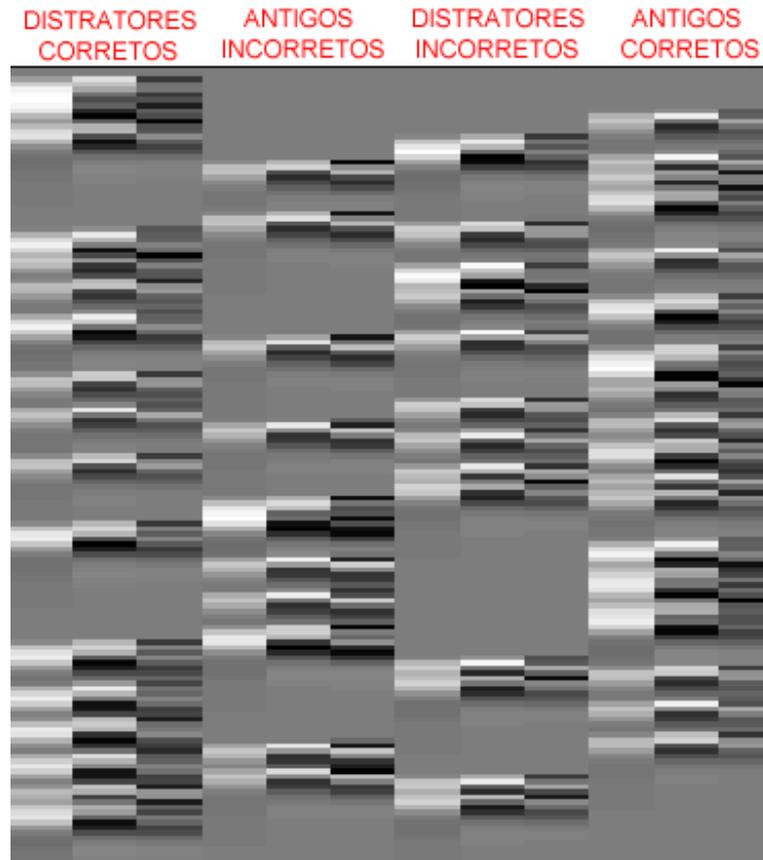


Figura M8. Exemplo de matriz gráfica para cálculo dos contrastes relacionados à tarefa de reconhecimento. A legenda das colunas indica as quatro condições presentes na matriz.

Após processamento do MLG, foram aplicados os diversos contrastes mencionados acima. Os mapas paramétricos estatísticos (MPE) resultantes foram então avaliados através de regiões de interesse (RDI) específicas: lobo temporal mesial anterior, hipocampo anterior, amígdala, giro parahipocampal anterior, hipocampo posterior, giro parahipocampal posterior, giro fusiforme, giro frontal inferior, giro frontal mesial, giro frontal médio, giro frontal superior, precúneo, cíngulo posterior, e giro orbital. Todas as RDI foram extraídas do Wake Forrester University PickAtlas (Department of Radiologic Sciences, Wake Forrester University, Winston-Salem, EUA)(Maldjian, Laurienti et al.; Maldjian, Laurienti et al. 2004), sendo que as porções anteriores e posteriores do hipocampo, giro parahipocampal e lobo temporal

medial foram definidas manualmente na altura da metade da dimensão ântero-posterior das RDI originais.

As mesmas RDI foram aplicadas a mapas representativos de todo o grupo, desenvolvidos através da análise de segundo nível—efeitos randômicos (AER—do inglês, *random effects analysis*). Para os objetivos específicos desta tese, como nosso interesse foi primariamente relacionado às ativações individuais em pacientes, ativações de efeitos randômicos serviram basicamente para direcionar a análise dos indivíduos, sugerindo quais RDI deveriam ser exploradas. A AER também foi realizada em SPM2. Embora as ativações de um único indivíduo não possam ser extrapoladas para a população de origem do indivíduos, os mapas gerados por AER são considerados representativos da população de onde foi extraída a amostra.

4.2.4. Índices de Lateralização

Os índices de lateralização foram calculados de duas formas básicas: i) pela abordagem clássica de comparar o número de voxels ativadas nos dois lados de uma RDI específica (Quantificação de Voxels, QtVx), e ii) pela comparação entre as áreas abaixo das curvas de distribuição de voxels ponderadas estatisticamente tanto por valores de T (P_T), como por valores de P (P_{P1} e P_{P2}), onde apenas voxels com valores de T positivos (portanto, positivamente correlacionados com a tarefa) foram incluídos.

4.2.4.1. IL por Quantificação de Voxels Abaixo de $P = 0,1$ (QtVx10)

Para calcular a lateralização por QtVx, nós ajustamos o limiar de ativação de forma que os MPE contivessem apenas voxels com valores menores ou iguais a 0,1, o que

corresponde a um valor de T de aproximadamente 1,3 a 141 graus de liberdade (gl—este número foi calculado especificamente para o nosso MLG referente ao contraste “Novos > Repetidos” pelo programa SPM2). Este limiar de $P = 0,1$ representa um limiar relativamente baixo e foi escolhido em função do baixo sinal normalmente obtido na região do LTM. Entretanto, mesmo lançando mão de um limiar baixo, 8,3% dos sujeitos normais não apresentaram voxels ativos na RDI do HCA para cenas, 25% para padrões e 30,7% para palavras.

Para cálculo de $Q_t V_{x10}$, foi utilizada a seguinte fórmula padrão:

$$(1) IL = (V_{xE} - V_{xD}) / (V_{xE} + V_{xD})$$

onde IL significa índice de lateralização; V_{xE} , a quantidade de voxels na RDI do lado E ativados acima do limiar especificado; e V_{xD} , a quantidade de voxels na RDI do lado D ativados acima do limiar especificado.

Por esta fórmula, assim como em outras apresentadas nesta tese, valores de ILs negativos indicam lateralização para a direita e ILs positivos, para a esquerda.

Os padrões de ativação podem ser examinados por gráficos que apresentam a quantidade de voxels ativados dentro de cada intervalo de significância estatística (figura M9a).

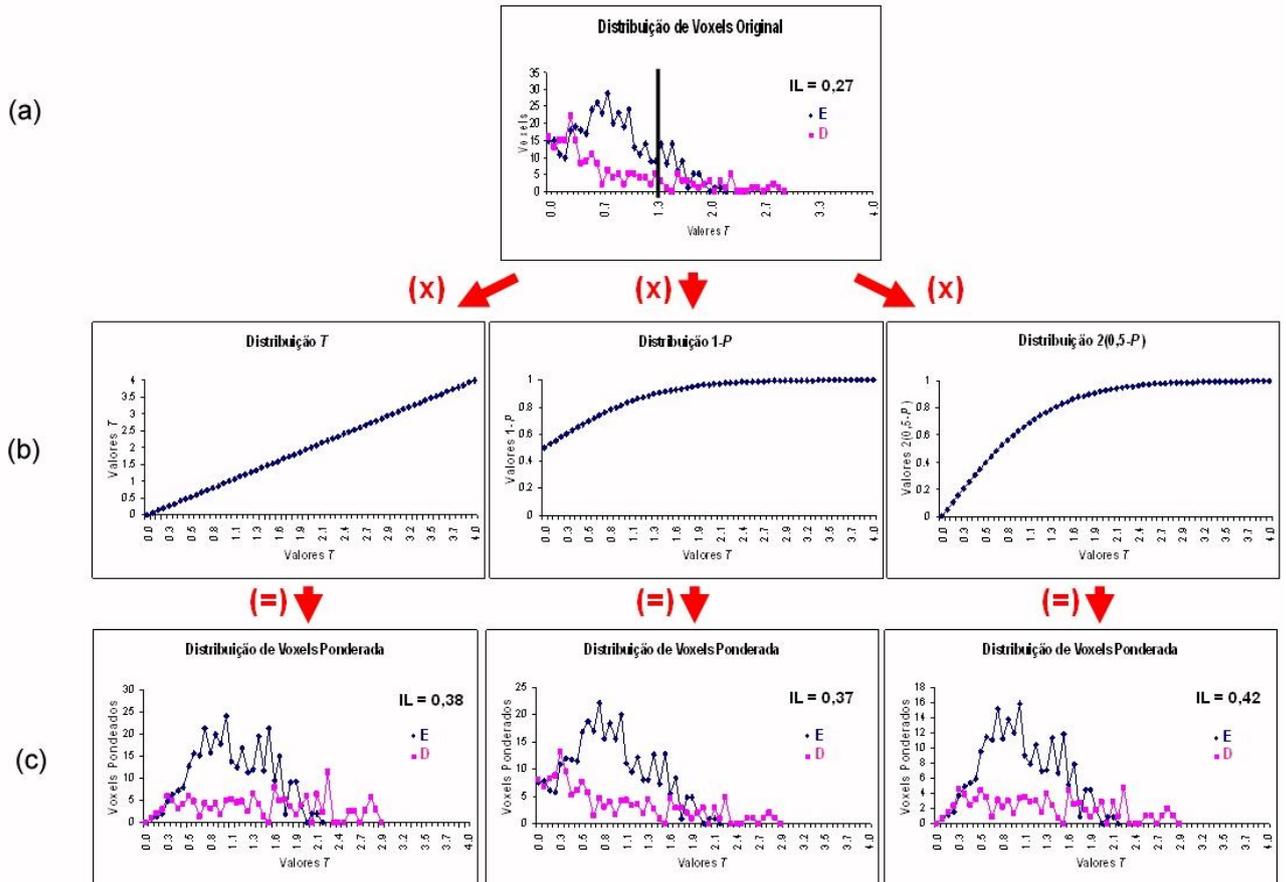


Figura M9. Cálculo dos índices de lateralização (IL). A linha (a) contém um histograma indicando a quantidade de voxels ativados para cada valor de T na região de interesse (RDI) do hipocampo anterior (HCA). A barra indica $P = 0,1$ ($T \sim 1,3$; $1-P = 0,9$). ILs calculados por quantificação de voxels ativados a partir de um limiar $P = 0,1$ —que é o caso de QtVx10—podem ser extraídos das áreas sob as curvas à direita desta barra ($IL = 0,27$ —para a esquerda). Observe que se a barra tivesse sido posicionada no nível de $T = 2$, a lateralização teria sido para a direita, demonstrando a fragilidade do método de quantificação simples de voxels utilizando limiares arbitrários. Os gráficos da linha (b) contêm distribuições estatísticas. O primeiro gráfico contém valores T variando entre 0 e 4; o segundo, valores $1-P$ variando entre 0,5 e 1,0; e o terceiro, valores $2(0,5-P)$, variando entre 0 e 1. A distribuição $1-P$ é um subtipo da função de distribuição de probabilidade (também chamada de função de densidade cumulativa) e descreve a probabilidade de um voxel ser verdadeiramente positivo (i.e., verdadeiramente correlacionado com a tarefa). A função $2(0,5-P)$ é uma variação da função 1-

P que mantém as características gerais da distribuição $1-P$ ao mesmo tempo em que preserva as vantagens da distribuição T de reduzir a zero voxels pouco significativos (lado esquerdo da curva). A linha (c) apresenta o resultado da multiplicação ponto-a-ponto do gráfico da primeira linha pelos gráficos da segunda linha. Os ILs ponderados podem ser calculados diretamente a partir das áreas totais sob as curvas da direita e da esquerda dos gráficos da linha (c), resultando em $IL = 0,38$ no primeiro gráfico, $IL = 0,37$ no segundo, e $IL = 0,42$ no terceiro.

4.2.4.2. IL por Distribuição Ponderada de Voxels “Positivos”

O método QtVx10 descrito acima é equivalente a comparar as áreas sob os seguimentos das curvas de distribuição de voxels da direita e da esquerda que contêm voxels com valores de P menores ou iguais a 0,1 (ou valores $1-P$ maiores que 0,9). Estes seguimentos são representados à direita da barra vertical na figura M9a. Pela simples inspeção visual da figura, é possível notar que QtVx10 lateraliza para a direita naquele exemplo (área maior abaixo da curva da direita); por outro lado, um outro limiar arbitrariamente ajustado para $T = 2,0$, por exemplo, produziria uma lateralização para a esquerda. Esta não é uma situação incomum e ilustra como a escolha arbitrária de limiar pode levar a resultados confusos e subjetivos. Neste estudo, por exemplo, 31% das distribuições de voxels nos HCAs produziram lateralizações para lados opostos dependendo do limiar escolhido.

Para evitar a seleção arbitrária de limiares, utilizamos toda a extensão das curvas de distribuição que continha voxels cujos valores de T eram positivos (voxels positivamente correlacionados com a tarefa). No entanto, como a quantidade de voxels falsamente ativados é inversamente proporcional à significância estatística do intervalo sendo analisado, cada voxel na curva foi ponderado pela sua respectiva significância estatística. Isso foi feito

simplesmente multiplicando as curvas de distribuição de voxels pelas curvas de distribuições estatísticas.

Três distribuições estatísticas foram utilizadas: T , $1-P$ e $2(0,5-P)$ (figura M9b). Os valores de T representam uma medida de significância estatística e indicam quão bem o sinal de RMF em cada voxel se correlaciona com a tarefa. Já valores $1-P$ indicam a probabilidade de que um voxel em particular represente uma verdadeira ativação. Valores $2(0,5-P)$ representam uma tentativa empírica de unir os aspectos positivos das duas outras distribuições. Dessa forma, três ILs ponderados foram calculados: P_T (ponderado pela distribuição T), P_{P1} (ponderado pela distribuição $1-P$), e P_{P2} (ponderado pela distribuição $2(0,5-P)$). Neste estudo, valores de T variaram de 0 a 12 (dependendo da RDI analisada), valores equivalentes $1-P$ variaram entre 0,5 e 1,0, e valores equivalentes $2(0,5-P)$, entre 0 e 1. Um total de 121 pontos de amostragem foram medidos para cada MPE de valores T (MPET), com T aferido em incrementos de 0,05. ILs foram então calculados a partir das áreas sob as curvas de ativação ponderadas da direita e da esquerda (figura M9c) pela seguinte fórmula:

$$(2) IL = (A_E - A_D)/(A_E + A_D)$$

onde A_E é a área sob a curva ponderada da RDI da E, e A_D é a área sob a curva ponderada da RDI da D.

Obs.: Na prática, as áreas sob as curvas não foram de fato calculadas, o que poderia ter sido feito pela integração numérica das curvas. A estratégia para cálculo das áreas consistiria na decomposição das curvas em uma seqüência de barras verticais de diferentes alturas (como um histograma) e posterior cálculo das áreas individuais de cada retângulo, cujos fatores seriam a altura do retângulo (valor da curva naquele ponto) e a base do retângulo, que seria um valor fixo para todos os retângulos e proporcional à “extensão lateral” de cada ponto na curva. Como esse valor é constante e as áreas se dividem na fórmula acima, ele pode ser simplesmente cancelado sem ser estimado. Na prática, portanto, A_E e A_D podem ser

respectivamente substituídos pela simples soma dos valores de todos os pontos da curva da esquerda e da direita.

As lateralizações calculadas pelas quatro diferentes técnicas descritas acima (uma baseada em QtVx e três ponderadas) para os três tipos de materiais (padrões, cenas e palavras) foram analisadas através de uma análise de variância (ANOVA) de observações repetidas do tipo 4 (técnicas) X 3 (materiais), utilizando REML (do inglês, *Restricted Maximum Likelihood*) em função da amostragem desbalanceada causada por alguns valores nulos obtidos com a técnica QtVx10. Comparações post-hoc foram realizadas através de testes *t* pareados.

4.2.4.3. IL por Distribuição Ponderada de Todos os Voxels

Uma das grandes vantagens da estratégia aplicada neste estudo para cálculos de IL é o fato de que a distribuição estatística escolhida poder ser manipulada de forma a pesquisar possibilidades específicas. Da mesma forma, a distribuição estatística não precisa estar necessariamente restrita aos voxels positivamente correlacionados com a tarefa, apesar de a interpretação de voxels negativamente correlacionados não esteja ainda bem esclarecida na literatura. Para avaliar o valor de voxels negativos (negativamente correlacionados), foram calculados 3 índices, que incorporaram todos os voxels dentro de uma determinada RDI: P_{PTudo} , P_{PV1} e P_{PV2} . A figura M10 apresenta a operação realizada no cálculo de P_{PTudo} e a figura M11 apresenta as operações referentes a P_{PV1} e P_{PV2} .

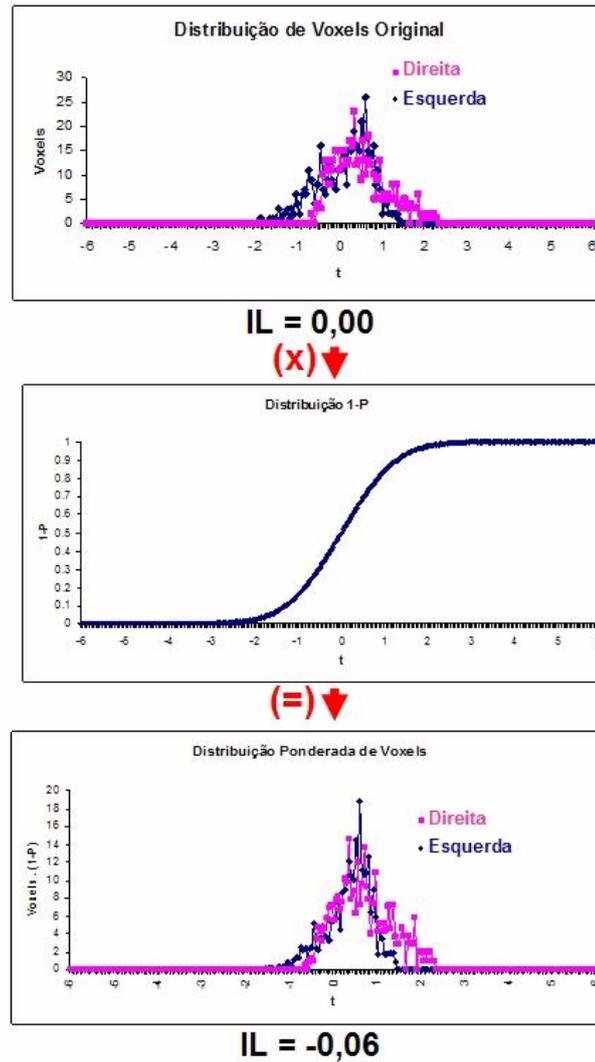


Figura M10. Cálculo de IL por P_{PTudo} . Esta figura apresenta um processo similar ao descrito na segunda coluna da figura M9. A única diferença é que aqui foram incluídos todos os voxels presentes na região de interesse. No primeiro gráfico, alguns voxels são positivamente correlacionados com a tarefa ($T > 0$), enquanto outros são negativamente correlacionados com a tarefa. Voxels com altos valores absolutos de T são fortemente relacionados com a tarefa, seja negativamente ou positivamente. Voxels ao redor de $T = 0$ possuem pouca correlação e voxels com $T = 0$ não possuem relação alguma do ponto de vista estatístico. O segundo gráfico contém a distribuição $1-P$. Essa distribuição assume que todos os voxels são positivamente correlacionados com a tarefa, incluindo voxels com $T < 0$. Neste caso, se a probabilidade de um voxel estar negativamente correlacionado com a tarefa for de 80%, por

exemplo, a distribuição 1-P considerará que esse voxel possui uma probabilidade de 20% de estar positivamente correlacionado com a tarefa. O terceiro gráfico mostra o resultado da multiplicação ponto-a-ponto do primeiro com o segundo gráfico, e o IL do tipo P_{PTudo} pode ser extraído diretamente das áreas sob as curvas da direita e da esquerda.

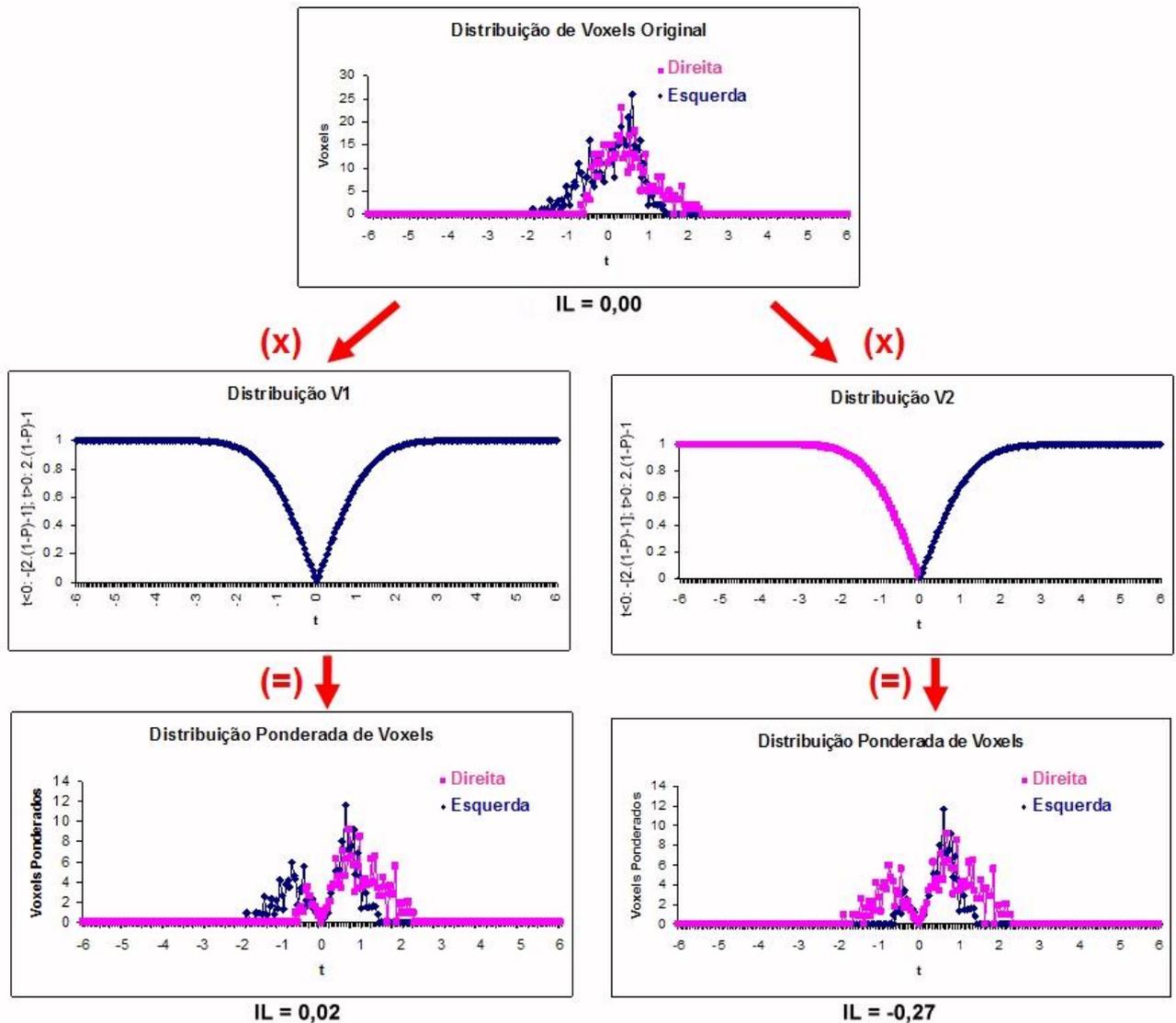


Figura M11. Cálculo de IL por P_{PV1} e P_{PV2} . Esta figura apresenta processos semelhantes aos das figuras M9 e M10. Os gráficos da segunda linha representam as distribuições estatísticas V1 e V2. Estas distribuições são obtidas pelo espelhamento da distribuição $2(0,5-P)$ discutida anteriormente. Apesar de serem distribuições manipuladas, elas contêm algumas características úteis para aplicação em ressonância funcional: 1) voxels com $T \approx 0$, que não

contêm informações sobre lateralização, são descartados; 2) voxels negativamente correlacionados com a tarefa ($T < 0$) recebem a mesma consideração que voxels positivamente correlacionados. Apesar de ainda não haver um bom entendimento do significado neurofisiológico de um voxel com $T = -1,0$, por exemplo, do ponto de vista hemodinâmico e estatístico, este voxel é tão relevante quanto um voxel com $T = +1,0$. A única diferença entre as distribuições V1 e V2 é como elas interpretam voxels negativamente correlacionados. Se pegarmos um dos lados como referência, V1 considerará voxels com $T < 0$ como indicando uma lateralização para o lado ipsilateral à referência, enquanto que V2 considerará esses voxels como indicando lateralização contra-lateral à referência. Por exemplo, se quisermos saber a lateralização dos voxels positivamente correlacionados com a tarefa com relação ao lado E, simplesmente contamos os voxels. Voxels do lado E são por convenção positivos e do lado D são negativos, de forma que um número maior de voxels no lado E resultará em uma lateralização positiva (i.e., para o lado E), e um número menor de voxels no lado E do que no lado D resultará em uma lateralização negativa (i.e., para o lado D). Se quisermos, no entanto, obter a lateralização de voxels negativamente correlacionados com a tarefa com relação ao mesmo lado E de referência, podemos estabelecer que voxels à E são positivos e à D negativos, ou o contrário. No caso de V1, voxels negativamente correlacionados presentes à E são interpretados do ponto de vista fisiológico como lateralizadores para o lado E; e voxels à D, como lateralizadores para o lado D. Já V2 interpreta esses mesmos voxels à E como representando um fenômeno neurofisiológico que lateraliza para a D, e vice-versa. Se definirmos voxels negativamente correlacionados como voxels que sofrem inativação ou depressão durante a tarefa, V2 considerará que uma inativação à E é equivalente à uma ativação à D, e vice-versa. Neste caso, a lógica é de que neurônios que silenciam em um hemisfério durante a tarefa (ou condição ativa) indicam que o processo cognitivo está sendo executado no hemisfério contra-lateral. Já V1 considerará uma

inativação à E equivalente a uma ativação à E. Neste caso, a lógica é que neurônios em um hemisfério que silenciam em resposta à tarefa estão tão envolvidos no processo cognitivo quanto neurônios que se ativam naquele mesmo hemisfério.

4.3. Teste do Amobarbital Sódico

Em sujeitos submetidos ao TAS, em cada hemisfério foram separadamente injetados 112,5 mg de amobarbital sódico. Após confirmação do efeito da droga, a dominância hemisférica para memória foi avaliada através da apresentação de 8 objetos ao sujeito. Após retorno do eletrencefalograma (EEG) e do exame neurológico à normalidade, foi realizado um teste de reconhecimento de objetos. Os oito objetos previamente apresentados foram novamente apresentados misturados com objetos distratores similares. Um IL foi calculado conforme os resultados desse teste (IL_{TAS}), através da seguinte fórmula:

$$(3) LI_{IAP} = (OLE - OLD)/(OLE + OLD)$$

onde OLE representa o número de objetos lembrados que foram apresentados durante estudo do hemisfério E (injeção da carótida D), e OLD representa o número de objetos lembrados que foram apresentados durante o estudo do hemisfério D (injeção da carótida E).

Os neuropsicólogos que laudaram os exames de TAS estavam cegos com relação aos resultados de RMF e o aluno estava cego com relação aos resultados de TAS até após concluir o cálculos de todos os IL obtidos por RMF.

5. RESULTADOS

5.1. Pacientes

A tabela R1 apresenta os dados clínicos referentes a cada paciente.

Pc	Sexo	Idade	Dominância Manual	História	RM Estrutural	EEG	TAS Linguagem	TAS Lateralização de Memória	TAS Escores de Lembrança		TAS Escores de Reconhecimento		Lateralização de Memória por RMF	Performance de Memória de Reconhecimento durante RMF		
									Injeção de hemisfério direito	Injeção de hemisfério esquerdo	Injeção de hemisfério direito	Injeção de hemisfério esquerdo		Padrões	Cenas	Palavras
1	F	34	Direita	Epilepsia de início aos 32 anos.	Normal	Atividade epileptogênica em lobo temporal direito.	Indisponível	E>>D IL _{TAS} = +0.4	3/8	0/8	7/8	3/8	Esquerda	15	2	17
2	M	43	Direita	Epilepsia de início com 1 ano de idade após TCE.	Lesão do HC esquerdo e amígdala.	Indisponível	Esquerda	D>>E IL _{TAS} = -0.2	0/8	1/8	4/8	6/8	Claramente à Direita	30	33	35
3	F	49	Esquerda	Epilepsia refratária do LTM.	Normal	Atividade epileptogênica em lobo temporal esquerdo.	Esquerda	Falhou teste. Esquerda ligeiramente melhor. IL _{TAS} = +0.33	0/8	1/8	4/8	2/8	Direita	26	27	32
4	F	50	Direita	Epilepsia refratária do LTM.	Normal	Atividade theta com pontas bilaterais, mais à esquerda.	Esquerda	Falhou teste. Esquerda ligeiramente melhor. IL _{TAS} = +0.14	0/8	0/8	4/8	3/8	Inconclusivo	30	23	34
5	M	27	Direita	Epilepsia de início aos 10 meses de idade em contexto de doença febril.	EMT à esquerda.	Normal	Esquerda	D>>E IL _{TAS} = -0.2	0/8	1/8	2/8	3/8	Claramente à Direita	Indisponível		

Tabela R1. Perfil demográfico e informações clínicas dos pacientes portadores de epilepsia.

5.2. Memorização

5.2.1. Mapas de Ativação

As figuras R1-R6 apresentam os mapas de ativação de grupo, envolvendo apenas os sujeitos normais, obtidos durante o processo de memorização de padrões, cenas e palavras, respectivamente. Os mapas representam a média das ativações individuais dos sujeitos saudáveis, calculada por AER, para os contrastes “Novos > Repetidos” e “Lembrados > Repetidos”. Por limitações de tempo de acesso ao aparelho de RM, um dos sujeitos não realizou memorização de padrões e de cenas (apenas palavras). Da mesma forma, alguns sujeitos executaram apenas a tarefa de memorização e não de reconhecimento. Pacientes executaram apenas a parte a memorização.

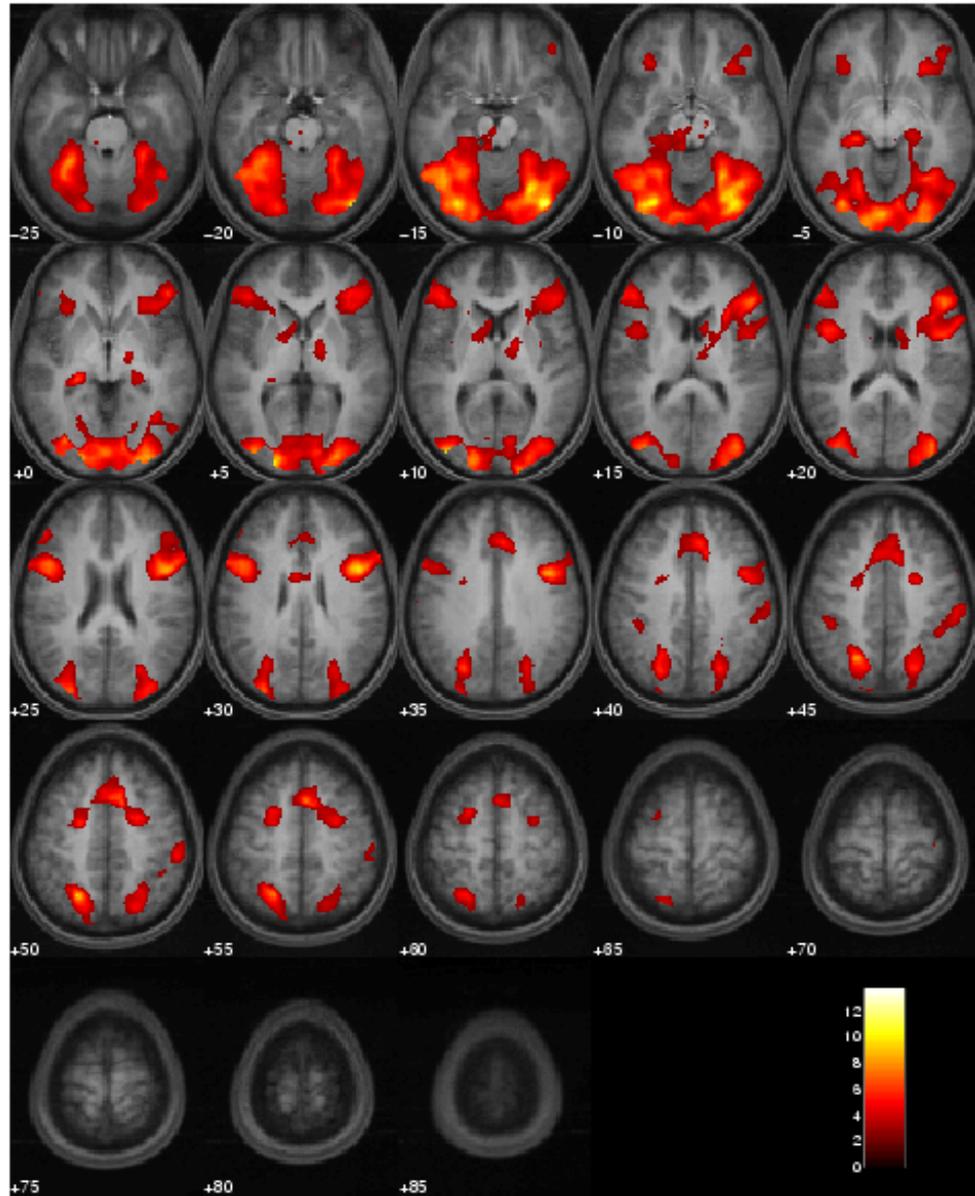


Figura R1. Mapa de grupo para memorização de **padrões**, utilizando o contraste “**Novos > Repetidos**” ($P = 0,01$). A imagem estrutural de fundo é uma média das aquisições cerebrais estruturais em T1 de 12 sujeitos.

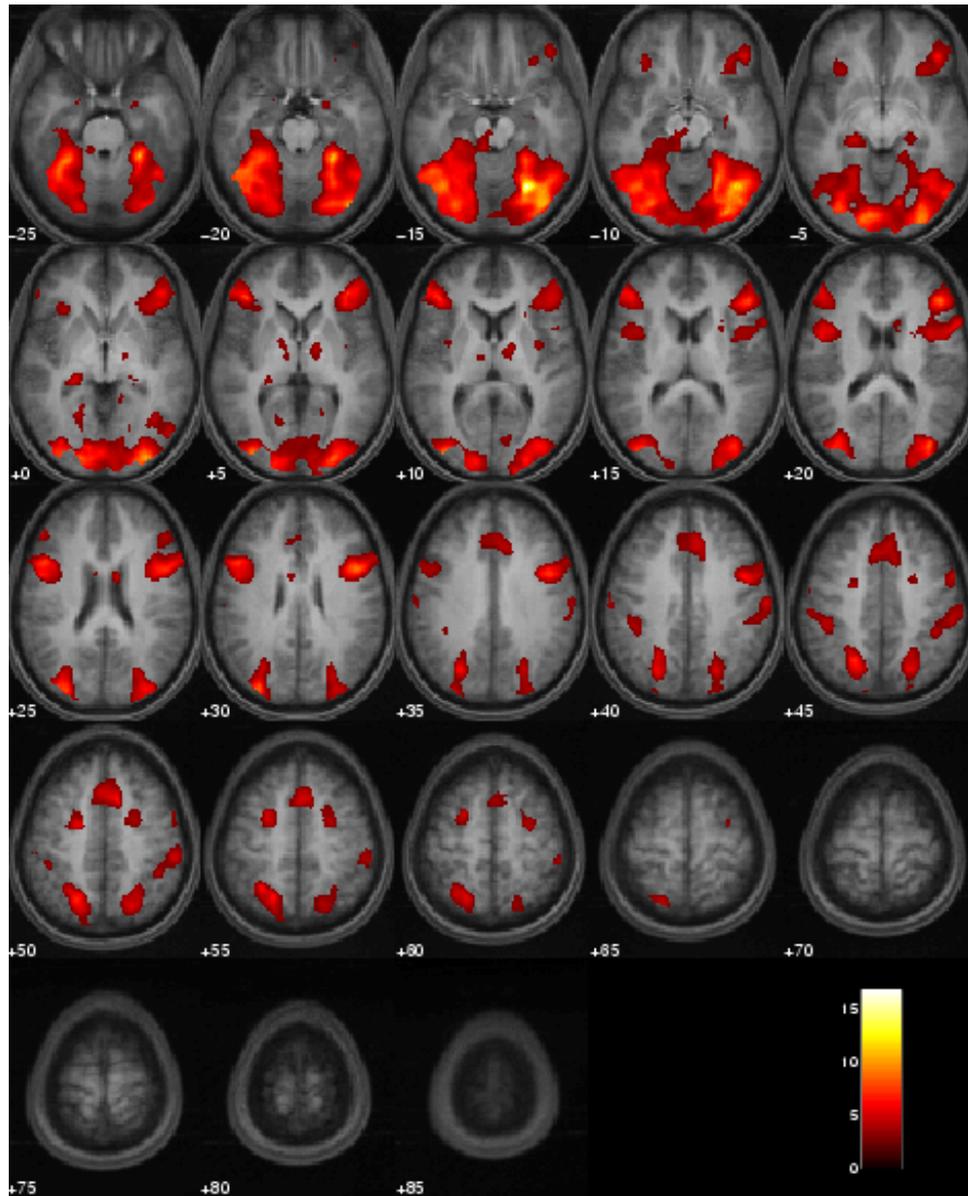


Figura R2. Mapa de grupo para memorização de **padrões**, utilizando o contraste “**Lembrados > Repetidos**” ($P = 0,01$). A imagem estrutural de fundo é uma média das aquisições cerebrais estruturais em T1 de 12 sujeitos.

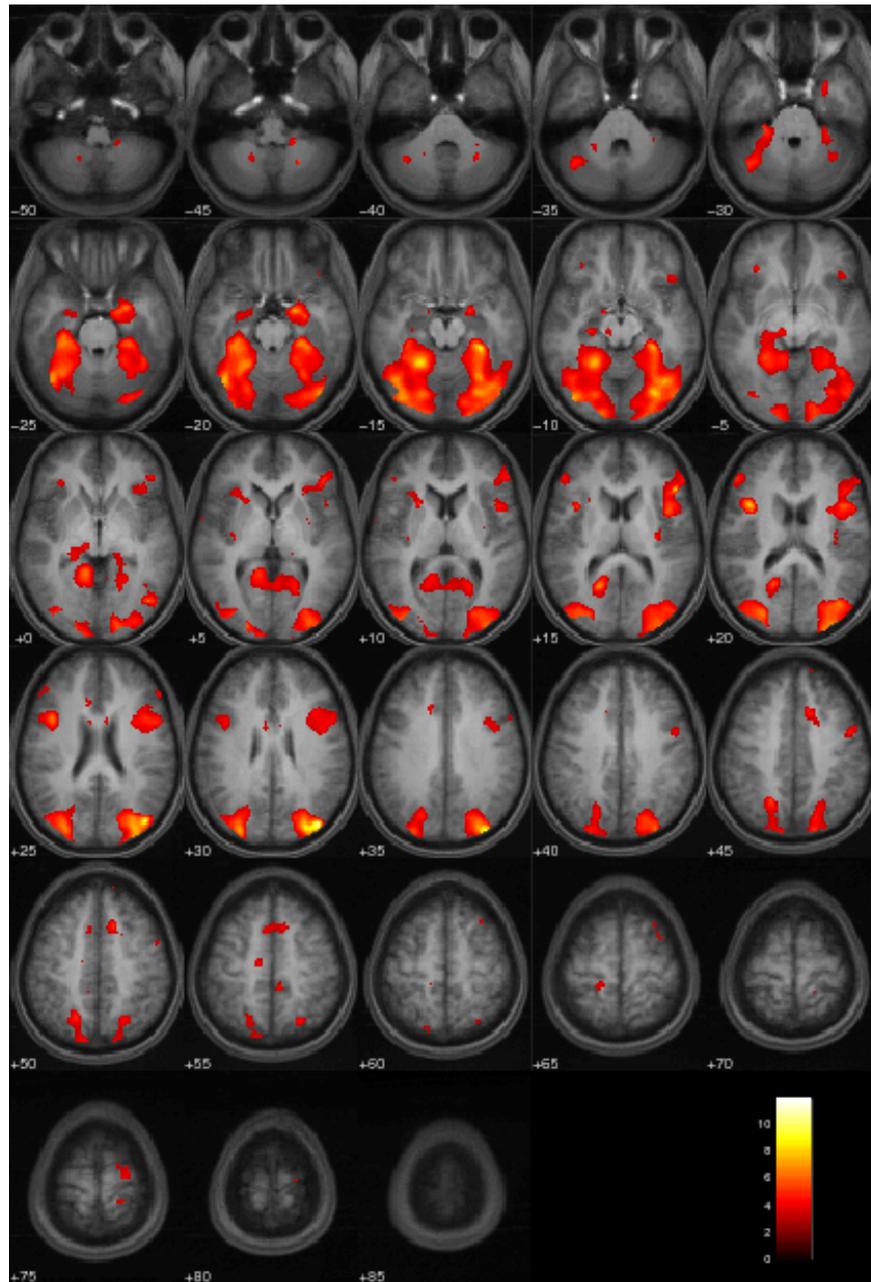


Figura R3. Mapa de grupo para memorização de **cen**as, utilizando o contraste “**Novos > Repetidos**” ($P = 0,01$). A imagem estrutural de fundo é uma média das aquisições cerebrais estruturais em T1 de 12 sujeitos.

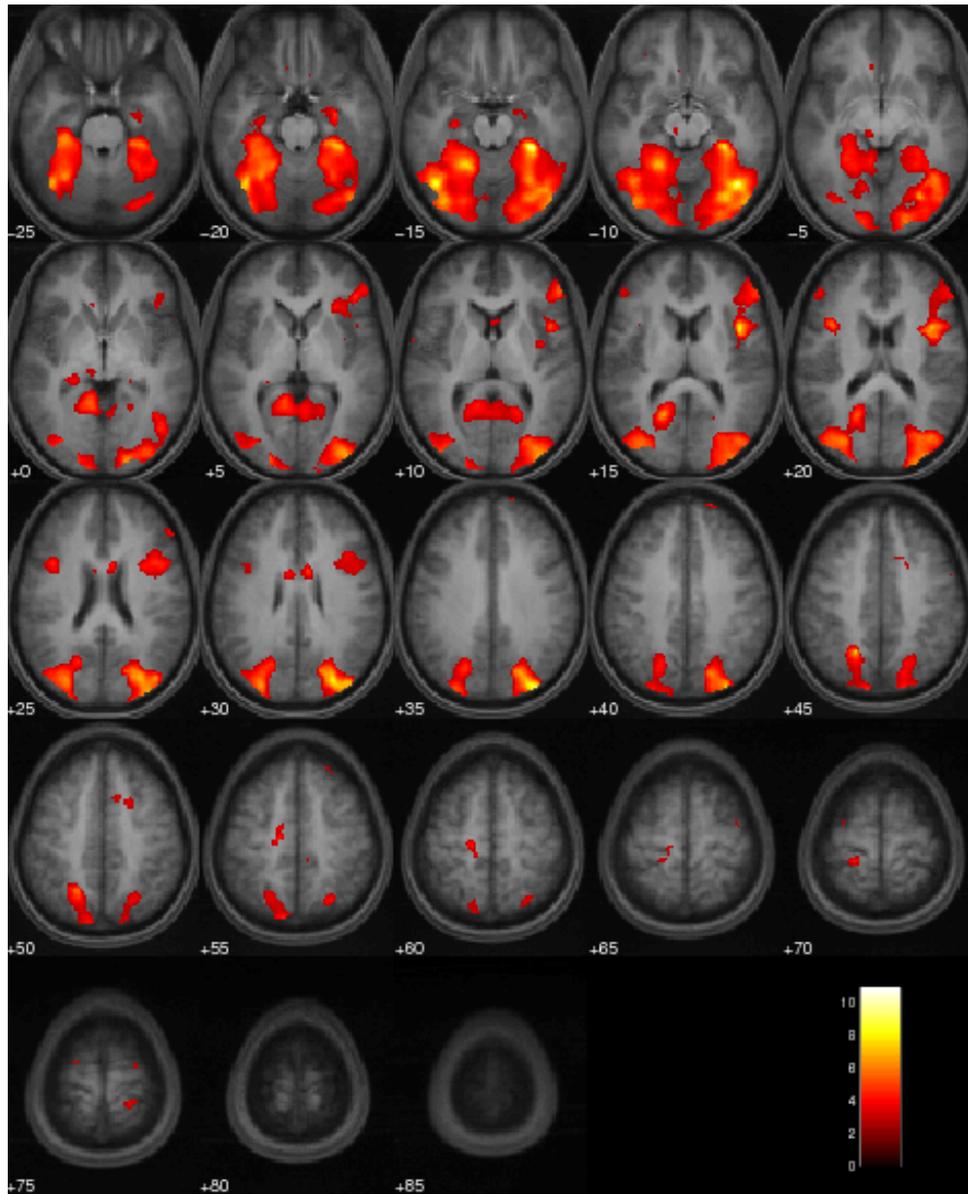


Figura R4. Mapa de grupo para memorização de **cenias**, utilizando o contraste “**Lembrados** > **Repetidos**” ($P = 0,01$). A imagem estrutural de fundo é uma média das aquisições cerebrais estruturais em T1 de 12 sujeitos.

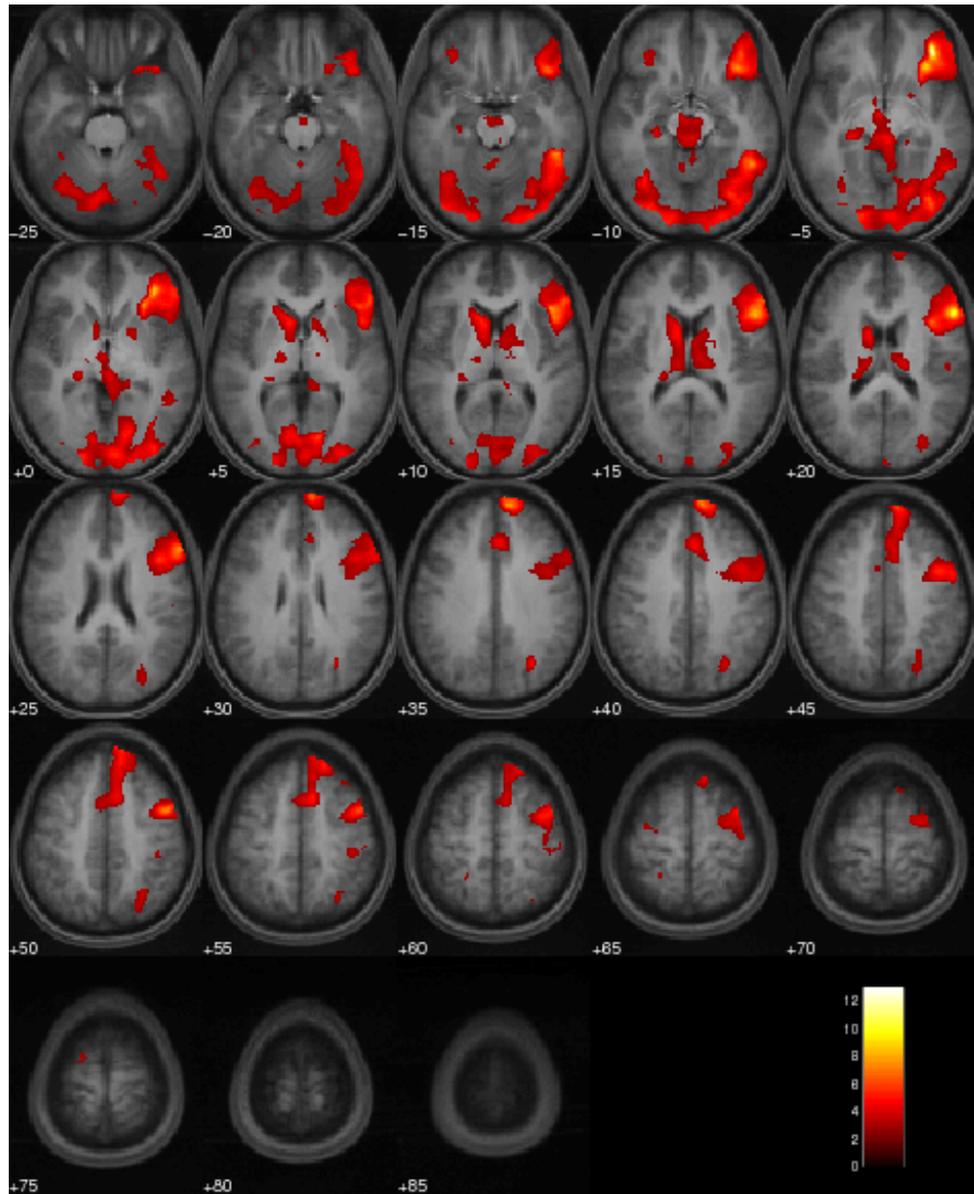


Figura R5. Mapa de grupo para memorização de **palavras**, utilizando o contraste “**Novos > Repetidos**” ($P = 0,01$). A imagem estrutural de fundo é uma média das aquisições cerebrais estruturais em T1 de todos os 13 sujeitos normais.

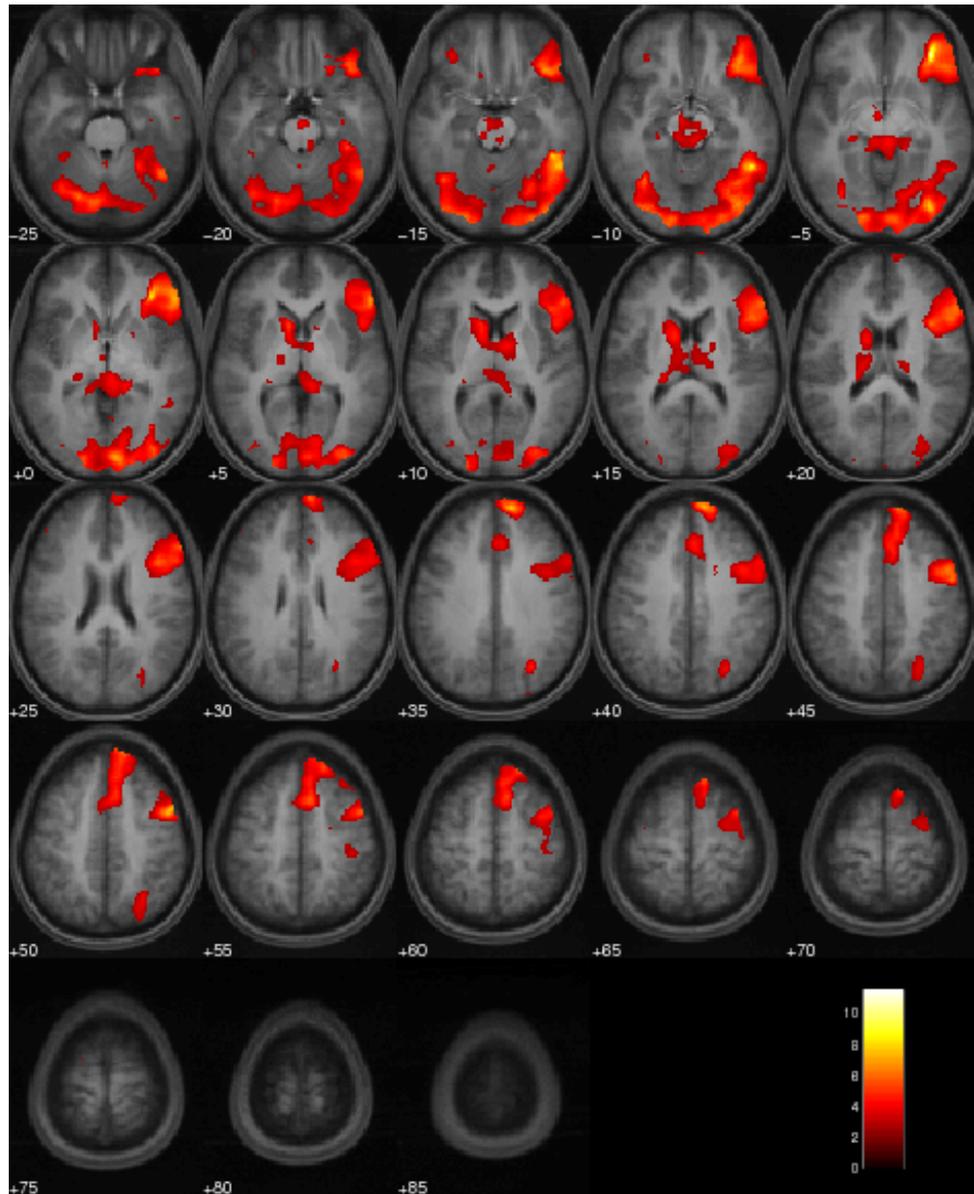


Figura R6. Mapa de grupo para memorização de **palavras**, utilizando o contraste “**Lembrados > Repetidos**” ($P = 0,01$). A imagem estrutural de fundo é uma média das aquisições cerebrais estruturais em T1 de todos os 13 sujeitos normais.

Além dos mapas específicos para cada modalidade e cada contraste utilizado durante a memorização, foram produzidos mapas referentes às três modalidades de estímulo conjuntamente, através dos contrastes “novos > repetidos” e “lembrados > repetidos”. As figuras R7 e R8 mostram o resultado de grupo.

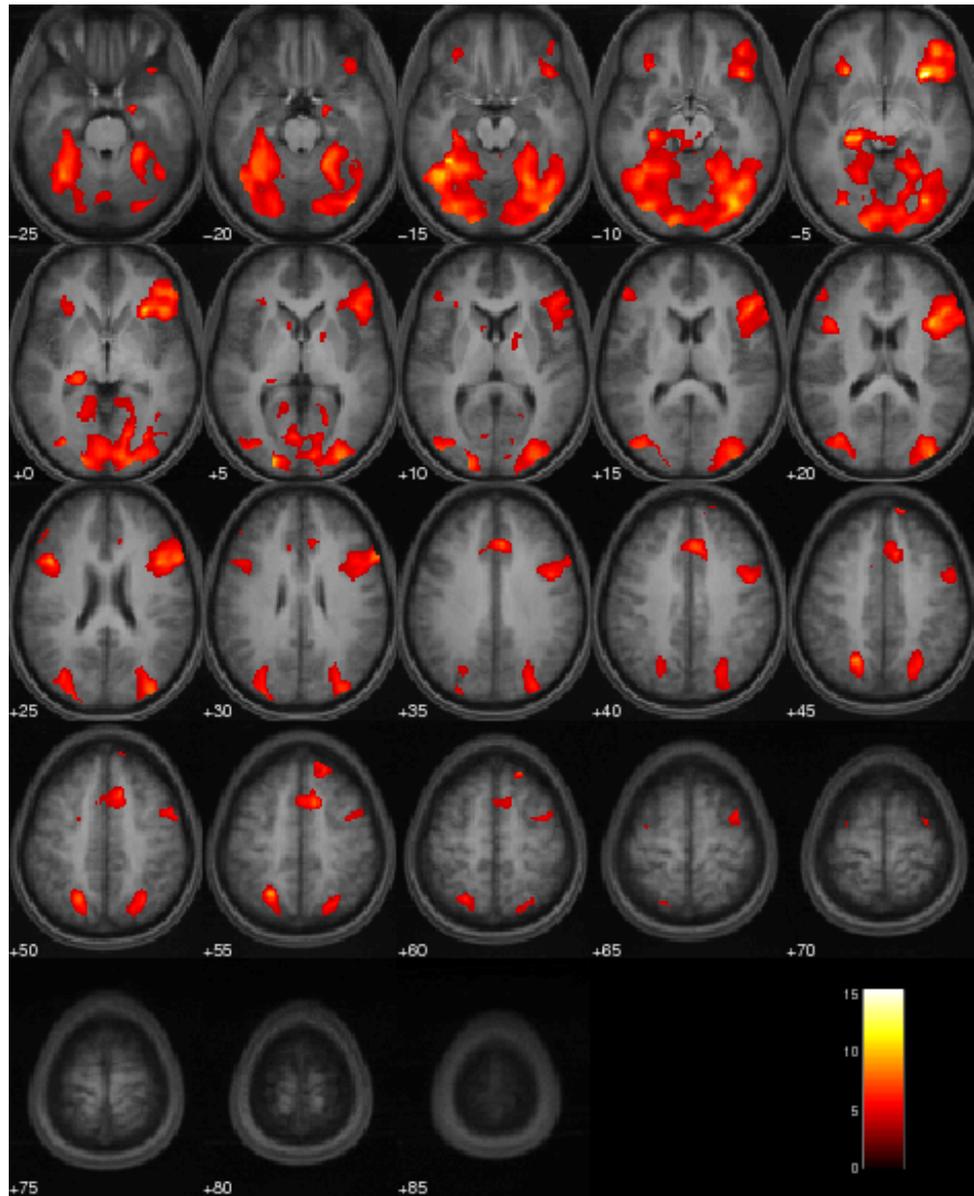


Figura R7. Mapa de grupo para memorização combinada de **padrões**, **cenhas** e **palavras**, utilizando o contraste “**Novos > Repetidos**” ($P = 0,001$). A imagem estrutural de fundo é uma média das aquisições cerebrais estruturais em T1 de todos os 13 sujeitos normais.

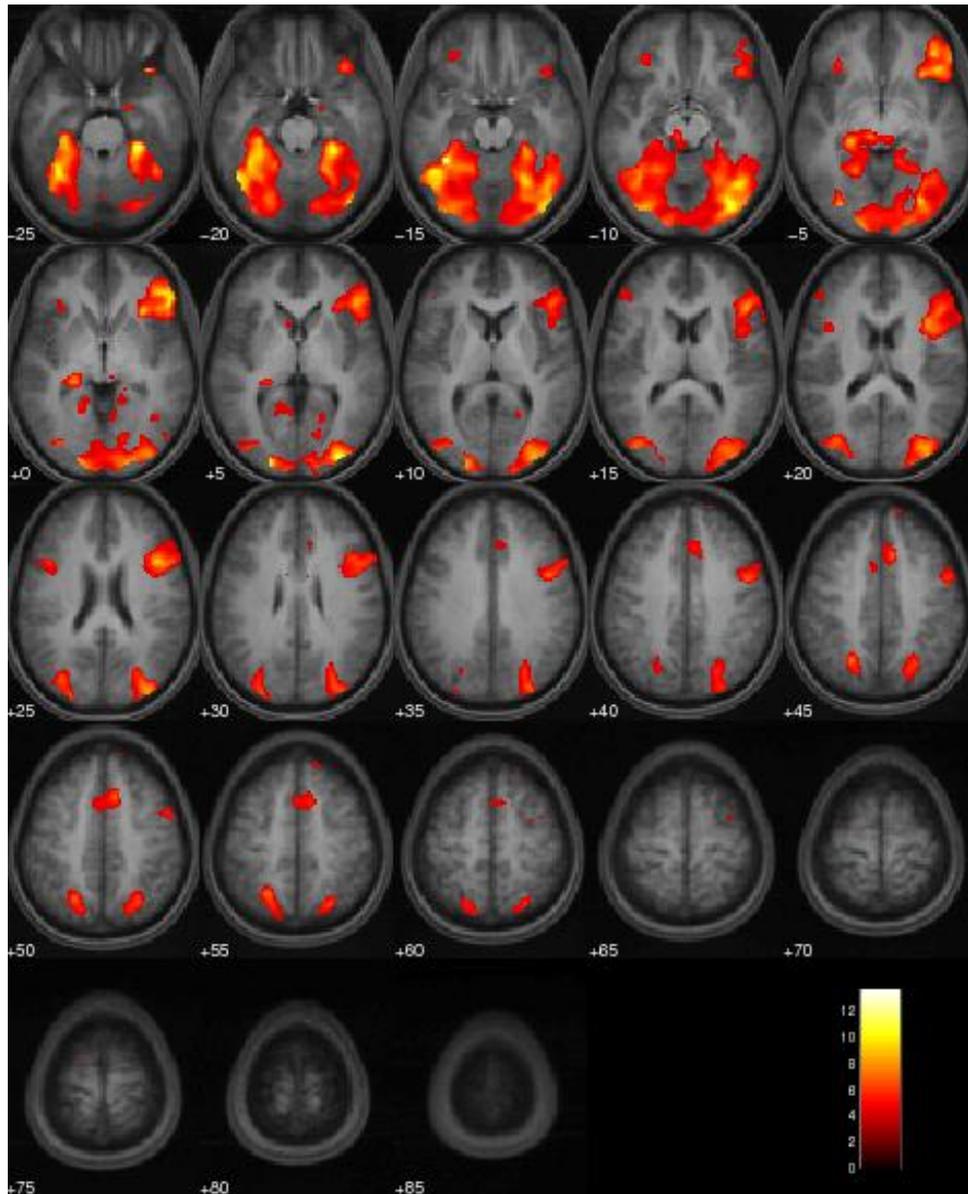


Figura R8. Mapa de grupo para memorização combinada de **padrões, cenas e palavras**, utilizando o contraste “**Lembrados > Repetidos**” ($P = 0,001$). A imagem estrutural de fundo é uma média das aquisições cerebrais estruturais em T1 de todos os 13 sujeitos normais.

A inspeção visual dos mapas acima nos permite dizer que as áreas mais ativadas, de modo geral, encontram-se na região occipital. Embora isso possa estar relacionado simplesmente com o processamento visual, os contrastes utilizados durante a memorização sempre envolveram a subtração de duas condições que consistiam em estímulos visuais. Portanto, é possível que boa parte do processamento relacionado à memorização seja

realizado diretamente nos lobos occipitais. As demais ativações ocorreram no lobo frontal (áreas de Brodmann 44, 45, 46, 9, 8 e 6) e no lobo parietal (área de Brodmann 7). O lobo temporal, como será demonstrado adiante, certamente possui um papel importante durante a memorização. No entanto, ele produz ativações de RMF muito fracas. Este problema foi contornado neste estudo através das metodologias de cálculo de lateralização pela utilização de toda a distribuição de voxels.

5.2.2. Lateralização Extra-Hipocampal

A partir da identificação visual nos mapas de ativação das principais regiões envolvidas, as respectivas RDI foram estudadas quanto à lateralização, através dos métodos mais simples: QtV_{x10} , P_T e P_{P1} . Os gráficos abaixo representam os resultados de lateralização calculados através da técnica P_T .

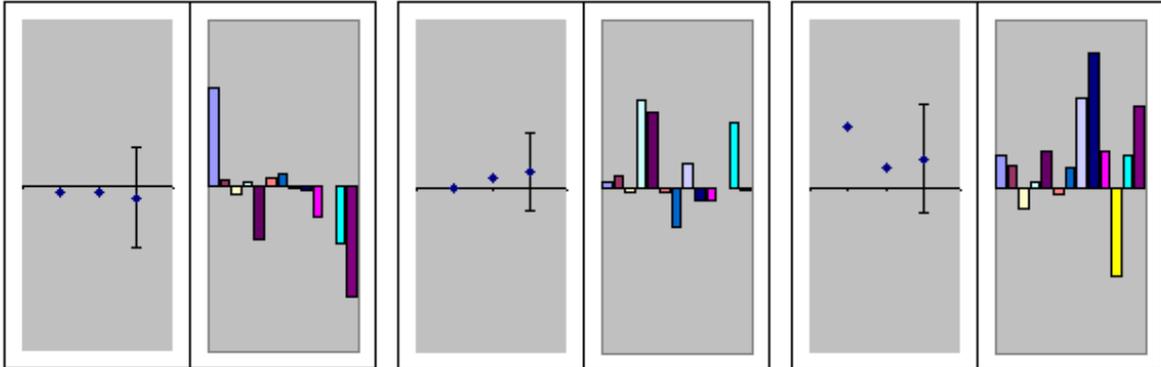
Novos > Repetidos

Padrões

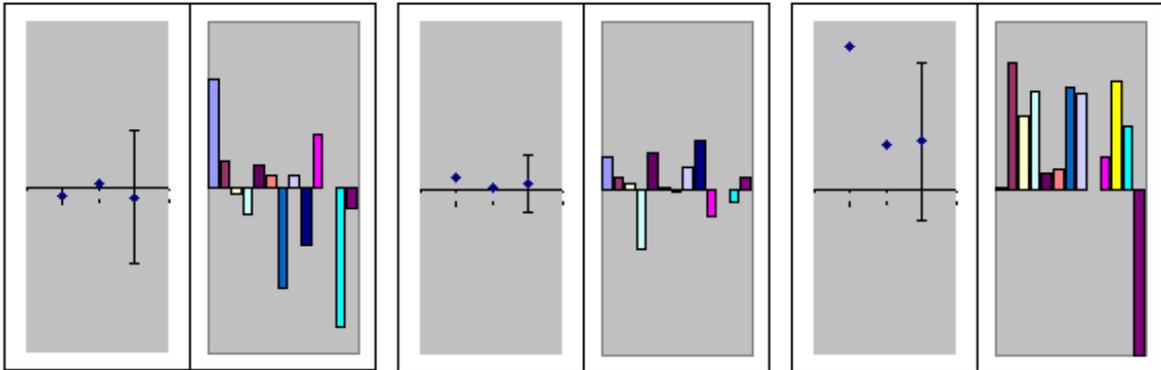
Cenas

Palavras

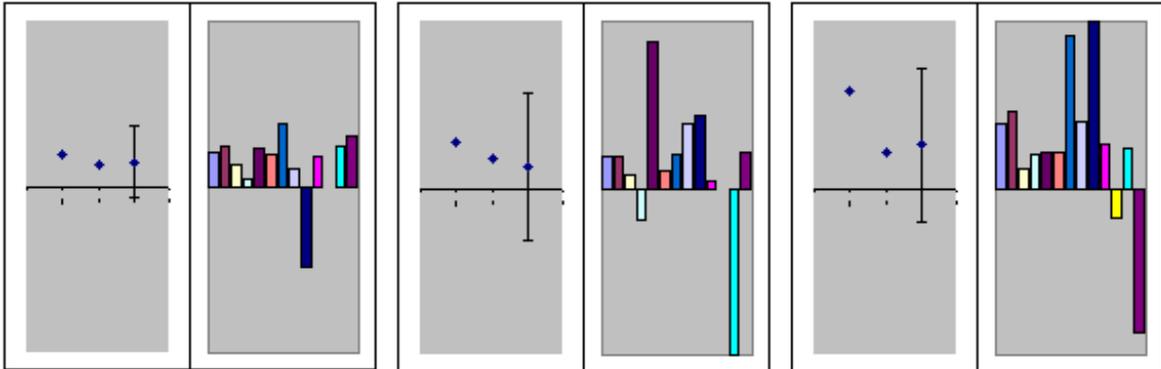
Hipocampo Anterior



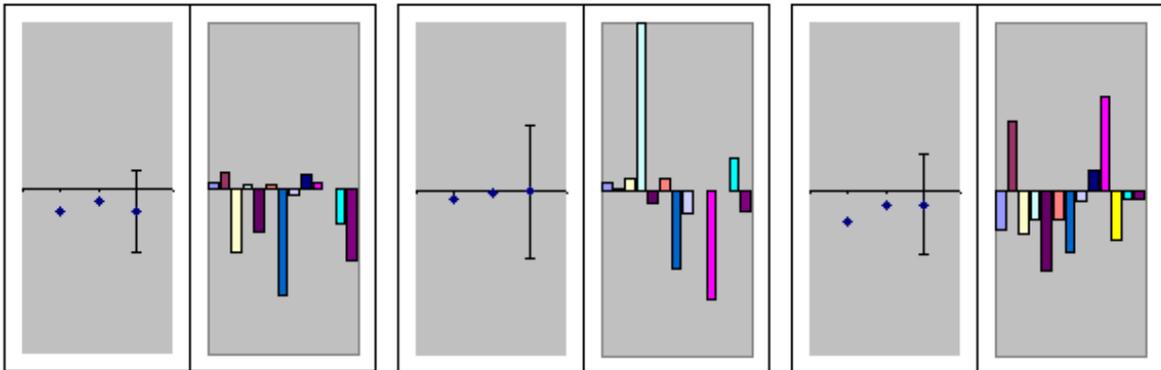
Amígdala



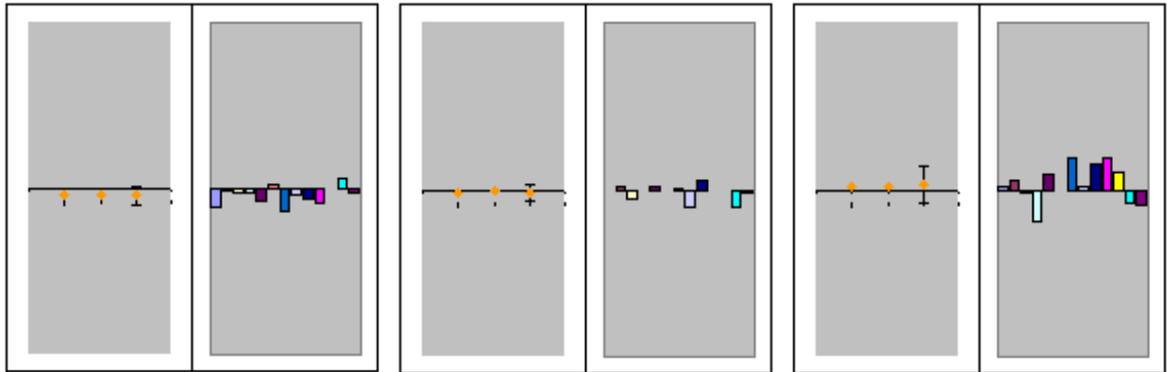
Parahipocampo Anterior



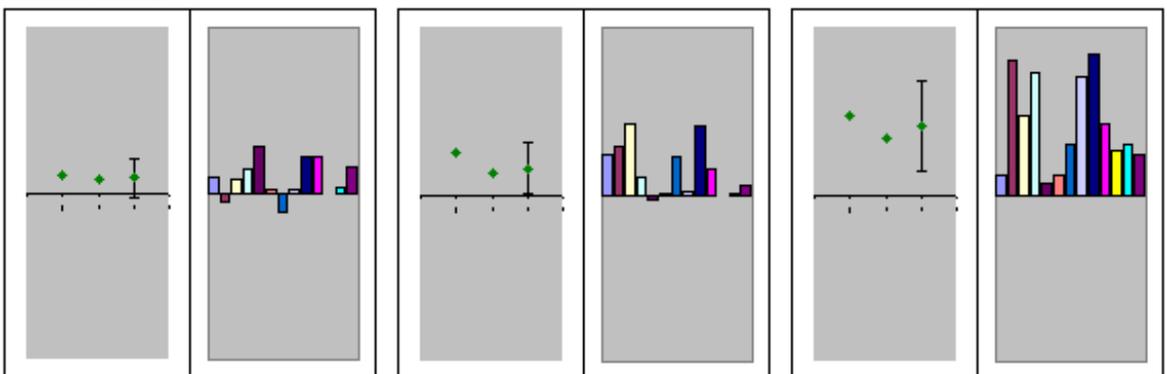
Hipocampo Posterior



Fusiforme



Giro Frontal Inferior



Precúneo

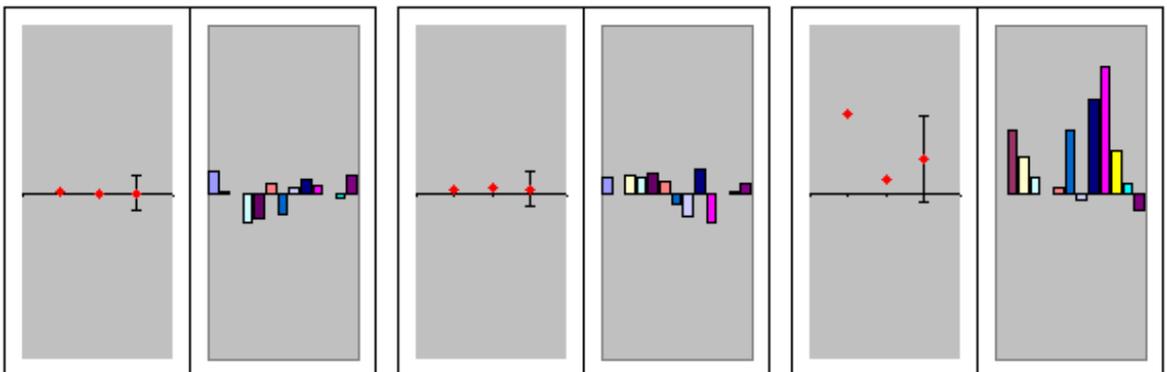


Figura R9. Lateralização para o contraste “Novos > Repetidos” utilizando a técnica P_T . Cada linha é referente a uma RDI específica. Lateralizações positivas (acima da abscissa) indicam lateralizações para a E; lateralizações negativas, para a D. Os dois primeiros pares de gráficos mostram lateralizações para padrões; os pares do meio, para cenas; e os últimos pares de cada linha, para palavras. Em cada par, o primeiro gráfico representa lateralizações de grupo obtidas de três formas diferentes. O primeiro ponto indica lateralização calculada no mapa de grupo obtido por AER. O segundo ponto indica a média de lateralização entre os sujeitos

ponderada para o nível de intensidade de sinal de RMF em cada sujeito. O terceiro ponto indica a média simples de lateralização, sendo as barras indicadoras de um DP da média para cada lado. O segundo gráfico de cada par indica a lateralização obtida em cada sujeito (sujeitos representados por colunas de cores diferentes).

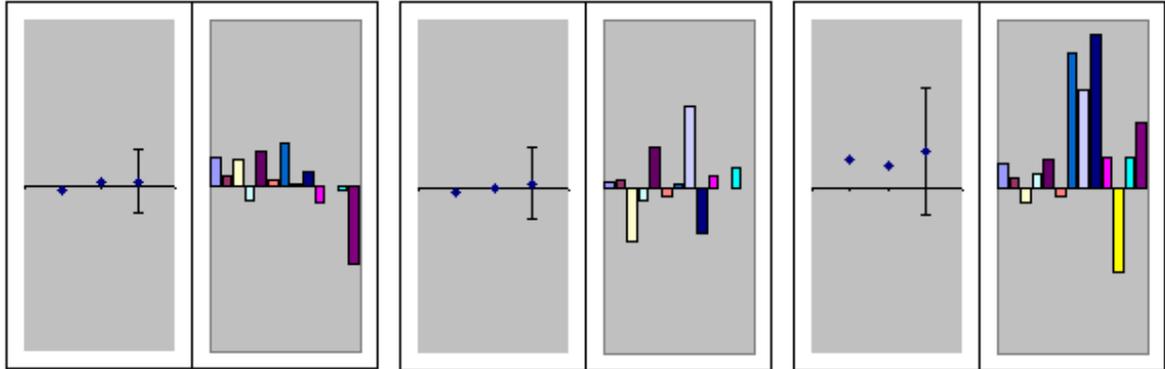
Lembrados > Repetidos

Padrões

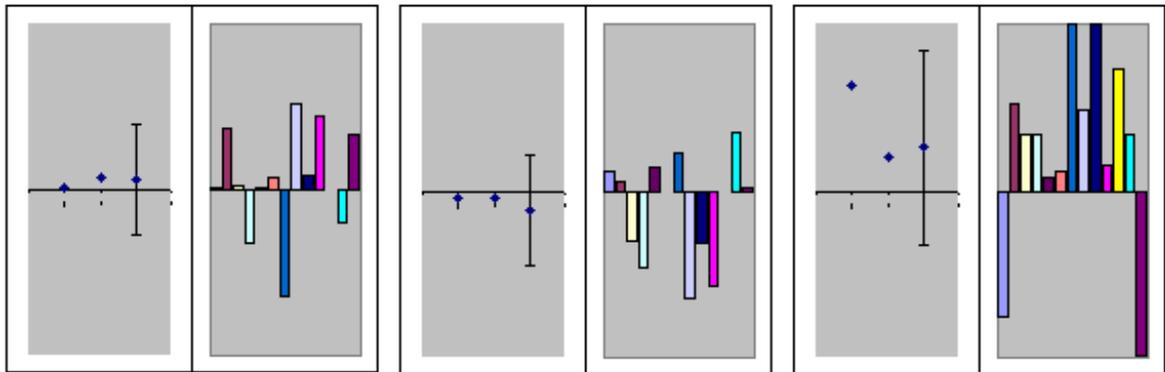
Cenas

Palavras

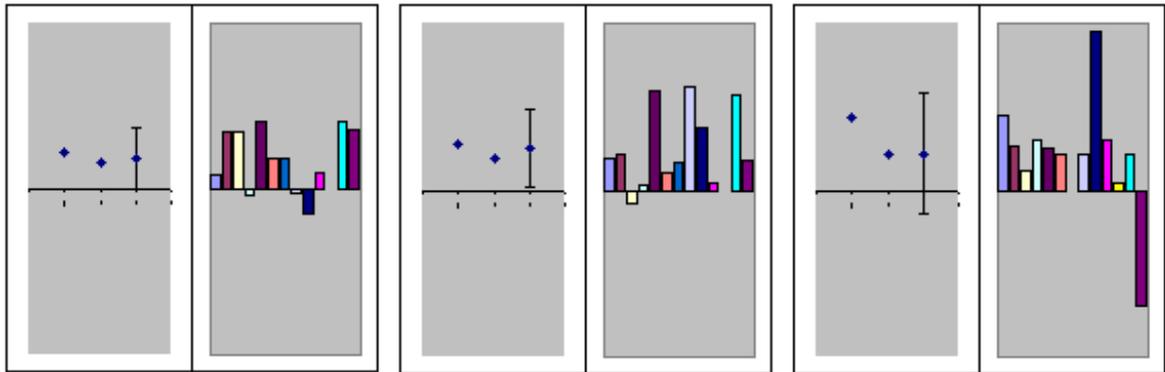
Hipocampo Anterior



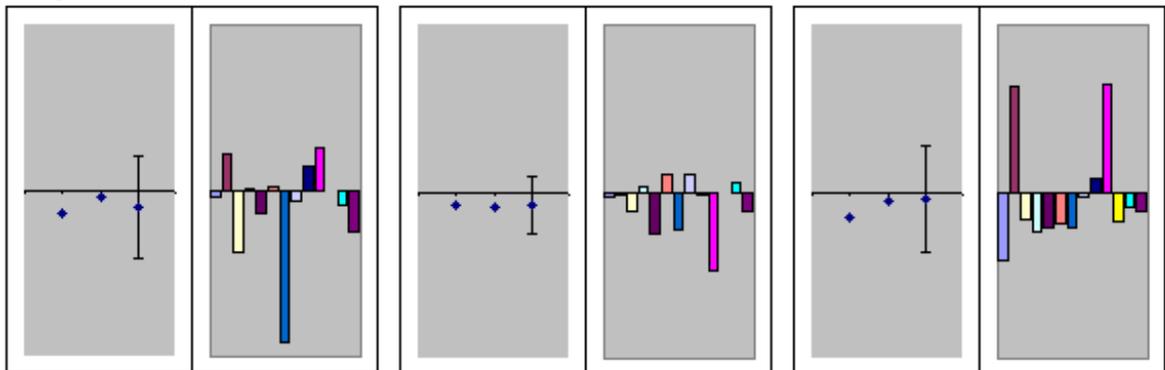
Amígdala



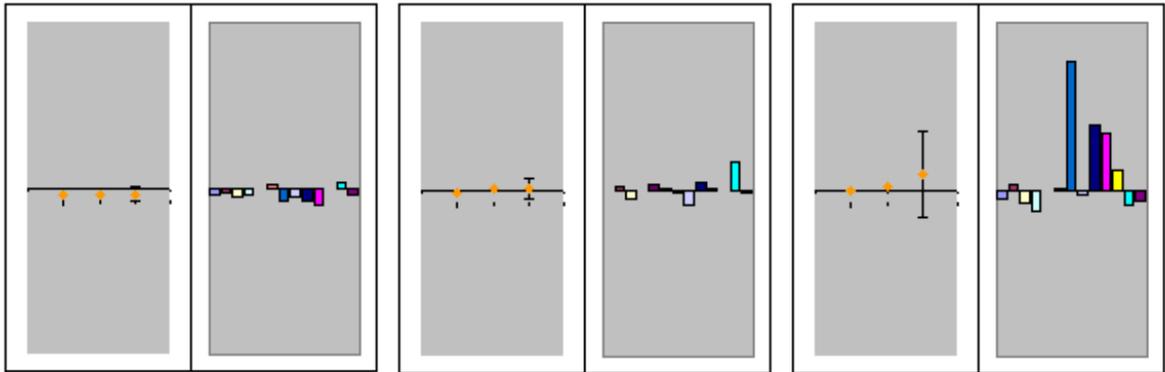
Parahipocampo Anterior



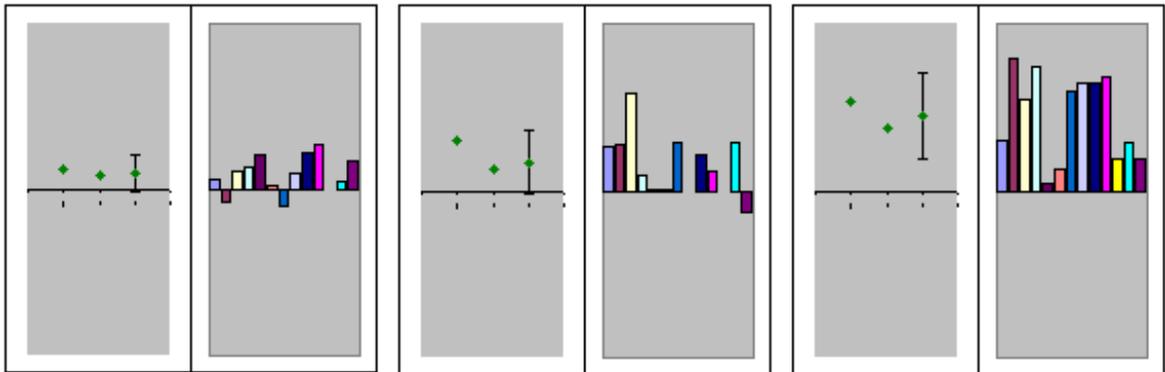
Hipocampo Posterior



Fusiforme



Giro Frontal Inferior



Precúneo

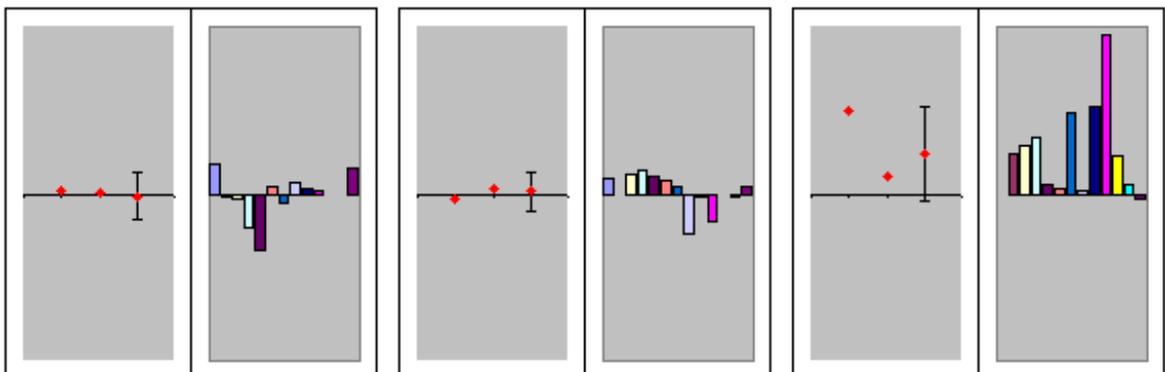


Figura R10. Lateralização para o contraste “Lembrados > Repetidos” utilizando a técnica P_T .

Cada linha é referente a uma RDI específica. Lateralizações positivas (acima da abscissa) indicam lateralizações para a E; lateralizações negativas, para a D. Os dois primeiros pares de gráficos mostram lateralizações para padrões; os pares do meio, para cenas; e os últimos pares de cada linha, para palavras. Em cada par, o primeiro gráfico representa lateralizações de grupo obtidas de três formas diferentes. O primeiro ponto indica lateralização calculada no mapa de grupo obtido por AER. O segundo ponto indica a média de lateralização entre os sujeitos ponderada para o nível de intensidade de sinal de RMF em cada sujeito. O terceiro

ponto indica a média simples de lateralização, sendo as barras indicadoras de um DP da média para cada lado. O segundo gráfico de cada par indica a lateralização obtida em cada sujeito (sujeitos representados por colunas de cores diferentes).

A inspeção visual das imagens e dos gráficos de lateralização permitiu a elaboração da tabela R2, que apresenta as tendências de lateralização nas ativações relacionadas às tarefas de memorização em diversas estruturas:

	HC Anterior e Amígdala	ParaHC Anterior	HC Posterior	Giro Fusiforme	Giro Frontal Inferior	Precúneo
Padrões	Fracamente à D	Claramente à E	Claramente à D	Fracamente à D	Claramente à E	Fracamente à D
Cenas	Fracamente à E	Claramente à E	Fracamente à D	Fracamente à D	Claramente à E	Fracamente à E
Palavras	Fortemente à E	Fortemente à E	Claramente à D	Fracamente à E	Fortemente à E	Fortemente à E

Tabela R2. Lateralizações aproximadas observadas nos mapas de ativação e nos gráficos de lateralização.

5.2.3. Lateralização Hipocampal Anterior em Sujeitos Normais

Em função da sua importância para o processo de memorização, o HC anterior foi estudado em maior detalhe, através de múltiplas abordagens para cálculo de lateralização (QtVx10, P_T, P_{P1}, P_{P2}, P_{PV1} e P_{PV2}). Além disso, a região hipocampal apresenta sinal muito

fraco, dificultando a análise, e a região hipocampal anterior, particularmente, não tem sido tão amplamente estudada na literatura quanto a região posterior .

Na nossa amostra, 31% das distribuições de voxels no HCA produziram lateralizações para ambos os lados utilizando QtVx10, dependendo do limiar escolhido. E mesmo utilizando um limiar bastante baixo ($P = 0,1$), 8,3% dos sujeitos normais não obtiveram nenhum voxel ativado na RDI do HCA para memorização de cenas, 25% para memorização de padrões, e 30,7% para memorização de palavras.

A figura R11 apresenta os ILs dos 13 sujeitos saudáveis obtidos pelas técnicas QtVx10, P_T, P_{P1} e P_{P2} para cada um dos três materiais.

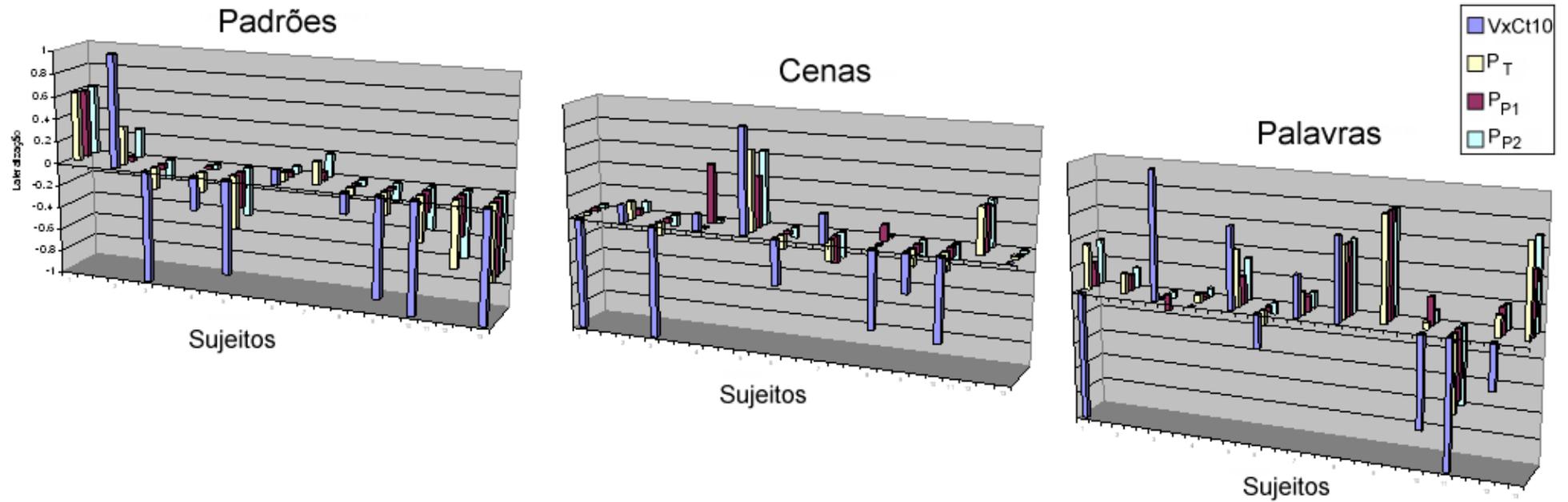


Figura R11. Índices de lateralização nos sujeitos normais para padrões, cenas e palavras. Quatro das técnicas utilizadas para estimar os ILs são apresentadas. Note a tendência geral de lateralização para direita para padrões, para esquerda para palavras, e intermediária para cenas.

Também note que as barras azuis indicando ILs obtidos pela técnica QtVx10 são normalmente maiores que as demais e podem indicar lateralizações para lados opostos daqueles indicados pelos ILs ponderados.

A figura R12 apresenta os IL médios dos 13 sujeitos normais para o contraste “novos > repetidos” obtidos através das técnicas QtVx10, P_T, P_{P1} e P_{P2}. ILs diferiram entre materiais [$F(2,114) = 9,41, P < 0,0005$] e entre técnicas [$F(3,111) = 4,74, P < 0,005$]. Para todas as técnicas, os IL médios para padrões, palavras e cenas foram concordantes com estudos anteriores (Martin 1999; Golby, Poldrack et al. 2001), i.e., padrões tenderam a lateralizar para a direita (-0,45; -0,13; -0,07; -0,11, respectivamente para QtVx10, P_T, P_{P1}, e P_{P2}), palavras para a esquerda (-0,07; 0,21; 0,17; 0,20, respectivamente para QtVx10, P_T, P_{P1}, e P_{P2}), e cenas intermediariamente (-0,25; 0,05; 0,09; 0,04, respectivamente para QtVx10, P_T, P_{P1}, e P_{P2}).

Apesar de uma discreta lateralização de palavras para a direita utilizando QtVx10, lateralizações dentro de cada uma das quatro técnicas de análise seguiram este mesmo padrão geral, com lateralização de cenas entre a de padrões (que mais lateralizaram para a direita) e palavras (que mais lateralizaram para esquerda). Palavras diferiram significativamente de padrões [$t(92) = 3,37, P < 0,005$], e houve uma tendência para a diferença entre padrões e cenas ($P = 0,064$) e cenas e palavras ($P = 0,077$). Em nível de indivíduo, a técnica QtVx10 produziu as lateralizações mais fortes, abrangendo toda a faixa de valores entre -1 e +1. As distribuições ponderadas, devido ao maior número de voxels menos significativos, produziram lateralizações menores, mas a variabilidade entre sujeitos diminuiu consideravelmente em comparação à QtVx10 (DP variaram de 0,60 a 0,71 para QtVx10, de 0,26 a 0,38 para P_T, de 0,23 a 0,33 para P_{P1}, e de 0,25 a 0,37 para P_{P2}). Todas as técnicas ponderadas diferiram significativamente de QtVx10—P_T vs. QtVx10: [$t(65) = 2,34, P < 0,05$] P_{P1} vs. QtVx10: [$t(65) = 2,62, P < 0,05$]; P_{P2} vs. QtVx10: [$t(65) = 2,37, P < 0,05$]—mas não entre si.

QtVx10

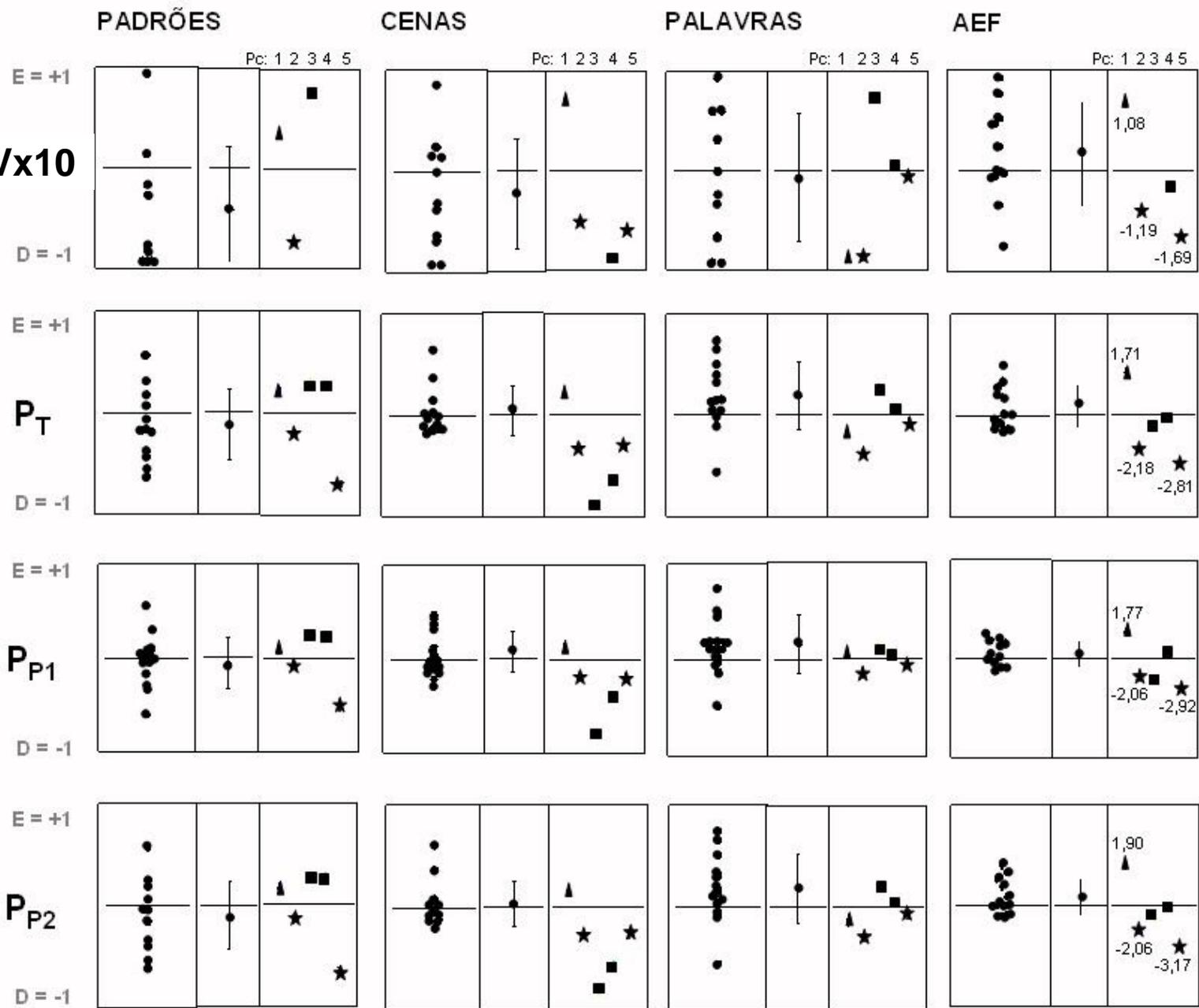


Figura R12: Índices de lateralização obtidos na RDI do HCA em todos os sujeitos para padrões, cenas e palavras (individualmente) e combinação desses três (AEF) (*colunas*), calculados por quatro diferentes técnicas (linhas). O gráfico da esquerda em cada conjunto de gráficos representa os índices de lateralização individuais dos controles (pontos); o gráfico do meio, o índice de lateralização médio do grupo controle, sendo que as barras representam um desvio-padrão da média; e o gráfico da direita apresenta índices de lateralização para pacientes. Pacientes identificados por um asterisco tiveram TAS de memória claramente para a direita e lesões no LTM esquerdo; o paciente identificado por um triângulo teve um TAS claramente para a esquerda, mas sem lesões nos LTMs; e pacientes identificados por quadrados tiveram um TAS inconclusivo e discretamente para a esquerda, bem como RM estrutural normal. Pontos acima da abscissa indicam lateralização para a esquerda e pontos abaixo, para a direita. Note a diminuição da variabilidade dos ILs em termos de DP quando as técnicas ponderadas são utilizadas, em comparação à técnica de quantificação de voxels acima de um limiar arbitrário (QtVx10). Também note que as técnicas ponderadas preservam a distribuição geral de lateralizações obtida por QtVx10, mas com menor variabilidade. Os números adjacentes aos pacientes 1, 2 e 5 (que tiveram TAS conclusivos) na coluna de AEF indicam a diferença em DP com relação à média do grupo normal. Quando qualquer uma das técnicas ponderadas é utilizada, a diferenciação entre pacientes e o grupo controle se torna mais nítida (maiores DP)—isto é principalmente devido à diminuição da variabilidade entre sujeitos no grupo controle utilizando essas técnicas. Também é digno de nota que o efeito combinado dos três tipos de materiais é muito melhor para diferenciar os pacientes dos controles do que qualquer um dos materiais independentemente.

A AEF (também apresentada na figura R12) permitiu a estimação de índices de lateralização representativos dos três tipos de materiais combinados. Os ILs médios (e DPs) produzidos por AEF utilizando QtVx10, P_T, P_{P1} e P_{P2} foram $0,18 \pm 0,56$, $0,10 \pm 0,22$, $0,06 \pm 0,14$, e $0,09 \pm 0,19$, respectivamente.

Análise de segundo nível (AER) foi realizada para padrões, cenas, palavras e para a combinação dos três tipos de materiais. ILs obtidos por AER são apresentados na tabela R3.

	Padrões	Cenas	Palavras	AEF dos três tipos de materiais
QtVx10	-0,05435	-0,06852	0,271186	0,027545
P_T	-0,03461	0,033	0,382604	0,072973
P_{P1}	-0,0344	-0,00901	0,365937	0,007793
P_{P2}	-0,03738	-0,03023	0,423085	0,011701

Tabela R3. Índices de lateralização obtidos por análise de efeitos randômicos (AER) em sujeitos normais. Utilizando todos os métodos analíticos, existe um continuum de lateralização da direita para a esquerda para padrões, cenas e palavras. AEF dos três materiais no grupo de sujeitos normais foi discretamente para a esquerda.

Durante a sessão de reconhecimento, palavras foram significativamente melhor lembradas do que padrões [$t(23) = 2,85$, $P < 0,005$] e cenas [$t(23) = 3,92$, $P < 0,0005$]. O número médio de verdadeiros positivos e seus DPs para padrões, cenas e palavras foram respectivamente $27,5 \pm 10,62$, $25,33 \pm 10$, and $34 \pm 9,47$.

5.2.4. Lateralização Hipocampal Anterior em Pacientes

A lateralização de memória pelo TAS foi claramente para a direita em dois pacientes (pacientes 2 e 5) e para a esquerda em um (paciente 1). Nos outros dois (pacientes 3 e 4), a lateralização por TAS foi inconclusiva e discretamente para a esquerda (tabela R1). Somente os dois pacientes com TAS para a direita tinham lesões no LTM (à esquerda). As lateralizações por ressonância funcional para os cinco pacientes são apresentadas também na figura R12, onde são comparadas ao grupo controle em termos de desvios-padrão (DP) da média do grupo normal.

Nos dois pacientes com TAS para a direita e lesões à esquerda, todas as técnicas para cálculo de ILs produziram lateralizações para a direita para as três modalidades individuais de estímulos, a QtVx10 tendendo a produzir as lateralizações maiores, mas também tendendo a produzir resultados nulos, como aconteceu com padrões no paciente 5 (devido à falta de voxels ativados abaixo de $P = 0,1$). Além disso, QtVx10 foi a única técnica a produzir lateralizações para a esquerda da média do grupo controle (palavras no paciente 5), enquanto o esperado seria uma lateralização para a direita da média, dado os resultados de TAS e RM estrutural. A análise de efeitos fixos (AEF) nesses dois pacientes para a combinação de padrões, cenas e palavras também produziu lateralização para a direita utilizando todas as quatro técnicas. Em ambos, a distância (em termos de DP) entre seus ILs e os IL do grupo controle foi claramente maior quando foram utilizadas as técnicas ponderadas. As maiores distâncias para o paciente 2 foram encontradas utilizando QtVx10 (-0,57), P_T (-1,56), P_T (-1,71), e P_{P2} (-2,06), respectivamente para padrões, cenas, palavras e AEF. Para o paciente 5, elas foram encontradas utilizando P_{P1} (-1,93), P_T (-1,57), P_{P2} (-0,77) e P_{P2} (-3,17). Somente as

técnicas ponderadas produziram distâncias maiores que 2 DP, o que aconteceu quando os três materiais foram analisados conjuntamente (AEF).

O paciente 1, que teve um TAS claramente para a esquerda com MR estrutural normal, obteve lateralizações para padrões e cenas maiores do que 1 DP da média do grupo controle somente para QtVx10 (1,19 e 1,72 DPs, respectivamente). Todas as distribuições ponderadas produziram lateralizações para a esquerda da média, mas foram menores do que 1 DP (exceto P_T para padrões, cujo DP foi 1,03). Com relação às palavras, as lateralizações deste paciente foram inesperadamente para a direita da média do grupo controle, com QtVx10 produzindo novamente um IL maior do que 1 DP (-1,30). Análise de efeitos fixos, no entanto, corretamente resultou em ILs para a esquerda do IL médio, com P_{P2} produzindo a diferenciação mais robusta entre este paciente e o grupo controle (1,90 DP).

Na AEF do paciente 3, que teve um TAS inconclusivo, as lateralizações desviaram para a direita da média do grupo controle utilizando as técnicas ponderadas (DP = -1,07, -1,98, -1,24 respectivamente para P_T, P_{P1} e P_{P2}), enquanto que QtVx10 não foi capaz de produzir um resultado válido. Este paciente também possuía atividade epiléptica ao EEG no LTM esquerdo. Para o outro paciente com TAS inconclusivo (paciente 4), desvios obtidos por AEF foram -0,66, -0,55, +0,08 e -0,42, respectivamente para QtVx10, P_T, P_{P1} e P_{P2}. Este paciente tinha atividade eletroencefalográfica anormal bilateral nos LTMs, maior à esquerda.

A performance de memória durante a sessão de reconhecimento, realizada após a sessão de RMF de memorização, para os paciente de 1 a 4 é apresentada na tabela R1. Não foi possível realizar a tarefa de reconhecimento para o paciente 5.

5.2.5. O Efeito da Memorização Efetiva

A mesma análise descrita acima foi aplicada para o contraste “Lembrados > Repetidos” para avaliar o efeito da memorização bem sucedida sobre a lateralização hipocampal anterior de memória.

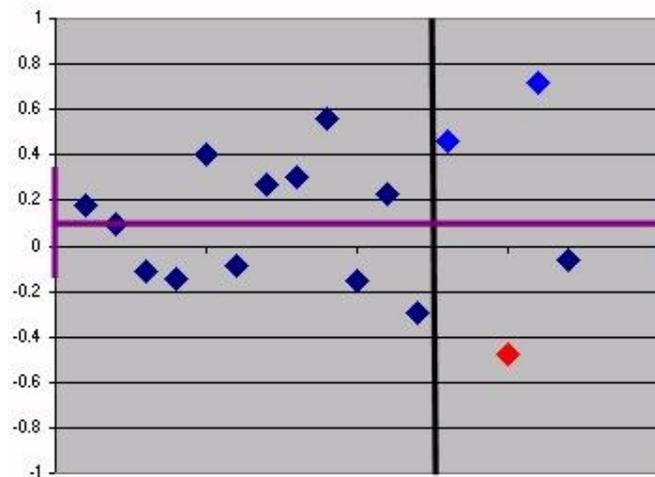


Figura R13. A figura indica índices de lateralização para sujeitos normais e pacientes utilizando o contraste “Lembrados > Repetidos”, a técnica de AEF, índice P_t , e a RDI do HC anterior. Pontos à esquerda da barra vertical são relativos aos 12 controles que tiveram aquisições de RMF através dos três estímulos principais (padrões, cenas e palavras). Os pontos à direita da barra preta indicam a lateralização de pacientes. Pontos em azul claro indicam lateralizações para a esquerda concordantes com o TAS. Pontos em vermelho, lateralizações para a direita concordantes com o TAS. Pacientes marcados com azul escuro tiveram TAS inconclusivo. A barra horizontal de cor vinho indica a média dos controles e as barras verticais da mesma cor indicam um DP dessa média. O paciente 3, que teve RMF discordante do TAS pelo contraste “novos > repetidos”, se tornou concordante com o contraste “lembrados > repetidos”. Nesta figura existe um paciente a menos do que na figura R12 porque o paciente 5 não executou a tarefa de reconhecimento.

5.2.6. O Efeito dos Voxels Negativamente Correlacionados

Com o objetivo de estudar o efeito dos voxels negativamente correlacionados com a tarefa, a análise acima foi repetida através das técnicas P_{PV1} e P_{PV2} , utilizando a distribuição de completa de voxels, incluindo voxels positivamente e negativamente correlacionados com a tarefa. A figura R14 e R15 apresentam os resultados respectivamente para P_{PV1} e P_{PV2} .

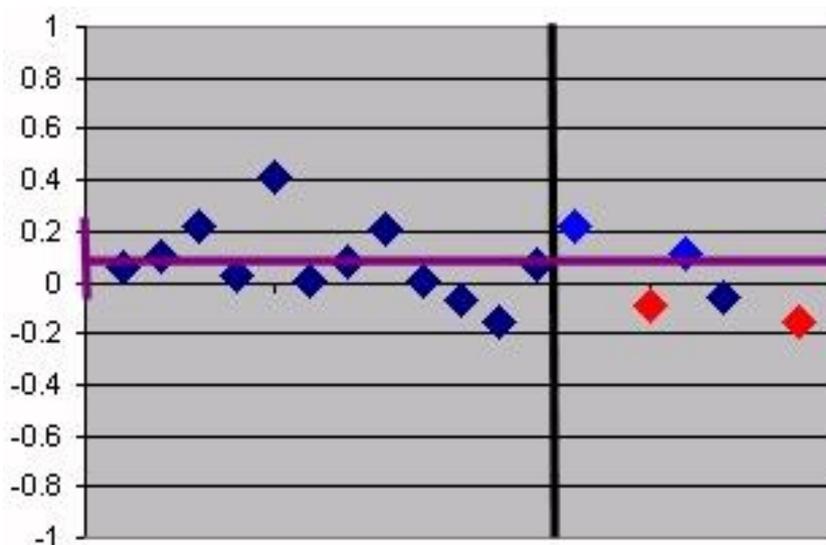


Figura R14. A figura indica índices de lateralização para sujeitos normais e pacientes utilizando o contraste “Novos > Repetidos”, a técnica de AEF, índice P_{PV1} , e a RDI do HC anterior. Pontos à esquerda da barra vertical são relativos aos 12 controles que tiveram aquisições de RMF através dos três estímulos principais (padrões, cenas e palavras). Os pontos à direita da barra preta indicam a lateralização de pacientes. Pontos em azul claro indicam lateralizações para esquerda concordantes com o TAS. Pontos em vermelho indicam lateralizações para a direita concordantes com o TAS. A barra horizontal bordô indica a média dos controles e as barras bordôs verticais indicam um DP dessa média. A técnica P_{PV1} apresenta um alto grau de concordância entre a lateralização esperada e a obtida. A técnica foi inclusive capaz de identificar uma lateralização concordante com TAS para o paciente 3 sem lançar mão do contraste “lembrados > repetidos”. Por outro lado, os pacientes alcançaram, de

modo geral, menor diferenciação dos controles do que utilizando P_t ou P_{PV2} (abaixo), pois houve uma tendência muito grande de aproximação à média e, portanto, baixos desvios-padrão.

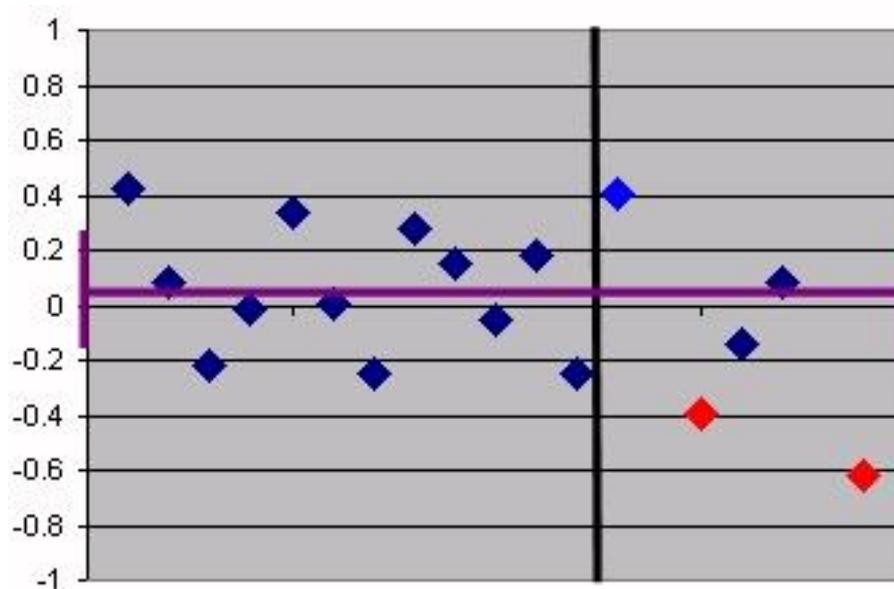


Figura R15. A figura indica índices de lateralização para sujeitos normais e pacientes utilizando o contraste “Novos > Repetidos”, o índice P_{PV2} , técnica de AEF e a RDI do HC anterior. Pontos à esquerda da barra vertical são relativos aos 12 controles que tiveram aquisições de RMF através dos três estímulos principais (padrões, cenas e palavras). Os pontos à direita da barra preta indicam a lateralização de pacientes. Pontos em azul claro indicam lateralizações para a esquerda concordantes com o TAS. Pontos em vermelho indicam lateralizações para a direita concordantes com o TAS. A barra horizontal bordô indica a média dos controles e as barras bordô verticais indicam um DP dessa média. A técnica P_{PV2} apresentou resultados muito semelhantes à técnica P_t , que utiliza apenas voxels positivos.

5.3. Reconhecimento

As tarefas de reconhecimento produziram resultados menos consistentes do que as de memorização e não revelaram uma distribuição geral de ativações diferente das encontradas para tarefas de memorização. Isso é possivelmente consequência do número insuficiente de estímulos em cada uma das quatro categorias de reconhecimento (< 44). Os registros de reconhecimento não serão, portanto, objeto de análise desta tese. De qualquer forma, os mapas de ativação obtido estão apresentados abaixo.

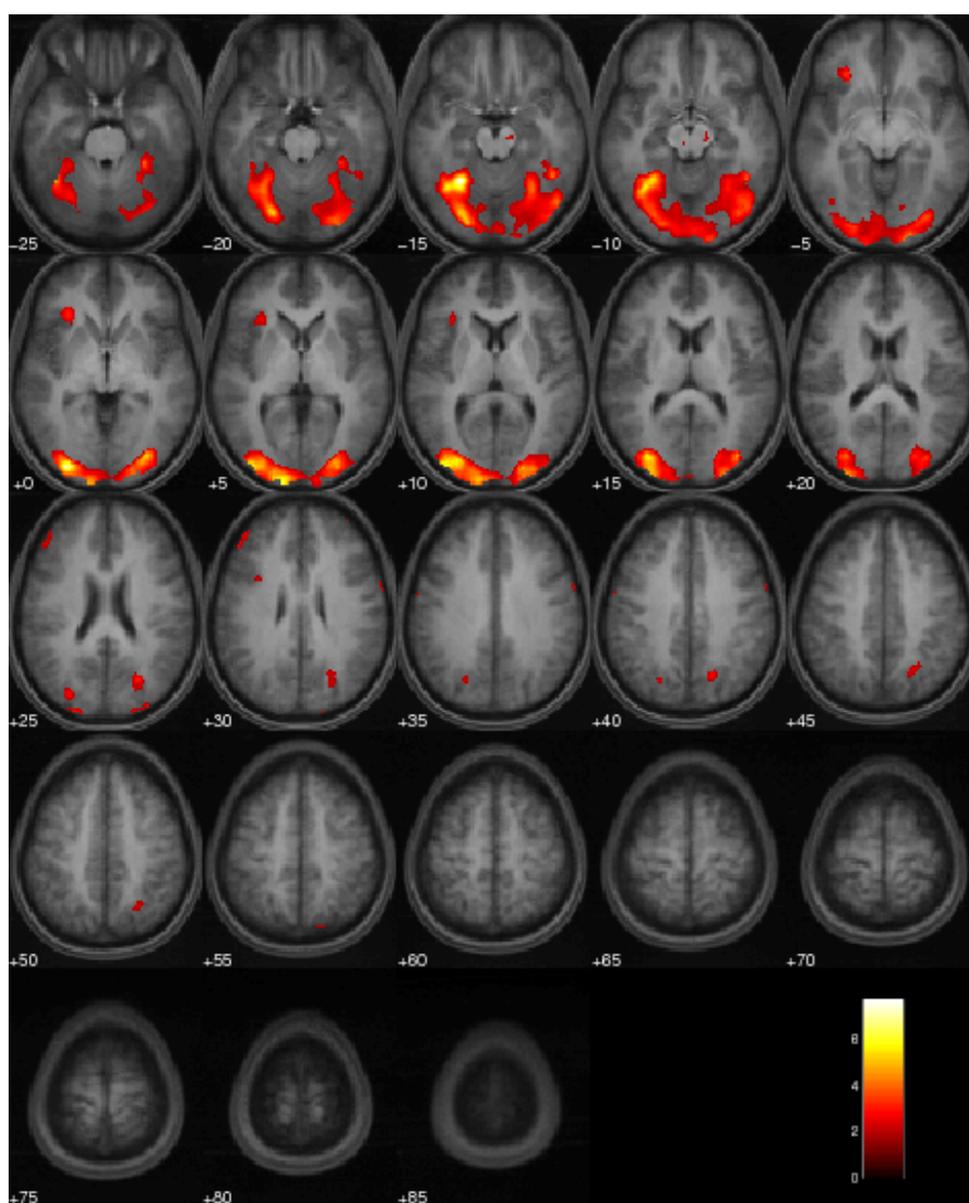


Figura R16. Mapa de grupo para reconhecimento de **padrões**, utilizando o contraste “**estímulos corretamente lembrados > linha de base**” ($P = 0,05$). A imagem estrutural de

fundo é uma média das aquisições cerebrais estruturais em T1 de todos os 13 sujeitos normais.

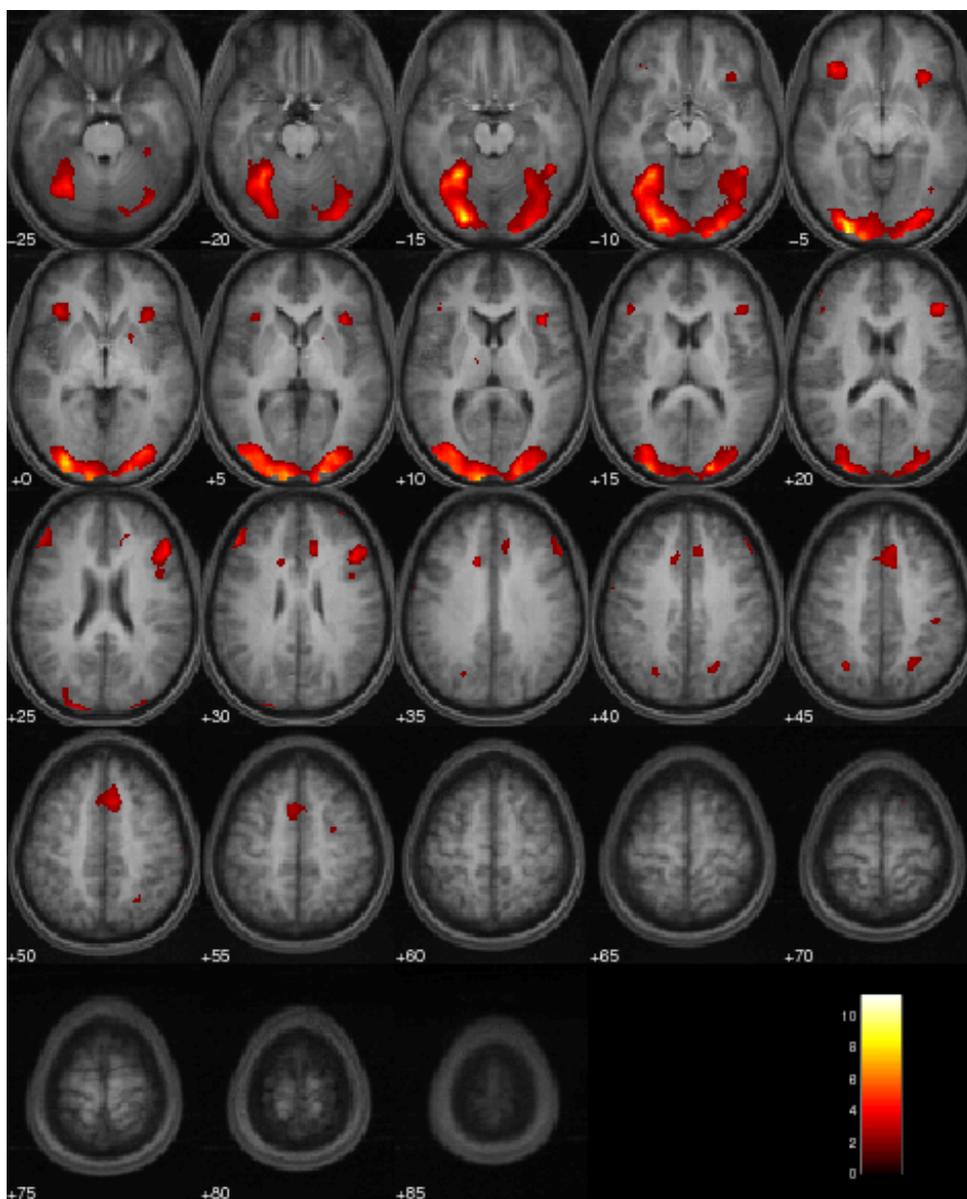


Figura R17. Mapa de grupo para reconhecimento de **padrões**, utilizando o contraste “**todos estímulos previamente apresentados > linha de base**” ($P = 0,05$). A imagem estrutural de fundo é uma média das aquisições cerebrais estruturais em T1 de todos os 13 sujeitos normais.

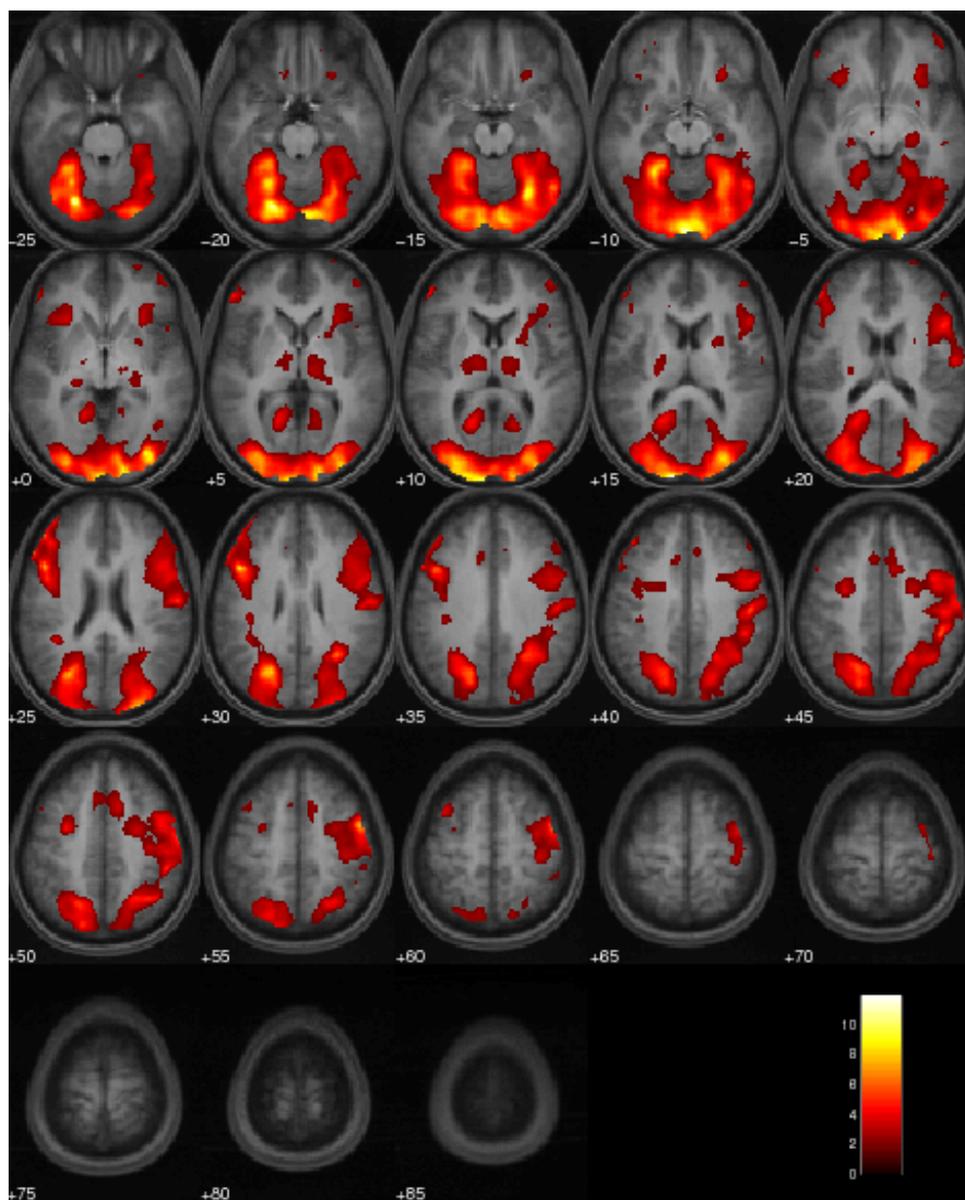


Figura R18. Mapa de grupo para reconhecimento de **cen**as, utilizando o contraste “**estímulos corretamente lembrados > linha de base**” ($P = 0,05$). A imagem estrutural de fundo é uma média das aquisições cerebrais estruturais em T1 de todos os 13 sujeitos normais.

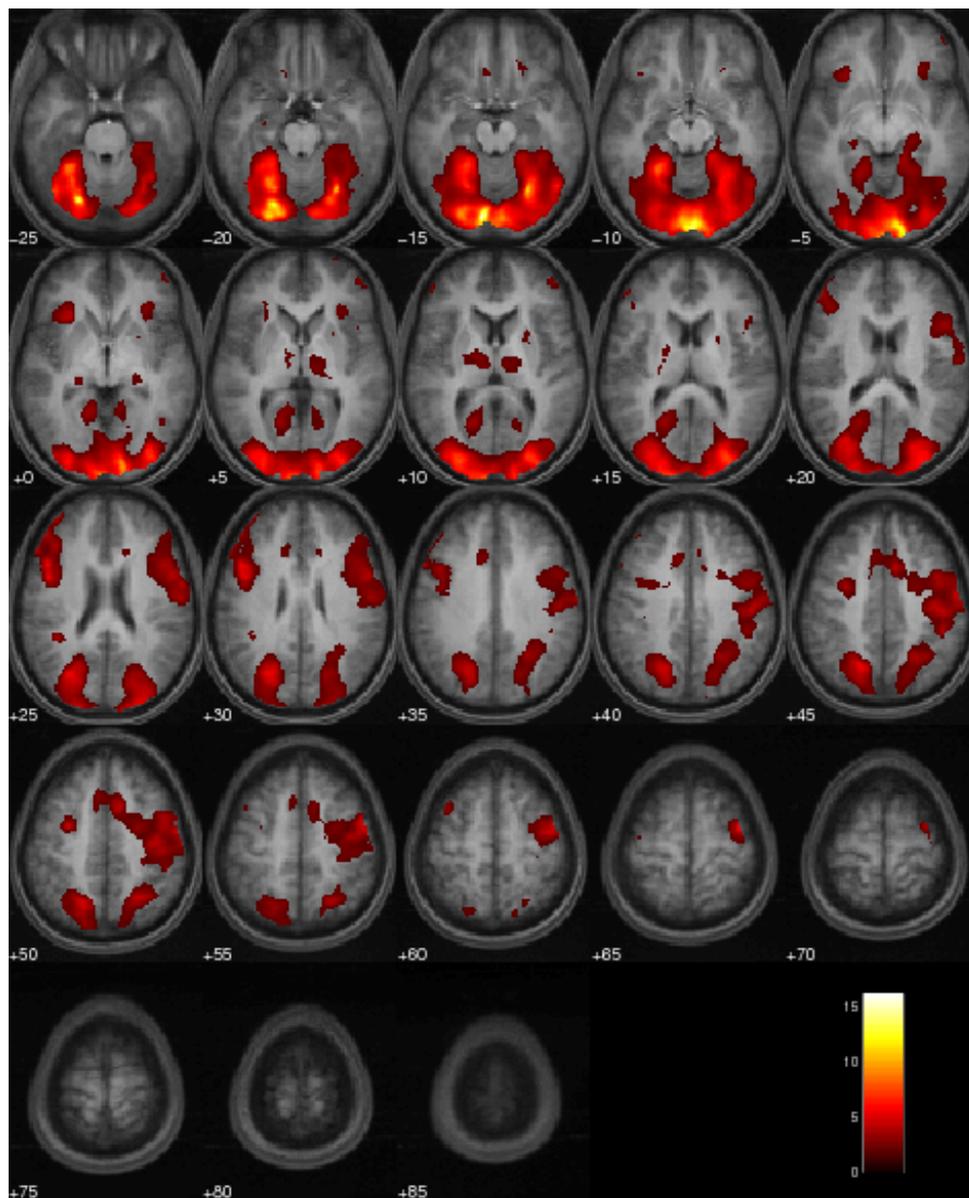


Figura R19. Mapa de grupo para reconhecimento de **cen**s, utilizando o contraste “**todos estímulos previamente apresentados > linha de base**” ($P = 0,05$). A imagem estrutural de fundo é uma média das aquisições cerebrais estruturais em T1 de todos os 13 sujeitos normais.

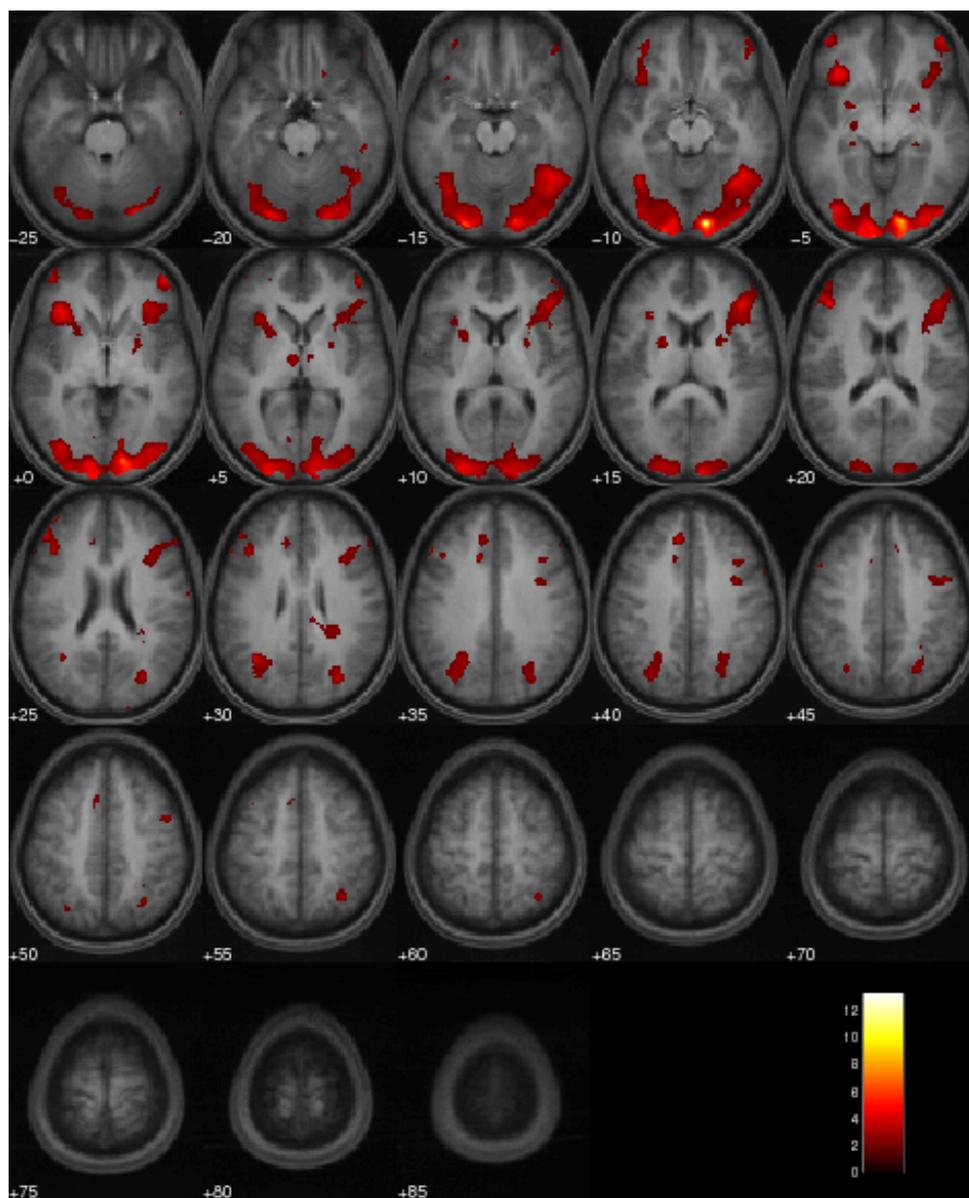


Figura R20. Mapa de grupo para reconhecimento de **palavras**, utilizando o contraste “**estímulos corretamente lembrados > linha de base**” ($P = 0,05$). A imagem estrutural de fundo é uma média das aquisições cerebrais estruturais em T1 de todos os 13 sujeitos normais.

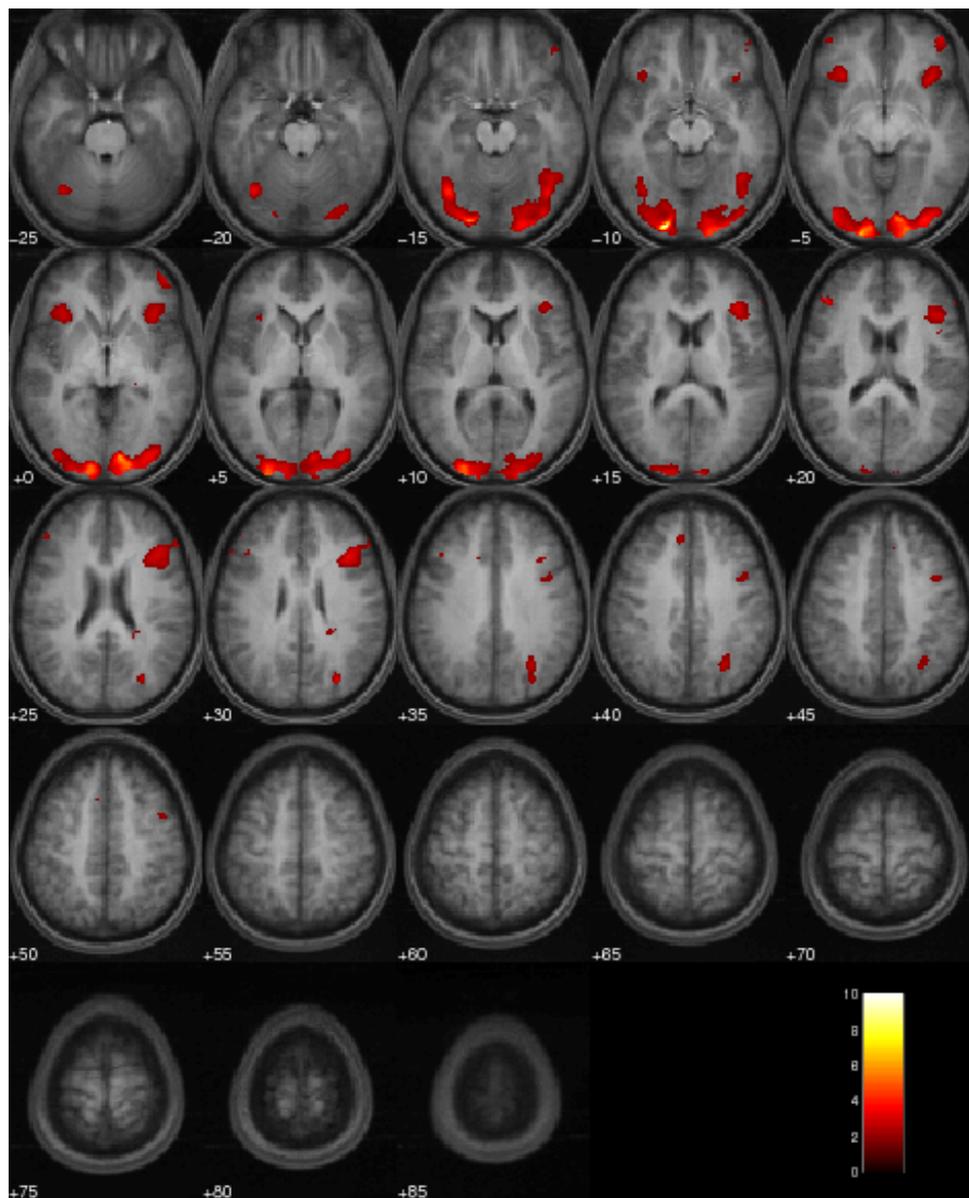


Figura R21. Mapa de grupo para reconhecimento de **palavras**, utilizando o contraste “**todos estímulos previamente apresentados > linha de base**” ($P = 0,05$). A imagem estrutural de fundo é uma média das aquisições cerebrais estruturais em T1 de todos os 13 sujeitos normais.

6. DISCUSSÃO

Uma técnica adequada para o cálculo de índices de lateralização (ILs) deve produzir resultados robustos (que não variem com parâmetros tais como limiar), deve permitir uma comparação entre-sujeitos consistente, e deve ser reproduzível (Nagata, Uchimura et al. 2001). A metodologia de distribuições ponderadas descrita aqui foi primariamente desenvolvida para melhorar robustez e consistência, já que era nosso objetivo obter ILs fidedignos sem uso de limiares arbitrários e que pudessem ser utilizados para diferenciação entre pacientes com lateralizações alteradas de função de memória e sujeitos normais. É importante perceber que, apesar de poder ser bastante difícil obter resultados de RMF robustos em indivíduos (sem análise de grupo e particularmente em pacientes), principalmente na RDI do LTM, nós conseguimos demonstrar que esta metodologia produziu resultados que consistentemente concordaram com lateralizações obtidas de pacientes com TAS, que é o exame clínico padrão-ouro.

ILs calculados por distribuições ponderadas foram mais consistentes, com desvios-padrão no grupo controle aproximadamente 50% menores do que aqueles obtidos pela técnica QtVx10. Além disso, as distribuições ponderadas conseguiram identificar desvios maiores do que 2 DPs utilizando AEF nos dois pacientes com TAS claramente lateralizados para a direita e lesões no LTM esquerdo, enquanto que os desvios obtidos por QtVx10 permaneceram menores do que 2 DPs. Para padrões no paciente 5, apesar da ausência de voxels ativados abaixo de $P = 0,1$, as distribuições ponderadas foram capazes de extrair uma lateralização

correta dos voxels restantes, a qual desviou mais do que 1 DP para a direita da média dos ILs do grupo saudável. Este achado demonstra que distribuições ponderadas podem produzir lateralizações mais robustas mesmo quando as ativações dentro de uma específica RDI sejam fracas. ILs calculados dessa forma são independentes de limiares.

Apesar dessa técnica poder ser bastante útil, nós não gostaríamos de sugerir que o uso de distribuições de voxels é adequado para situações que não a de avaliação de lateralização (como por exemplo elaboração de mapas de ativação), já que esses voxels dificilmente produziram mapas de boa qualidade. Mesmo assim, a ponderação de voxels pelos seus respectivos pesos estatísticos e o uso de distribuições para comparação entre os hemisférios cerebrais resultam em uma estimativa adequada de lateralização, consistente com TAS. O uso de mapas de RMF para localizar função dentro do LTM com o objetivo de planejamento cirúrgico é uma possibilidade futura que merece mais testes.

Naturalmente, ILs calculados pelo uso de distribuições de voxels tenderão a se aproximar de zero em função da incorporação de voxels pobremente ativados. Entretanto, este efeito faz com que os ILs resultantes sejam mais homogêneos entre os sujeitos e, portanto, mais consistentes. Um IL de um paciente que é claramente diferente do IL médio do grupo normal quando calculado por estes métodos será muito provavelmente verdadeiramente diferente, já que aquele IL resistiu a tendência em direção a zero. A técnica é portanto mais específica. Uma abordagem de simples QtVx pode produzir ILs maiores, mas porque a variabilidade se torna maior utilizando essa abordagem, se torna mais difícil diferenciar um paciente do grupo controle, tornando o métodos menos sensível, como aconteceu com palavras no paciente 5.

Outras estratégias que não preconizam a escolha de um limiar têm sido propostas e são também supostamente mais robustas. Uma dessas estratégias se baseia na magnitude da mudança média de sinal (MMS) de voxels dentro de uma RDI específica (Benson, FitzGerald

et al. 1999; Adcock, Wise et al. 2003). Uma vantagem da abordagem por MMS é que ela se baseia na correlação temporal do sinal com a tarefa comportamental realizada em vez de em testes t para encontrar modificações do sinal médio, o que respeita melhor o curso temporal do sinal (Cohen and DuBois 1999). O método de MMS foi comparado com o métodos de QtVx utilizando limiares arbitrários e foi verificado que ele é mais estável (Cohen and DuBois 1999). Mesmo assim, Adcock et al. (Adcock, Wise et al. 2003) encontraram que o método de MMS pode ser mais susceptível a produzir lateralizações ambíguas em comparação aos métodos de QtVx. A explicação mais provável é que a sensibilidade do método de MMS se sustenta na seleção apropriada dos voxels incluídos na análise, o que faz com que outros tipos de limiar sejam utilizados. Estudos prévios selecionaram voxels para análise por MMS com base no grau de correlação entre o sinal medido em cada voxel e o modelo comportamental (Benson, FitzGerald et al. 1999; Cohen and DuBois 1999), ou extraíram esses voxels de RDIs previamente definidas através da abordagem de QtVx tradicional (Adcock, Wise et al. 2003). Enquanto que o primeiro exige um limiar “de correlação”, o último exige o uso de um limiar tradicional de significância. Mais uma vez, parâmetros arbitrários precisam ser utilizados.

Uma tentativa de extrair ILs de linguagem utilizando distribuições de testes t sem seleção de limiar foi realizada por Nagata et al. (Nagata, Uchimura et al. 2001). Nesse trabalho, foi descoberto que a função de referência $(1/z)^4$ está altamente correlacionada com o número de voxels ativados acima de cada valor de z em RDIs relacionadas com expressão de linguagem. Diagramas nos quais o eixo x continha valores $(1/z)^4$ e o eixo y continha o respectivo número de voxels acima daquele valor de z foram analisados por regressão. Como as curvas resultantes foram aproximadamente limiares, elas serviram como uma estimativa das curvas de regressão monomial, cujos coeficientes se mostraram válidos para o cálculo de ILs independentes de limiar. Uma das desvantagens para esta abordagem, no entanto, é que a

função $(1/z)^4$ foi derivada empiricamente e precisa ser validada para outras RDIs, outros sujeitos e outros paradigmas. Além disso, as curvas côncavas z vs. contagem de voxels ativados, das quais a função $(1/z)^4$ foi extraída, foram levadas até somente um valor mínimo de z de aproximadamente 0,8. Não está claro se essa função se sustentaria caso as curvas fossem estendidas até $z = 0$. Por fim, linhas de regressão são sempre uma aproximação dos dados originais e são portanto sujeitas a erros e perda de informação. O método sugerido nesta tese, por outro lado, utiliza todos os voxels positivamente correlacionados e não se sustenta no ajustamento dos dados para estimar curvas, estando simplesmente envolvido com a comparação entre distribuições ponderadas de voxels extraídas de ambos os lados do cérebro. Portanto, nosso método deve também funcionar em outras RDIs. Mesmo assim, Nagata et al. conseguiram demonstrar com sua técnica que o uso de distribuições de voxels (em vez de apenas voxels acima de um determinado limiar) para calcular ILs é uma abordagem razoável e que pode produzir lateralizações mais robustas e consistentes, já que elas não dependem de limiar e são menos variáveis entre sujeitos. Estas são propriedades importantes para que ILs possam ser utilizados com segurança na prática clínica.

Um outro aspecto interessante da nossa técnica é a possibilidade de selecionar distribuições estatísticas (ou multiplicadores delas derivados) com base na interpretação dos dados. Neste estudo, não foi possível concluir qual distribuição (P_T , P_{P1} ou P_{P2}) é a melhor. Nós sugerimos, no entanto, que o uso de distribuições com base na distribuição P poderia produzir resultados mais clinicamente relevantes do que o uso de distribuições baseadas na distribuição T , já que valores $1-P$ são indicadores de “probabilidade de ser verdadeiro”, enquanto que valores de T são apenas uma medida de dispersão. Do ponto de vista clínica, por exemplo, dois voxels com P de 0,001 e 0,05, respectivamente, são provavelmente clinicamente relevantes, já que suas “possibilidades de serem verdadeiros” são similares (respectivamente, 99,9% e 95,0%). Em termos de T , no entanto, os seus valores poderia ser

tão diferentes quanto 3,15 e 1,656, respectivamente (para um DP = 141). Distribuições T poderiam ser mais adequadas para estudos cognitivos em voluntários normais, por serem mais restritivas e darem menos peso aos voxels com menor relevância estatística do que distribuições $1-P$. A técnica P_{P_2} traz potencialmente o melhor de dois mundos, já que é baseada na estatística P , mas se comporta com a estatística T ao suprimir a região com maior ruído da distribuição de voxels (próxima a $T = 0$).

Neste estudo, nós apresentamos cinco pacientes com condições distintas em termos de TAS, neuroimagem estrutural e história clínica. Pacientes 2 e 5 lateralizaram fortemente para a direita tanto por RMF como por TAS, e ambos tinham lesões no LTM esquerdo, o que forneceu ainda mais suporte para uma memória lateralizada para a direita. Nós consideramos esses dois pacientes como os mais adequados em nossa amostra para comparação entre RMF e TAS, em função do quadro clínico e TAS claros. (Apesar de escores de TAS baixos para o paciente 5, ele ficou completamente amnésico durante a injeção do hemisfério esquerdo, o que fortemente suporta lateralização de memória para a direita.) De fato, a correlação entre os dois procedimentos foi mais forte nestes dois indivíduos, que foram os únicos a obter ILs de RMF maiores do que 2 DP da média do grupo controle (na AEF). O paciente que teve um TAS claramente lateralizado para a esquerda (paciente 1) também teve uma RMF para a esquerda. Mas esse paciente não possuía lesão no LTM direito e teve uma baixa performance durante a parte de reconhecimento da RMF (tabela R1), o que foi provavelmente causado por baixa concentração durante a tarefa, já que a avaliação neuropsicológica foi normal. A ausência de lesão sugere que a lateralização de memória desta paciente possa de fato estar dentro dos limites de variação do grupo normal. Mas a baixa performance durante a RMF pode também explicar a diferenciação pobre deste paciente com relação ao grupo normal (desvios maiores do que 1, mas menores do que 2 DP). Isso ressalta a importância de coletar dados comportamentais em pacientes que realizam RMF com objetivos clínicos. O mesmo é

válido para o TAS. Os outros dois pacientes (pacientes 3 e 4) foram laudados como tendo falhado o TAS, dada a baixa performance durante a parte de reconhecimento do exame. Além disso, eles não possuíam nenhuma lesão visível na neuroimagem estrutural que pudesse sugerir lateralização alterada de memória. Devido à caracterização clínica pobre destes pacientes, nós os consideramos como os menos adequados para comparar RMF e TAS. Não surpreendentemente, a correlação entre os ILs de RMF e TAS para esses pacientes foi menos boa. Com ILs de RMF lateralizando para a direita da média do grupo normal na AEF, enquanto que o TAS inconclusivo sugeria uma discreta lateralização para a esquerda. Apesar de o contraste “lembrados > repetidos” ter lateralizado para a esquerda, a presença de atividade anormal de EEG no LTM esquerdo da paciente 3 poderia explicar a lateralização para a direita pelo contraste padrão “novos > repetidos”. Além disso, considerando que essa paciente essencialmente falhou no TAS, é possível que a RMF tenha sido mais sensível e efetiva em identificar uma lateralização consistente com o quadro clínico do que o TAS (particularmente considerando que os ILs ponderados desviaram mais do que 1 DP para a direita da média do grupo controle). Uma outra informação clínica que suporta essa possibilidade é que essa paciente era canhota. Dados não publicados do laboratório da Dra. Golby no Brigham and Women’s Hospital sugerem que a memória em sujeitos canhotos tende a lateralizar mais para a direita. Para o paciente 3, as técnicas ponderadas foram capazes de identificar uma lateralização na AEF enquanto que QtVx não foi, demonstrando mais uma vez a potencial vantagem dessas técnicas.

Nós acreditamos que este estudo fornece boas evidências de que, para um dado paciente, o índice de lateralização isoladamente (i.e., sem referência à população normal) pode não ser suficiente para determinar se existe uma organização anômala de funções de memória no LTM. Portanto, seria melhor comparar a lateralização de pacientes com aquelas derivadas de um grupo normal de controle. Na nossa amostra, os ILs ponderados produziram

uma diferenciação mais clara entre pacientes e o grupo de referência (maiores distâncias em termos de DP), já que ILs ponderados tenderam a produzir menor variabilidade. Esse efeito é ainda mais intenso quando os três tipos de materiais são analisados conjuntamente, sugerindo que a abordagem por AEF poderia ser mais adequada para aplicação na clínica.

Para aplicação clínica, nós poderíamos considerar a seguinte estratégia para encontrar lateralizações alteradas em pacientes. Primeiro, um IL por QtVx em AEF deve ser comparado ao IL por P_{P2} também em AEF (devido às vantagens teóricas de P_{P2} sobre as demais técnicas ponderadas). Se ambos lateralizam para o mesmo lado, a lateralização está clara. Se eles lateralizam para lados diferentes, os resultados de RMF deve ser considerados inconclusivos e as ativações poderiam ser tanto verdadeiramente bilaterais como influenciadas por artefatos. Se as lateralizações são concordantes, então é possível tentar verificar se elas são diferentes ou não do grupo controle. Elas precisam ser comparadas em termos de DP aos ILs de um grupo controle calculados através da mesma técnica utilizando o mesmo paradigma comportamental. Se desvios maiores do que 2 DP são encontrados para a técnica ponderada e maiores do que 1 DP para QtVx (pacientes 2 e 5), a lateralização pode ser considerada como claramente diferente da média do grupo controle. Se os desvios maiores do que 1 DP são encontrados para QtVx, mas com DPs menores que 2 para a técnica ponderada (paciente 1), a diferença existe apenas para voxels altamente ativados (com alta significância estatística) e não é sustentada pelo conjunto de todos os voxels positivamente correlacionados com a tarefa. Pode ser que a diferença seja de fato verdadeira, mas ela é baseada em um número limitado de voxels da RDI. Se desvios maiores do que 2 DP são encontrados para P_{P2}, mas desvios para QtVx são menores do que 1 DP, a lateralização alterada pode realmente estar presente, pois DPs obtidos de QtVx tendem a ser grandes, tornando portanto mais difícil encontrar uma diferença entre pacientes e o grupo normal. É importante lembrar que pode não ser tão fácil

encontrar lateralizações maiores que 2 DP para a esquerda, considerando que a dominância cerebral é principalmente esquerda, mesmo em canhotos.

Pesquisas futuras sobre índices de lateralização devem ser direcionadas para a confirmação dos nossos achados em um grupo maior de pacientes e de sujeitos normais. Outras formas de comparar lateralizações de pacientes com aquelas de um grupo controle também devem ser exploradas, já que as distribuições de IL são apenas aproximadamente normais, o que torna o desvio-padrão uma forma um pouco imprecisa de medir variância. Além disso, outras distribuições estatísticas poderiam ser testadas. Nós testamos três alternativas diferentes, mas algumas transformações das nossas distribuições, como por exemplo T^2 , $(1-P)^2$, and $[2(0.5-P)]^2$, poderiam ser aplicadas, o que daria ainda maior peso para os voxels fortemente ativados. O multiplicador $2(0.5-P)$ foi desenvolvido para otimizar as vantagens tanto de P_T , como de P_{P1} , mas é importante tomar cuidado na hora de aplicar novos parâmetros e operadores (como exponenciais) às funções originais T e $1-P$ para evitar diminuição de robustez. Uma perspectiva interessante é maior exploração de voxels negativamente correlacionados com a tarefa, i.e., aqueles com valores de T negativos. Os dados preliminares apresentados nessa tese sugerem que funções como P_{V1} e P_{V2} podem ser tão boas ou mesmo melhores do que o uso de apenas voxels positivamente correlacionados com a tarefa. Particularmente, P_{V2} pareceu produzir resultados bastante semelhantes às técnicas que utilizam apenas voxels positivos. Se isso significa que inativações em um lado do cérebro são equivalentes a ativações contra-laterais, ainda não temos dados para afirmar. Mas em paradigmas comportamentais como o utilizado nesta tese, onde duas condições são explicitamente comparadas, pode ser igualmente importante identificar desativações quanto ativações. Outras possibilidades incluem o uso de multiplicadores não paramétricos ou mesmo multiplicadores desenvolvidos por algoritmos de aprendizado supervisionado, que poderiam ser alimentados por variáveis clínicas, como resultados de TAS. Os resultados

obtidos com essas distribuições poderiam estender a evidência fornecida por esta pesquisa de que o uso de distribuições ponderadas é mais adequado para calcular lateralizações de RMF em pacientes realizando avaliação neurocognitiva pré-operatória.

7. CONCLUSÕES

Objetivo geral: Técnicas ponderadas de lateralização são mais robustas e consistentes do que técnicas baseadas no uso de limiares estatísticos. O uso dessas técnicas permite que a lateralização de pacientes seja adequadamente comparada à lateralização média de grupos-controle, o que representa uma vantagem importante sobre lateralizações obtidas pelo Teste do Amital Sódico, que não pode ser realizado em sujeitos normais.

Objetivo específico 1: Estímulos com diferentes graus de “verbalizabilidade” possuem padrões de lateralização diferentes, sendo que palavras lateralizam mais para a esquerda, padrões mais para a direita e cenas lateralizam intermediariamente.

Objetivo específico 2: Diversas regiões cerebrais estão envolvidas com o processamento de codificação de novas memórias. Das diversas regiões estudadas, as lateralizações do hipocampo anterior são as que melhor se correlacionam com o tipo de material memorizado.

Objetivo específico 3: mapas de ativação e índices de lateralização da região hipocampal anterior são altamente relevantes e úteis para o estudo da memória em seres humanos.

Objetivo específico 4: o programa de computador para apresentação de estímulos visuais através de paradigma relacionado a eventos possibilitou a conclusão bem sucedida deste estudo.

Objetivo específico 5: O contraste “lembrados > repetidos” apresenta uma vantagem teórica sobre o contraste “novos > repetidos”, mas o número de estímulos em uma única seqüência de RMF provavelmente precisa ser maior do que 88 para que essa diferença possa ser mensurada. A diferença encontrada no paciente 3 precisa ser confirmada em estudos futuros.

Objetivo específico 6: O uso concomitante de voxels negativamente e positivamente correlacionados com a tarefa não apresentou vantagem sobre o uso de apenas voxels positivamente correlacionados. Duas possíveis explicações são: i) a dificuldade de interpretação fisiológica desses voxels; ii) a combinação de voxels com relação positiva e negativa neste estudo. Para o melhor entendimento de voxels negativamente correlacionados, pode ser necessário a realização de uma análise individualizada para esse grupo.

Objetivo específico 7: A análise de efeitos-fixos produz os resultados mais robustos e melhor capazes de diferenciar pacientes de sujeitos normais.

8. PERSPECTIVAS

Ao longo do desenvolvimento desta tese, a pesquisa naturalmente evoluiu para o estudo de índices de lateralização obtidos das regiões anteriores do hipocampo. Como essa região é susceptível a sinal fraco e artefatos, a técnica para estimação de ILs precisou ser aperfeiçoada para que gerasse resultados robustos e confiáveis. Este desenvolvimento deverá servir como base para os próximos projetos dentro desta linha de pesquisa de neuroimagem funcional de memória.

Na nossa visão, os próximos projetos devem buscar responder algumas perguntas que foram surgindo para nós ao longo da pesquisa:

1. Como é o comportamento dos ILs em outras RDI envolvidas com a memória?

Uma análise preliminar realizada pelo aluno correlacionou índices de lateralização obtidos de diversas regiões de interesse do cérebro com os índices de lateralização obtidos por TAS. Nós encontramos que, melhor do que a metade anterior do hipocampo, o terço anterior dos hipocampos são os que produzem lateralizações melhor correlacionadas com o TAS. Este é um achado inicial de potencial importância, considerando que as regiões anteriores do hipocampo são as mais envolvidas com patologias causadoras de epilepsia. Este estudo precisa ainda se estendido para outras subregiões do hipocampo e giro parahipocampal, bem como regiões neocorticais mais distantes. Além disso, seria extremamente importante que mais pacientes fossem adicionados à amostra. A finalização deste ramo da pesquisa nos

permitiria produzir no final um mapa colorido tridimensional do cérebro, cujas cores indicariam o grau de lateralização relacionado com memória encontrado em cada RDI específica. Mapas desse tipo extraídos de pacientes nos permitiriam identificar facilmente eventuais áreas com padrão anômalo em comparação ao mapa médio extraído de sujeitos normais.

2. Como se comporta a memória relacionada a diversos tipos de estímulos (como os discutidos nesta tese) em pacientes sinistros?

Ao longo do período de desenvolvimento desta tese, tivemos a oportunidade de estudar quatro sujeitos normais sinistros, os quais não foram incluídos na análise. Uma análise preliminar destes sujeitos sugere que a memória global em pacientes sinistros se lateraliza mais à direita do que em pacientes destros (embora muitas vezes ainda à esquerda). Além disso, em alguns casos, palavras e padrões tiveram lateralizações invertidas, com palavras lateralizando para a direita e padrões para a esquerda. Esses achados são também potencialmente muito importantes, considerando que aproximadamente 10% da população é composta de sujeitos sinistros.

3. Qual a importância real da codificação de memória bem sucedida?

Na nossa amostra, não foi possível perceber uma clara diferença entre os contrastes “novos > repetidos” e “novos lembrados > repetidos”. Uma possível explicação para isso foi o baixo número de itens esquecidos pelos sujeitos controle. Projetos futuros poderiam tentar avaliar de antemão o grau de sucesso de cada sujeito durante o processo de memorização. Com base na percentagem de estímulos lembrados e esquecidos, a seqüência de RMF poderia ser adaptada para que cada sujeito produza um número mínimo de itens esquecidos, de forma que possa existir uma diferença relevante entre os contrastes “novos > repetidos” e “novos

lembrados > repetidos”. Com isso, seria possível verificar se o contraste “lembrados > repetidos” produziria lateralizações melhor correlacionadas com o TAS ou com outro teste de referência. Além disso, um número maior de itens esquecidos nos permitiria obter resultados mais robustos e esclarecedores em tarefas de reconhecimento de memória, pois haveria um número maior de estímulos relacionados a objetos “antigos incorretos” (antigos identificados como distratores) e possivelmente também relacionados a “distratores incorretos” (distratores identificados como antigos), o que ajudaria no entendimento das regiões cerebrais envolvidas com esquecimento e falsas lembranças.

4. Qual a correlação entre ILS obtidos de RMF e ILS obtidos por EEG intracraniano?

Durante a pesquisa, tivemos oportunidade de testar memória durante monitorização de EEG invasiva com eletrodos subtemporais em 3 pacientes. Estes dados ainda não foram analisados mais a correlação entre as duas técnicas seria de grande importância para validação de ambas as técnicas como clinicamente úteis para lateralização de memória.

5. O que causa a diferença de lateralização entre memorização de palavras e de padrões: o material ou a estratégia mental utilizada durante a memorização?

Para responder esta pergunta, iniciamos o desenvolvimento de um paradigma onde os sujeitos são induzidos a memorizar os mesmos tipos de estímulos utilizando estratégias distintas. Nenhum sujeito foi testado ainda, mas um melhor esclarecimento sobre as importâncias relativas do tipo de estímulo e do tipo de estratégia utilizada durante a memorização seria de grande importância para o melhor entendimento dos processos neuronais subjacentes à memória.

6. Algumas regiões possuem maior envolvimento com a memória do que outras, mas há definitivamente diversas regiões que participam ao longo de todo o processo de memorização, desde a apresentação do estímulo até a consolidação da memória de longo prazo. Como estas regiões estão temporalmente correlacionadas durante os diversos estágios de memorização?

Recentemente, alguns avanços têm sido alcançados em RMF para identificação de seqüências de ativação cerebral ou correlação temporal de diversas regiões cerebrais distintas. O uso dessas novas técnicas no estudo da memória também deverá abrir muitas oportunidades para um maior entendimento da importância relativa das diversas regiões envolvidas com a memorização. No futuro, essas novas técnicas de RMF associadas com outras técnicas de maior resolução temporal (como eletrocorticografia e magnetoencefalografia) produzirão mapas funcionais que incluirão não apenas informações de distribuição espacial, mas também informações de distribuição temporal, o que nos permitirá um dia produzir “vídeos” de ativação funcional de memória e não apenas “fotos” desse fenômeno.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adcock, J., R. Wise, et al. (2003). "Quantitative fMRI assessment of the differences in lateralization of language-related brain activation in patients with temporal lobe epilepsy." Neuroimage **18**(2): 423-438.
- Akanuma, N., M. Koutroumanidis, et al. (2003). "Presurgical assessment of memory-related brain structures: the Wada test and functional neuroimaging." Seizure **12**(6): 346-358.
- Bellgowan, P., J. Binder, et al. (1998). "Side of seizure focus predicts left medial temporal lobe activation during verbal encoding." Neurology **51**(2): 479-484.
- Benson, R., D. FitzGerald, et al. (1999). "Language dominance determined by whole brain functional MRI in patients with brain lesions." Neurology **52**(4): 798-809.
- Binder, J., S. Swanson, et al. (1996). "Determination of language dominance using functional MRI: A comparison with the Wada test." Neurology **46**(4): 978-984.
- Boynton, G., S. Engel, et al. (1996). "Linear systems analysis of functional magnetic resonance imaging in human V1." J Neurosci **16**: 4207-4221.
- Branco, D. and J. C. Da Costa (2006). "Ressonância Magnética Funcional de Memória: Onde Estamos e Onde Podemos Chegar." Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology **12**(1): 25-30.

- Branco, D., S. Whalen, et al. (2005). "Functional MRI Memory Mapping for Epilepsy Surgery Planning: A Case Report." Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology **11**(1): 39-44.
- Buckner, R., P. Bandettini, et al. (1996). "Detection of cortical activation during averaged single trials of a cognitive task using functional magnetic resonance imaging." Proc. Natl. Acad. Sci **93**: 14878-14883.
- Buckner, R., M. Wheeler, et al. (2001). "Encoding processes during retrieval tasks." J Cogn Neurosci **13**(3): 406-415.
- Cohen, M. and R. DuBois (1999). "Stability, repeatability, and the expression of signal Magnitude in functional magnetic resonance imaging." Journal of Magnetic Resonance Imaging **10**(1): 33-40.
- Cummings, J. and M. Mega (2003). Memory Disorders. Neuropsychiatry and Behavioral Neuroscience. New York, Oxford University Press: 97-113.
- Deblaere, K., W. Backes, et al. (2002). "Developing a comprehensive presurgical functional MRI protocol for patients with intractable temporal lobe epilepsy: a pilot study." Neuroradiology **44**(8): 667-673.
- Desmond, J. and G. Glover (2002). "Estimating sample size in functional MRI (fMRI) neuroimaging studies: Statistical power analyses." Journal of Neuroscience Methods **118**: 115-128.
- Desmond, J., J. Sum, et al. (1995). "Functional MRI measurement of language lateralization in Wada-tested patients." Brain **118**(Pt 6): 1411-1419.
- Detre, J., L. Maccotta, et al. (1998). "Functional MRI lateralization of memory in temporal lobe epilepsy." Neurology **50**(4): 926-932.
- Dion, J., P. Gates, et al. (1987). "Clinical events following neuroangiography: a prospective study." Stroke **18**(6): 997-1004.

- Dolan, R. and P. Fletcher (1999). "Encoding and Retrieval in Human Medial Temporal Lobes: An Empirical Investigation Using Functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI)." Hippocampus **9**(1): 25-34.
- Dupont, S., P. Van de Moortele, et al. (2000). "Episodic memory in left temporal lobe epilepsy: a functional MRI study." Brain **123**(Pt 8): 1722-1732.
- Eichenbaum, H. (2000). "A cortical-hippocampal system for declarative memory." Nat Rev Neurosci **1**(1): 41-50.
- Fernandez, G., H. Weyerts, et al. (1998). "Successful verbal encoding into episodic memory engages the posterior hippocampus: a parametrically analyzed functional magnetic resonance imaging study." J. Neurosci. **18**: 1841-1847.
- Friendly, M., P. Franklin, et al. (1982). "The Toronto word pool: norms for imageability, concreteness, orthographic variables, and grammatical usage for 1080 words." Behavior Research Methods and Instrumentation **14**: 375-399.
- Frisk, V. and B. Milner (1990). "The role of the left hippocampal region in the acquisition and retention of story content." Neuropsychologia **28**(4): 349-359.
- Friston, K., P. Fletcher, et al. (1998). "Event-Related fMRI: Characterizing Differential Responses." NeuroImage **7**: 30-40.
- Gabrieli, J., J. Brewer, et al. (1997). "Separate Neural Bases of Two Fundamental Memory Processes in the Human Medial Temporal Lobe." Science **276**(5310): 264-266.
- Glover, G. and S. Lai (1998). "Self-navigated spiral fMRI: interleaved versus single-shot." Magn Reson Med **39**(3): 361-368.
- Glover, G. and C. Law (2001). "Spiral-in/out BOLD fMRI for increased SNR and reduced susceptibility artifact." Magn Reson Med **46**(3): 515-522.
- Golby, A., R. Poldrack, et al. (2001). "Material-specific lateralization in the medial temporal lobe and prefrontal cortex during memory encoding." Brain **124**(Pt 9): 1841-1854.

- Golby, A., R. Poldrack, et al. (2002). "Memory lateralization in medial temporal lobe epilepsy assessed by functional MRI." Epilepsia **43**(8): 855-863.
- Habib, R., L. Nyberg, et al. (2003). "Hemispheric asymmetries of memory: the HERA model revisited." TRENDS in Cognitive Sciences **7**(6): 241-245.
- Ivnik, R., F. Sharbrough, et al. (1987). "Effects of anterior temporal lobectomy on cognitive function." J Clin Psychol **43**(1): 128-137.
- Izquierdo, I. (2002). Memória. Porto Alegre, ArtMed.
- Izquierdo, I., J. Medina, et al. (1999). "Separate mechanisms for short- and long-term memory." Behavioural Brain Research **103**: 1-11.
- Jack, C. J., D. Nichols, et al. (1989). "Selective posterior cerebral artery injection of amygdala: new method of preoperative memory testing." Mayo Clin Proc **64**(8): 965-975.
- Jokeit, H., M. Okujava, et al. (2001). "Memory fMRI lateralizes temporal lobe epilepsy." Neurology **57**(10): 1786-1793.
- Kelley, D., F. Miezin, et al. (1998). "Hemispheric Specialization in Human Dorsal Frontal Cortex and Medial Temporal Lobe for Verbal and Nonverbal Memory Encoding." Neuron **20**(5): 927-936.
- Killgore, W., G. Glosser, et al. (1999). "Functional MRI and the Wada test provide complementary information for predicting post-operative seizure control." Seizure **8**(8): 450-455.
- Kirchhoff, B., A. Wagner, et al. (2000). "Prefrontal–Temporal Circuitry for Episodic Encoding and Subsequent Memory." J. Neurosci. **20**(16): 6173-6180.
- Liu, T. (2004). "Efficiency, power, and entropy in event-related fMRI with multiple trial types: Part II: Design of experiments." NeuroImage **21**: 401-413.
- Maldjian, J., P. Laurienti, et al. (2004). "Precentral Gyrus Discrepancy in Electronic Versions of the Talairach Atlas." NeuroImage **21**(1): 450-455.

- Maldjian, J., P. Laurienti, et al. (2003). "An Automated Method for Neuroanatomic and Cytoarchitectonic Atlas-based Interrogation of fMRI Data Sets." NeuroImage **19**(3): 1233-1239.
- Martin, A. (1999). "Automatic Activation of the Medial Temporal Lobe During Encoding: Lateralized Influences of Meaning and Novelty." Hippocampus **9**(1): 62-70.
- Martin, A., C. Wiggs, et al. (1997). "Modulation of Human Medial Temporal Lobe Activity by Form, Meaning, and Experience." Hippocampus **7**: 587-593.
- McDermott, K., R. Buckner, et al. (1999). "Set- and Code-Specific Activation in the Frontal Cortex: An fMRI Study of Encoding and Retrieval of Faces and Words." Journal of Cognitive Neuroscience **11**(6): 631-640.
- McGonigle, D., A. Howseman, et al. (2000). "Variability in fMRI: An Examination of Intersession Differences." NeuroImage **11**: 708-734.
- Milner, B., C. Branch, et al. (1962). "Study of short-term memory after intracarotid injection of sodium amytal." Transactions of the American Neurological Association **87**: 224-226.
- Nagata, S., K. Uchimura, et al. (2001). "Method for Quantitatively Evaluating the Lateralization of Linguistic Function Using Functional MR Imaging." Am J Neuroradiol **22**(5): 985-991.
- Nyberg, L., A. McIntosh, et al. (1996). "General and specific brain regions involved in encoding and retrieval of events: What, where, and when." Proc. Natl. Acad. Sci **93**: 11280-11285.
- Ogawa, S. and T. Lee (1990). "Magnetic resonance imaging of blood vessels at high fields: In vivo and in vitro measurements and image simulation." Magn Reson Med **16**(1): 9-18.
- Ogawa, S., T. Lee, et al. (1990). "Oxygenation-sensitive contrast in magnetic resonance image of rodent brain at high magnetic fields." Magn Reson Med **14**(1): 68-78.

- Olesen, P., H. Westerberg, et al. (2004). "Increased prefrontal and parietal activity after training of working memory." Nature Neuroscience **7**(1): 75-79.
- Pauling, L. and C. Coryell (1936). "The magnetic properties and structure of hemoglobin, oxygenated hemoglobin, and carbonmonoxygenated hemoglobin." Proc. Natl. Acad. Sci **22**(4): 210-236.
- Portuguez, M. (1998). Avaliação Pré-Cirúrgica do Lobo Temporal: Linguagem e Memória. Fundamentos Neurobiológicos das Epilepsias. São Paulo, Lemos Editorial: 939-956.
- Powell, H., M. Koepp, et al. (2005). "Material-specific lateralization of memory encoding in the medial temporal lobe: Blocked versus event-related design." NeuroImage **27**: 231-239.
- Richardson, M., B. Strange, et al. (2003). "Preserved verbal memory function in left medial temporal pathology involves reorganisation of function to right medial temporal lobe." NeuroImage **20**(Suppl 1): S112–119.
- Roy, C. and C. Sherrington (1890). "On the regulation of blood supply of the brain." J Physiol **11**: 85-108.
- Rutten, G., N. Ramsey, et al. (2002). "fMRI-determined language lateralization in patients with unilateral or mixed language dominance according to the Wada test." Neuroimage **17**(1): 447-460.
- Sabbah, P., F. Chassoux, et al. (2003). "Functional MR imaging in assessment of language dominance in epileptic patients." Neuroimage **18**(2): 460-467.
- Schacter, D. and A. Wagner (1999). "Medial temporal lobe activations in fMRI and PET studies of episodic encoding and retrieval." Hippocampus **9**(1): 7-24.
- Scoville, W. and B. Milner (1957). "Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions." J Neurol Neurosurg Psychiatry **20**(1): 11-21.

- Simkins-Bullock, J. (2000). "Beyond speech lateralization: a review of the variability, reliability, and validity of the intracarotid amobarbital procedure and its nonlanguage uses in epilepsy surgery candidates." Neuropsychol Rev **10**(1): 41-74.
- Smith, M. and B. Milner (1981). "The role of the right hippocampus in the recall of spatial location." Neuropsychologia **19**(6): 781-793.
- Smith, S., C. Beckmann, et al. (2005). "Variability in fMRI: A Re-Examination of Inter-Session Differences." Human Brain Mapping **24**: 248-257.
- Spiers, H., N. Burgess, et al. (2001). "Unilateral temporal lobectomy patients show lateralized topographical and episodic memory deficits in a virtual town." Brain **124**(Pt12): 2476-2489.
- Springer, J., J. Binder, et al. (1999). "Language dominance in neurologically normal and epilepsy subjects: a functional MRI study." Brain **122**(Pt 11): 2033-2046.
- Squire, L. (1992). "Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans." Psychol Rev **99**(2): 195-231.
- Squire, L. and S. Zola-Morgan (1991). "The medial temporal lobe memory system." Science **253**(5026): 1380-1386.
- Stern, C., S. Corkin, et al. (1996). "The hippocampal formation participates in novel picture encoding: Evidence from functional magnetic resonance imaging." Proc. Natl. Acad. Sci **93**(16): 8660-8665.
- Thulborn, K., J. Waterton, et al. (1982). "Oxygenation dependence of the transverse relaxation time of water protons in whole blood at high field." Biochim. Biophys. Acta **714**(2): 265:270.
- Tulving, E., S. Kapus, et al. (1994). "Hemispheric encoding/retrieval asymmetry in episodic memory: Positron emission tomography findings." Proc. Natl. Acad. Sci **91**: 2016-2020.

- Wada, J. and T. Rasmussen (1960). "Intracarotid injection of sodium amytal for the lateralization of cerebral speech dominance: experimental and clinical observations." Journal of Neurosurgery **17**: 266-282.
- Wagner, D., R. Poldrack, et al. (1998). "Material-specific lateralization of prefrontal activation during episodic encoding and retrieval." Neuroreport **9**(16): 3711-3717.
- Warrington, E. and T. Shallice (1969). "The selective impairment of auditory verbal short-term memory." Brain **92**: 885-896.

10. ANEXOS

Termo de Consentimento Informado para Sujeitos Normais (em inglês)

Partners HealthCare System
Research Consent Form

Subject identification
Template Version Date: June 2005

Protocol Title: Behavioral and MRI Studies in Healthy Subjects

Principal Investigator: Alexandra J. Golby, MD

Site Principal Investigator:

Description of Subject Population: Healthy adults

About this consent form

Please read this form carefully. It tells you important information about a research study. A member of our research team will also talk to you about taking part in this research study. People who agree to take part in research studies are called “subjects.” This term will be used throughout this consent form. If you have any questions about the research or about this form, please ask us. If you decide to take part in this research study, you must sign this form to show that you want to take part. We will give you a copy of this form to keep.

Why is this research study being done?

We would like permission to enroll you as a participant in a research study. The purpose of this research study is to determine which parts of the brain are responsible for movement, memory and language functions, using magnetic resonance imaging (MRI). You were selected as a possible subject in this research study because of your response to our advertisements in the newspaper or the Internet, or by word of mouth. We expect to enroll up to 150 subjects at Brigham and Women’s Hospital (BWH).

How long will I take part in this research study?

You will be asked to make one study visit. Each MRI session will be two hours or less.

What will happen in this research study?

We will study your brain using two MRI methods. One is called functional MRI (fMRI) and the other is Diffusion Tensor Imaging (DTI). Both of these imaging methods use strong magnets to generate a visual image. During the MRI examination you will be asked to actively or passively perform tasks during MRI. Possible tasks may include moving certain parts of the body, watching images on a screen, thinking about images projected on a screen, responding to the images presented on a screen (for example, pressing a button), listening to music, sensory stimulation of certain parts of the body, or memory tests. MRI will also be performed without involvement of a task, to obtain further information about brain tissues, such as white matter, gray matter, and blood vessels.

Diffusion tensor imaging (DTI) shows nerve pathways inside the brain. No activities will be required during this procedure. We will only ask you to keep your head still while MRI images are taken. These procedures (fMRI and DTI) may take up to 75 minutes.

What are the risks and possible discomforts from being in this research study?

MRI scanners are powerful magnets which produce images. There are no known health risks associated with this exposure. People who feel uncomfortable in confined spaces (claustrophobia) may feel uncomfortable in the narrow cylinder. As images are taken, the MRI sometimes makes loud banging noises as though it were being pounded on the outside with a hammer. Earplugs will be offered to help reduce this noise. The tests in the MRI can be stopped at any time at your request.

When undergoing an MRI study, you will lie motionless (unless otherwise instructed) on a table that slides into a tunnel-like magnetic coil slightly wider than your body for approximately one hour and fifteen minutes. There is very little room in the MRI, however, you will be freely able to hear and speak to the research staff. If you have a metallic bodily implant, such as a surgical clip, cardiac pacemaker, cardiac defibrillator, or vagal nerve stimulator, you will not be allowed to participate in this investigation. Also, you will not be able to participate if you have metallic piercings or other objects that cannot be removed. The MRI scan being done is designed to answer research questions. This MRI scan is not a substitute for one your doctor would order. It may not show problems that would be picked up by a medical MRI scan. However, if we believe that we have found a medical problem in your MRI scan, we will ask a doctor who is trained in the reading of MRI scans, a radiologist, to help us review the scan. If the radiologist thinks that there may be an abnormality in your MRI scan, we will contact you and will help you get medical follow-up for the problem. If you have a primary care doctor, we can contact your doctor, with your permission, and help him or her get the right follow-up for you. No information generated in this study will become part of a hospital record routinely. However, if the study detects an abnormality in your MRI scan, then this information may become part of the BWH hospital record. It is possible that you could be unnecessarily worried if a problem were suspected, but not actually found.

What are the possible benefits from being in this research study?

There are no personal health benefits to you as a result of your participation in this study.

Can I still get medical care within Partners if I don't take part in this research study, or if I stop taking part?

Yes. Your decision won't change the medical care you get within Partners now or in the future.

There will be no penalty, and you won't lose any benefits you receive now or have a right to receive.

Taking part in this research study is up to you. You can decide not to take part. If you decide to take part now, you can change your mind and drop out later. We will tell you if we learn new information that could make you change your mind about taking part in this research study.

If you take part in this research study, and want to drop out, you should tell us. We will make sure that you stop the study safely. We will also talk to you about follow-up care.

It is possible that we will have to ask you to drop out before you finish the study. If this happens, we will tell you why. We will also help arrange other care for you, if needed.

Will I be paid to take part in this research study?

You will be paid \$40.00 for each completed MRI session, to cover the costs of transportation and to compensate you for your time commitment to this research project.

What will I have to pay for if I take part in this research study?

All costs specifically related to this research study will be paid from our research funds.

What happens if I am injured as a result of taking part in this research study?

We will offer you the care needed to treat any injury that directly results from taking part in this research study. We reserve the right to bill your insurance company or other third parties, if appropriate, for the care you get for the injury. We will try to have these costs paid for, but you may be responsible for some of them.

Giving you care does not mean that Partners hospitals or researchers are at fault, or that there was any wrongdoing. There are no plans for Partners to pay you or give you other compensation for the injury. However, you are not giving up any of your legal rights by signing this form.

If you think you have been injured or have experienced a medical problem as a result of taking part in this research study, tell the person in charge of this study as soon as possible. The researcher's name and phone number are listed in the next section of this consent form.

If I have questions or concerns about this research study, who can I call?

You can call us with your questions or concerns. Our telephone numbers are listed below. Ask questions as often as you want.

Alexandra Golby, MD, Principal Investigator, BW} { Neurosurgery, is the person in charge of this research study. You can call her at: Office: 617-525-6776, Pager: 617-732-5500, #32743, 24 hours a day, 7 days a week.

If you have questions about the scheduling of appointments or study visits, call: Stephen Whalen, Research Assistant, Office: 617-732-5883.

If you want to speak with someone not directly involved in this research study, please contact the Partners Human Research Committee office. You can call them at 617-424-4100.

You can talk to them about:

- Your rights as a research subject
- Your concerns about the research
- A complaint about the research

Also, if you feel pressured to take part in this research study, or to continue with it, they want to know and can help.

If I take part in this research study, how will you protect my privacy?

Federal law requires Partners (Partners HealthCare System and its hospitals, health care providers and researchers) to protect the privacy of health information that identifies you. This information is called Protected Health Information. In the rest of this section, we refer to this simply as “health information.”

If you decide to take part in this research study, your health information may be used within Partners and may be shared with others outside of Partners, as explained below.

We have marked with a ■ how we plan to use and share your health information. If a box is not checked □, it means that type of use or sharing is not planned for in this research study.

We will also give you the **Partners Notice for Use and Sharing of Protected Health Information**. The Notice gives more details about how we use and share your health information.

- **Health Information About You That Might be Used or Shared During This Research**

□ Information from your hospital or office health records within Partners or elsewhere, that may be reasonably related to the conduct and oversight of the research study. If health information is needed from your doctors or hospitals outside Partners, you will be asked to give permission for these records to be sent to researchers within Partners.

■ New health information from tests, procedures, visits, interviews, or forms filled out as part of this research study

- **Why Health Information About You Might be Used or Shared with Others**

The reasons we might use or share your health information are:

- To do the research described above
- To make sure we do the research according to certain standards - standards set by ethics and law, and by quality groups
- For public health and safety - for example, if we learn new health information that could mean harm to you or others, we may need to report this to a public health or a public safety authority
- For treatment, payment, or health care operations

- **People and Groups That May Use or Share Your Health Information**

- 1. **People or groups within Partners**

- Researchers and the staff involved in this research study
 - The Partners review board that oversees the research
 - Staff within Partners who need the information to do their jobs (such as billing, or for overseeing quality of care or research)

- 2. **People or groups outside Partners**

- People or groups that we hire to do certain work for us, such as data storage companies, our insurers, or our lawyers
 - Federal and state agencies (such as the U.S. Department of Health and Human Services, the Food and Drug Administration, the National Institutes of Health, and/or the Office for Human Research Protections) and other U.S. or foreign government bodies, if required by law or involved in overseeing the research
 - Organizations that make sure hospital standards are met
 - The sponsor(s) of the research study, and people or groups it hires to help perform this research study
 - Other researchers and medical centers that are part of this research study
 - A group that oversees the data (study information) and safety of this research study
 - Other:

Some people or groups who get your health information might not have to follow the same privacy rules that we follow. We share your health information only when we must, and we ask anyone who receives it from us to protect your privacy. However, once your information is shared outside Partners, we cannot promise that it will remain private.

- **Time Period During Which Your Health Information Might be Used or Shared With Others**

- Because research is an ongoing process, we cannot give you an exact date when we will either destroy or stop using or sharing your health information.

- **Your Privacy Rights**

- You have the right not to sign this form permitting us to use and share your health information for research. If you don't sign this form, you can't take part in this research study. This is because we need to use the health information of everyone who takes part in this research study.

- You have the right to withdraw your permission for us to use or share your health information for this research study. If you want to withdraw your permission, you must notify the person in charge of this research study in writing.

If you withdraw your permission, we will not be able to take back information that has already been used or shared with others. This includes information used or shared to carry out the research study or to be sure the research is safe and of high quality.

If you withdraw your permission, you cannot continue to take part in this research study.

- You have the right to see and get a copy of your health information that is used or shared for treatment or for payment. To ask for this information, please contact the person in charge of this research study.

- **If Research Results Are Published or Used to Teach Others**

The results of this research study may be published in a medical book or journal, or used to teach others. However, your name or other identifying information will not be used for these purposes without your specific permission.

Consent to take part in this research study, and authorization to use or share your health information for research

Statement of Subject or Person Giving Consent

- I have read this consent form.
- This research study has been explained to me³ including risks and possible benefits (if any), other options for treatments or procedures, and other important things about the study.
- I have had the opportunity to ask questions.

If you understand the information we have given you, and would like to take part in this research study, and also agree to allow your health information to be used and shared as described above, then please sign below:

Signature of Subject:

Subject

Date/Time

OR

If you understand the information we have given you, and would like to give your permission for the person you are authorized to represent to take part in this research study, and also

agree to allow his/her health information to be used and shared as described above, then please sign below:

Signature of Parent(s)/Guardian or Authorized Representative:

Parent(s)/Guardian of Minor

Date/Time

OR

Court-appointed Guardian or Health Care Proxy

Date/Time

OR

Family Member/Next-of-Kin

Date/Time

Relationship to Subject: _____

Signature of a Witness (when required by the PHRC or by the Sponsor):

Witness (when required)

Date/Time

Statement of Study Doctor or Person Obtaining Consent

- I have explained the research to the study subject, and
- I have answered all questions about this research study to the best of my ability.

Study Doctor or Person Obtaining Consent

Date/Time

In certain situations, the Partners Human Research Committee (PHRC) will require that a subject advocate also be involved in the consent process. The subject advocate is a person who looks out for the interests of the study subject. This person is not directly involved in carrying out the research. By signing below, the subject advocate represents (or “says”) that the subject has given meaningful consent to take part in the research study.

Statement of Subject Advocate Witnessing the Consent Process

- I represent that the subject, parent(s), or legally authorized individual signing above has given meaningful consent.

Subject Advocate
(if required by the PHRC or sponsor for this study)

Date/Time

Consent Form Version Date: 02/07/06

Subject Population: Healthy Adults

IRB Protocol No.: 2003-P-001687

Sponsor Protocol, No.: N/A

Consent Form Valid Date: 02/21/2006 IRB

Amendment No.: 10

Sponsor Amendment No.: N/A

IRB Expiration Date: 10/13/2006

IRB Amendment Approval Date: 02/15/2006

Termo de Consentimento Informado para Pacientes (em inglês)

Partners HealthCare System
Research Consent Form
General Template
Subject identification

Version Date: November 2005

Protocol Title: **Brain basis of memory studied by fMRI and intracranial EEG**

Principal Investigator: **Alexandra J. Golby, MD**

Site Principal Investigator:

Description of Subject Population: **Adults with epilepsy or brain tumors who are undergoing long-term monitoring**

About this consent form

Please read this form carefully. It tells you important information about a research study. A member of our research team will also talk to you about taking part in this research study. People who agree to take part in research studies are called “subjects.” This term will be used throughout this consent form. If you have any questions about the research or about this form, please ask us. If you decide to take part in this research study, you must sign this form to show that you want to take part. We will give you a copy of this form to keep.

Why is this research study being done?

We would like permission to enroll you as a participant in a research study. The purpose of the study is to learn more about how your brain stores and calls back different kinds of information from memory. You have been asked to participate because you have epilepsy or a brain tumor that is not well controlled by medication, and because you are having Electroencephlogram (BEG) recordings being taken for the purpose of determining where, in the brain, your seizures are coming from. We will enroll up to 60 subjects at BWH.

How long will I take part in this research study?

You will take part in this study for up to 8 hours.

What will happen in this research study?

In this study, we will ask you to learn and remember different types of verbal, space related, and visual information. In one task, we ask you to study lists of words, letters, or pictures. After studying a list, we ask you either to recall or recognize the list items. In another type of

task, we ask you to learn to find their way around a computer-generated virtual town, or through video game-like mazes. The tasks are done while undergoing EEG recording or functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI). fMRI is an imaging technique that shows areas of the brain that are active during certain tasks by looking at changes in local blood flow. These tasks are all designed to test different types of memory, which depend on different brain processes. Virtual reality goggles will be used in the operative EEG and fMRI sessions to display the task information. They are FDA approved, and are held in position by an elastic strap. Depending on your specific needs, testing will be performed in one operative EEG session, one pre-operative EEG session and/or up to two fMRI sessions. You will take part in this study for up to 8 hours.

We will also ask you to fill out memory and handedness questionnaires. These forms will take less than 30 minutes to complete and you may be asked to complete them during the EEG and fMRI sessions. Although it is hoped that you will answer all of the questions in the questionnaires, you may skip over any questions that you choose not to answer.

Incidental findings from Brain MRI: The MRI scan being done is designed to answer research questions, not examine your brain medically. This MRI scan is not a substitute for one your doctor would order. It may show problems that would be picked up by a medical MRI scan. However, we believe that we have found a medical problem in your MM scan, we will ask a doctor who is trained in the reading of MRI scans, a radiologist, to help us review the scan. If the radiologist thinks that there may be an abnormality in your MM scan, we will contact your doctor, with your permission, and help him or her get the right follow-up care for you. No information generated in this study will become part of a hospital record routinely. However, if the study detects an abnormality in your MRI scan, then this information may become part of the BWH hospital record. It is possible that you could unnecessarily become worried if a problem were suspected, but not actually found.

What are the risks and possible discomforts from being in this research study?

There is a small possibility that demanding cognitive tasks, such as the ones called for in this study, may induce a seizure. Occasionally, you also may experience mild nausea when doing tasks that involve navigating through a computer-generated world (as in a video game). Psychological risks are limited to the frustration or fatigue sometimes associated with challenging mental tests.

MRI's are powerful magnets, which produce images. There are no known health risks associated with this exposure. People who feel uncomfortable in confined spaces (claustrophobia) may feel uncomfortable in the narrow cylinder. The MRI also makes loud banging noises as it takes images. Earplugs will be used to reduce this noise. The tests in the MRI can be stopped at any time at your request.

When undergoing an MRL study, you will lie motionless (unless otherwise instructed) on a table that slides into a tunnel-like magnetic coil slightly wider than your body for approximately 2 hours. There is very little room in the MRI, however you will be freely able to hear and speak to the research staff. As images are taken, the MRI makes loud banging noises as though it were being pounded on the outside with a hammer. Earplugs will be offered to help reduce this noise. If you have a metal implant, such as a surgical clip, or if you

have an implanted cardiac pacemaker or cardiac defibrillator, you will be not allowed to participate in this investigation.

What are the possible benefits from being in this research study?

There may be no direct benefit to you for your participation in this study. Because brain recordings are being taken for seizure localization, we will be able to link performance in these cognitive tasks with electrical activity recorded from different brain regions. These data will be shared with physicians, and may be of value in determining brain regions that are important for memory and cognitive functions. Regardless of whether the study findings directly benefit you, the findings are likely to be of value in developing new methods for helping in the treatment of Epilepsy and brain tumors.

Can I still get medical care within Partners if I don't take part in this research study, or if I stop taking part?

Yes. Your decision won't change the medical care you get within Partners now or in the future. There will be no penalty, and you won't lose any benefits you receive now or have a right to receive.

Taking part in this research study is up to you. You can decide not to take part. If you decide to take part now, you can change your mind and drop out later. We will tell you if we learn new information that could make you change your mind about taking part in this research study.

If you take part in this research study, and want to drop out, you should tell us. We will make sure that you stop the study safely. We will also talk to you about follow-up care, if needed.

It is possible that we will have to ask you to drop out before you finish the study. If this happens, we will tell you why. We will also help arrange other care for you, if needed.

Will I be paid to take part in this research study?

You will not be paid to take part in this research study.

What will I have to pay for if I take part in this research study?

You will not have to pay to take part in this research study. We ask only for your time and effort in performing the psychological tasks.

What happens if I am injured as a result of taking part in this research study?

We will offer you the care needed to treat any injury that directly results from taking part in this research study. We reserve the right to bill your insurance company or other third parties,

if appropriate, for the care you get for the injury. We will try to have these costs paid for, but you may be responsible for some of them.

Giving you care does not mean that Partners hospitals or researchers are at fault, or that there was any wrongdoing. There are no plans for Partners to pay you or give you other compensation for the injury. However, you are not giving up any of your legal rights by signing this form.

If you think you have been injured or have experienced a medical problem as a result of taking part in this research study, tell the person in charge of this study as soon as possible. The researcher's name and phone number are listed in the next section of this consent form.

If I have questions or concerns about this research study, whom can I call?

You can call us with your questions or concerns. Our telephone numbers are listed below. Ask questions as often as you want.

Aiexandra Golby, MD is the person in charge of this research study. You can call him/her at 617-525-6776, 24/7. You can also call Setphen Whalen at 617-732-5883, M-F 9-5 with questions about this research study.

If you have questions about the scheduling of appointments or study visits, call Setphen Whalen at 617-732-5883.

If you want to speak with someone not directly involved in this research study, please contact the Partners Human Research Committee office. You can call them at 617-424-4100.

You can talk to them about:

- Your rights as a research subject
- Your concerns about the research
- A complaint about the research

Also, if you feel pressured to take part in this research study, or to continue with it, they want to know and can help.

If I take part in this research study, how will you protect my privacy?

Federal law requires Partners (Partners HealthCare System and its hospitals, health care providers and researchers) to protect the privacy of health information that identifies you. This information is called Protected Health Information. In the rest of this section, we refer to this simply as "health information."

If you decide to take part in this research study, your health information may be used within Partners and may be shared with others outside of Partners, as explained below.

We have marked with a how we plan to use and share your health information. If a box is not checked , it means that type of use or sharing is not planned for in this research study.

We will also give you the **Partners Notice for Use and Sharing of Protected Health Information**. The Notice gives more details about how we use and share your health information.

- **Health Information About You That Might be Used or Shared During This Research**

- Information from your hospital or office health records within Partners or elsewhere, that may be reasonably related to the conduct and oversight of the research study. If health information is needed from your doctors or hospitals outside Partners, you will be asked to give permission for these records to be sent to researchers within Partners.

- New health information from tests, procedures, visits, interviews, or forms filled out as part of this research study

- Why Health Information About You Might be Used or Shared with Others

The reasons we might use or share your health information are:

- To do the research described above
- To make sure we do the research according to certain standards - standards set by ethics and law, and by quality groups
- For public health and safety - for example, if we learn new health information that could mean harm to you or others, we may need to report this to a public health or a public safety authority
- For treatment, payment, or health care operations

- People and Groups That May Use or Share Your Health Information

- 1. People or groups within Partners**

- Researchers and the staff involved in this research study
- The Partners review board that oversees the research
- Staff within Partners who need the information to do their jobs (such as billing, or for overseeing quality of care or research)

- 2. People or groups outside Partners**

- People or groups that we hire to do certain work for us, such as data storage companies, our insurers, or our lawyers
- Federal and state agencies (such as the U.S. Department of Health and Human Services, the Food and Drug Administration, the National Institutes of Health, and/or the Office for Human Research Protections) and other U.S. or foreign government bodies, if required by law or involved in overseeing the research
- Organizations that make sure hospital standards are met
- The sponsor(s) of the research study, and people or groups it hires to help perform this research study
- Other researcher(s) and medical centers that are part of this research study

- A group that oversees the data (study information) and safety of this research study
- Other:

Some people or groups who get your health information might not have to follow the same privacy rules that we follow. We share your health information only when we must, and we ask anyone who receives it from us to protect your privacy. However, once your information is shared outside Partners, we cannot promise that it will remain private.

- **TimePeriod During Which Your Health Information Might be Used or Shared With Others**

- Because research is an ongoing process, we cannot give you an exact date when we will either destroy or stop using or sharing your health information.

- **Your Privacy Rights**

- You have the right not to sign this form permitting us to use and share your health information for research. If you don't sign this form, you can't take part in this research study. This is because we need to use the health information of everyone who takes part in this research study.
- You have the right to withdraw your permission for us to use or share your health information for this research study. If you want to withdraw your permission, you must notify the person in charge of this research study in writing.

If you withdraw your permission, we will not be able to take back information that has already been used or shared with others. This includes information used or shared to carry out the research study or to be sure the research is safe and of high quality.

If you withdraw your permission, you cannot continue to take part in this research study.

- You have the right to see and get a copy of your health information that is used or shared for treatment or for payment. To ask for this information, please contact the person in charge of this research study.

- **If Research Results Are Published or Used to Teach Others**

The results of this research study may be published in a medical book or journal, or used to teach others. However, your name or other identifying information will not be used for these purposes without your specific permission.

Consent/Assent to take part in this research study, and authorization to use or share your health information for research

Statement of Subject or Person Giving Consent/Assent

- I have read this consent form.
- This research study has been explained to me³ including risks and possible benefits (if any), other options for treatments or procedures, and other important things about the study.
- I have had the opportunity to ask questions.

If you understand the information we have given you, and would like to take part in this research study, and also agree to allow your health information to be used and shared as described above, then please sign below:

Signature of Subject:

Adults or Minors, ages 14-17

Date/Time

OR

If you understand the information we have given you, and would like to give your permission for the person you are authorized to represent to take part in this research study, and also agree to allow his/her health information to be used and shared as described above, then please sign below:

Signature of Parent(s)/Guardian or Authorized Representative:

Parent(s)/Guardian of Minor

Date/Time

OR

Court-appointed Guardian or Health Care Proxy

Date/Time

OR

Family Member/Next-of-Kin

Date/Time

Relationship to Subject: _____

Signature of a Witness:

 Witness (when required by the PHRC or sponsor) Date/Time

Statement of Study Doctor or Person Obtaining Consent

- I have explained the research to the study subject, and
- I have answered all questions about this research study to the best of my ability.

 Study Doctor or Person Obtaining Consent Date/Time

In certain situations, the Partners Human Research Committee (PHRC) will require that a subject advocate also be involved in the consent process. The subject advocate is a person who looks out for the interests of the study subject. This person is not directly involved in carrying out the research. By signing below, the subject advocate represents (or “says”) that the subject has given meaningful consent to take part in the research study.

Statement of Subject Advocate Witnessing the Consent Process

- I represent that the subject, parent(s), or legally authorized individual signing above has given meaningful consent.

 Subject Advocate Date/Time
 (when required by the PHRC or sponsor for this study)

Consent Form Version Data: 2/6/06

Subject Population: Adults with Epilepsy or Brain tumors who are undergoing long-term monitoring

IRE Protocol No.: 2004-P-000700 Sponsor Protocol No.: N/A

Consent Form Valid Date: 03/21/2006

IRB Amendment No.: N/A

Sponsor Amendment No.: N/A

IRB Expiration Date: 03/08/2007

IRB Amendment Approval Date: N/A



MAGNETIC RESONANCE (MR) PROCEDURE SCREENING FORM FOR PATIENTS

Brigham and Women's Hospital, Department of Radiology

Patient Stamp

WARNING

Certain implants, devices, or objects may be hazardous to you and/or may interfere with the MR procedure. **DO NOT ENTER** the MR system room or MR environment if you have any questions or concerns regarding an implant, device, or object. Consult the MRI Technologist or **BEFORE** entering the MR system room. **THE MR MAGNET IS ALWAYS ON.**

Please indicate if you have any of the following:

Patient Weight _____

- Yes No **Cardiac Pacemaker**
- Yes No **Implanted Cardiac Defibrillator (ICD) Cardiac Electrodes, Pacing Wires, Internal Electrodes**
- Yes No **Aneurysm Clip(s)**
- Yes No **Cochlear, Otologic or other Ear Implant**

- Yes No Worked with Metal **OR** Metal Fragments in Eyes
- Yes No Any Metallic Fragment or Foreign Body
- Yes No Heart Valve Prosthesis
- Yes No Electronic Implant or Device
- Yes No Neurostimulation and/or Spinal Cord Stimulator
- Yes No Shunt (spinal or intraventricular)
- Yes No Bone Growth/Bone Fusion Stimulator
- Yes No Insulin or other Infusion Pump (i.e. drug infusion device)
- Yes No Eye Prosthesis or device (i.e. eyelid spring, wire, implant)
- Yes No Artificial or prosthetic Limb
- Yes No Swan-Ganz or Thermo Dilution
- Yes No Wire Mesh Implant
- Yes No Tissue expander (e.g. breast)
- Yes No Surgical Staples, Clips, or Metallic Sutures
- Yes No Joint Replacement (hip, knee, etc.)
- Yes No Bone/Joint pin, Screw, Nail, Wire, Plate, Harrington Rod, IVC Filter or Other Implanted Metal Device
- Yes No IUD, Diaphragm, or Pessary
- Yes No Dentures, Partial Plate, Magnetic Dental Implants or Hearing Aids
- Yes No Magnetically-Activated Implant or Device
- Yes No Body Piercing jewelry
- Yes No Tattoo or Permanent Makeup
- Yes No Medication Patch (Nicotine, Nitroglycerin etc.)
- Yes No Diabetes and/or Glaucoma
- Yes No Allergic to Latex
- Yes No Penile Implants
- Yes No Are you claustrophobic, If **YES** did you take any meds Yes No
- Yes No Have you ever had an MRI Yes No Did you have an MRI done today where contrast was used

List any other surgery, implant, or device not mentioned above: _____

What is your current medical condition or reason for test? _____

Are you allergic to any medication? If so, please list: _____

Yes No Any History of Prior Contrast reaction to any X-Ray Contrast Agents?

For FEMALE Patients:

When was the Date of your Last Menstrual Period _____

Yes No Are you pregnant?

Yes No Are you currently breast-feeding?

IMPORTANT INSTRUCTIONS

Before entering the MR environment or MR system room, you must remove **ALL** metallic objects including hearing aids, dentures, partial plates, keys, beepers, cell phone, eyeglasses, hair pins, barrettes, jewelry, body piercing jewelry, watch, safety pins, paper clips, money clip, credit cards, bank cards, magnetic strip cards, coins, pens, pocket knife, nail clipper, tools, clothing with metal fasteners, and clothing with metallic threads

Signature of Patient: _____ Date: _____

Signature of Attendant: _____ Date: _____

Name _____

Sex _____

Age _____

	Indicate hand preference	Always Left	Usually Left	No Preference	Usually Right	Always Right
1	To write a letter legibly					
2	To throw a ball to hit a target					
3	To play a game requiring the use of a racquet					
4	At the top of a broom to sweep dust from the floor					
5	At the top of a shovel to move sand					
6	To hold a match when striking it					
7	To hold scissors to cut paper					
8	To hold thread to guide through the eye of a needle					
9	To deal playing cards					
10	To hammer a nail into wood					
11	To hold a toothbrush while cleaning your teeth					
12	To unscrew the lid of a jar					

Are either of your parents left-handed? If yes, which? _____
How many siblings of each sex do you have? Male _____ Female _____
How many of each sex are left-handed? Male _____ Female _____
Which eye do you use when using only one (e.g., telescope, keyhole)? _____
Have you ever suffered any severe head trauma? _____

If you are **left-handed**, are there particular tasks that you perform with your **right** hand? If yes, please describe.

If you are **right-handed**, are there particular tasks that you perform with your **left** hand? If yes, please describe.

Functional MRI of memory in the hippocampus: Laterality indices may be more meaningful if calculated from whole voxel distributions

Daniel M. Branco,^{a,d} Ralph O. Suarez,^{a,b} Stephen Whalen,^a James P. O'Shea,^a
Aaron P. Nelson,^c Jaderson C. da Costa,^d and Alexandra J. Golby^{a,b,*}

^aDepartment of Neurosurgery, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02115, USA

^bDepartment of Radiology, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02115, USA

^cDepartment of Neurology, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02115, USA

^dLaboratório de Neurociências, Instituto de Pesquisas Biomédicas, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brazil

Received 2 August 2005; revised 30 March 2006; accepted 5 April 2006

Available online 13 June 2006

Lateralization of memory by functional MRI (fMRI) may be helpful for surgical planning related to the medial temporal lobe (MTL). Most fMRI memory studies have calculated lateralization indices (LI) in the MTL from suprathreshold voxels only, but the selection of threshold remains highly arbitrary. We hypothesized that LIs could be reliably extracted from the distribution of voxels encompassing all positive *T* statistical values, each weighted by their own statistical significance. We also hypothesized that patient LIs that are two or more standard deviations (SD) away from the control group mean LI may be more clinically relevant than LIs that are not compared to control group. Thirteen healthy subjects had memory fMRI, and five epilepsy patients had both fMRI and the intracarotid amobarbital procedure (IAP). The fMRI task consisted of encoding patterns, scenes, and words. We found that normal subjects' LIs extracted from whole weighted statistical distributions tended to lateralize to the left for words, to the right for patterns, and intermediately for scenes, consistent with previous research. Weighted LIs were less variable than those calculated from suprathreshold voxels only. Using this approach, all patients had fMRI memory lateralizations consistent with IAP results. The weighted LIs provided a more clear-cut distinction of patients from the normal group (in terms of SDs from the group mean) than the suprathreshold voxel count approach. Our results suggest that using weighted distributions can be a useful strategy for assessing memory lateralization by fMRI in the MTL.

© 2006 Elsevier Inc. All rights reserved.

Keywords: Memory; MTL; fMRI; Epilepsy; Neurosurgery

Introduction

The medial temporal lobes (MTLs) are essential for encoding and retrieval processes of declarative memory (Scoville and Milner, 1957; Squire, 1992; Eichenbaum, 2000). Because the MTL is a frequent seizure focus in medically refractory epilepsy, well-selected patients may find relief from seizures through surgical resection of the diseased MTL. However, understanding the relative contributions of the two MTLs, particularly the competency of the contralateral MTL, in supporting memory is essential before undertaking such resective surgery in order to avoid post-operative memory deficits. Therefore, pre-operative memory testing is routinely performed at most epilepsy centers in order to identify the dominant MTL of each patient. Measures of memory lateralization can help physicians to assess the functional reserve on both sides and thus decide whether to proceed with surgery and perhaps how far to extend the resection (Akanuma et al., 2003).

Traditionally, the intracarotid amobarbital procedure (IAP or Wada test) has been employed for memory lateralization (Wada and Rasmussen, 1960; Milner et al., 1962). The IAP consists of the injection of sodium amobarbital, an anesthetic, into the internal carotid artery, causing a temporary deactivation of the ipsilateral hemisphere. During hemispheric inactivity, neuropsychological testing is performed to determine cognitive functions supported by the contralateral side. The IAP was originally developed to determine language lateralization but is commonly used for memory lateralization as well. As a test of memory lateralization, however, the IAP is flawed in several ways: it has poor spatial and temporal resolution; it is not clear whether it directly deactivates or simply deafferentiates the MTL structures (particularly the posterior MTL regions perfused by the posterior circulation; Jack et al., 1989); it is not readily repeatable (Simkins-Bullock, 2000); and it is invasive (carrying risk related to the catheterization; Dion et al., 1987). Nevertheless, because the IAP simulates the effects of

* Corresponding author. Brigham and Women's Hospital, Department of Neurosurgery, 75 Francis Street, Boston, MA 02115, USA. Fax: +1 617 713 3050.

E-mail address: agolby@bwh.harvard.edu (A.J. Golby).

Available online on ScienceDirect (www.sciencedirect.com).

actual surgical ablation and has a long track record, it is considered the gold standard pre-operative technique for assessment of memory lateralization (Akanuma et al., 2003).

More recently, functional neuroimaging techniques such as [¹⁸F]fluorodeoxy-glucose positron emission tomography and functional MRI (fMRI) have been evaluated as potential substitutes for the IAP (Akanuma et al., 2003). Functional MRI is particularly promising as a technique to assess memory function because it is non-invasive, has very good spatial resolution, is easily repeatable, and permits the study of multiple brain functions. Its capacity to identify activations in the MTLs during memory encoding has been demonstrated in normal subjects (Stern et al., 1996; Gabrieli et al., 1997; Kelley et al., 1998; Dolan and Fletcher, 1999; Martin, 1999; Schacter and Wagner, 1999; Golby et al., 2001), as well as in epilepsy patients (Bellgowan et al., 1998; Detre et al., 1998; Killgore et al., 1999; Dupont et al., 2000; Jokeit et al., 2001; Deblaere et al., 2002; Golby et al., 2002; Richardson et al., 2003). Despite these strengths, there are a number of unresolved issues with the use of fMRI to determine memory lateralization. One issue is how to set the threshold for generation of activation maps. Most studies that have used fMRI for clinical mapping of memory followed the standard approach of arbitrarily selecting a *P* value, which varied from 0.00003 to 0.01 (Bellgowan et al., 1998; Detre et al., 1998; Killgore et al., 1999; Dupont et al., 2000; Jokeit et al., 2001; Deblaere et al., 2002; Golby et al., 2002; Richardson et al., 2003). Because fMRI research relies largely on activation maps, no study on memory has used weakly activated voxels, which may still be useful, considering that the thresholds are chosen arbitrarily. This might be particularly important for the MTL region, which generally shows weak activation with memory tasks because of local susceptibility artifacts (Glover and Law, 2001) and because the MTL region is believed to be continuously active (Buckner et al., 2001), leading to small relative changes in the level of neural activity between task and control conditions, as well as other possible reasons.

Weak activation results in statistical parametric *T* maps (SPTM) that contain voxels with low *T* values. Because laterality indices (LI) are traditionally calculated from above-threshold voxels only, MTL LIs cannot be estimated at high thresholds in many cases because there may be very few or even no voxels above the threshold. In addition, thresholds that yield approximately equivalent numbers of activated voxels vary from subject to subject. A given subject may lateralize to either side depending upon the threshold selected, further complicating the problem of arbitrarily selecting thresholds and comparing LIs calculated for different subjects at the same threshold. Some fMRI studies have tried to apply lower thresholds in order to include less significant voxels into the LI calculation, and thus get activations for a greater number of subjects, but few have explored the use of threshold-independent methodologies (Nagata et al., 2001). This is partly a consequence of the fact that LI calculations have been primarily performed to evaluate lateralization of language functions (Desmond et al., 1995; Binder et al., 1996; Springer et al., 1999; Deblaere et al., 2002; Rutten et al., 2002; Adcock et al., 2003; Sabbah et al., 2003), which tend to involve widespread regions of activation and typically result in higher signal-to-noise characteristics. Also, because there is a relatively large number of highly activated voxels in these regions, a simple voxel count (VxCt) procedure is usually sufficient to identify the dominant side. MTL regions, however, are small and memory lateralization actually varies depending upon several variables such as the verbalizability

of the encoded stimuli (Golby et al., 2001) and the nature of the memory task. We thus hypothesize that MTL lateralizations extracted from the entire distribution of voxels at all *T* statistical values, each weighted by their statistical significance, may be more consistent than those calculated by simply comparing the activated voxels above an arbitrary threshold.

Another relevant issue that has been rarely discussed in the literature is the quantitative comparison of LIs from clinical populations to those from healthy subjects. Although it is possible to calculate LIs from the IAP, most centers report IAP results in a qualitative way (left, right, or bilateral) because IAP memory scores are based on a limited number of trials and stimuli. Functional MRI, however, allows the calculation of a much wider range of numerical LI values that can be compared against a mean from a population. A left dominant IAP result, for example, may ascertain hemispheric dominance, but it says little about how that particular patient compares to the degree of left dominance in a healthy population. We hypothesize that a patient's memory fMRI lateralization that is two or more standard deviations (SD) away from the mean of a control group may carry more clinical significance for pre-surgical evaluation.

In this study, we focused specifically on the anterior hippocampus (AHC) because medial temporal lobectomy most usually includes the anterior MTL, but not the more posterior MTL regions. Clinical evidence from such resections suggests that the anterior hippocampus is critical for successful memory encoding, but many fMRI studies have shown activations to be more intense in the posterior hippocampus (Stern et al., 1996; Detre et al., 1998; Kelley et al., 1998; Dupont et al., 2000; Kirchoff et al., 2000; Golby et al., 2001; Powell et al., 2005). Whether this is secondary to weak fMRI signal in the AHC, leading to a predominance of weakly activated voxels, or to smoothing of highly activated areas posterior to the MTL, such as the fusiform and lingual gyri, is still unclear. We thus compared fMRI lateralization during an encoding task in the AHC of normal subjects calculated using the standard VxCt approach with those calculated from weighted whole voxel distributions in an attempt to find a stronger correlation between fMRI and clinical findings. We tested three types of weighting factors: one method using *T* statistics and two methods using *P* statistics. In order to find out which method would be more consistent (less variable), we used the SD in a healthy control population as an indicator of variability. To validate our approach, we selected five patients for whom memory lateralization was previously ascertained by bilateral IAP and evaluated to what extent fMRI LIs in these patients, calculated by these different methods, could be differentiated from the normal subjects' LI mean.

Materials and methods

Subjects

Thirteen healthy right-handed native English-speaking volunteers (7 female, 6 male, mean age 23.6 years) and five MTL epilepsy patients were enrolled in the study. The patients were selected because they had a bilateral IAP, required in order to calculate an IAP LI. The patients were selected from a cohort of eight patients that had both IAP and memory fMRI. Three were excluded because IAP was performed only unilaterally. Clinical data on patients are presented in Table 1. This study was approved

Table 1
Clinical data for patients

Patient	Gender	Age	Handedness	History	Structural MRI	EEG	IAP language	IAP memory lateralization	IAP free recall scores		IAP recognition scores		fMRI memory lateralization	fMRI memory recognition performance		
									R hemisphere injection	L hemisphere injection	R hemisphere injection	L hemisphere injection		Patterns	Scenes	Words
1	F	34	Right	Epilepsy onset at the age of 32	Normal	Epileptogenic activity in right temporal lobe	N/A	L >> RL _{IAP} = +0.4	3/8	0/8	7/8	3/8	Left	15	2	17
2	M	43	Right	Epilepsy onset at the age of 1 following traumatic brain injury	Lesion of left hippocampus and amygdala	N/A	Left	R >> L LI _{IAP} = -0.2	0/8	1/8	4/8	6/8	Clearly right	30	33	35
3	F	49	Left	Medically intractable MTL epilepsy	Normal	Epileptogenic activity in left temporal lobe	Left	Failed test. Left slightly better LI _{IAP} = +0.33	0/8	1/8	4/8	2/8	Right	26	27	32
4	F	50	Right	Medically intractable MTL epilepsy	Normal	Left greater than right bilateral theta with sharp components	Left	Failed test. Left slightly better LI _{IAP} = +0.14	0/8	0/8	4/8	3/8	Inconclusive	30	23	34
5	M	27	Right	Epilepsy onset at the age of 10 months in the context of febrile illness	Left medial temporal sclerosis	Normal	Left	R >> L LI _{IAP} = -0.2	0/8	1/8	2/8	3/8	Clearly right	N/A		

Note that the IAP memory lateralization is not only determined by IAP scores, but also by other observations during the procedure, such as the details recalled concerning the procedure before and during the phase of injection. For fMRI memory recognition performance, values indicate the number of remembered stimuli (of 44 presented). Note poor performance in patient 1.

by the Partners' Institutional Review Board and informed consent was obtained from all subjects.

Functional MRI

Behavioral paradigm

The behavioral task was designed to demonstrate encoding effects in the MTL. During each run, subjects performed 88 trials in an event-related paradigm in which 44 stimuli were presented only once (novel) and 2 stimuli were presented 22 times each (repeated). Three different runs were performed by each subject, one for each stimulus modality – patterns, scenes, and words – in an attempt to systematically vary the verbalizability of the material to be encoded (Golby et al., 2001). Stimuli in each run were comprised of half from each of two different categories: words were concrete or abstract; scenes, indoor or outdoor; and patterns, regular or irregular. Subjects were instructed to indicate by button push the category to which the stimuli belonged. Each stimulus was presented through MRI-compatible video goggles (Resonance Technology, Los Angeles, CA) for 2000 ms. Interstimulus interval (ISI) varied randomly and continuously from 1000 to 1500 ms. The order of stimuli type (i.e., novel or repeated) in each run was also randomized, as was the order of the runs. A custom stimulus presentation program based on the Python Experiment Programming Library (Computational Memory Lab, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA) for Linux was used for both stimulus presentation and recording of behavioral responses.

After the fMRI scanning, both patients and normal subjects were submitted to a recognition memory test, in which the same 44 novel stimuli were randomly presented along with 44 other distractor images. Subjects indicated whether each image had been previously presented during the fMRI session. We recorded the number of successfully remembered stimuli for each material type.

Image acquisition

MR images were acquired with a GE Signa 3T Excite VH3 HR1 system (Milwaukee, WI). A standard birdcage head coil was used and foam padding was placed around the head to minimize movement. Whole-brain functional imaging was performed using a single-interleave gradient-echo spiral pulse sequence (Glover and Lai, 1998), imaging 29 contiguous axial slices (5 mm thickness) at 2 s per image volume. In-plane spatial resolution was 3.75 mm; TR = 2000 ms (no gaps in between volumes); TE = 40 ms; 68° flip angle; 24 cm field of view; 64 × 64 matrix acquisition. T2-weighted spin-echo images were acquired for all slices that received functional scans (matrix = 512 × 512). A volumetric T1-weighted magnetization prepared rapid gradient echo (MPRAGE) acquisition was also acquired to provide a high resolution anatomic reference frame (matrix = 256 × 256) for subsequent overlay of functional activations.

Data analysis

Following image reconstruction, motion correction was performed using the SPM2 (Statistical Parametric Mapping) software package (Wellcome Department of Imaging Neuroscience, London, UK). Normalization to the Montreal Neurological Institute (MNI) space was performed in all subjects, including patients, in order to allow region of interest (ROI) analysis. Because lesions were subtle and restricted to the MTL, we believe patient data were not corrupted by normalization. Smoothing was applied using an 8-mm Gaussian kernel. Stimulus onset vectors for novel and repeated

stimuli were automatically generated by the presentation program. At the first-level, trial-specific responses in each run were modeled, in an event-related design (Friston et al., 1998), by convolving delta functions for each event onset with the canonical hemodynamic response function (HRF) to create regressors “novel” and “repeated”. Time and dispersion derivatives were applied. A covariate was included to handle the first appearance of each repeated image because they actually functioned as novel images. Moreover, for each subject, patterns, scenes, and words were also jointly analyzed using a first-level (within subject) fixed-effects (between materials) approach (FFX). For each of these models (both individual runs and FFX), an image corresponding to the “novel > repeated” contrast was produced. These images were used for second-level random-effects (RFX) analysis.

ROI analysis was focused on the AHC exclusively, and this ROI consisted of the anterior half of the hippocampal ROI supplied by the WFU PickAtlas (Department of Radiologic Sciences, Wake Forest University, Winston-Salem) (Maldjian et al., 2003, 2004). This ROI contained 497 voxels on the left and 465 on the right. Other MTL regions such as amygdala and parahippocampal regions were not included.

LI calculation

We performed LI calculations in two ways: (i) by the standard VxCt procedure, in which we simply counted activated voxels above a certain threshold; and (ii) by measuring the area under statistically weighted voxel distributions (e.g., by either T or P statistics), where only voxels that had positive T values, and were thus positively correlated with the behavioral task, were included in the calculation.

Voxel count at $P \leq 0.1$ (VxCt10)

For lateralization based on simple VxCt, we set a threshold at a $P = 0.1$, which corresponds with a T of approximately 1.3 for 141 degrees of freedom (df —the number of df was calculated specifically for our design matrix by SPM2). We chose this relatively lenient threshold because of the low signal obtained from the MTL region. To calculate VxCt LI, we used the standard formula

$$LI = (Lvx - Rvx)/(Lvx + Rvx), \quad (1)$$

where LI is the laterality index, Lvx is the number of suprathreshold voxels in the ROI on the left side, and Rvx is the number of suprathreshold voxels on the right.

Activation patterns were examined by graphing the voxel distribution (Fig. 1a).

Weighted LIs

The VxCt10 method described above is equivalent to comparing the areas under those segments of the left and right voxel distribution curves that contain voxels with P values lower than 0.1 (or $1 - P$ values greater than 0.9, or T values greater than 1.3). Those segments are represented to the right of the vertical bar in Fig. 1a, which contains sample data for the purpose of illustrating the technique. By visual inspection of the figure, it is possible to note that VxCt10 lateralization is to the left (greater area under left curve); on the other hand, a threshold arbitrarily set to $T = 2.2$ would yield a lateralization to the right. This is not an uncommon situation that illustrates how subjective and potentially misleading an arbitrary choice of threshold setting can be for LI analysis.

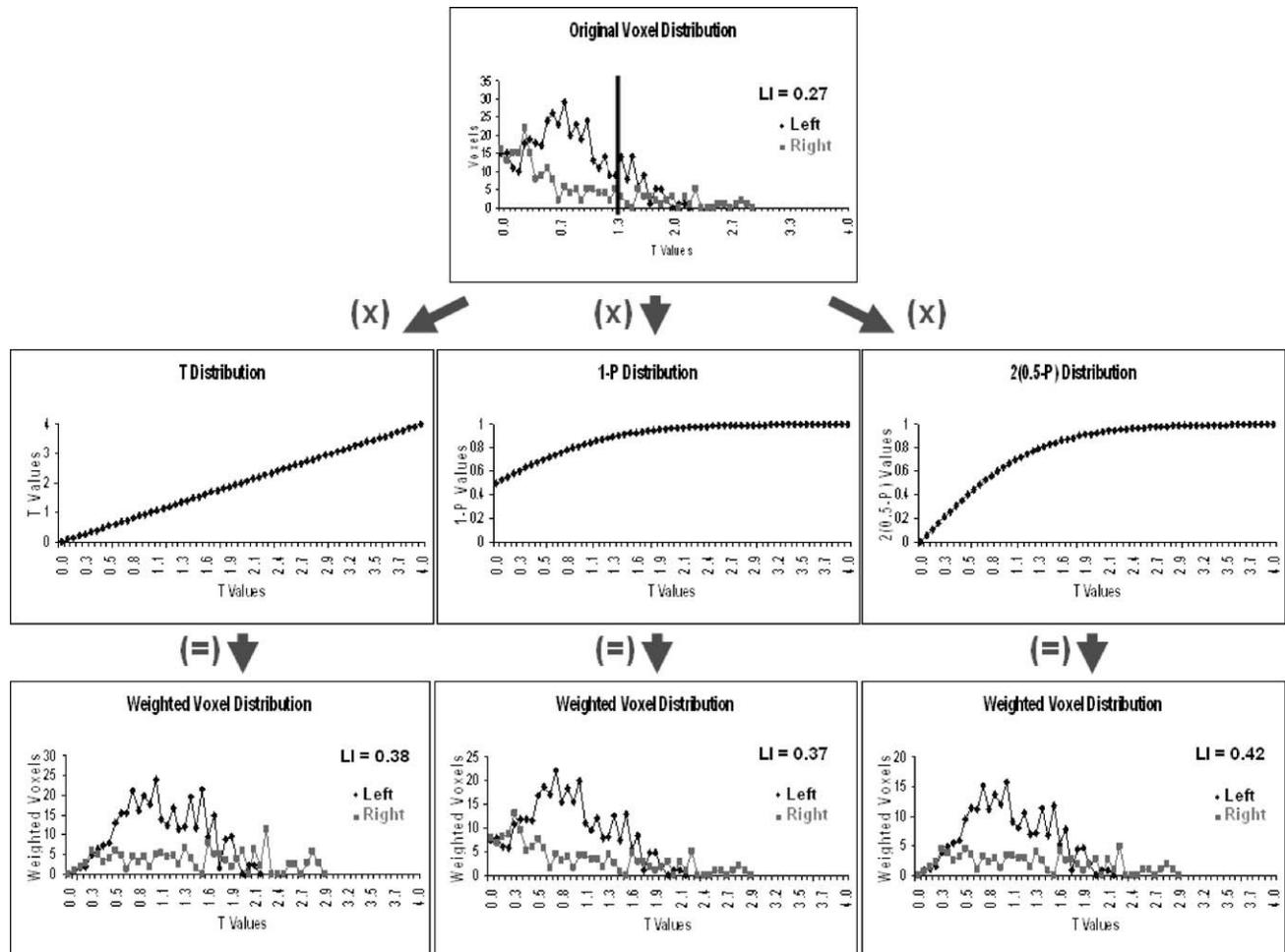


Fig. 1. Calculation of weighted LIs. Row a contains a histogram of voxels activated in the anterior hippocampus region of interest (ROI). The bar indicates $P = 0.1$ ($T \sim 1.3$). VxCt10 laterality indices (LIs) can be extracted from the areas under the curves to the right of this bar ($LI = 0.27$). Second row graphs contain statistical distributions. The first graph contains T values ranging from 0 to +4; the second, $1 - P$ values ranging from 0.5 to 1, and the third, $2(0.5 - P)$ values ranging from 0 to 1. Third row is the result of the component-wise multiplication of the first by the second row graphs. The LIs are calculated directly from the total areas under the right and left curves of the third row graphs, resulting in left-lateralized LIs equal to 0.38, 0.37, and 0.42, respectively, for the first, second, and third graphs. Data presented in this figure were originated from random-effects analysis for words.

To avoid arbitrarily selecting individual thresholds, we instead made use of the entire range of distribution curves that contained voxels with positive T values (voxels that were positively correlated with contrast “novel > repeated”). However, because the likelihood of falsely activated voxels is inversely proportional to their statistical significance, we weighted the curves by their significance at each point. This was done by simply multiplying the voxel distribution curves by a statistical distribution.

Three statistical distributions were used: T , $1 - P$, and $2(0.5 - P)$ (Fig. 1, second row). T values are a measure of statistical significance and indicate how well correlated the fMRI signal in each voxel is with the stimulus paradigm. When considering probabilities of being true, $1 - P$ values have the significance of indicating the likelihood that a particular voxel represents a true positive activation. However, the $1 - P$ distribution does not suppress the noisier, lower portion of the voxel distribution (Fig. 1, third row). So a variation, the $2(0.5 - P)$ distribution, was used in an attempt to correct this problem. Therefore, we calculated three weighted LIs: T_w (weighted by the T distribution), P_w (weighted by the $1 - P$ distribution), and P_w2 (weighted by the $2(0.5 - P)$

distribution). In our study, we used voxels whose T values ranged from 0 to 6 because no activated voxels with T values greater than 6 was found in the anterior hippocampal ROI in our sample (equivalent $1 - P$ values ranged from 0.5 to 1 and equivalent $2(0.5 - P)$ values ranged from 0 to 1). For RFX analysis, T values ranged from 0 to 8 due to stronger activations (equivalent $1 - P$ and $2(0.5 - P)$ ranges remained the same). A total of 120 sample points were measured for each SPTM at T increments of 0.05. LIs were then calculated from the areas under both the right and the left activation curves (Fig. 1, third row) by the formula:

$$LI = (LA - RA)/(LA + RA), \quad (2)$$

where LA is the area under the weighted curve for the left ROI and RA is the area under the weighted curve for the right ROI. This formula renders positive values for left lateralizations and negative values for right ones.

The lateralizations calculated by the four different approaches (one based on VxCt and three weighted) for the three types of materials were analyzed with a 4 (LI method) \times 3 (material type) repeated measures ANOVA (using restricted maximum likelihood

(REML) to account for the unbalanced design originated from the null VxCt values), and post hoc comparisons were made with paired *t*-tests.

Intracarotid amytal procedure

In patients undergoing IAP, each hemisphere was separately injected with 112.5 mg sodium amytal. After drug effect was confirmed, hemispheric memory dominance was assessed by presenting the patients with 8 objects. After return of EEG and neurologic examination to baseline, a recognition memory test was performed. The 8 previously presented target items were then randomly presented along with similar distractor objects. An IAP LI (LI_{IAP}) was calculated by the following formula:

$$LI_{IAP} = (ROL - ROR)/(ROL + ROR) \quad (3)$$

where ROL is the number of objects remembered that were presented during testing using the left hemisphere (right injection), and ROR is the number of objects remembered that were presented during testing using the right hemisphere (left injection).

The neuropsychologists who reported IAP results were blind to the fMRI data and the researchers who calculated the fMRI LIs were blind to the IAP results.

Results

Fig. 2 depicts within the anterior hippocampal ROI first-level activations in a healthy subject during scenes encoding and second-level activations for the combined effect of patterns, scenes, and words from the whole normal group.

Healthy subjects

In our data set, 31% of AHC voxel distributions produced lateralization to both sides depending upon the selected threshold. For VxCt10, which used a rather lenient threshold ($P = 0.1$), 8.3%

of normal subjects did not have activated voxels in the AHC ROI for scene encoding, 25% for patterns, and 30.7% for words.

Fig. 3 presents LIs for 13 normal subjects obtained from single-subject, single-run, first-level analysis using the four techniques (VxCt10, Tw, Pw, and Pw2). Fig. 4 depicts the average LIs for each technique and stimulus modality. LIs differed across the different materials [$F(2,114) = 9.41$, $P < 0.0005$] and techniques [$F(3,111) = 4.74$, $P < 0.005$]. For all techniques, the average LIs for patterns, words, and scenes were concordant with previous reports (Martin, 1999; Golby et al., 2001); that is, patterns tended to lateralize to the right (-0.45 , -0.13 , -0.07 , -0.11 , respectively, for VxCt10, Tw, Pw, and Pw2), words to the left (-0.07 , 0.21 , 0.17 , 0.20 , respectively, for VxCt10, Tw, Pw, and Pw2), and scenes intermediately (-0.25 , 0.05 , 0.09 , 0.04 , respectively, for VxCt10, Tw, Pw, and Pw2). Despite a slight lateralization of words to the right using VxCt10, lateralization within each of the four analysis approaches still followed this same overall pattern, with lateralization of scenes in between patterns (which were most right lateralized) and words (which were most left lateralized). Words differed significantly from patterns [$t(92) = 3.37$, $P < 0.005$], and there was a trend for the difference between patterns and scenes ($P = 0.064$) and for scenes and words ($P = 0.077$). At the level of individual subject LIs, the VxCt10 method produced stronger lateralizations, although they were also the most variable among subjects, encompassing the entire range from -1 to $+1$. The weighted distributions, because they included greater numbers of less significant voxels, produced smaller lateralizations, but variability within the group decreased noticeably compared to VxCt10 (SDs ranged from 0.60 to 0.71 for VxCt10, from 0.26 to 0.38 for Tw, from 0.23 to 0.33 for Pw, and from 0.25 to 0.37 for Pw2). All weighted LIs differed significantly from VxCt10 – Pw vs. VxCt10: [$t(65) = 2.62$, $P < 0.05$]; Tw vs. VxCt10: [$t(65) = 2.34$, $P < 0.05$]; Pw2 vs. VxCt10: [$t(65) = 2.37$, $P < 0.05$] – but were not significantly different from one another.

FFX analysis (Fig. 4) allowed for the estimation of laterality indices that included the three material types combined. The LI

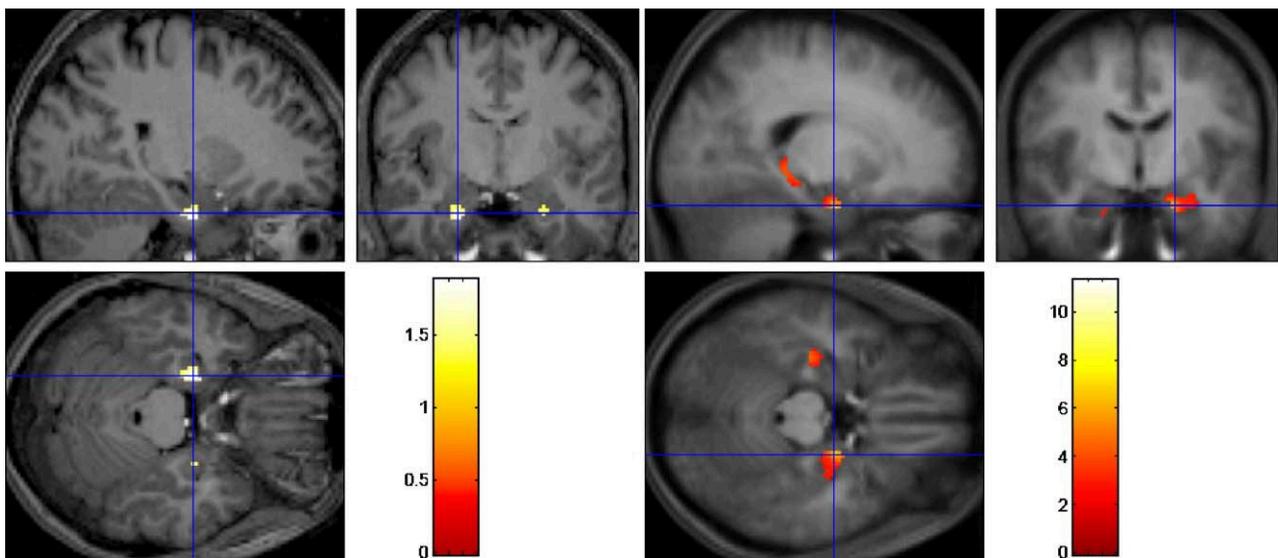


Fig. 2. Activations in the anterior hippocampus. Left panel: activations of a healthy subject encoding scenes overlaid on subject's own structural T1 image. Crosshairs indicate stronger activations on the right hippocampus. Right panel: random-effects activations for the combined effect of patterns, scenes, and words encoding overlaid on average T1 image obtained from all subjects. Crosshairs indicate stronger activations on the left hippocampus.

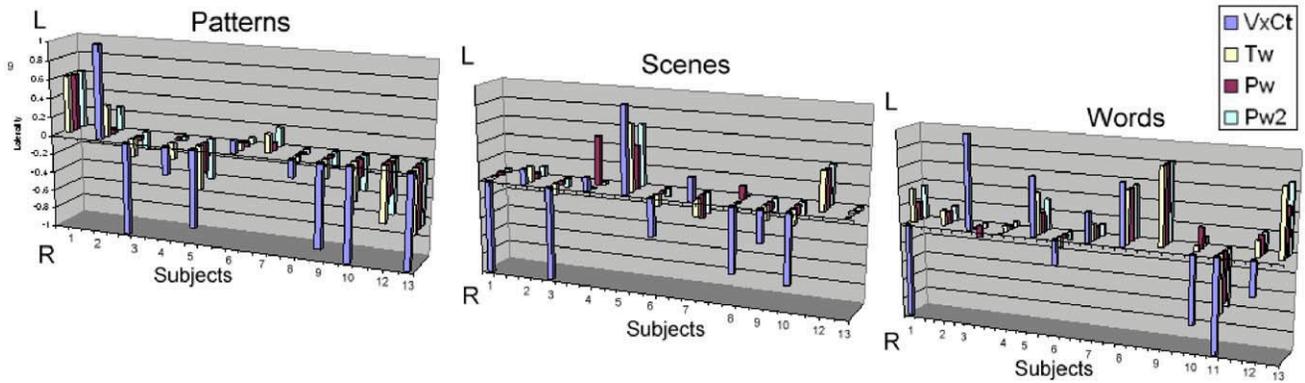


Fig. 3. Laterality indices in the normal subjects for patterns, scenes, and words. The 4 techniques used to estimate LIs are presented. Note the overall tendency of lateralization to the right for patterns, to the left for words, and intermediately for scenes. Also note that the blue bars indicating LIs obtained with the VxCt10 technique are usually bigger and can indicate opposite lateralizations if compared to the weighted LIs.

means (and SDs) produced by FFX analysis using VxCt10, Tw, Pw, and Pw2 were 0.18 ± 0.56 , 0.10 ± 0.22 , 0.06 ± 0.14 , and 0.09 ± 0.19 , respectively.

Second-level RFX analysis was performed for patterns, scenes, words, and the combination of the three material types. LIs obtained from RFX analysis are displayed in Table 2.

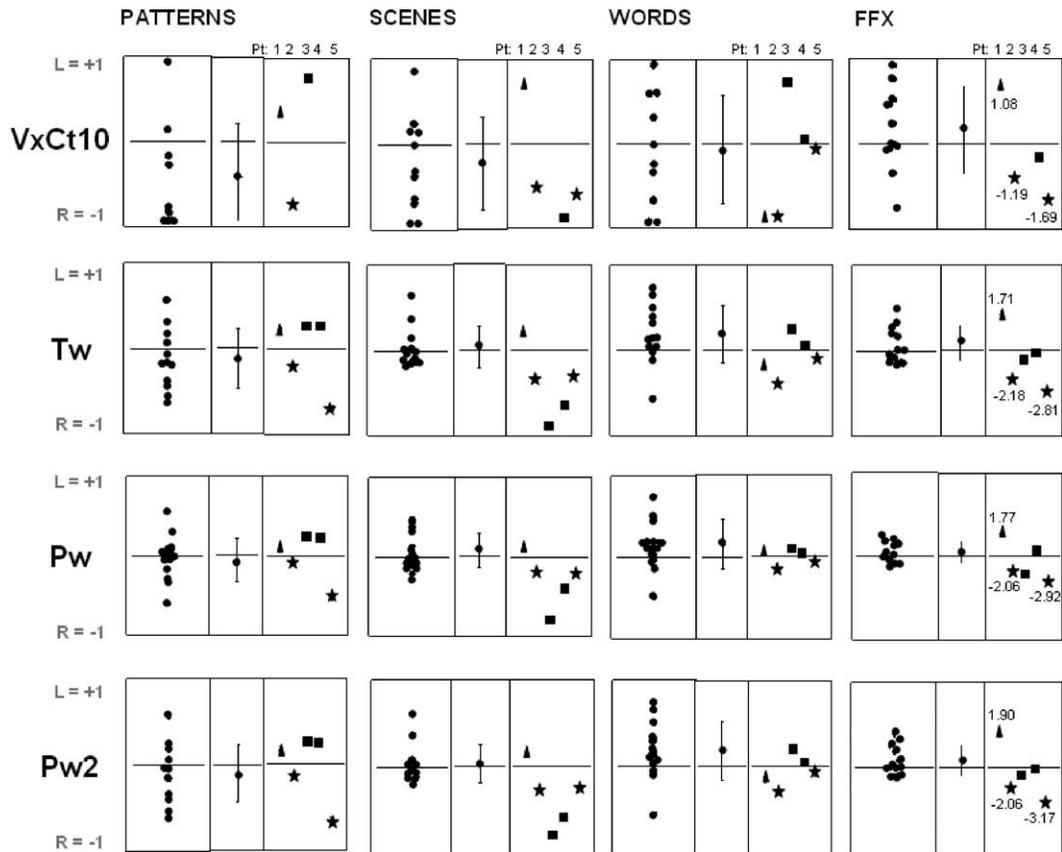


Fig. 4. Laterality indices in all subjects for patterns, scenes, and words (individually) and all modalities combined (FFX) (columns), calculated with four different techniques (rows). The left part of each graph represents the individual laterality indices for each control (dots); the middle, the group mean laterality index (LI_m); and the right, the individual laterality indices for patients. Patients identified by a star had a right-lateralizing IAP and lesion in the left MTL; patient identified by a triangle had a clear IAP to the left and normal MRI; and patients identified by squares had a slightly left-lateralizing IAP and normal MRI. Points above x axis indicate left lateralization, and points below indicate right lateralization. Bars represent one standard deviation (SD). Note the decrease in LI variability (SD) when either of the weighted techniques is used compared to that when the simple suprathreshold voxel count methodology is used. Also note that the weighted techniques preserve the overall distribution of lateralization obtained by using VxCt10, but with less variability. The numbers adjacent to patients 1, 2, and 5 (which had clear IAP results) on the FFX column indicate the difference in SDs from the healthy population's average. Note that when using either of the weighted techniques, there is a better basis for differentiating the patients from the healthy population's mean laterality—this is mainly due to decreased inter-subject variability in the control group compared to simple suprathreshold voxel count methodologies. It is also noteworthy that the combined effect of patterns, scenes, and words is much better in differentiating patients from the normal group than any of the material types independently.

Table 2
Lateralization indices obtained from random-effects (RFX) analysis in healthy subjects

	Patterns	Scenes	Words	FFX analysis across materials
VxCt10	−0.05435	−0.06852	0.271186	0.027545
Tw	−0.03461	0.033	0.382604	0.072973
Pw	−0.0344	−0.00901	0.365937	0.007793
Pw2	−0.03738	−0.03023	0.423085	0.011701

Using all analytical methods, there is a continuum of lateralization from right to left for patterns, scenes, and words. FFX analysis across materials in the healthy subjects is slightly to the left.

During the post-scan recognition session, words were significantly better recollected than both patterns [$t(23) = 2.85$, $P < 0.005$] and scenes [$t(23) = 3.92$, $P < 0.005$]. The average number of correct hits and their SDs for patterns, scenes, and words were, respectively, 27.5 ± 10.62 , 25.33 ± 10 , and 34 ± 9.47 .

Patients

IAP memory lateralization was clearly to the right in two patients (patients 2 and 5) and to the left in one (patient 1). In the other two (patients 3 and 4), IAP memory lateralization was inconclusive and slightly to the left (Table 1). Only the two patients with right lateralizing IAPs had lesions in the MTLs (on the left). Functional MRI lateralizations for patients are presented in Fig. 4 and compared to the control group in terms of standard deviations (SD) from the normal group mean.

In the two patients with right-lateralizing IAPs and lesions in the left MTL, all LI techniques produced right lateralizations for the three stimulus modalities, the VxCt10 tending to yield the strongest lateralizations, but also having a stronger tendency of yielding no activation at all, as happened in patient 5 for patterns (due to no activated voxels below $P = 0.1$). Also, VxCt10 was the only technique to produce a lateralization to the left of the group mean (words in patient 5), although we would expect it to be to the right of the mean (given IAP and structural MRI results). FFX analysis for patterns, scenes, and words combined also produced lateralizations to the right using all four techniques. In both patients, the distance (in terms of SD) between their LIs and the group mean LI was clearly larger when we used the weighted distributions. The largest distances for patient 2 were found using VxCt10 (−0.57), Tw (−1.56), Tw (−1.71), and Pw2 (−2.06), respectively, for patterns, scenes, words, and FFX. For patient 5, they were found at Pw (−1.93), Tw (−1.57), Pw2 (−0.77), and Pw2 (−3.17). Only the weighted techniques yielded deviations greater than 2 SDs, which happened when the three material types were conjointly analyzed (FFX).

Patient 1, who had a clearly left-lateralizing IAP, but no lesion on MRI, had lateralizations for patterns and scenes greater than 1 SD from the control group mean for VxCt only (1.19 and 1.72 SDs, respectively). All weighted distributions presented lateralization to the left of the mean, but smaller than 1 SD (excepting Tw for patterns, which yielded an LI of 1.03 SD). As for words, this patient's lateralization was unexpectedly to the right of the control group mean, with VxCt yielding again an LI greater than 1 SD (−1.3). FFX analysis, however, correctly resulted in LIs to left of the group average LI, with Pw2 yielding the most robust differentiation (1.90 SD).

On FFX analysis for patient 3, who had an inconclusive IAP, lateralizations deviated to the right of the control group mean for weighted techniques (SD = −1.07, −1.98, −1.24, respectively, for Tw, Pw and Pw2) whereas VxCt10 was not able to yield an LI. This patient also had epileptic activity from the left MTL on EEG. For the other patient with inconclusive IAP (patient 4), deviations on FFX were −0.66, −0.55, +0.08, and −0.42, respectively, for VxCt10, Tw, Pw, and Pw2. This patient had bilateral abnormal EEG activity in the MTL, greater on the left.

Memory performance during the fMRI recognition run for patients 1–4 is presented in Table 1. It was not possible to perform the recognition task for patient 5.

Discussion

A good technique for calculation of LIs should produce robust results (that do not vary with parameters such as threshold), should permit consistent inter-subject comparison, and should be reproducible (Nagata et al., 2001). The methodology of weighted distributions described here was primarily developed to improve robustness and consistency, as we did not want to rely on specific thresholds to calculate LIs, and we sought to differentiate patients from healthy subjects. Importantly, whereas it can be difficult to obtain robust fMRI results from single subjects (and patients in particular) and from the MTL, we were able to demonstrate that this methodology produced results that consistently agreed with IAP lateralizations in patients—the clinical gold standard.

LIs calculated from weighted distributions were more consistent, with standard deviations in the control group approximately 50% smaller than those using VxCt10. Moreover, the weighted distributions were able to identify deviations greater than 2 SDs using FFX analysis for the two patients with clearly right-lateralizing IAPs and lesions in the left MTL, whereas VxCt10 deviations remained smaller than 2 SDs. For patterns in patient 5, despite no activated voxels below $P = 0.1$, the weighted distributions were all able to extract a correct lateralization from the remaining voxels, and it also showed this lateralization to be more than one SD from the control group's mean LI (Fig. 4). This finding demonstrates that weighted distributions can produce more robust lateralizations even when there are small numbers of activated voxels in the ROIs. LIs calculated this way are also independent of arbitrary threshold setting.

Whereas this approach may be very successful, we do not suggest that using whole voxel distributions is adequate for situations other than laterality assessment (such as the elaboration of activation maps), as these voxels would hardly produce meaningful activation maps. Nevertheless, weighting voxels by their statistical significance and subsequently utilizing the distribution for comparison across the cerebral hemispheres result in an adequate estimation of laterality consistent with IAP testing results.

Naturally, LIs calculated using whole voxel distributions will tend to approach zero as we also incorporate poorly activated voxels (as illustrated in our results). However, this effect tends to make the resulting LIs more homogeneous across subjects, and thus more consistent. A patient's LI that is clearly different from the mean LI of the normal group when calculated by these methods will be very likely to be truly different, as it has withstood this tendency towards zero. The technique is thus more

specific. A simple VxCt approach, by the same token, can produce stronger LIs, but because variability in the normal group is large using this method (as illustrated in our results), it becomes more difficult to distinguish a patient from the control group, and the method is therefore less sensitive, as happened for words in patient 5.

Other strategies have been proposed that do not assume any threshold selection and are thus expected to be more robust. One of these methods relies on the magnitude of the task-induced mean signal change (MSC) of voxels in a specific ROI (Benson et al., 1999; Adcock et al., 2003). One advantage of the MSC approach is that it relies on the correlation between the signal intensity fluctuation and the behavioral task timing rather than on *t*-tests for changes in mean intensities, which would better respect the signal time course (Cohen and DuBois, 1999). This method has been compared to simple VxCt at a specific threshold and shown to be more stable (Cohen and DuBois, 1999). Nevertheless, Adcock et al. (2003) have found that MSC can be more prone to produce ambiguous lateralizations when compared to the standard VxCt procedures. The likely explanation is that MSC sensitivity relies on the appropriate selection of voxels that are included into the analysis, eventually demanding that other kinds of thresholds be established. Previous reports have selected voxels for MSC analysis on basis of the degree of correlation between voxels' signals and the behavioral model (Benson et al., 1999; Cohen and DuBois, 1999), or the participation of such voxels in functional ROIs previously defined by a simple VxCt approach (Adcock et al., 2003). Whereas the former demands a "correlational" threshold, the latter demands a "significance" threshold. Once again, arbitrary parameters are applied.

An attempt to extract language LIs from traditional *t*-test distributions without selecting a threshold was carried out by Nagata et al. (2001). In this work, it was found that a reference function ($1/z$ score)⁴ was highly correlated with the number of activated voxels above each *z* score in expressive language areas of interest. Scatter diagrams in which the *x* axis contained ($1/z$ score)⁴ values and the *y* axis contained the respective number of voxels above each *z* score were analyzed by regression. Because the resulting curves were approximately linear, they serve as an estimate of monomial regression curves whose coefficients proved to be valid for an LI calculation that was independent of the threshold. One of the drawbacks to this approach, however, is that the ($1/z$ score)⁴ function was empirically derived and has to be independently validated for other ROIs, other subjects, and other paradigms. Also, the concave *z* score versus activated voxel count curves, from which the ($1/z$ score)⁴ was extracted, were extended only to a minimum *z* score of approximately 0.8. It is not clear if this function would hold if the plots were extended to *z* = 0. Finally, a regression line is always an approximation and is thus subject to errors and data loss. The method suggested here, however, uses all positively correlated voxels and does not rely on fitting data to estimated curves, being simply concerned with comparing entire weighted voxel distributions from both sides of the brain. Therefore, this method is likely to work in other ROIs as well. Nevertheless, Nagata et al. were able to demonstrate that the use of voxel distributions (rather than *z* score suprathreshold voxels) to calculate LIs is a reasonable approach and can produce more robust and consistent lateralizations, as they do not vary with the chosen threshold and are less variable among different subjects. These are important properties when anticipating applications in clinical decision making.

One interesting aspect of our technique is the possibility of selecting statistical distributions (or multipliers derived from them) based on data interpretation. In this study, it was not possible to conclude which distribution (Tw, Pw, or Pw2) is best. We suggest, however, that weighting the voxel distribution by a *P*-like distribution could yield more clinically relevant results than weighting by a *T* distribution, as $1 - P$ values are indicators of probability-to-be-true whereas *T* values are more a measure of dispersion. From the clinical point of view, for example, two voxels at a *P* of 0.001 and 0.05, respectively, are likely to be clinically relevant because their probabilities to be true positives are similar (respectively 99.9% and 95.0%). In terms of *T*, however, their values could be as disparate as 3.15 and 1.656, respectively (for *df* = 141). *T* distributions might be more suitable for cognitive studies with normal volunteers as *T* distributions are more stringent and give less weight to poorly activated voxels than $1 - P$ weighted distributions. Pw2 potentially brings the best of two worlds, as it is based on *P* statistics but behaves as a *T* distribution by suppressing the noisier, lower portion of the voxel distribution.

In this study, we presented five patients with distinct conditions in terms of IAP results, imaging findings and clinical history. Patients 2 and 5 were strongly lateralized to the right by both fMRI and IAP, and both had lesions in the left MTL, which provided further evidence that memory was right lateralized. We regard these two patients as the most suitable in our sample for a comparison between fMRI and IAP results because of unambiguous clinical data and clear-cut IAP results. (Despite low IAP scores for patient 5, he was entirely amnesic during the injection of the left hemisphere, which strongly supports memory lateralization to the right.) Indeed, the correlation between the two procedures was greatest in these two individuals, who were the only ones to obtain fMRI LIs (on FFX analysis) that deviated more than 2 SDs from the control group mean LI. The patient who had a clear left-lateralizing IAP (patient 1) also had a left-lateralizing fMRI. But this patient had no lesion in the right MTL and had a poor memory recognition performance during the fMRI recognition run (Table 1), which was probably caused by little attention to the task, because neuropsychological evaluation was normal. The absence of a lesion suggests that this patient's memory lateralization might be indeed within the normal range of lateralizations of the control group. But the poor performance during the fMRI procedure might also explain why she was not as easily differentiated from the control group (deviations were greater than 1 but smaller than 2 SDs on FFX analysis). This underscores the importance of collecting behavioral data in patients undergoing fMRI for clinical purposes. The same is true of the IAP. The two other patients (patients 3 and 4) were considered to have failed the IAP test, given poor recollection with both injections. In addition, they had no MTL lesions on MRI that could provide further evidence of altered memory lateralization. Because of ill-defined characterization of disease lateralization, we consider these two patients as the least suitable for a comparison between fMRI and IAP LIs. Not surprisingly, the correlation between their IAP and fMRI LIs was less good, with fMRI LIs deviating to the right of the normal group mean LI on FFX analysis, whereas the inconclusive IAPs suggested a slight lateralization to the left side. The presence of abnormal EEG activity in the left MTL in patient 3 might explain the fMRI slight lateralization to the right. Also, considering that this patient essentially failed the IAP, it is possible that the fMRI procedure has been more sensitive and effective in identifying a

lateralization consistent with these clinical data than IAP (particularly considering that the weighted LIs deviated more than one SD to the right of the control group mean LI). For patient 3, weighted techniques were able to identify a lateralization on FFX analysis whereas VxCt10 was not, which demonstrates the potential advantage of these techniques.

We believe this study provides good evidence that for a given patient, lateralization index in isolation (i.e., without reference to a normal population) may not be sufficient to determine if a patient has anomalous organization of memory functions in the MTL. Therefore, it would be better to compare a patient's lateralization with those derived from a normal group. In our data, the weighted LIs yield a more clear-cut distinction of patients from the normal group (larger distances in terms of SD from the normal group mean), as weighted LIs tend to yield smaller variability. This effect is stronger if all material types are combined, suggesting that an FFX approach could be better in clinical settings.

For clinical application, we might consider the following strategy to find altered lateralization in patients. First, an FFX VxCt LI should be compared to an FFX Pw2 LI (due to its theoretical advantages over the others). If they both lateralize to the same side, lateralization is clear. If they lateralize to different sides, fMRI results should be regarded as equivocal and activations could be either truly bilateral or biased by artifacts. If lateralizations are consistent between techniques, then it is possible to decide whether they are different or not from the healthy group LIs. They should be compared in terms of SD to the healthy group LI calculated by the same methods and from the same behavioral tasks. If deviations greater than 2 SDs are found for weighted techniques and greater than 1 SD for VxCt (patients 2 and 5), lateralization could be assumed to be clearly different from the healthy group. If deviations are greater than 1 SD for VxCt LIs but not greater than 2 SDs for weighted LIs (patient 1), it means that the difference exists only for highly significant voxels and it is not supported by the whole voxel distribution. It can still be a true difference, but based on a limited amount of data. If deviations are greater than 2 SDs for Pw2, but not greater than 1 SD for VxCt, altered lateralization may still be present because VxCt SDs tend to be large and therefore it is more difficult to find a difference between patients and healthy subjects using this technique.

Future research should be aimed at confirming these findings in a larger sample of patients and normal subjects. Other ways to compare lateralization of patients with healthy group mean lateralizations should be explored because LI distributions are only approximately normal, rendering standard deviation an imprecise measure of variance. Additionally, other statistical distributions or their transforms could be tried. We tested three different alternatives, but others could be tested, such as T^2 , $(1 - P)^2$, and $[2(0.5 - P)]^2$, which would give even greater weight to the highly significant voxels. The multiplier $2(0.5 - P)$ was developed to optimize both Tw and Pw advantages, but one must take care, however, when applying new parameters and operators onto the original T or $1 - P$ distributions, which may cause a decrease in robustness. One interesting perspective is the inclusion of negatively correlated voxels, that is, those with negative T values. In designs like ours, where two explicit conditions are compared, it might be equally important to identify asymmetric deactivations as asymmetric activations. Suitable statistical distributions could be then elaborated that would take into account the whole set of voxels, positive and negative ones,

into the LI calculation. Other possibilities are the use of nonparametric multipliers or even multipliers developed with supervised learning algorithms, which could be fed by IAP results and/or other clinical variables. The results from such distributions could extend the evidence provided by this study that the use of weighted voxel distributions provides better memory lateralizations by fMRI in patients undergoing pre-operative cognitive evaluation.

Acknowledgments

We wish to thank Arthur P. Aron and Ola Friman for their comments, and Gary Glover for supplying the spiral sequence. This research was supported by the NIH grant K08 NS 048063-02 to A. J. Golby.

References

- Adcock, J., Wise, R., Oxbury, J., Oxbury, S., Matthews, P., 2003. Quantitative fMRI assessment of the differences in lateralization of language-related brain activation in patients with temporal lobe epilepsy. *NeuroImage* 18 (2), 423–438.
- Akanuma, N., Koutroumanidis, M., Adachi, N., Alarcón, G., Binnie, C., 2003. Presurgical assessment of memory-related brain structures: the Wada test and functional neuroimaging. *Seizure* 12 (6), 346–358.
- Bellgowan, P., Binder, J., Swanson, S., Hammeke, T., Springer, J., Frost, J., Mueller, W., Morris, G., 1998. Side of seizure focus predicts left medial temporal lobe activation during verbal encoding. *Neurology* 51 (2), 479–484.
- Benson, R., FitzGerald, D., LeSueur, L., Kennedy, D., Kwong, K., Buchbinder, B., Davis, T., Weisskoff, R., Talavage, T., Logan, W., Cosgrove, G., Belliveau, J., Rosen, B., 1999. Language dominance determined by whole brain functional MRI in patients with brain lesions. *Neurology* 52 (4), 798–809.
- Binder, J., Swanson, S., Hammeke, T., Morris, G., Mueller, W., Fischer, M., Benbadis, S., Frost, J., Rao, S., Houghton, V., 1996. Determination of language dominance using functional MRI: a comparison with the Wada test. *Neurology* 46 (4), 978–984.
- Buckner, R., Wheeler, M., Sheridan, M., 2001. Encoding processes during retrieval tasks. *J. Cogn. Neurosci.* 13 (3), 406–415.
- Cohen, M., DuBois, R., 1999. Stability, repeatability, and the expression of signal magnitude in functional magnetic resonance imaging. *J. Magn. Reson. Imaging* 10 (1), 33–40.
- Deblaere, K., Backes, W., Hofman, P., Vandemaële, P., Boon, P., Vonck, K., Boon, P., Troost, J., Vermeulen, J., Wilmink, J., Achten, E., Aldenkamp, A., 2002. Developing a comprehensive presurgical functional MRI protocol for patients with intractable temporal lobe epilepsy: a pilot study. *Neuroradiology* 44 (8), 667–673.
- Desmond, J., Sum, J., Wagner, A., Demb, J., Shear, P., Glover, G., Gabrieli, J., Morrell, M., 1995. Functional MRI measurement of language lateralization in Wada-tested patients. *Brain* 118 (Pt. 6), 1411–1419.
- Detre, J., Maccotta, L., King, D., Alsop, D., Glosser, G., D'Esposito, M., Zarahn, E., Aguirre, G., French, J., 1998. Functional MRI lateralization of memory in temporal lobe epilepsy. *Neurology* 50 (4), 926–932.
- Dion, J., Gates, P., Fox, A., Barnett, H., Blom, R., 1987. Clinical events following neuroangiography: a prospective study. *Stroke* 18 (6), 997–1004.
- Dolan, R., Fletcher, P., 1999. Encoding and retrieval in human medial temporal lobes: an empirical investigation using functional magnetic resonance imaging (fMRI). *Hippocampus* 9 (1), 25–34.
- Dupont, S., VandeMoortele, P., Samson, S., Hasboun, D., Poline, J., Adam, C., Lehericy, S., LeBihan, D., Samson, Y., Baulac, M., 2000. Episodic

- memory in left temporal lobe epilepsy: a functional MRI study. *Brain* 123 (Pt. 8), 1722–1732.
- Eichenbaum, H., 2000. A cortical–hippocampal system for declarative memory. *Nat. Rev. Neurosci.* 1 (1), 41–50.
- Friston, K., Fletcher, P., Josephs, O., Holmes, A., Rugg, M., Turner, R., 1998. Event-related fMRI: characterizing differential responses. *NeuroImage* 7, 30–40.
- Gabrieli, J., Brewer, J., Desmond, J., Glover, G., 1997. Separate neural bases of two fundamental memory processes in the human medial temporal lobe. *Science* 276 (5310), 264–266.
- Glover, G., Lai, S., 1998. Self-navigated spiral fMRI: interleaved versus single-shot. *Magn. Reson. Med.* 39 (3), 361–368.
- Glover, G., Law, C., 2001. Spiral-in/out BOLD fMRI for increased SNR and reduced susceptibility artifact. *Magn. Reson. Med.* 46 (3), 515–522.
- Golby, A., Poldrack, R., Brewer, J., Spencer, D., Desmond, J., Aron, A., Gabrieli, J., 2001. Material-specific lateralization in the medial temporal lobe and prefrontal cortex during memory encoding. *Brain* 124 (Pt. 9), 1841–1854.
- Golby, A., Poldrack, R., Illes, J., Chen, D., Desmond, J., Gabrieli, J., 2002. Memory lateralization in medial temporal lobe epilepsy assessed by functional MRI. *Epilepsia* 43 (8), 855–863.
- Jack, C.J., Nichols, D., Sharbrough, F., Marsh, W., Petersen, R., Hinkeldey, N., Ivnik, R., Cascino, G., Ilstrup, D., 1989. Selective posterior cerebral artery injection of amytal: new method of preoperative memory testing. *Mayo Clin. Proc.* 64 (8), 965–975.
- Jokeit, H., Okujava, M., Woermann, F., 2001. Memory fMRI lateralizes temporal lobe epilepsy. *Neurology* 57 (10), 1786–1793.
- Kelley, D., Miezin, F., McDermott, K., Buckner, R., Raichle, M., Cohen, N., Ollinger, J., Akbudak, E., Conturo, T., Snyder, A., Petersen, S., 1998. Hemispheric specialization in human dorsal frontal cortex and medial temporal lobe for verbal and nonverbal memory encoding. *Neuron* 20 (5), 927–936.
- Killgore, W., Glosser, G., Casasanto, D., French, J., Alsop, D., Detre, J., 1999. Functional MRI and the Wada test provide complementary information for predicting post-operative seizure control. *Seizure* 8 (8), 450–455.
- Kirchhoff, B., Wagner, A., Maril, A., Stern, C., 2000. Prefrontal–temporal circuitry for episodic encoding and subsequent memory. *J. Neurosci.* 20 (16), 6173–6180.
- Maldjian, J., Laurienti, P., Burdette, J., Kraft, R., 2003. An automated method for neuroanatomic and cytoarchitectonic atlas-based interrogation of fMRI data sets. *NeuroImage* 19 (3), 1233–1239.
- Maldjian, J., Laurienti, P., Burdette, J., 2004. Precentral gyrus discrepancy in electronic versions of the Talairach atlas. *NeuroImage* 21 (1), 450–455.
- Martin, A., 1999. Automatic activation of the medial temporal lobe during encoding: lateralized influences of meaning and novelty. *Hippocampus* 9 (1), 62–70.
- Milner, B., Branch, C., Rasmussen, T., 1962. Study of short-term memory after intracarotid injection of sodium amytal. *Trans. Am. Neurol. Ass.* 87, 224–226.
- Nagata, S., Uchimura, K., Hirakawa, W., Kuratsu, J., 2001. Method for quantitatively evaluating the lateralization of linguistic function using functional MR imaging. *Am. J. Neuroradiol.* 22 (5), 985–991.
- Powell, H., Koepp, M., Symms, M., Boulby, P., Salek-Haddadi, A., Thompson, P., Duncan, J., Richardson, M., 2005. Material-specific lateralization of memory encoding in the medial temporal lobe: blocked versus event-related design. *NeuroImage* 27, 231–239.
- Richardson, M., Strange, B., Duncan, J., Dolan, R., 2003. Preserved verbal memory function in left medial temporal pathology involves reorganisation of function to right medial temporal lobe. *NeuroImage* 20 (Suppl. 1), S112–S119.
- Rutten, G., Ramsey, N., van Rijen, P., Alpherts, W., van Veelen, C., 2002. FMRI-determined language lateralization in patients with unilateral or mixed language dominance according to the Wada test. *NeuroImage* 17 (1), 447–460.
- Sabbah, P., Chassoux, F., Leveque, C., Landre, E., Baudoin-Chial, S., Devaux, B., Mann, M., Godon-Hardy, S., Nioche, C., Ait-Ameur, A., Sarrazin, J., Chodkiewicz, J., Cordoliani, Y., 2003. Functional MR imaging in assessment of language dominance in epileptic patients. *NeuroImage* 18 (2), 460–467.
- Schacter, D., Wagner, A., 1999. Medial temporal lobe activations in fMRI and PET studies of episodic encoding and retrieval. *Hippocampus* 9 (1), 7–24.
- Scoville, W., Milner, B., 1957. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 20 (1), 11–21.
- Simkins-Bullock, J., 2000. Beyond speech lateralization: a review of the variability, reliability, and validity of the intracarotid amobarbital procedure and its nonlanguage uses in epilepsy surgery candidates. *Neuropsychol. Rev.* 10 (1), 41–74.
- Springer, J., Binder, J., Hammeke, T., Swanson, S., Frost, J., Bellgowan, P., Brewer, C., Perry, H., Morris, G., Mueller, W., 1999. Language dominance in neurologically normal and epilepsy subjects: a functional MRI study. *Brain* 122 (Pt 11), 2033–2046.
- Squire, L., 1992. Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychol. Rev.* 99 (2), 195–231.
- Stern, C., Corkin, S., Gonzalez, R., Guimaraes, A., Baker, J., Jennings, P., Carr, C., Sugiura, R., Vedantham, V., Rosen, B., 1996. The hippocampal formation participates in novel picture encoding: evidence from functional magnetic resonance imaging. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93 (16), 8660–8665.
- Wada, J., Rasmussen, T., 1960. Intracarotid injection of sodium amytal for the lateralization of cerebral speech dominance: experimental and clinical observations. *J. Neurosurg.* 17, 266–282.

Ressonância Magnética Funcional da Memória (MRI) no hipocampo: Os índices de Lateralidade podem ser mais significativos se calculados de distribuições de voxel inteiras

Daniel M. Branco,^{a,d} Ralph O. Suarez,^{a,b} Stephen Whalen,^a James P. O'Shea,^a
Aaron P. Nelson,^c Jaderson C. da Costa,^d and Alexandra J. Golby^{a,b,*}

a Department of Neurosurgery, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02115, USA

b Department of Radiology, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02115, USA

c Department of Neurology, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02115, USA

d Laboratório de Neurociências, Instituto de Pesquisas Biomédicas, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brazil

Recebido em 2 de agosto de 2005; revisado em 30 de março de 2006; aceito em 5 de abril de 2006. Disponível online em 13 de junho de 2006.

A lateralização da memória através do exame de ressonância funcional MRI (fMRI) pode ser útil no planejamento cirúrgico relacionado ao lóbulo temporal medial (MTL). A maioria dos estudos de memória fMRI calcularam índices de lateralização (LI) do MTL somente dos voxels supralimiar, mas a seleção limiar continua a ser altamente arbitrária. Nós criamos a hipótese de que os LIs poderiam ser seguramente extraídos da distribuição dos voxels que abrangem todos os valores estatísticos positivos de T, ponderados de acordo com seus respectivos valores estatísticos. Nós também criamos a hipótese de que os LIs dos pacientes que possuem dois ou mais desvios padrões (SD) longes da média de LIs do grupo de controle poderiam ser clinicamente mais relevantes que do que os LIs que não foram comparados ao grupo de controle. Treze indivíduos saudáveis tinham memória fMRI, e cinco pacientes portadores de epilepsia tinham ambos fMRI e o procedimento intracarotídeo amobarbital (IAP). A tarefa do fMRI consistia de padrões, cenários e palavras. Nós descobrimos que os LIs extraídos de todo o grupo de distribuições estatísticas dos indivíduos normais possuíam a tendência de lateralizar-se à esquerda para palavras, à direita para os padrões, e intermediariamente para cenas, em total acordo com estudos previamente realizados. Os LIs que foram medidos tiveram menor variação do que aqueles calculados somente por voxels supralimiar. Utilizando esta aproximação, todos os pacientes tiveram memória de lateralização fMRI consistentes com os resultados do IAP. Os valores dos LIs medidos forneceram uma melhor distinção com relação aos pacientes do grupo normal (em termos dos SDs da média do grupo) do que a aproximação de contagem dos voxels supralimiar. Nossos resultados sugerem que as distribuições ponderadas podem ser uma estratégia útil na avaliação da lateralização da memória fMRI do MTL.

Palavras-chave: Memória, MTL, fMRI, Epilepsia, Neurocirurgia.

* Corresponding author. Brigham and Women's Hospital, Department of Neurosurgery, 75 Francis Street, Boston, MA 02115, USA. Fax: +1 617 713 3050.

E-mail address: agolby@bwh.harvard.edu (A.J. Golby).

Available online on ScienceDirect (www.sciencedirect.com).

1053-8119/\$ - see front matter D 2006 Elsevier Inc. All rights reserved.

doi:10.1016/j.neuroimage.2006.04.201

Introdução

Os lóbulos temporais mediais (MTLs) são essenciais no processo de codificação e de recuperação da memória declarativa (Scoville e Milner, 1957; Squire, 1992; Eichenbaum, 2000). Devido ao fato de o MTL ser um foco freqüente no que se refere aos ataques de epiléticos na epilepsia refratária médica, pacientes cuidadosamente selecionados podem encontrar alívio perante os ataques de epilepsia pelo procedimento cirúrgico de remoção do MTL afetado. Entretanto, compreender as contribuições relativas dos dois MTLs, particularmente a competência do MTL contralateral, no suporte à memória, é essencial antes da execução desse procedimento de ressecção cirúrgica, a fim de se evitar déficits de memória pós-cirúrgicos. Conseqüentemente, testes pré-operatórios de memória são executados rotineiramente na maioria de centros de epilepsia, a fim identificar o MTL dominante de cada paciente. Medidas de lateralização da memória podem ajudar médicos na avaliação da reserva funcional em ambos os lados e na definição quanto à indicação ou não da cirurgia, e talvez até que ponto a ressecção deve ser estendida. (Akanuma et al., 2003).

Tradicionalmente, o procedimento intracarotídeo amobarbital (IAP ou teste de Wada) tem sido empregado no estudo de lateralização da memória (Wada e Rasmussen, 1960; Milner et al., 1962). O IAP consiste na injeção de sódio amobarbital, um anestésico, na artéria carótida interna, causando a desativação temporária do hemisfério cerebral ipsilateral. Durante a inatividade hemisférica, testes neuropsicológicos são executados a fim de determinar as funções cognitivas suportadas pelo lado contralateral. O IAP foi originalmente desenvolvido para determinar a lateralização da linguagem, porém é utilizado também para a lateralização da memória. Como um teste de lateralização da memória, entretanto, o IAP demonstrou falhas em diversas áreas: tem a definição espacial e temporal limitadas; não está claro se desativa-se diretamente ou simplesmente diferencie-se das estruturas do MTL (particularmente as regiões posteriores do MTL difundidas pela circulação posterior; Jack et al., 1989); não pode ser prontamente repetido, (Simkins-Boi, 2000); e é invasivo (havendo risco de cateterização; Dion et al., 1987). Não obstante, devido ao fato de o IAP simular os efeitos da real ablação cirúrgica e por ter um longo registro de recórces, é considerada a técnica pré-operativa mais aceitável e modelo-padrão (ouro) na avaliação da lateralização da memória (Akanuma et al., 2003).

Mais recentemente, técnicas funcionais de neuroimagem como a [¹⁸F] tomografia por emissão de pósitrons glicose-fluorodoxi e a MRI funcional (fMRI) foram avaliadas como potenciais substitutas ao IAP (Akanuma et al., 2003). O MRI funcional é particularmente promissor, sendo uma técnica utilizada na avaliação da memória funcional por ser não-invasiva, ter uma resolução espacial muito boa, poder ser facilmente repetida, e permitir o estudo de múltiplas funções cerebrais. Sua capacidade de identificar ativações do MTLs durante codificações da memória foi demonstrada em indivíduos normais (Stern et al., 1996; Gabrieli et al., 1997; Kelley et al., 1998; Dolan e Fletcher, 1999; Martin, 1999; Schacter e Wagner, 1999; Golby et al., 2001), assim como em pacientes portadores de epilepsia (Bellgowan et al., 1998; Detre et al., 1998; Killgore et al., 1999; Dupont et al., 2000; Jokeit et al., 2001; Deblaere et al., 2002; Golby et al., 2002; Richardson et al., 2003). Apesar destas resistências, há uma série de questões ainda não resolvidas com o uso da fMRI para a determinação da lateralização da memória. Uma das questões refere-se a como ajustar o limiar para a geração de mapas de ativação. A maioria de estudos que utilizaram a fMRI para traçar o mapeamento clínico da memória seguiu a aproximação padrão de arbitrariamente selecionar um valor P, que variasse entre 0.00003 a 0.01 (Bellgowan et al., 1998; Detre et al., 1998; Killgore et al., 1999; Dupont et al., 2000; Jokeit et al., 2001; Deblaere et al., 2002; Golby et al., 2002; Richardson et al., 2003). Devido ao fato das pesquisas de fMRI serem baseadas, em sua maior parte, pelos mapas da ativação, nenhum estudo de memória utilizou voxels fracos ativados nas tarefas de memória, que podem ainda ser úteis, considerando que os limiares são escolhidas arbitrariamente. Isso pode ser particularmente importante para a região do MTL, que geralmente demonstra ter uma ativação de memória fraca devido a susceptibilidade de artifatos

(Glover e Law, 2001) e também por acreditar-se que essa região do MTL, seja contiuamente ativa (Buckner et al., 2001), gerando pequenas mudanças relativas no nível de atividade neural entre a tarefa e as condições do controle, assim como outras possíveis razões .

A fraca ativação resulta em mapas estatísticos paramétricos T (SPTM) que contém voxels com valores baixos de T. Em razão dos índices de lateralidade (LI) serem tradicionalmente calculados somente por voxels limiars de cima, MTL, LIs não podem ser estimados em limiars elevados em muitos casos porque podem haver muito poucos ou mesmo nenhum voxel acima da limiar. Além disso, limiars que rendem aproximadamente, números equivalentes de voxels ativados variam de indivíduo para indivíduo. Um determinado indivíduo pode lateralizar para qualquer um dos lados, dependendo do limiar selecionado, futuramente complicando o problema de arbitrariamente selecionar os limiars e comparar os LIs calculados para diferente indivíduos no mesmo limiar. Alguns estudos da fMRI tentaram aplicar limiars mais baixos a fim incluir voxels menos significativos no cálculo do LI, e assim então, conseguir ativações em um número maior de indivíduos, mas poucos exploraram o uso de metodologias limiars independentes (Nagata et al., 2001). Isso é em parte, conseqüência do fato que os cálculos do LI foram primeiramente executados na avaliação da lateralização das funções da linguagem (Desmond et al., 1995; Pastas et al., 1996; Springer et al., 1999; Deblaere et al., 2002; Rutten et al., 2002; Adcock et al., 2003; Sabbah et al., 2003), que têm a tendência de envolver difundidas regiões de ativação e tipicamente resultam em características mais elevadas de sinal-para-ruídos.. Além disso, devido ao fato de haver um número relativamente grande de voxels altamente ativados nestas regiões, um simples procedimento contagem do voxel (VxCt), é geralmente suficiente para a identificação do lado dominante. As regiões do MTL, entretanto, são menores e a lateralização da memória geralmente varia dependendo de diversas variáveis, tais como o verbalização dos estímulos codificados (Golby et al., 2001) e da natureza da tarefa de memória. Nós criamos então, a hipótese de que todas as lateralizações do MTL extraídas da inteira distribuição dos voxels em todos os valores estatísticos T, cada um medidos de acordo com seu significado estatístico, podem ser mais consistentes do que aqueles calculados por simplesmente comparar os voxels ativados acima de um limiar arbitrário.

Um outro ponto relevante raramente discutido na literatura, é a comparação quantitativa de LIs de populações clínicas em relação a indivíduos saudáveis. Embora seja possível calcular LIs do IAP, a maioria de centros relatam resultados do IAP de maneira qualitativa (esquerdo, direito, ou bilateral) porque os resultados da memória IAP são baseados em um número limitado de experimentações e de estímulos. A MRI funcional, entretanto, permite o cálculo de um número muito maior na escala dos valores numéricos do LI que podem ser comparados à média de uma população. Um resultado dominante esquerdo do IAP, por exemplo, pode verificar a dominância hemisférica, mas pouco diz sobre como esse paciente em particular, compara-se no grau de dominância esquerdo em uma população saudável. Nós criamos a hipótese de que a memória fMRI de lateralização de um paciente que é dois ou desvios padrões (SD) afastados da média de um grupo de controle pode carregar maior significado clínico para a avaliação pre-cirúrgica.

Neste estudo, nós focalizamos especificamente no hipocampo anterior (AHC) porque a lobectomia temporal medial geralmente inclui o MTL anterior, mas não as regiões mais posteriores do MTL. Evidências clínicas de tais cirurgias, sugere que o hipocampo anterior é crítico para o sucesso da decodificação da memória, mas muitos estudos da fMRI mostraram ativações mais intensas no hipocampo posterior (Stern et al., 1996; Detre et al., 1998; Kelley et al., 1998; Dupont et al., 2000; Kirchoff et al., 2000; Golby et al., 2001; Powell et al., 2005). Se isto é secundário para enfraquecer o sinal da fMRI no AHC, conduzindo a uma predominância de voxels fracos ativados, ou ao suavizamento das áreas altamente ativadas posteriores ao MTL, como os giros fusiformes e linguais, ainda não está esclarecido. Nós comparamos assim, a lateralização do fMRI durante uma tarefa de decodificação no AHC de indivíduos normais calculados utilizando o método padrão VxCt com aquele calculado pela distribuição ponderada de voxels na tentativa de encontrar uma correlação mais forte

entre a fMRI e evidências clínicas. Nós testamos três tipos de fatores ponderados: um método utilizando estatísticas T e dois métodos usando estatísticas P. De maneira a descobrir qual método seria mais consistente (menos variável), nós utilizamos o SD em uma população de controle saudável como indicador de variabilidade. Para validar nosso experimento, nós selecionamos cinco pacientes aos quais a lateralização da memória foi previamente verificada por IAP bilateral e avaliada a fim de saber a extensão de fMRI LIs nestes pacientes, calculados por estes diferentes métodos, poderiam ser diferenciados por meio do LI dos indivíduos normais.

Materiais e métodos

Assuntos

Treze voluntários saudáveis, destros, nativos, de língua inglesa (7 mulheres, 6, homens, idade média 23.6 anos) e cinco pacientes epiléticos MTL foram inscritos nesse estudo. Esses pacientes foram selecionados por terem um IAP bilateral, requerido a fim calcular o LI do IAP. Os pacientes foram selecionados de um grupo de oito pacientes que tinham o IAP e também a memória fMRI. Três foram excluídos porque o IAP foi executado somente unilateralmente. Dados clínicos dos pacientes são apresentados na tabela 1. Este estudo foi aprovado pelo Partners Institutional Review Board e consentimento foi obtido de todos os indivíduos.

Functional MRI

Paradigma Comportamental

A tarefa comportamental foi projetada de maneira a demonstrar os efeitos da codificação do MTL. Durante cada série, os indivíduos executaram 88 experimentações em um evento-paradigma em que 44 estímulos foram apresentados somente uma vez (novo) e 2 estímulos foram apresentados 22 vezes cada um (repetidos). Três diferentes séries foram executadas por cada indivíduo, uma para cada modalidade de estímulo - padrões, cenas, e palavras - em uma tentativa de variar sistematicamente a verbalização do material a ser decodificado (Golby et al., 2001). Os estímulos em cada um das séries incluíam metade de cada uma das duas diferentes categorias: as palavras eram concretas ou abstratas; cenas, ao ar livre ou situadas dentro de casa; e padrões, regulares ou irregulares. Os indivíduos foram instruídos a indicar pelo impulso de um botão a categoria ao qual os estímulos pertenciam. Cada estímulo foi apresentado através de óculos de proteção para vídeo compatíveis com MRI (Resonance Technology, Los Angeles, CA) para 2000 ms. O intervalo de interestímulo (ISI) variava aleatoriamente e continuamente entre 1000 a 1500 ms. A ordem dos tipos de estímulos (isto é, novo ou repetido) em cada série era aleatório, assim como também era a ordem das séries. Uma apresentação adaptada de estímulo baseada no Python Experiment Programming (Computational Memory Lab, University da Pennsylvania, Philadelphia, PA) para Linux foi usado em ambas as apresentações de estímulo e no registro de respostas comportamentais.

Após o mapeamento da fMRI, ambos os pacientes e os indivíduos normais foram submetidos a um teste de reconhecimento de memória, aos quais os mesmos 44 novos estímulos foram apresentados aleatoriamente junto com outras 44 imagens distrativas. Os indivíduos indicavam se cada imagem havia sido previamente apresentada durante a sessão de fMRI. Nós gravamos número de estímulos recordados com sucesso para cada tipo de material.

Aquisição da imagem

Imagens MR foram adquiridas através do sistema GE Signa 3T Excite VH3 HR1 (Milwaukee, WI). Uma gaiola padrão para pássaros foi utilizada para a cabeça e estofamento de espuma foi colocado em torno da cabeça para minimizar movimentos. Imagens inteiras do funcionamento do

cérebro foram executadas utilizando um único gradiente de intercalação de seqüência de pulso eco-espinal (Glover e Lai, 1998), mostrando 29 fatias axiais contíguas (5 milímetros de espessura) a 2s por volume de imagem. Em definição plana espacial, seriam 3.75 milímetros; TR = 2000 ms (nenhuma lacuna entre os volumes); TE = 40 ms; 68° - ângulo fleta ; 24 cm de vista do campo; 64 x 64 de matriz de aquisição. As imagens do spin echo de T2-ponderados foram adquiridas para todas as fatias que receberam rastreamentos funcionais (matriz = 512 x 512). Um T-1 volumétrico e magnetizado preparou um gradiente eco (MPRAGE) de aquisição, foi também adquirido com a finalidade de fornecer uma base de referência anatômica alta (matriz = 256 x 256) para a subseqüente experimentação de ativações funcionais.

Análise de Dados

Seguindo a reconstrução da imagem, a correção do movimento foi executada utilizando o SPM2 (Statistical Parametric Mapping) software (Wellcome Department of Imaging Neuroscience, London, UK). Normalização para o Instituto Neurológico de Montreal (MNI) foi executada em todos os indivíduos, incluindo pacientes, a fim permitir a análise da região de interesse (ROI). Devido ao fato de as lesões serem sutis e restritas ao MTL, nós acreditamos que os dados dos pacientes não foram corrompidos pela normalização. Suavizamento foi aplicado através de um kernel gaussiano de 8 milímetros. Estímulos deram início aos vetores novos e estes estímulos foram repetidos e gerados automaticamente pelo programa da apresentação. Em um nível inicial, testes específicos de reações em cada uma das séries foram modelados através de um modelo evento-relativo (Friston et al., 1998), envolvendo funções delta para cada um dos eventos em princípio com a função hemodinâmica canônica da reação (HRF) para criar os regressores “novo” e “repetido”. Derivativos de tempo e dispersão foram aplicados. Uma covariante foi incluída para lidar com a primeira aparência de cada uma das imagens repetidas porque estas funcionavam como imagens novas. Além disso, para cada indivíduo, pdrões, cenas e palavras foram também conjuntamente analisadas utilizando nível-1 (dentro os indivíduos), efeitos-fixos (entre materiais) técnica (FFX). Para cada um destes modelos (ambas as séries individuais e o FFX), uma imagem correspondente ao contraste “novo > repetição” foi produzida. Estas imagens foram utilizadas para a análise dos efeitos-aleatórios de nível-2 (RFX).

A análise do ROI foi concentrada exclusivamente no AHC, e este ROI consistiu na metade anterior do ROI do hipocampo fornecido pelo WFU PickAtlas (Departament of Radiologic Sciences, Wake Forrest University, Winston-Salem) (Maldjian et al., 2003, 2004). Este ROI continha 497 voxels na esquerda e 465 na direita. As outras regiões do MTL, tais como a amígdala e as regiões parahipocampais não foram incluídas.

Cálculo de LI

Nós executamos cálculos do LI de duas maneiras: (i) pelo procedimento padrão VxCt, em que nós simplesmente contamos voxels ativados acima de um determinado limiar; e (ii) medindo a área ponderada sobre distribuições estatísticas do voxel (por exemplo, por estatísticas T ou P), onde somente voxels que tivessem valores positivos de T, e que fossem positivamente correlacionadas com a tarefa comportamental, fossem incluídos no cálculo.

Contagem de Voxel $P \leq 0.1$ (VxCt10)

Para a lateralização baseada no VxCt simples, nós ajustamos o limiar em $P = 0.1$, que corresponde a um T de aproximadamente 1.3 para 141 graus de imunidade (df- o número de df foi calculado especificamente para nosso plano na matriz pelo SPM2). Nós escolhemos este limiar relativamente indulgente por causa do baixo sinal obtido da região do MTL. Para calcular o VxCt LI, nós utilizamos a fórmula padrão

$$LI = (Lvx - Rvx) / (Lvx + Rvx), \quad (1)$$

onde o LI é o índice de lateralidade, Lvx é o número de voxels supralimiaros no ROI no lado esquerdo, e Rvx é o número de voxels supralimiaros no lado direito.

Padrões de ativação foram examinados através da representação gráfica de distribuição do voxel (Fig.1a).

LIs Ponderados

O método VxCt10 descrito acima é equivalente a comparar as áreas sob aqueles segmentos dos voxels da esquerda e da direita, curvas da distribuição que contém voxels P menores que 0.1 (ou valores 1-P maiores que 0.9, ou valores de T maiores que 1.3). Esses segmentos são representados à direita da barra vertical em Fig.1a, que contém dados simples com a finalidade de ilustrar a técnica. Pela inspeção visual da figura, é possível notar que a lateralização VxCt10 está à esquerda (área maior sobre a curva esquerda); por outro lado, um limiar ajustado arbitrariamente em $T = 2.2$ renderia uma lateralização à direita. Esta não é uma situação incomum que ilustre o quanto subjetivo e potencialmente equivocada uma escolha arbitrária do ajuste limiar pode ser para a análise do LI.

A fim de evitar a seleção arbitrária de limiares, nós fizemos uso da escala inteira de distribuição de curvas da que continham voxels com valores positivos de T (voxels que eram positivamente correlacionadas com o contraste “novo > repetido”). Entretanto, devido a probabilidade de voxels falsamente ativados ser inversamente proporcional a seu significado estatístico, as curvas foram de acordo significância em cada ponto. Isto foi realizado ao simplesmente multiplica-se a distribuição das curvas do voxel por uma distribuição estatística.

Três distribuições estatísticas foram utilizadas: T, 1 - P, e 2 (0.5 - P) (Fig. 1, segunda fileira). Os valores de T são uma medida de significado estatístico e indicam o quanto bem correlacionados o sinal da fMRI em cada voxel é com o paradigma do estímulo. Quando levando em consideração as probabilidades de serem verdadeiras, os valores do 1- P têm o significado de indicar a probabilidade que um voxel em específico e representa uma ativação positiva verdadeira. Entretanto, a distribuição 1 - P não suprime a parcela mais alta, na distribuição mais baixa do voxel (Fig. 1, terceira fileira). Assim, uma variação de distribuição 2(0.5 - P), foi utilizada na tentativa de corrigir este problema. Conseqüentemente, nós calculamos três Lis ponderados: Tw (ponderado pela distribuição de T), Pw (ponderado pela distribuição 1 - P), e Pw2 (ponderado pela distribuição 2(0.5 - P)). Em nosso estudo, nós usamos voxels cujos os valores de T variaram entre 0 a 6 porque nenhum voxel com valores de T maiores do que 6 foram encontrados no ROI hipocampal anterior em nossa amostra (valores equivalentes a 1- P em uma escala de 0.5 a 1 e equivalente a 2(0.5 - P) e valores entre 0 e 1). Para a análise RFX, os valores de T variaram de 0 a 8 devido a ativações mais fortes (equivalente 1- P e 2 (0.5 - P) com as escalas permanecendo as mesmas). Um total de 120 pontos de amostra, foram medidos para cada SPTM em incrementos T de 0.05. Lis foram então calculados sob as áreas abaixo das curvas de ativação da direita e esquerda (Fig. 1, terceira fileira) pela fórmula:

$$LI = (LA - RA) / (LA + RA), \quad (2)$$

onde o LA é a área sob a curva ponderado para o ROI à esquerda e RA é a área sob a curva ponderada para o ROI à direita. Essa fórmula rende valores positivos para lateralizações à esquerda e valores negativos para os da direita.

As lateralizações calculadas pelos quatro diferentes tipos de aproximação (um baseado no VxCt e três ponderados) para os três tipos de os materiais foram analisados com 4 (método LI) x 3 (tipo de material) medidas repetidas ANOVA (usando restrição máxima de probabilidade limitada (REML) para esclarecer o projeto de não-balanceamento originado dos valores nulos de VxCt), e comparações post hoc foram feitas com t-testes irmandados.

Procedimento Amital Intracarotídeo

Nos pacientes submetidos ao IAP, cada hemisfério foi injetado separadamente com 112.5 mg de sódio amital. Após confirmação do efeito da droga, a dominação hemisférica da memória foi avaliada pela apresentação de 8 objetos aos pacientes. Após o retorno do EEG e o exame neurológico à linha de base, um teste de reconhecimento de memória, foi executado. Os 8 artigos previamente apresentados foram então apresentados aleatoriamente junto com objetos similares alheios. O IAP LI (LI_{IAP}) foi calculado pela seguinte fórmula:

$$LI_{IAP} = (ROL - ROR) / (ROL + ROR) \quad (3)$$

onde ROL é o número dos objetos recordados que foram apresentados durante os testes utilizando o hemisfério esquerdo (injeção à direita), e ROR é o número de objetos recordados que foram apresentados durante o teste utilizando o hemisfério direito (injeção à esquerda).

Os neuropsicólogos que relataram os resultados IAP foram indiferentes aos dados do fMRI e os pesquisadores que calcularam o fMRI LIs foram indiferentes aos resultados do IAP.

Resultados

Fig 2 descreve dentro do ROI hipocampal anterior, as ativações de nível 1 em um indivíduo saudável durante cenas de decodificação e ativações de nível 2 para o efeito combinado dos padrões, cenas, e palavras de todo o grupo normal.

Indivíduos saudáveis

Em nossa série de dados, 31% de distribuições do voxel AHC produziram lateralização para ambos os lados dependendo da escolha do limiar. Para VxCt10, que usou um ponto inicial mais leniente ($P = 0.1$), 8.3% dos indivíduos normais não tinham voxels ativados no AHC ROI para a decodificação de cenas, 25% para padrões e 30.7% para palavras.

Fig. 3 representa LIs de 13 indivíduos normais obtidos de um único-assunto, único-teste, análise de nível 1 utilizando as quatro técnicas (VxCt10, Tw, Pw, e Pw2). Fig. 4 descreve os LIs médios para cada técnica e estímulo de modalidade. LIs diferenciaram-se através dos diferentes materiais [$F(2,114) = 9.41, P < 0.0005$] e técnicas [$F(3,111) = 4.74, P < 0.005$]. Para todas as técnicas, o LIs médio para os padrões, palavras, e cenas estiveram de acordo com relatórios anteriores (Martin, 1999; Golby et al., 2001); isto é, padrões tendem a lateralizar-se à direita (-0.45, -0.13, -0.07, -0.11, respectivamente, para VxCt10, Tw, Pw, e Pw2), palavras à esquerda (-0.07, 0.21, 0.17, 0.20, respectivamente, para VxCt10, Tw, Pw, e Pw2), e cenas intermediárias (-0.25, 0.05, 0.09, 0.04, respectivamente, para VxCt10, Tw, Pw, e Pw2). Apesar de uma pequena lateralização de palavras para a direita usando VxCt10, lateralização dentro de cada uma das quatro análises ainda seguiu o mesmo padrão total, com lateralização das cenas entre os padrões (que eram mais lateralizados à direita) e palavras (que eram mais lateralizadas à esquerda). As palavras diferenciavam-se significativamente dos padrões [$t(92) = 3.37, P < 0.005$], e havia uma tendência para a diferença entre padrões e cenas ($P = 0.064$) e para cenas e palavras ($P = 0.077$). No que se refere aos níveis individuais de LIs dos indivíduos, o método VxCt10 produziu lateralizações mais fortes, embora fossem também as mais variáveis entre os indivíduos, abrangendo uma escala entre -1 e +1. Ponderadas as distribuições, em virtude destas incluírem números maiores de voxels menos significativos, produzindo lateralizações menores, mas variabilidade dentro do grupo diminuiu visivelmente quando comparado ao VxCt10 (SDs variando entre 0.60 a 0.71 para VxCt10, 0.26 a 0.38 para Tw, 0.23 a 0.33 para o Pw, e 0.25 a

0.37 para Pw2). Todos os LIs ponderados diferenciaram-se significativamente do VxCt10 – Pw contra VxCt10: [t (65) = 2.62, P < 0.05]; Tw contra VxCt10: [t (65) = 2.34, P < 0.05]; Pw2 contra VxCt10: [t (65) = 2.37, P < 0.05] - mas não eram significativamente diferentes um do outro.

A análise de FFX (Fig. 4) permitiu a estimativa dos índices de lateralidade que incluíram os três diferentes tipos de materiais combinados. As médias produzidas por meio da análise FFX utilizando VxCt10, Tw, O Pw, e Pw2 foram 0.18 ± 0.56 , 0.10 ± 0.22 , 0.06 ± 0.14 , e 0.09 ± 0.19 , respectivamente.

A análise do RFX de nível-2 foi executada para padrões, cenas, palavras, e a combinação dos três tipos de materiais. LIs obtidos pela análise do RFX estão indicados na Tabela 2.

Durante a sessão de pós rastreamento de reconhecimento, palavras foram significativamente melhor lembradas do que ambos os padrões [t (23) = 2.85, P < 0.005] e cenas [t (23) = 3.92, P < 0.005]. A média do número de repostas corretas e de seus SDs para padrões, cenas, e palavras foram, respectivamente, 27.5 ± 10.62 , 25.33 ± 10 , e 34 ± 9.47 .

Pacientes

A lateralização da memória IAP estava claramente à direita em dois pacientes (pacientes 2 e 5) e à esquerda em um (paciente 1). Nos outros dois (pacientes 3 e 4), a lateralização da memória IAP foi inconclusiva e ligeiramente à esquerda (Tabela 1). Somente os dois pacientes com IAPs lateralizados à direita, tiveram lesões nos MTLs (à esquerda). As lateralizações dos MRI funcionais dos pacientes são apresentados na Fig. 4 e comparadas ao grupo de controle em termos dos desvios padrões (SD) da média do grupo normal.

Nos dois pacientes com IAPs lateralizados para a direita, e com lesões no MTL esquerdo, todas as técnicas LI produziram lateralizações direitas nas três modalidades de estímulo, VxCt10 que tende a render as lateralizações mais fortes, mas também têm a tendência de não render nenhuma ativação, como ocorreu com o paciente 5 para padrões (devido a ativação nula abaixo de $P = 0.1$). Além disso, VxCt10 foi a única técnica a produzir a lateralização à esquerda da média do grupo (palavras, paciente 5), embora nós esperássemos que fosse ser à direita da média do grupo (considerados os resultados do IAP e MRI estrutural). A análise FFX para padrões, cenas, e palavras combinadas produziu lateralizações à direita utilizando todas as quatro técnicas. Em ambos os pacientes, a distância (em termos do SD) entre seu LIs e a média LI do grupo foi claramente maior quando nós usamos distribuições ponderadas. As maiores distâncias para o paciente 2 foram encontradas utilizando VxCt10 (-0.57), Tw (-1.56), Tw (-1.71), e Pw2 (- 2.06), respectivamente, para padrões, cenas, palavras, e FFX. Para o paciente 5, elas foram encontrados no Pw (-1.93), Tw (- 1.57), Pw2 (-0.77), e Pw2 (- 3.17). Somente as técnicas ponderadas renderam desvios maiores que 2 SDs, que ocorreram quando os três os tipos de materiais foram analisados conjuntamente (FFX).

O paciente 1, que teve um IAP claramente lateralizado à esquerda, mas sem nenhum lesão no MRI, teve lateralizações para padrões e cenas maiores que 1 SD da média do grupo de controle para VxCt, somente (1.19 e 1.72 SDs, respectivamente). Todas as distribuições ponderadas apresentaram lateralizações à esquerda da média, porém menores que de 1 SD (com exceção de Tw para padrões, que renderam um LI de 1.03 SD). Quanto às palavras, a lateralização desse paciente foi inesperadamente à direita da média do grupo de controle, com VxCt novamente rendendo um LI maior do que 1 SD (- 1.3). No entanto, a análise FFX, identificou corretamente os LIs à esquerda da média LI do grupo, com Pw2 rendendo a mais robusta diferenciação. (1.90 SD).

Na análise FFX do paciente 3, que teve um IAP inconclusivo, lateralizações desviaram-se para a direita da média do grupo de controle para técnicas ponderadas (SD = - 1.07, - 1.98, - 1.24, respectivamente, para Tw, Pw e Pw2) visto que VxCt10 não podia render um LI. Este paciente também apresentou atividade epiléptica do MTL esquerdo no EEG. Para o outro paciente com IAP

inconclusivo (paciente 4), os desvios FFX foram -0.66, - 0.55, +0.08, e -0.42, respectivamente, para VxCt10, Tw, Pw, e Pw2. Esse paciente apresentou atividade bilateral anormal e atividade EEG no MTL, maior à esquerda.

O desempenho da memória durante os testes de reconhecimento fMRI para os pacientes 1-4 são apresentados na Tabela 1. Não foi possível executar a tarefa do reconhecimento no paciente 5.

Discussão

Uma boa técnica para o cálculo de LIs deve produzir resultados robustos (que não variam com parâmetros tais como limiares), permitem comparações consistentes dentre assuntos e devem ser reproduzidas (Nagata et al., 2001). A metodologia das distribuições ponderadas aqui descritas foi primeiramente desenvolvida a fim de melhorar a solidez e consistência, porque nós não queríamos basear-nos somente em limiares específicos no cálculo de LIs, e nós procuramos diferenciar pacientes de indivíduos saudáveis. Importaneamente, visto que pode ser difícil obter resultados sólidos do fMRI através de indivíduos únicos (e pacientes, particularmente) e do MTL, nós tivemos a oportunidade de demonstrar que esta metodologia produziu os resultados que consistentemente assentiram com lateralizações do IAP nos pacientes –o modelo clínico padrão (“de ouro”).

LIs calculados de distribuições ponderadas foram mais consistentes, com os desvios padrões no grupo de controle aproximadamente 50% menor do que aquelas utilizando o VxCt10. Além disso, as distribuições ponderadas puderam identificar desvios maiores do que 2 SDs utilizando a análise FFX para os dois pacientes com lateralizações IAPs à direita e lesões à esquerda do MTL, visto que desvios VxCt10 permaneceram menores do que 2 SDs. Para os padrões do paciente 5, apesar de não haver nenhum voxel ativado abaixo de $P = 0.1$, as distribuições ponderadas foram todas capazes de extrair uma correta lateralização dos voxels restantes, e mostrou também que esta lateralização representa mais de um SD da média de LI do grupo de controle (Fig. 4). Essa descoberta demonstra que as distribuições ponderadas podem produzir lateralizações mais sólidas mesmo quando há apenas um pequeno número de voxels ativados nos ROIs. LIs calculados desta maneira são também independentes do ajuste limiar arbitrário.

Apesar dessa aproximação poder ser muito bem sucedida, nós não sugerimos que a utilização inteira de voxels seja adequada para situações outras do que o assessoramento da lateralidade (tal como a elaboração de mapas da ativação), levando em conta que estes voxels dificilmente produziram mapas de ativação significativos. Não obstante, ponderando voxels por seu significado estatístico e subsequentemente utilizar a distribuição para comparação através do resultado cerebral dos hemisférios, resultaria em uma estimativa adequada de lateralidade consistente com os resultados obtidos através do IAP.

Naturalmente, LIs calculados utilizando distribuições inteiras de voxel terão tendência a aproximar-se ao zero, levando em consideração que nós também incorporamos voxels modestos (como ilustrado em nossos resultados). Entretanto, este efeito tende a fazer os LIs resultantes mais homogêneos através dos indivíduos, e assim, mais consistente. O LI de um paciente que é claramente diferente da média LI do grupo normal quando calculado por estes os métodos, muito provavelmente será bastante diferente, levando em conta que manteve a tendência para o zero. Essa técnica é então, mais específica. Uma simples aproximação VxCt, pelo mesmo símbolo, pode produzir LIs mais fortes, mas porque variabilidade no grupo normal é grande utilizando este método (como ilustrado em nossos resultados), torna-se então, mais difícil de distinguir um paciente do grupo de controle, e o método é então, menos sensível, como ocorreu para o paciente através de palavras.

Outras estratégias foram propostas que não supõem nenhuma seleção limiar e espera-se assim, que seja mais sólida. Um destes métodos utiliza a magnitude da média da mudança de sinal da tarefa-induzida (MSC) dos voxels em um ROI específico (Benson et al., 1999; Adcock et al., 2003). Uma vantagem da aproximação MSC é que esta conta com a correlação entre a intensidade de flutuação do

signal e o sincronismo da tarefa comportamental, ao invés de t-testes para mudanças nas intensidades médias, que respeitariam melhor o sinal do curso do tempo (Cohen e DuBois, 1999). Esse método tem sido comparado ao VxCt simples em um limiar específico e tem mostrado ser mais estável (Cohen e DuBois, 1999). Não obstante, Adcock et al. (2003) descobriram que o MSC pode ser mais prono a produzir lateralizações ambíguas quando comparados aos procedimentos padrões VxCt. A provável explicação, é que a sensibilidade do MSC baseia-se na seleção apropriada dos voxels que estão incluídos na análise, exigindo eventualmente, que outros tipos de limiares sejam estabelecidos. Relatórios anteriores, selecionaram voxels para a análise MSC com base no grau de correlação entre os sinais dos voxels e o modelo comportamental (Benson et al., 1999; Cohen e DuBois, 1999), ou a participação de tais voxels em ROIs funcionais, previamente definidos através de uma simples aproximação de VxCt (Adcock et al., 2003). Visto que as demandas anteriores pedem limiares “correlacionais” as últimas demandam um limiar de “significância”. Mais uma vez, parâmetros arbitrários são aplicados.

Na tentativa de extrair linguagem LIs através do tradicional t-teste sem selecionar um limiar foi executado por Nagata et al. (2001). Neste trabalho, foi descoberto que a função referência $(1/z \text{ contagem})^4$ era altamente correlacionada com o número de voxels ativadas acima de cada contagem z em áreas expressivas da linguagem de interesse. Diagramas dispersos em que o eixo central de x continha valores $(1/z \text{ contagem})^4$ e o eixo continha o respectivo número dos voxels acima de cada contagem z foram analisados por regressão. Devido ao fato de as curvas resultantes serem aproximadamente lineares, elas servem como estimativa das curvas de regressão do monomiais, cujos coeficientes provaram ser válidos no cálculo do LI que fosse independente do limiar. Um dos inconvenientes desta aproximação, entretanto, é que a função $(1/z \text{ contagem})^4$ foi derivada empiricamente e tem que ser validada independentemente para os outros ROIs, outros indivíduos, e outros paradigmas. Além disso, a contagem côncava de z contra a contagem ativada das curvas do voxel, ao qual $(1/z \text{ contagem})^4$ foram extraídos, somente para uma contagem mínima de z de aproximadamente 0.8. Não está claro se esta função resistiria caso os os dados fossem estendidos para $z = 0$. Finalmente, uma linha de regressão é sempre uma aproximação e está assim, sujeita a erros e à perda de dados. O método aqui sugerido, entretanto, utiliza todos os voxels positivamente correlacionados não presuppõe sobre dados apropriados às curvas estimadas, estando simplesmente mais interessado na comparação da distribuição de voxels inteiros de ambos os lados do cérebro. Conseqüentemente, este método tem a probabilidade de funcionar também em outros ROIs. Não obstante, Nagata et al. puderam demonstrar que uso de distribuições de voxel (ao invés da contagem z limiar voxels) para calcular LIs é uma aproximação razoável e pode produzir lateralizações mais sólidas e consistentes, porque não variam com o limiar escolhido e são menos variáveis dentre os diferentes indivíduos. Estas são propriedades importantes quando visando antecipar aplicações na decisão de medidas clínicas.

Um aspecto interessante de nossa técnica é a possibilidade de selecionar distribuições estatísticas (ou multiplicadores derivados por eles) baseados na interpretação dos dados. Neste estudo, não foi possível concluir que distribuição (Tw, Pw, ou Pw2) é a melhor. No entretanto, nós sugerimos, que ponderando a distribuição de voxels por uma distribuição tipo-P poderia render resultados clinicamente mais relevantes do que ponderando por uma distribuição T, tal como valores $1 - P$ são indicadores de probabilidades-a-serem-verdadeiras, enquanto que os valores de T são mais uma medida de dispersão. Do ponto de vista clínico, por exemplo, dois voxels em um P de 0.001 e de 0.05, respectivamente, têm a probabilidade de serem clinicamente mais relevantes por estes serem verdadeiramente positivos, são similares (respectivamente 99.9% e 95.0%). Em termos de T, no entanto, seus valores podem ser tão disparates quanto 3.15 e 1.656, respectivamente (para $df = 141$). As distribuições de T poderiam ser mais apropriadas para estudos cognitivos com voluntários normais levando em conta que as distribuições T são mais limitadas e dão menos valor aos voxels pouco ativados do que $1 - P$ distribuições ponderadas. Pw2 potencialmente traz o mais melhor dos dois

mundos, já que é baseado em estatísticas de P, mas comporta-se como um T de distribuição por suprimir a parcela mais alta, porção mais baixa da distribuição do voxel.

Neste estudo, nós apresentamos cinco pacientes com condições distintas em termos de resultados IAP, descobertas de imagens e história clínica. Os pacientes 2 e 5 foram fortemente lateralizados à direita pela fMRI e por IAP, e ambos possuem lesões no MTL esquerdo, fornecendo uma evidência adicional de que a memória estava lateralizada à direita. Nós consideramos estes dois pacientes como o mais indicados em nossa amostra para a comparação dos resultados entre a fMRI e o IAP devido a precisão dos dados clínicos e resultados do IAP bem definidos. (Apesar do baixa nota IAP para o paciente 5, ele estava inteiramente amnésico durante a injeção do hemisfério esquerdo, o que suporta fortemente a lateralização da memória à direita.). De fato, a correlação entre os dois procedimentos foi maior nestes dois indivíduos, que foram os únicos a obter a fMRI LIs (na análise FFX) que desviou mais de 2 SDs da média LI do grupo de controle. O paciente que tinha uma clara lateralização IAP à esquerda (paciente 1), também possuía uma fMRI de lateralização esquerdo. Mas este paciente não tinha nenhuma lesão no MTL direito e obteve uma performance de reconhecimento de memória fraca, durante as séries de reconhecimento da memória fMRI (Tabela 1), o que foi causado provavelmente, pela pouca atenção à tarefa, porque a avaliação neuropsicológica foi normal. A ausência de lesões sugere que a lateralização da memória deste paciente pode certamente estar dentro da escala normal de lateralizações perante a escala média do grupo de controle. Mas o desempenho fraco durante o procedimento da fMRI pode também explicar o porque de ela não ter sido facilmente diferenciada do grupo de controle (os desvios foram maiores que 1, mas menores que 2 SDs na análise FFX). Isto ressalta a importância da coleta de dados comportamentais dos pacientes que submetem-se ao fMRI para finalidades clínicas. O mesmo é verdadeiro sobre o IAP. Foi concluído que os dois outros pacientes (pacientes 3 e 4) falharam o teste do IAP, devido ao fraco reconhecimento após ambas as injeções. Além disso, eles não tiveram nenhuma lesão no MTL na MRI que poderiam fornecer evidência adicional de alteração da lateralização da memória. Devido a má caracterização de lateralização da doença, nós consideramos estes dois pacientes como menos apropriados para uma comparação entre a fMRI e o IAP LIs. Não surpreendentemente, a correlação entre seu IAP e o fMRI LIs foi menos infeliz, com a fMRI LIs desviando à direita da média LI do grupo normal na análise FFX, visto que o IAPs inconclusivo sugeria uma ligeira lateralização para o lado esquerdo. A presença de atividade EEG anormal no MTL esquerdo no paciente 3 pode explicar a ligeira lateralização fMRI à direita. Além disso, considerando que o paciente essencialmente falhou o IAP, é possível que o procedimento de fMRI tenha sido mais sensível e eficaz em identificar a lateralização consistente com estes dados clínicos do que o IAP (particularmente considerando que o LIs ponderados desviaram mais de um SD à direita da média LI do grupo de controle). Para o paciente 3, as técnicas ponderadas foram capazes de identificar uma lateralização na análise FFX, visto que VxCt10 não foi, o que demonstra a potencial vantagem destas técnicas.

Nós acreditamos que este estudo fornece uma boa evidência para um determinado paciente, considerando o índice do lateralização em isolamento (isto é, sem referência a uma população normal) pode não ser suficiente para determinar se um paciente possui organização anômala de funções da memória no MTL. Conseqüentemente, seria melhor comparar a lateralização de um paciente com aqueles derivados de um grupo normal. Em nossos dados, o rendimento ponderado dos LIs rendeu uma distinção mais bem definida dos pacientes do grupo normal (distâncias maiores em termos de SD da média do grupo normal), levando em consideração que os LIs ponderados tendem a render uma menor variabilidade. Este efeito é mais forte se todos os tipos de materiais forem combinados, sugerindo que uma aproximação FFX poderia ser melhor em ambientes clínicos.

Para aplicações clínicas, nós consideramos a seguinte estratégia de maneira a encontrar a lateralização alterada nos pacientes. Primeiramente, um FFX VxCt LI deve ser comparado a um de FFX Pw2 LI (devido a suas vantagens teóricas sobre os outros). Se ambos lateralizarem-se para o mesmo lado, a lateralização está clara. Se lateralizarem-se para diferentes lados, os resultados da fMRI

devem ser considerados como equivocados e as ativações podem ser verdadeiramente bilaterais ou induzidas por artifatos. Se as lateralizações forem consistentes entre as técnicas, é possível então decidir-se se são diferentes ou não em relação ao grupo de LIs saudáveis. Estes devem ser comparados em termos do SD para o grupo LI saudável calculados pelos mesmos métodos e pelas mesmas tarefas comportamentais. Se desvios maiores do que 2 SDs forem encontrados para técnicas ponderadas e maiores do que 1 SD para VxCt (pacientes 2 e 5), a lateralização pode ser assumida a ser claramente diferente do grupo saudável. Se os desvios forem maiores do que 1 SD para VxCt LIs, mas não maiores do que 2 SDs para LIs mais ponderados (paciente 1), significa que a diferença existe somente para voxels altamente significativos e não são suportados pela distribuição inteira de voxels. Pode ainda ser uma diferença verdadeira, mas baseado na quantidade limitada de dados. Se os desvios forem maiores do que 2 SDs para Pw2, mas menores que 1 SD para VxCt, lateralização alterada pode ainda estar presente porque VxCt SDs tende a ser grande e conseqüentemente é mais difícil encontrar uma diferença entre pacientes e indivíduos saudáveis utilizando esta técnica.

Pesquisa futuras devem ser direcionadas em torno da confirmação destas descobertas em uma amostra maior de pacientes e de indivíduos normais. Outras maneiras de se comparar a lateralização de pacientes com um grupo de lateralização saudável médio devem ser exploradas porque as distribuições LI são somente aproximadamente normais, rendendo desvios padrões e medidas de variação imprecisas. Adicionalmente, outras distribuições estatísticas ou suas mudanças poderiam ser testadas. Nós testamos três alternativas diferentes, mas outras também poderiam ser testadas, como o T^2 , $(1 - P)^2$ e $[2(0.5 - P)]^2$, o que resultaria em valores ainda mais ponderados aos voxels altamente significativos. O multiplicador $2(0.5 - P)$ foi desenvolvido para otimizar as vantagens de ambos T_w e P_w , mas deve-se exercer cuidado, no entanto, ao aplicar parâmetros novos e operadores nas distribuições originais de T ou $1 - P$ o que pode causar uma diminuição na solidez. Uma perspectiva interessante é a inclusão de voxels negativamente correlacionados, isto é, daqueles com valores negativos de T . Em projetos como os nossos, onde duas condições explícitas são comparadas, pode ser igualmente importante identificar desativações assimétricas como ativações assimétricas. Distribuições estatísticas apropriadas poderiam ser então elaboradas e levariam em conta toda a série de voxels, os positivos e os negativos, no cálculo do LI. Outras possibilidades incluem o uso de multiplicadores não-paramétricos ou ainda multiplicadores desenvolvidos com algoritmos de aprendizagem, que poderiam ser nutridos por resultados IAP e/ou por outras variáveis clínicas. Os resultados de tais distribuições poderiam estender a evidência fornecida por este estudo de que o uso de distribuições de voxel ponderados forneceriam uma melhor lateralização da memória por fMRI aos pacientes submetidos a avaliação cognitiva pré-operatória.

Reconhecimentos

Nós gostaríamos de agradecer Arthur P. Aron e Ola Friman por seus comentários, e Gary Glover por fornecer-nos a seqüência espiral. Esta pesquisa teve o apoio da bolsa NIH K08 NS 048063-02 para A.J. Golby.

Ressonância Magnética Funcional de Memória: Onde Estamos e Onde Podemos Chegar

Daniel Branco^{*,**}, Jaderson Costa da Costa^{**}

Serviço de Neurologia, Hospital São Lucas, PUCRS, Porto Alegre, RS

RESUMO

Introdução: Ressonância funcional (fMRI) é uma técnica capaz de substituir o teste de Wada como teste padrão de lateralização de memória. Atualmente, a fMRI já pode ser utilizada para estimar a lateralização de memória nos lobos temporais mediais, mas algumas variáveis devem ser tratadas de forma a garantir uma melhor qualidade dos resultados, como a intensidade do campo magnético e o paradigma utilizado. **Objetivos:** Neste artigo, nós revisamos os últimos avanços em neuroimagem funcional de memória e buscamos esclarecer o futuro papel da fMRI no planejamento pré-operatório na cirurgia da epilepsia. **Conclusões:** Atualmente, paradigmas em bloco ainda são preferíveis (em vez de paradigmas relacionados a eventos e outras abordagens) e os pacientes devem ser comparados a um grupo controle, de forma que os índices de lateralização estimados possam ser clinicamente úteis. A fMRI de memória evoluirá pelo uso de campos magnéticos de alta intensidade (3T) e pelo uso de novas abordagens matemáticas para cálculo dos índices de lateralização. No futuro, ela será combinada com outras técnicas de mapeamento funcional, tais como a tractografia, o EEG intracraniano, e a magnetoencefalografia, para produzir mapas multi-modalidade. Em vez de simples figuras, no futuro, os mapas de memória serão apresentados mais provavelmente na forma de filmes funcionais.

Unitermos: epilepsia, memória, ressonância funcional, cirurgia da epilepsia.

ABSTRACT

Functional MRI of memory: where we are and where we can reach

Introduction: Functional MRI (fMRI) is a promising technique for replacing the Wada test as the standard examination of memory lateralization. Currently fMRI can already be used to estimate lateralization of memory in the medial temporal lobes, but some variables should be treated to guarantee good-quality results, such as magnetic-field strength and design types. **Objective:** In this article, we review the latest advances in functional neuroimaging of memory and attempt to elucidate the future role of functional MRI as a preoperative tool in epilepsy surgery. **Conclusions:** At this point, blocked design still is preferable (over event-related and other approaches) and patients need to be compared to a control group, so the laterality indices may be more clinically meaningful. Functional MRI of memory will evolve by the use of high-strength field magnets (3T) and novel mathematical techniques for estimating laterality indices. In the future, it will be combined with other functional mapping techniques, such as tractography, intracranial EEG, and magnetoencephalography, to produce multi-modality maps. Rather than a picture, future memory maps will most likely be presented as functional movies.

Key words: epilepsy, memory, fMRI, epilepsy surgery.

* Golby Lab (Surgical Brain Mapping Laboratory), Department of Neurosurgery, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, USA.

** Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina, Serviço de Neurologia, Hospital São Lucas, e Instituto de Pesquisas Biomédicas, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil.

Received Jan. 16, 2006; accepted Mar. 10, 2006.

INTRODUÇÃO

Os lobos temporais mediais são essenciais para processos de codificação e recuperação de memória declarativa⁽¹⁻⁴⁾. Como o LTM é um local freqüente de foco epiléptico refratário ao tratamento medicamentoso, determinados pacientes podem se beneficiar de ressecção cirúrgica do LTM afetado. Entretanto, é essencial que se entenda previamente a uma cirurgia as contribuições relativas de cada um dos dois LTMs (particularmente a contribuição do LTM contra-lateral) com relação à função de memória para evitar déficit pós-cirúrgico. Por isso, testagem de memória é realizada de rotina na avaliação pré-operatória em centros de referência para cirurgia da epilepsia. Medidas de lateralização de memória podem ajudar na avaliação da reserva funcional em ambos os lados e na definição quanto à indicação ou não de cirurgia e até que ponto estender a ressecção⁽⁵⁾.

Tradicionalmente, o Teste do Amital Sódico (TAS ou Teste de Wada) tem sido empregado para o estudo da lateralização de memória^(6,7). O TAS consiste na injeção de amobarbital sódico, um anestésico, na artéria carótida interna, causando uma desativação temporária do hemisfério cerebral ipsilateral. Durante o período de inatividade hemisférica, é realizada testagem neuropsicológica para determinar a função cognitiva sustentada pelo hemisfério contra-lateral. O TAS foi desenvolvido inicialmente para determinar lateralização de linguagem, mas também tem sido comumente utilizado para lateralização de memória. Como um teste de memória, no entanto, o TAS sofre diversas ressalvas: tem resolução espacial e temporal pobre; ainda não está claro se o seu efeito é causado por desativação direta ou por deafferentação de estruturas do LTM (particularmente as regiões posteriores, supridas pela circulação posterior)⁽⁸⁾; não pode ser prontamente repetido⁽⁹⁾; é invasivo (acarretando em riscos relacionados à cateterização⁽¹⁰⁾). Mesmo assim, porque o TAS simula os efeitos da ablação cirúrgica, e em função da experiência de diversos centros com o exame, ele é considerado padrão-ouro para avaliação pré-operatória de lateralização de memória⁽⁵⁾.

Mais recentemente, técnicas de neuroimagem funcional, como a Tomografia por Emissão de Pósitrons (PET) e a ressonância magnética funcional (RMF), têm sido avaliadas como potenciais substitutos ao TAS⁽⁵⁾. A RMF é particularmente promissora para o estudo da memória por ser não-invasiva, ter muito boa resolução espacial, ser facilmente repetida, e permitir o estudo de múltiplas funções cerebrais. Sua capacidade de identificar ativações nos LTMs durante memorização já foi bem demonstrada em sujeitos normais⁽¹¹⁻¹⁹⁾ e em pacientes com epilepsia⁽²⁰⁻²⁷⁾.

A lateralização da memória, no entanto, é mais complexa do que a lateralização de linguagem, pois varia de

acordo com o tipo de material memorizado^(11,13,20), com a estratégia de memorização⁽²⁸⁻³⁰⁾, e mesmo com o estágio de processamento de memória estudado (memorização X reconhecimento, por exemplo). Tradicionalmente, em estudos de lesões cirúrgicas, o LTM esquerdo tem sido mais relacionado com a memorização de estímulos verbais^(31,32), enquanto que o LTM direito tem sido mais relacionado com a memorização de estímulos não verbais ou visuais^(33,34). Mais recentemente, essa lateralização de memória relacionada a material foi também observada por estudos de RMF nos lobos frontais^(14,35) e nos LTMs^(11,13,20,36). No entanto, em nenhum desses estudos, a dicotomia de memória verbal à esquerda e memória visual à direita foi tão claramente estabelecida quanto a lateralização de linguagem para a esquerda. De fato, esses estudos demonstram que existe uma “tendência” ou “preferência” de lateralização conforme o tipo de material, onde, na prática, ambos os LTMs estão continuamente envolvidos em maior ou menor grau.

Uma outra questão relevante à lateralização de memória nos LTMs é o paradigma utilizado (em bloco ou relacionado a eventos). Os paradigmas em bloco são os mais poderosos, identificando mais consistentemente atividade nos LTMs. No entanto, como as categorias de estímulo em cada bloco precisam ser definidas previamente ao estudo, não é possível categorizar posteriormente estímulos que foram memorizados com sucesso e estímulos esquecidos, já que apenas após o estudo se pode saber quais estímulos se enquadram em cada uma dessas categorias. O paradigma relacionado a eventos possui a vantagem de permitir que a categoria de cada estímulo seja definida a posteriori, o que é principalmente utilizado para avaliar o efeito da memorização bem sucedida. Paradigmas relacionados a eventos já foram utilizados para avaliação de memorização de palavras, mostrando lateralização para o LTM esquerdo⁽²⁴⁾, e de estímulos não verbais, sem lateralização definida⁽³⁷⁾. Mas os paradigmas em bloco são o principal método utilizado para obter as lateralizações de LTM citadas acima, que variam de acordo com o grau de “verbalidade” do material memorizado.

Outro aspecto pouco estudado da ativação hipocampal por RMF é a diferença de lateralização em diferentes regiões do hipocampo ou do LTM. A experiência clínica em pacientes com distúrbios de memória após ressecção do LTM anterior sugere que as regiões anteriores sejam cruciais para a memorização de novas informações. No entanto, a maior parte dos estudos funcionais revela ativações principalmente nas regiões posteriores do hipocampo e do LTM^(11,13,15,16,22,26,37,38). Isso pode estar relacionado com artefatos de susceptibilidade presentes nas regiões anteriores⁽³⁹⁾ ou com a influência de ativações em áreas adjacentes ao LTM posterior, como giro fusiforme e

outras regiões occipitais, que naturalmente se ativam em tarefas de memorização de estímulos visuais. Etapas de pré-processamento, como suavização e normalização podem fazer as ativações occipitais se expandirem artificialmente para as regiões posteriores do LTM.

Por fim, um dos grandes problemas de estimar índices de lateralização (IL) para ativações de LTM é que ativações nessa região são caracteristicamente fracas, produzindo apenas alguns poucos voxels ativos acima de limiares estatísticos convencionais, tais quais $P = 0.05$ ou $P = 0.01$. Esses limiares, além do problema de serem arbitrariamente escolhidos, podem levar a situações conflitantes, como lateralizações para um lado usando determinado valor de P , e para outro, usando outro valor de P . Além disso, ILs podem produzir valores extremados, como $+1$ ou -1 , apenas pela presença de alguns poucos voxels ativos em um lado e nenhum voxel ativo no outro. Essas situações são encontradas com frequência em análises do LTM. A maior parte dos estudos de RMF para mapeamento de memória, no entanto, tem seguido a abordagem padrão de arbitrariamente selecionar um limiar estatístico, com valores de P variando na literatura entre 0.00003 e 0.01⁽²⁰⁻²⁷⁾. Devido ao fato de que a pesquisa com RMF se baseia fundamentalmente nos mapas de ativação (que contêm apenas voxels acima de um determinado limiar estatístico), nenhum estudo de memória utilizou em sua análise voxels fracamente ativados (abaixo do limiar estatístico), os quais ainda podem ser úteis, se considerarmos que o limiar foi escolhido arbitrariamente. Esses voxels podem ser particularmente úteis se o objetivo for apenas calcular ILs – e não mapas de ativação – pois eles podem pelo menos indicar o lado de maior ativação (mesmo que não seja possível produzir mapas dessa ativação).

Alguns estudos de RMF têm tentado aplicar limiares mais baixos para incluir na análise esses voxels com menor significância estatística, mas poucos têm explorado o uso de metodologias totalmente independentes de limiar estatístico⁽⁴⁰⁾. Isso é parcialmente consequência do fato de que os ILs têm sido calculados primariamente para avaliar lateralização de linguagem^(21,41-45), que envolve regiões cerebrais muito mais amplas e ativações com uma boa relação sinal/ruído. Devido ao grande número de voxels ativados, a abordagem tradicional de selecionar um limiar e simplesmente comparar o número de voxels em cada lado acima do limiar é normalmente suficiente para identificar o lado dominante. O LTM, por outro lado, é pequeno e as ativações de memória dependem de todas as demais variáveis descritas acima. Novos estudos, portanto, que lancem mão de formas alternativas de calcular ILs no LTM, são altamente necessários.

Esses estudos são necessários também para que a RMF de memória possa finalmente ser validada para uso clínico-

co. Poucos estudos têm procurado comparar ILs obtidos de pacientes com aqueles obtidos de grupos de sujeitos normais. A função de identificar lateralizações patológicas em pacientes tem sido suprida pelo TAS, mas essa técnica normalmente produz apenas resultados qualitativos, tais como “para a esquerda”, “para direita” ou “bilateral”. Embora até seja possível calcular ILs a partir do número de objetos lembrados após o efeito anestésico, a falta de um grupo controle no TAS nos impede de saber quão diferente é a lateralização dos pacientes em comparação à população normal. A técnica de RMF, no entanto, nos permite estudar grupos-controle e obter valores de referência para serem usados com pacientes. Utilizando RMF, é possível saber quantos desvios-padrão o IL de determinado paciente está desviado da média da população normal. Um resultado de TAS indicando “lateralização para a esquerda” em um paciente informa muito menos de que um resultado de RMF indicando um “desvio para a esquerda maior do que dois desvios-padrão da população”, por exemplo. Como é esperado encontrar dominância cerebral à esquerda, principalmente para linguagem, mas também para memória, é importante que se possa quantificar essa lateralização em comparação ao um grupo controle.

Apesar das dificuldades descritas acima, a RMF combinada com outras técnicas de mapeamento cerebral funcional possui um futuro promissor em um presente no qual já é possível obter ILs confiáveis para a memória – utilizando os equipamentos e técnicas adequadas. Em função de melhores características de sinal e ruído, os aparelhos de ressonância magnética de 3T são claramente superiores aos aparelhos de 1,5T para estudos de memória. Eles não apenas são melhores para mensurar o sinal BOLD (*Blood Oxygen Level Dependent*) de RMF em regiões vulneráveis a artefatos de susceptibilidade magnética (como as regiões anteriores do LTM), como também apresentam um maior potencial para identificar variações discretas do sinal BOLD. Como a memória é um processo contínuo, que não pode ser voluntariamente interrompido (ao contrário da linguagem e de tarefas motoras), os paradigmas de memória normalmente buscam comparar momentos de “maior atividade de memória” com momentos de “menor atividade de memória”. Isso é alcançado através do grau de novidade dos estímulos apresentados. De forma geral, é preciso comparar estímulos que foram vistos apenas uma vez (com alto “grau de novidade”) com estímulos repetidos (baixo “grau de novidade”). Essa diferença é provavelmente bem menor do que os usuais 2-5% encontrados em tarefas motoras, tornando o uso de aparelhos de 3T ainda mais importante. Particularmente, o uso de seqüências espirais de aquisição⁽³⁹⁾ pode ajudar a minimizar artefatos de susceptibilidade.

Com a relação à técnica, algumas variáveis podem ser trabalhadas de forma a produzir resultados mais consistentes. Paradigmas em bloco permanecem sendo os ideais para aplicação clínica. Apesar de não ser possível verificar o efeito da memorização bem sucedida com paradigmas em bloco, dados ainda não publicados do nosso laboratório sugerem que, pelo menos em sujeitos normais, as diferenças entre estímulos com alto e baixo grau de novidade é aproximadamente a mesma que aquela entre estímulos com alto grau de novidade e que foram memorizados com sucesso, e estímulos de baixo grau de novidade. Em pacientes que possuem um distúrbio de memória pré-operatório importante, e que portanto memorizam poucos estímulos, o uso de apenas estímulos memorizados com sucesso pode produzir melhores resultados do que o uso de todos os estímulos com alto grau de novidade (sejam eles lembrados ou esquecidos). No entanto, se o número de estímulos lembrados for extremamente baixo, pode simplesmente não haver estímulos suficientes para gerar um contraste e conseqüentemente um mapa de ativação. Para solucionar esse problema, é possível que o tamanho do paradigma precise ser ajustado para cada indivíduo, de acordo com a porcentagem de estímulos que aquele indivíduo normalmente consegue memorizar. A aplicação dessa estratégia, no entanto, ainda não foi apresentada na literatura. Portanto, enquanto não estiver melhor esclarecido como pacientes com dificuldade de memorização devem ser estudados, exames funcionais de memória nesses pacientes devem ser conduzidos com cautela. No entanto, a mesma ressalva vale para o TAS, sendo que a RMF nos oferece o potencial de aumentar consideravelmente o tamanho da sessão de memorização, enquanto que qualquer aumento de duração do TAS pode ser complicado por fatores relacionados à anestesia e ao procedimento.

Com relação aos ILs, é importante que lateralizações de memória obtidas por RMF em pacientes sejam comparadas com uma distribuição de lateralizações obtidas de uma população normal. Naturalmente, a técnica de cálculo de ILs deve ser a mesma para o grupo controle e para os pacientes. De preferência, a técnica utilizada deve produzir resultados robustos (independentes de parâmetros arbitrários, como limiares estatísticos) e deve permitir a comparação entre sujeitos⁽⁴⁰⁾. Recentemente, nós propusemos (artigo submetido e em revisão) que esses requisitos podem ser atendidos por uma técnica que utilize todos os voxels positivamente correlacionados com a tarefa (com valores de $T > 0$) e que leve em consideração a importância (ou significância estatística) de cada voxel. Essa técnica seria mais robusta que a técnica tradicional de simplesmente contar os voxels acima de determinado limiar, pois seria independente de parâmetros arbitrários. Além disso, ela seria mais consistente, pois resultaria em menor varia-

bilidade entre sujeitos, permitindo uma comparação mais clara entre pacientes e o grupo controle.

Ainda com relação à técnica, é importante mencionar também que é altamente recomendável que exames clínicos de RMF de memória sejam realizados durante a fase de memorização. A grande maioria dos estudos tem focado na memorização e não no reconhecimento, pois os resultados costumam ser muito mais consistentes durante a memorização do que durante o reconhecimento.

Por fim, é importante levar em consideração o material memorizado. Como existe uma importante influência do tipo de material, é interessante que cada sujeito seja estudado durante a memorização de palavras (com alto grau de verbalizabilidade), de padrões (com baixo grau), e de imagens com conteúdo (como cenas, que possuem um grau de verbalizabilidade intermediário). Como cada uma dessas modalidades de estímulo pode produzir diferentes lateralizações, é preciso combiná-las em uma única análise estatística para que se possa obter uma lateralização média ou uma lateralização de memória global, independente de material. Dados ainda não publicados do nosso laboratório sugerem que a análise combinada dessas modalidades permite uma melhor diferenciação entre pacientes e o grupo controle. Isso se deve provavelmente ao efeito combinado do balanceamento de modalidades e do uso de um maior número de estímulos na análise do que é utilizado na análise de cada uma dessas modalidades individualmente.

Para o futuro do mapeamento de memória, espera-se obter um grande refinamento das técnicas atuais. É possível que paradigmas relacionados a eventos, adaptados às necessidades específicas de cada paciente, se tornem a regra. O aumento da experiência com exames obtidos durante a fase de reconhecimento pode revelar o valor clínico dessa etapa específica do processo de memorização (revelando informações sobre o processo subjacente de consolidação de memória), que por enquanto tem sido utilizado basicamente para categorizar os estímulos apresentados durante a memorização. Mas os maiores avanços deverão vir da combinação da RMF em aparelhos de 3T com estudos estruturais realizados nesses mesmos aparelhos e estudos funcionais realizados por eletrocorticografia (ECoG) e magnetoencefalografia (MEG). Em nosso laboratório, estamos atualmente produzindo os primeiros mapas combinados de RMF com MEG e de RMF com tratografia. Apesar de estarmos testando a combinação de técnicas em estudos de linguagem, a aplicação dessas técnicas combinadas em memória é apenas uma questão de tempo. Além de simplesmente registrar os resultados das diferentes técnicas em um mesmo mapa, informações de uma determinada técnica podem ajudar na execução de uma outra técnica. Por exemplo, é possível identificar

tratos que se originam exclusivamente em determinadas regiões de interesse identificadas previamente por RMF ou por MEG. No futuro, mapas funcionais não incluirão apenas informações de distribuição espacial das áreas identificadas por RMF, mas também informações de distribuição temporal, obtidas através de técnicas de alta resolução temporal, como ECoG e MEG. Finalmente, a combinação de ECoG e RMF nos permitirá identificar a sequência de ativação das áreas identificadas por RMF. É provável que um dia estejamos analisando “vídeos” de ativação funcional de memória e não apenas “fotos” desse fenômeno.

REFERÊNCIAS

- Scoville W, Milner B. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1957; 20(1):11-21.
- Squire L. Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychol Rev* 1992; 99(2):195-231.
- Eichenbaum H. A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nat Rev Neurosci* 2000; 1(1):41-50.
- Squire L Zola-Morgan S. The medial temporal lobe memory system. *Science* 1991; 253(5026):1380-6.
- Akanuma N et al. Presurgical assessment of memory-related brain structures: the Wada test and functional neuroimaging. *Seizure* 2003; 12(6):346-58.
- Wada J, Rasmussen T. Intracarotid injection of sodium amytal for the lateralization of cerebral speech dominance: experimental and clinical observations. *J Neurosurgery* 1960; 17:266-82.
- Milner B, Branch C, Rasmussen T. Study of short-term memory after intracarotid injection of sodium amytal. *Transactions of the American Neurological Association* 1962; 87:224-6.
- Jack CJ et al. Selective posterior cerebral artery injection of amytal: new method of preoperative memory testing. *Mayo Clin Proc* 1989; 64(8):965-75.
- Simkins-Bullock J. Beyond speech lateralization: a review of the variability, reliability, and validity of the intracarotid amobarbital procedure and its nonlanguage uses in epilepsy surgery candidates. *Neuropsychol Rev* 2000; 10(1):41-74.
- Dion J et al. Clinical events following neuroangiography: a prospective study. *Stroke* 1987; 18(6):997-1004.
- Golby A et al. Material-specific lateralization in the medial temporal lobe and prefrontal cortex during memory encoding. *Brain* 2001; 124(Pt 9):1841-54.
- Schacter D, Wagner A. Medial temporal lobe activations in fMRI and PET studies of episodic encoding and retrieval. *Hippocampus* 1999; 9(1):7-24.
- Kelley D et al. Hemispheric specialization in human dorsal frontal cortex and medial temporal lobe for verbal and nonverbal memory encoding. *Neuron* 1998; 20(5):927-36.
- Wagner D et al. Material-specific lateralization of prefrontal activation during episodic encoding and retrieval. *Neuroreport* 1998; 9(16):3711-7.
- Gabrieli J et al. Separate neural bases of two fundamental memory processes in the human medial temporal lobe. *Science* 1997; 276(5310):264-6.
- Stern C et al. The hippocampal formation participates in novel picture encoding: Evidence from functional magnetic resonance imaging. *Proc Natl Acad Sci* 1996; 93(16):8660-5.
- Dolan R, Fletcher P. Encoding and retrieval in human medial temporal lobes: An empirical investigation using functional magnetic resonance imaging (fMRI). *Hippocampus* 1999; 9(1):25-34.
- Martin A. Automatic activation of the medial temporal lobe during encoding: Lateralized influences of meaning and novelty. *Hippocampus* 1999; 9(1):62-70.
- Machado V, Costa J da. Estudo comparativo entre a ressonância magnética funcional e o teste do amobarbital na avaliação da lateralização da memória em pacientes com epilepsia refratária do lobo temporal [dissertação].;Porto Alegre: PUCRS; 2002.
- Golby A et al. Memory lateralization in medial temporal lobe epilepsy assessed by functional MRI. *Epilepsia* 2002; 43(8): 855-63.
- Deblaere K et al. Developing a comprehensive presurgical functional MRI protocol for patients with intractable temporal lobe epilepsy: a pilot study. *Neuroradiology* 2002; 44(8):667-73.
- Detre J et al. Functional MRI lateralization of memory in temporal lobe epilepsy. *Neurology* 1998; 50(4):926-32.
- Killgore W et al. Functional MRI and the Wada test provide complementary information for predicting post-operative seizure control. *Seizure* 1999; 8(8):450-5.
- Richardson M et al. Preserved verbal memory function in left medial temporal pathology involves reorganisation of function to right medial temporal lobe. *NeuroImage* 2003; 20(Suppl 1): S112-9.
- Bellgowan P et al. Side of seizure focus predicts left medial temporal lobe activation during verbal encoding. *Neurology* 1998; 51(2):479-84.
- Dupont S et al. Episodic memory in left temporal lobe epilepsy: a functional MRI study. *Brain* 2000; 123(Pt 8):1722-32.
- Jokeit H, Okujava M, Woermann F. Memory fMRI lateralizes temporal lobe epilepsy. *Neurology* 2001; 57(10):1786-93.
- Tulving E et al. Hemispheric encoding/retrieval asymmetry in episodic memory: Positron emission tomography findings. *Proc Natl Acad Sci* 1994; 91:2016-20.
- Nyberg L et al. General and specific brain regions involved in encoding and retrieval of events: What, where, and when. *Proc Natl Acad Sci* 1996; 93:11280-5.
- Habib R, Nyberg L, Tulving E. Hemispheric asymmetries of memory: the HERA model revisited. *TRENDS in Cognitive Sciences* 2003; 7(6):241-5.
- Frisk V, Milner B. The role of the left hippocampal region in the acquisition and retention of story content. *Neuropsychologia* 1990; 28(4):349-59.
- Ivnik R, Sharbrough F, Laws EJ. Effects of anterior temporal lobectomy on cognitive function. *J Clin Psychol* 1987; 43(1): 128-37.
- Smith M, Milner B. The role of the right hippocampus in the recall of spatial location. *Neuropsychologia* 1981; 19(6):781-93.
- Spiers H et al. Unilateral temporal lobectomy patients show lateralized topographical and episodic memory deficits in a virtual town. *Brain* 2001; 124(Pt12):2476-89.
- McDermott K et al. Set- and Code-specific activation in the frontal cortex: An fMRI study of encoding and retrieval of faces and words. *J Cognitive Neuroscience* 1999; 11(6):631-40.
- Martin A, Wiggs C, Weisberg J. Modulation of human medial temporal lobe activity by form, meaning, and experience. *Hippocampus* 1997; 7:587-93.
- Fernandez G et al. Successful verbal encoding into episodic memory engages the posterior hippocampus: a parametrically analyzed functional magnetic resonance imaging study. *J Neurosci* 1998; 18:1841-7.
- Kirchhoff B et al. Prefrontal-temporal circuitry for episodic encoding and subsequent memory. *J Neurosci* 2000; 20(16):6173-80.
- Glover G, Law C. Spiral-in/out BOLD fMRI for increased SNR and reduced susceptibility artifact. *Magn Reson Med* 2001; 46(3):515-22.

40. Nagata S et al. Method for Quantitatively evaluating the lateralization of linguistic function using functional MR Imaging. Am J Neuroradiol 2001; 22(5):985-91.
41. Adcock J et al. Quantitative fMRI assessment of the differences in lateralization of language-related brain activation in patients with temporal lobe epilepsy. Neuroimage 2003; 18(2):423-38.
42. Binder J et al. Determination of language dominance using functional MRI: A comparison with the Wada test. Neurology 1996; 46(4):978-84.
43. Springer J et al. Language dominance in neurologically normal and epilepsy subjects: a functional MRI study. Brain 1999; 122(Pt 11):2033-46.
44. Rutten G et al. FMRI-determined language lateralization in patients with unilateral or mixed language dominance according to the Wada test. Neuroimage 2002; 17(1):447-60.
45. Sabbah P et al. Functional MR imaging in assessment of language dominance in epileptic patients. Neuroimage 2003; 18(2):460-7.

Endereço para correspondência:

Daniel Branco
Department of Neurosurgery, Brigham and Women's Hospital,
Harvard Medical School – 75 Francis Street, Room CA138-B
Boston, MA 02115
E-mail: branco@bwh.harvard.edu

Functional MRI Memory Mapping for Epilepsy Surgery Planning: A Case Report

Daniel Branco^{*,**}, Stephen Whalen^{*}, Jaderson C. da Costa^{**}, Alexandra Golby^{*}

Surgical Brain Mapping Laboratory, Department of Neurosurgery, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, USA
Laboratório de Neurociências, Instituto de Pesquisas Biomédicas, PUCRS, Porto Alegre, RS

ABSTRACT

Introduction: Functional evaluation of memory lateralization can have an impact on planning of epilepsy surgery for mesial temporal lobe (MTL) epilepsy. Functional MRI (fMRI) may provide non-invasive method to assist in the determinations of memory dominance. fMRI based memory mapping, however, is still not straightforward and determining lateralization can be difficult for a number of reasons. One outstanding question relates to the influence of material type on MTL activation. **Objectives:** To improve pre-operative memory lateralization evaluation using an event-related fMRI paradigm. This approach was designed to take into account successful encoding and material type. **Methods:** We describe here the case of a patient with MTL epilepsy who underwent memory mapping using this new functional MRI design. For each stimulus modality, we generated maps and calculated the lateralization of the activations. **Results:** The patterns encoding task was associated with the most right-lateralized MTL activity, whereas word encoding was the most left-lateralized. **Conclusions:** We found that it is possible to achieve a strong lateralization in several brain regions for different stimulus modalities that follow the overall pattern found in our previous blocked-design studies. The mapping in this case was concordant with the structural imaging and electrophysiological findings.

Key words: brain mapping, memory encoding, fMRI, epilepsy surgery.

RESUMO

A ressonância funcional da memória para o planejamento da cirurgia da epilepsia do lobo temporal mesial: relato de caso

Introdução: A avaliação funcional de lateralização de memória pode ter impacto no planejamento da cirurgia da epilepsia do lobo temporal mesial (LTM). A ressonância funcional (RMf) pode prover um método não invasivo para ajudar a determinar a dominância de memória. O mapeamento de memória baseado por RMf, no entanto, ainda não é simples e determinar lateralização pode ser difícil por uma série de razões. Uma questão importante se refere à influência do tipo de material na ativação do LTM. **Objetivos:** melhorar a avaliação pré-operatória de memória utilizando um paradigma de RMf tipo "event-related". Esta abordagem foi elaborada para levar em consideração a memorização bem sucedida e o tipo de material. **Metodologia:** Nós descrevemos o caso de um paciente com epilepsia do LTM que sofreu um mapeamento de memória utilizando este novo paradigma de RMf. Para cada modalidade de estímulo, nós geramos mapas e calculamos a lateralização das ativações. **Resultados:** A tarefa de memorização de padrões foi associada com a atividade de LTM mais lateralizada para a direita, enquanto que a memorização de palavras lateralizou mais para a esquerda. **Conclusões:** Nós encontramos que é possível obter uma forte lateralização em diversas regiões cerebrais para diferentes modalidades de estímulo que segue aproximadamente o mesmo padrão encontrado em nossos estudos, em bloco, prévios. O mapeamento, neste caso, foi concordante com a imagem estrutural e com os achados eletrofisiológicos.

Unitermos: mapeamento cerebral, memorização, ressonância funcional, cirurgia da epilepsia.

* Golby Lab (Surgical Brain Mapping Laboratory), Department of Neurosurgery, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, USA.

** Laboratório de Neurociências, Instituto de Pesquisas Biomédicas, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS, Porto Alegre, RS, Brasil.

Received Dec 10, 2004; accepted Jan 10, 2005.

INTRODUCTION

Memory is likely one of the most complex cognitive functions. Rather than a single depository from where we obtain the information we need in our daily lives, it is a very dynamic process that constantly incorporates new data, selects and retrieves the specific information needed for a certain moment, deletes unnecessary information, and subserves other more explicit brain functions. One, for instance, needs memory to speak in order to retrieve what must be said (contents of speech), and to select the best words and grammatical structure to transmit that information. One also needs memory to ride a bike (he or she needs to *remember* how to ride a bike every time it does it). Also, there are aspects of memory that cannot be consciously controlled. For example, one can consciously try to encode new information, learn a new skill, or remember a past event, but the process of consolidation and forgetting of these information is greatly unconscious.

There are basically two types of memory: *declarative* (or *explicit*) and *procedural* (or *implicit*) (Izquierdo, 2002). Declarative memories can be volitionally retrieved and verbally transmitted (or “declared”). Procedural memories, on the other hand, are made up of information the brain uses to execute tasks (like riding a bike). The declarative memories can be split up into *episodic* and *semantic* memories (Portuguez, 1998; Cummings et al., 2003). Episodic memories are related to facts and events that occurred in a specific point in the past. Semantic memories represent knowledge acquired through life and generally does not include when or where it was obtained. Episodic memory might contain, for example, information about your last trip do Athens (if you’re lucky), but it is semantic memory that retains the information that Athens is the capital of Greece.

Episodic memory is likely the most fragile, and can be affected by several medical conditions. It also is the most prone to impairment after medial temporal lobe (MTL) resection, as this region has been demonstrated to be critical in the acquisition of new declarative memories (Scoville, 1957). Therefore, memory evaluation prior to surgery is an important part of the surgical planning, and is aimed at determining to what extent each hippocampus is involved with memory encoding. Currently, the gold standard technique for the evaluation of memory lateralization is the intracarotid amytal (IAT or Wada) test. The Wada test consists of intracarotid administration of amytal, a barbiturate drug that causes transient anesthesia of the hemisphere of interest. This procedure, however, is invasive and not without risks, and it is difficult to repeat for confirmation of findings. Additionally, the short duration of anesthesia is often not enough for an adequate neuropsychological evaluation, which can also be affected

by behavioral effects of the drug. And in the specific case of memory evaluation (the Wada test is also used for language lateralization), another important drawback is the sparing of the posterior two thirds of the hippocampus, which is supplied mostly by the posterior circulation of the brain. It is understood that the memory disruption that occurs during the Wada test is the result of disconnection of the hippocampus from the afferent inputs. Although there is the possibility of selectively injecting the posterior cerebral artery (Jack et al., 1989), it carries even a greater risk for the patient (Rausch, 1993).

Perhaps, as epilepsy surgery gets more precise and demands more detailed information, one of the main drawbacks of the Wada test is the fact that it has poor spatial resolution precluding memory localization and at best can only assess memory lateralization. More recently, functional magnetic resonance imaging (fMRI) has been used as a research tool to map cerebral areas involved with both encoding and retrieval stages of memory. At first, these fMRI studies assessed encoding lateralization of just one material type (Tulving et al., 1994; Nyberg et al., 1996). But subsequent studies started to address the impact of material type and material verbalizability (i.e., how much the material is encoded in a verbal or descriptive way) (Kelley et al., 1998; Wagner et al., 1998; McDermott et al., 1999; Golby et al., 2001).

We have previously shown that fMRI is a valid tool for assessing memory lateralization in patients with MTL epilepsy (Golby et al., 2002). In that study, subjects performed a block design. Blocks with novel pictures were alternated with blocks containing the same two pictures repeated throughout the run. A total of four runs were performed for each subject, each containing a single stimulus category (words, faces, scenes, and patterns). Mappings were produced with the contrast “novel > repeat”, which showed areas that were more activated during the novel blocks than during the repeat blocks. In eight of nine subjects, lateralization of MTL activations by fMRI was concordant with that obtained from the Wada test. Moreover, group-level analysis demonstrated greater activation in the MTL contralateral to the seizure focus such that in the left MTL group, verbal encoding engaged the right MTL, whereas in the right MTL epilepsy group, nonverbal encoding engaged the left MTL.

Here, we describe the findings from a similar procedure in a single patient. This time, however, we used an event-related paradigm with 5 stimulus categories.

METHODOLOGY

Subject

We scanned a 40 year-old, male, with bilateral temporal lobe epilepsy, no hippocampal atrophy, scalp EEG

with no lateralization for epileptogenic activity, and intracranial EEG with seizures coming from left MTL. His Wada test did not provide any clear lateralization. Seizures had started two years earlier, and has been presenting up to two partial complex seizures a day, despite concomitant use of correct doses of three antiepileptic drugs.

Functional paradigm

The patient underwent 5 encoding runs, one for each modality. The modalities were Snodgrass pictures, scenes, patterns, faces, and words, presented in this order (which were randomly generated). Stimuli were presented visually using a magnet-compatible goggle system (Resonance Technology, Inc., Chicago, IL) for 2000 ms, with an inter-stimulus interval ranging randomly from 1000 to 1500 ms. During each run, 44 novel and 44 instances of two familiar (repeated) stimuli were presented. The presentation order of the 88 stimuli within each run was also randomized. Stimulus display parameters and response collection was controlled by a custom-developed python program running on the Linux operating system; of which the code was based on the Python Experimental Psychology Library (Computational Memory Lab, University of Pennsylvania).

Task

For each delivered stimulus, the patient performed a two-choice decision task (encoding runs), depending upon the subcategory in each modality. For words, subcategories were concrete (e.g., “house”) and abstract (e.g., “friendship”); for faces, male and female; for scenes, outdoor and indoor, and for Snodgrass pictures, living things (e.g., animal, vegetable, plant, fruit, or part of the body), and non-living objects (e.g., candle, bed, bag). Faces were color photographs extracted from the Color Feret Facial Image Database (National Institute of Standards and Technology, USA). Scenes were obtained from a Corel database (Corel, Ottawa, Canada), and patterns were collected from the Internet.

Recognition memory was tested for each stimulus type in five additional runs consisting of previously presented stimuli or foils. (Although recognition runs were scanned, imaging data are not discussed here.) For each image, the patient was instructed to distinguish between pictures he recognized as previously presented stimuli, and those that were novel stimuli. Recognition runs were performed immediately after each encoding run.

Image acquisition

Subject was scanned using a 3.0T GE Signa MRI system. Whole-brain functional imaging was performed using a single-interleave gradient echo pulse sequence, with 29 contiguous axial slices at 2000 ms per image volume. There were no gaps in between volumes. A T2 weighted 29-slice volume was also acquired in the exact

same orientation as the functional images. Matrices were 512×512 for the T2 and 64×64 for the functional images. Before pre-processing, functional data were coregistered to the T2 volume for optimal anatomical overlaying in the analysis software. A volumetric T1 weighted MPRAGE (Magnetization Prepared RApid Gradient Echo) acquisition was also acquired for posterior overlaying with the functional activations (matrix = 256×256).

Data analysis

Stimulus onset vectors for novel, repeated, remembered and forgotten stimuli were generated for event-related analysis. Following image reconstructions, motion correction was performed using the SPM2 (Statistical Parametric Mapping) software package (Wellcome Department of Imaging Neuroscience, London, U.K.). Both smoothed (Full-Width Half-Maximum set to 8) and unsmoothed images were independently processed. Smoothed images improve the signal-to-noise ratio, producing clearer activations; whereas unsmoothed images have better spatial resolution, and can detect smaller activations, but can be compromised by false-positive findings. SPM2 was also used to process the statistical General Linear Model (GLM). Slice timing was not performed as a TR of 2000 ms can be considered short enough to avoid loss of signal due to temporal misalignment of slices within a volume. Time and dispersion derivatives were applied to the hemodynamic response function. Since the initial presentations of the two repeated stimuli worked as novel images, we applied an exponentially decaying covariate to account for the novel effect of the three first instances of each repeated stimulus.

Contrasts

In order to examine the effect of novelty, we used contrasts that compared novel and repeated stimuli. To assess the effect of the posterior recognition of the encoded stimuli, we also used contrasts that involved either forgotten or remembered stimuli. The following contrasts were applied in our analysis: “remembered >> repeated”, “remembered >> forgotten”, “novel >> repeated”, and “forgotten >> repeated”.

RESULTS

Behavior

The most remembered modality was Snodgrass pictures (42 out of 44). The patient remembered 32 of the 44 words, 29 scenes, 28 patterns, and 26 faces.

Words

The word encoding task, when examined with the “remembered >> repeated” contrast produced a strong activation in Broca area (Fig. 1), with a strong overall lateralization to the left, including pre-motor areas (Fig. 2).

The left temporal angular gyrus and temporal superior sulcus, corresponding to Wernicke area, were also activated (Fig. 2). Fig. 1 also depicts left lateralized occipito-parietal activation. For “Novel >> Repeated” (which could also be expressed as “remembered + forgotten – repeated”), these same areas were activated, and others as well, including the left collateral sulcus, the right temporal pole, and the inferior temporal sulcus (Fig. 3). The right middle temporal gyrus was also activated, but to a much lesser extent as compared to the

left. “Remembered >> Forgotten” interestingly produced a much weaker activation in Broca area, with no Wernicke activation, but a strong occipitoparietal activation, suggesting that this region might be intimately related to the successful encoding of verbal information (compare Fig. 4 to Fig. 1). Moreover, the map for “forgotten >> repeated” (Fig. 5) produced a discrete, but contra-lateral activation in this region.

Although we could not find any hippocampal activations for words, the left collateral activation might be an indicator of left hippocampal involvement. The strong left activation on language suggests that this memory paradigm may be an alternative way to perform language memory and could actually replace standard

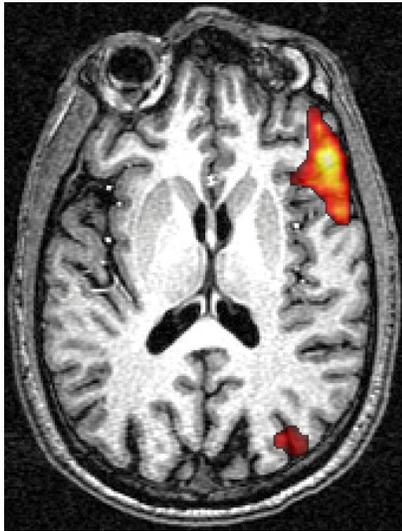


Figure 1. Activation in Broca area for contrast “remembered >> repeated” during memorization of words (from smoothed functional images).

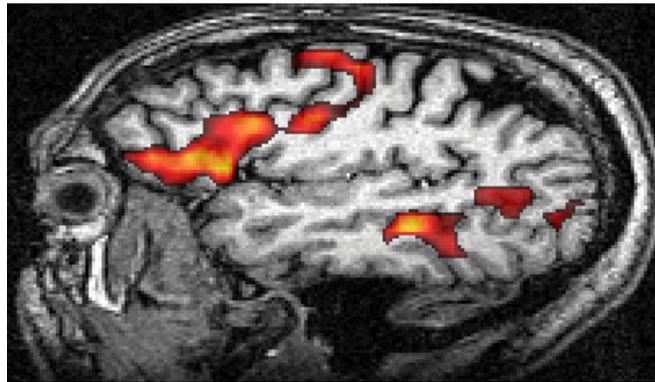


Figure 2. Activation in Broca and Wernicke areas for contrast “remembered >> repeated” during memorization of words (from smoothed functional images).

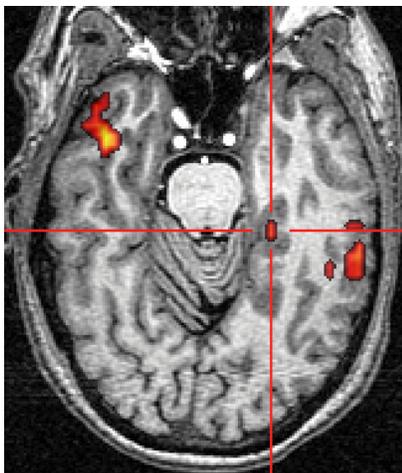


Figure 3. Activation in left collateral sulcus (bars) and right temporal lobe for contrast “novel >> repeated” during memorization of words (from smoothed functional images).

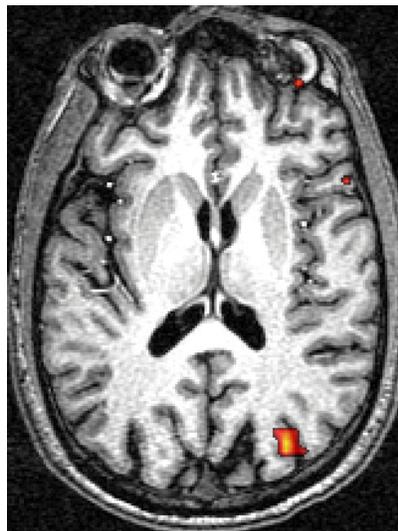


Figure 4. Activation in left occipito-parietal area persisted for “remembered >> forgotten” whereas the activation in Broca area was almost completely gone during memorization of words (from smoothed functional images of word encoding).

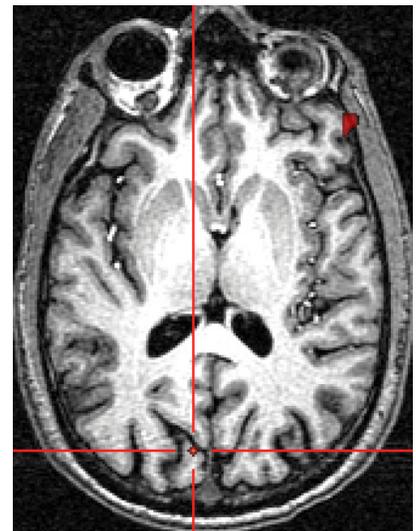


Figure 5. Right activation in right occipito-parietal area for “forgotten >> repeated” during memorization of words (from smoothed functional images of word encoding).

language mapping for a combined, shorter, language/memory task. The exact function of the superior occipital (cuneus) and intraparietal sulcus is not yet exactly understood, but its activation has been found in previous blocked-design fMRI studies (Wagner, 1998), where it was consistent with remembered but not forgotten stimuli.

Scenes

For scenes, “remembered >> forgotten” strongly activated the right superior frontal gyrus (SFG), but also Broca region (and its right counterpart), Wernicke area, the cingulate gyrus bilaterally (but mostly on the left), and the left collateral sulcus. It is important to note, however, that the activations in language areas were much weaker when compared to the word encoding task. With a “remembered >> repeated” contrast, activations were concentrated on the collateral gyrus, but strongly lateralized to the right. Right occipital activation was also present, as were activations on the left cingulate gyrus and right parietal lobe. The same results occurred with “novel >> repeated”, but for this contrast the cingulate activation was absent and there was a new right inferior frontal gyrus (IFG) activation. “Forgotten >> repeated” activated primarily a right frontal and right parietal area. The frontal area, as in “remembered >> forgotten”, was in the SFG, but more anteriorly. The parietal area, if compared to “remembered >> repeated”, was located more superiorly.

The findings for scenes suggest that successful encoding was related to a verbal strategy used by the patient, as we only found Broca and Wernicke activations using the “remembered >> forgotten” contrast. On the other hand, “remembered >> repeated” strongly involved the right middle temporal lobe (bilateral collateral sulcus activation lateralized to the right), suggesting that a visuospatial strategy was also used. We previously demonstrated that both scenes and faces do not lateralize substantially (Golby, 2001 and 2002); a dual strategy for scenes may be the reason for the bilateral findings. The left cingulate gyrus appears to be also strongly related with successful encoding, since it is present for both “remembered >> forgotten” and “remembered >> repeated”. The right parietal lobe was involved with both successful and unsuccessful encoding.

Snodgrass pictures

For Snodgrass pictures, contrasts that incorporated forgotten stimuli did not produce very useful information as the “forgotten” pictures were well remembered, and the vectors contained only two data points. “Remembered >> repeated”, however, produced very clear bilateral hippocampal activation, with lateralization to the right (Fig. 6). This contrast also produced bilateral activations of the collateral and lateral occipitotemporal sulci, with late-

rialization to the left. As with scenes, there also was a right occipital activation, but stronger than with scenes. Left occipital (cuneal) and right parietal activations were also present, and in Broca area as well.

Again as with scenes, Snodgrass pictures (which one can easily name) involved bilateral regions, but it is likely that a dual encoding had been performed by the patient. Right parietal lobe and right occipital activations are also consistent with scenes. And anterior middle temporal lobe activations lateralized to the right, whereas posterior middle temporal lobe activations prevailed on the left.

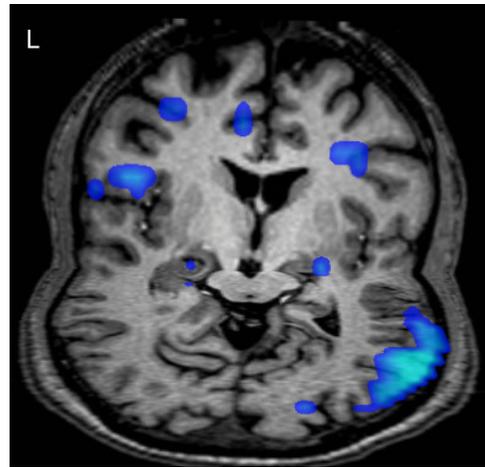


Figure 6. 3-D posterior view. Bilateral hippocampal activation for Snodgrass pictures encoding, but lateralized to the right (at the intersection of the axial and the coronal slices), using a “remember >> repeated” contrast (from smoothed functional images). Also note the strong right occipital activation.

Faces

Activations related to “remembered >> forgotten” were present in the right parietal lobe and left SFG (whereas scenes activated the right SFG). IFGs were activated bilaterally. For “remembered >> repeated”, the very same part of the left SFG was activated, the parietal activation was absent, and the IFG was present only on the left (Broca). For “novel >> repeated”, the bilateral angular gyri were activated. And for “forgotten >> repeated”, a bilateral medial parietal activation was present.

For faces, successful encoding was strongly related with right SFG activations, and right parietal and the IFG also appeared to be implicated as well.

Patterns

Finally, “remembered >> forgotten” for patterns produced strong activation on the right IFG, and a weak activation in the right occipital lobe. “Remembered >> repeated” produced bilateral activation on the collateral sulci, with lateralization to the right (Fig. 7), and a strong occipital activation. Right parietal regions, again, were

strongly activated. As for “novel >> repeated” activations were more restricted to right occipital lobe and right collateral sulcus. “Forgotten >> repeated” was basically confined to the right collateral sulcus.

Successful encoding for patterns was related to the right IFG, whereas both successful and unsuccessful encoding were related to the right collateral sulcus.

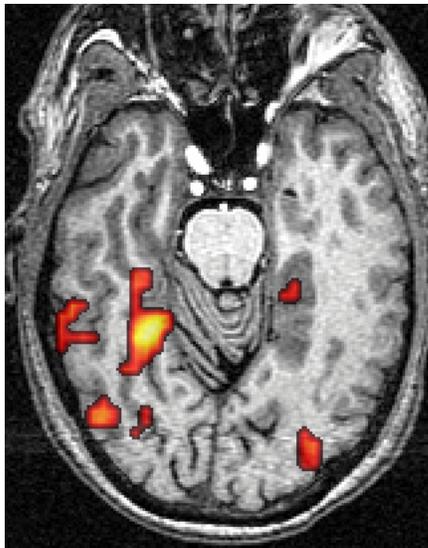


Figure 7. Strong lateralization on the collateral sulcus during encoding of patterns using a “remembered >> repeated” contrast (from smoothed functional images).

DISCUSSION

Although the lateralization of medial temporal lobe activations has been previously demonstrated for most stimulus modalities we used in this work, the physiological relevance of parietal, frontal and even occipital lateralizations is still not clear. In this patient, we did not observe a substantial amount of anterior hippocampal activation. We believe this may be related to signal artifacts that obscure the anterior tip of the medial temporal lobe. An echo-planar spiral sequence has been recently used in our lab with normal subjects, and we have obtained better results in terms of anterior hippocampal activation. Nevertheless, because this is a difficult region to acquire, we believe that future efforts should be directed at finding positive correlations between the anterior middle temporal lobe activations and activations of other brain regions, so one could rely on other specific findings for surgical planning, even if the anterior hippocampi are not visualized.

Additionally, we also believe that an event-related paradigm that allows the calculation of different complementary contrasts can produce a more detailed evaluation of the brain regions involved in memory encoding. Several more patients and normal subjects should undergo the experiment we described here for a better understanding

of how memory areas are connected and which discrete locations in the brain are activated by each contrast.

As for this specific case, a gross comparison of the patient’s findings with other normal subjects scanned in our lab, using the same methodology, suggests that his overall pattern of activations across the several modalities follows the same pattern we have been finding in healthy individuals. Although the fMRI results were not very useful for his surgical planning, they were consistent with the structural image and electroencephalographic findings.

REFERENCES

- Izquierdo I. Memória. Porto Alegre: ArtMed; 2002.
- Portuguez M. Avaliação pré-cirúrgica do lobo temporal: linguagem e memória. In: Da Costa et al., editores. Fundamentos neurobiológicos das epilepsias. São Paulo: Lemos Editorial; 1998. p. 939-56.
- Cummings J, Mega M. Memory disorders. In: Neuropsychiatry and behavioral neuroscience. New York: Oxford University Press; 2003. p. 97-113.
- Scoville W, Milner B. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1957; 20:11-21.
- Dion JE, Gates PC, Fox AJ, Barnett HJ and Blom RJ. Clinical events following neuroangiography: a prospective study. *Stroke* 1987; 18:997-1004.
- Simkins-Bullock J. Beyond speech lateralization: a review of the variability, reliability, and validity of the intracarotid amobarbital procedure and its nonlanguage uses in epilepsy surgery candidates. *Neuropsychology Review* 2000; 10:41-74.
- Jack Jr CR, Nichols DA, Sharbrough FW, et al. Selective posterior cerebral artery injection of amytal: new method of preoperative memory testing. *Mayo Clinical Proceedings* 1989; 64:965-75.
- Rausch R, Silfvenius H, Wieser HG, Dodrill CB, Meader KJ, Jones-Gotman M. Interarterial amobarbital procedures. In: Engel Jr J, editor. Surgical treatment of the epilepsies. New York: Raven Press; 1993. p. 341-57.
- Tulving E, Markowitch HJ, Craik FE, Habib R, Josephs O, Frackowiak RS. Hemispheric encoding/retrieval asymmetry in episodic memory: positron emission tomography findings. [Review]. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:2016-20.
- Nyberg L, Cabeza R, Tulving E. PET studies of encoding and retrieval: the HERA model. *Psychonom Bull Rev* 1996; 3:135-48.
- Kelley WM, Miezin FM, McDermott KB, Buckner RL, Raichle ME, Cohen NJ, et al. Hemispheric specialization in human dorsal frontal cortex and medial temporal lobe for verbal and nonverbal encoding. *Neuron* 1998; 20:927-36.
- Wagner AD, Poldrack RA, Eldridge LL, Desmond JE, Glover GH, Gabrieli JD. Material-specific lateralization of prefrontal activation during episodic encoding and retrieval. *Neuroreport* 1998; 9:3711-7.
- McDermott KB, Buckner RL, Petersen SE, Kelley WM, Sanders AL. Set- and code-specific activation in frontal cortex: an fMRI study of encoding and retrieval of faces and words. *J Cogn Neurosci* 1999; 11:631-40.
- Golby AJ, Poldrack RA, Brewer JB, Spencer D, Desmond JE, Aron AP, Gabrieli JDE. Material-specific lateralization in the medial temporal lobe and prefrontal cortex during memory encoding. *Brain* 2001; 124:1841-54.
- Golby AJ, Poldrack RA, Illes J, Chen D, Desmond JE, Gabrieli JDE. Memory lateralization in medial temporal lobe epilepsy assessed by functional MRI. *Epilepsia* 2002; 43(8):855-63.
- Wagner AD, Schacter DL, Rotte M, et al. Building memories: remembering and forgetting of verbal experiences as predicted by brain activity. *Science* 1998; 281:1188-91.

Address correspondence to:

Daniel Branco
Department of Neurosurgery, Brigham and Women’s Hospital
Harvard Medical School
75 Francis Street
Boston, MA 02115
E-mail: branco@bwh.harvard.edu

Functional Variability of the Human Cortical Motor Map: Electrical Stimulation Findings in Perirolandic Epilepsy Surgery

*Daniel M. Branco, *Tatiana M. Coelho, *Bianca M. Branco, *Letícia Schmidt,
*†Maria E. Calcagnotto, *†Mirna Portuguese, *‡Eliseu Paglioli Neto, *‡Eduardo Paglioli,
*†André Palmiini, §José V. Lima, and *†Jaderson C. Da Costa

*Porto Alegre Epilepsy Surgery Program, †Department of Internal Medicine, Division of Neurology and Neurology Service,
‡Department of Surgery, Neurosurgery Service, Hospital São Lucas, School of Medicine, Pontifícia Universidade Católica do Rio
Grande do Sul; §Institute of Informatics, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

Summary: The purpose of this study was to assess the cortical representation of sensorimotor functions in patients undergoing perirolandic epilepsy surgery, focusing on somatotopy, mosaicism, and variability of function in relation to the classic motor homunculus. The authors studied 36 patients in whom intraoperative or extraoperative electrical cortical stimulation to map motor functions was performed. A computer program was devised to register electrode number, stimulation parameters, and response to each stimulus. Electrode position was represented graphically whenever a stimulus was delivered. A total of 43 maps from 36 patients were analyzed. The authors found variations in the organization of M1 (primary motor cortex) in seven patients (19.4%). Four patients (11.1%) presented mosaicism (overlapping of functional areas), two (5.6%) presented variability (inverted disposition of M1 functional areas), and one (2.8%) had both. The results of this study challenge the notion of orderly topographic relationships between the human sensorimotor functions and their representation in the primary motor cortex. These results confirm those of other studies with animals and humans using novel imaging techniques, suggesting that the motor homunculus may not always be considered a definite and absolute representation of M1. **Key Words:** Brain mapping—Motor cortex—Motor homunculus—Somatotopy.

Localizing the cortical sites of motor and cognitive functions has been a challenge for scientists throughout history. Penfield and Boldrey (1937) postulated the existence of a correlation between human body parts and their representation on the cerebral cortex. In 1937 they proposed a pictorial representative plan for the localiza-

tion of motor and cognitive functions in the brain, a humanlike figure—the homunculus (Penfield and Boldrey, 1937). Later, this first homunculus was drawn over a section of cerebral cortex, thus refining the relationship between the primary motor and somatosensory areas in the brain and the various parts of the human body (Penfield and Rasmussen, 1952). This was called *somatotopy*.

Although both the homunculus and somatotopy were developed further (Penfield and Jasper, 1954), the somatotopic representation of the human motor and sensory cortices as neatly organized arrangements in which each part of the body is controlled from a specific, discrete cortical site is still accepted. However, recent work has challenged this traditional view by pointing out that the

Supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico and Fundação de Apoio à Pesquisa do Rio Grande do Sul, Brazil.

Presented in part at the 2nd Latin American Congress of Epilepsy; Foz do Iguaçu, Brazil; May 29 to June 1, 2002.

Address correspondence and reprint requests to Dr. Jaderson Costa da Costa, Serviço de Neurologia, Hospital São Lucas, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Av. Ipiranga 6690 - sala 220, 90610-000 Porto Alegre RS - Brazil; e-mail: jcc@puers.br

distribution of sensorimotor functional areas in the cerebral cortex may vary in several ways (Barinaga, 1995; Branco et al., 1996). For instance, a study with monkeys (*simius*) showed that the representative areas for different fingers in the primary motor cortex (M1) are organized as an overlapping mosaic of several neuronal populations that control the movement of each finger with variable degrees of specificity, in the manner of a gradient of anatomic–functional representation (Schieber and Hibbard, 1993). This contradicts the classic view that each finger of the hand is represented independently lateromedially on M1, from the thumb to the little finger, and controlled uniquely by a strict subset of neurons. In fact, these areas seem to form a continuum in which each finger cannot be individualized easily (Schieber and Hibbard, 1993). Further data have demonstrated that the cortical representation of sensorimotor functions in humans may be altered as a result of their motor or sensory activities; for example, string players might develop a bigger sensory area for the fingers than nonmusicians (Elbert et al., 1995).

Currently, several research efforts are addressing the issue of cortical representation of motor and sensory functions. All have produced data demonstrating variability (in relation to somatotopy) and overlap of M1 functional areas. One of these initiatives is the neurophysiologic study of animals to investigate the inner structure of the motor cortex, its connections, and how this organization determines the elaborate control of the several muscles involved in each movement (Donoghue et al., 1992; Schieber and Hibbard, 1993). Another field of research involves the study of the motor regions in normal subjects (humans without cerebral pathologic processes) using functional image mappings such as functional MRI (Kleinschmidt et al., 1997) and positron emission tomography (Colebatch et al., 1991; Grafton et al., 1991; Kim et al., 1993; Rao et al., 1995).

A third field relates to clinical practice and aims at obtaining information about M1 and other motor areas through electrical or magnetic stimulation mapping in epileptic patients undergoing surgery. These stimulation procedures are part of the presurgical and intraoperative evaluation of patients undergoing perirolandic epilepsy surgery. Therefore, the main goal of the current study was to assess the organization of M1 in these patients, and to compare this organization with a traditional, somatotopic model.

METHODS

We studied 36 patients with partial epilepsy and medically refractory seizures who underwent presurgical

evaluation for perirolandic epilepsy. They all had multiple video-EEG recordings to evaluate ictal and interictal epileptiform activity, 1.5-T MRI studies, neuropsychological evaluation, and, occasionally, ictal single photon emission computed tomographic imaging. Based on the results of these diagnostic studies, the most likely epileptogenic zone in these patients was localized in perirolandic regions. This localization prompted the need for a detailed functional mapping of the sensorimotor cortex by electrical stimulation, to plan the extent and boundaries of the cortical tissue to be resected.

We collected data on age at surgery, age at onset of the epilepsy, gender, frequency, duration, and etiology of the epilepsy, lateralization of the epileptic focus, abnormalities on neurologic examination, and MRI findings.

Electrical stimulation procedures were intraoperative in 11 patients, extraoperative in 22, and both procedures were performed in three patients. Extraoperative stimulation was used for patients who were unable to undergo craniotomy under local anesthesia, or for those in whom subdural electrodes were implanted to delineate better the epileptogenic zone. When feasible, extraoperative stimulation was complemented by intraoperative stimulation, thus allowing a more precise anatomic definition of the motor map.

All stimuli consisted of biphasic square wave pulses with a duration of 0.3 msec/phase, a frequency of 50 Hz, and trains lasting from 2 to 5 seconds, delivered from a Grass S12 constant current stimulator or from a Grass S48G voltage stimulator coupled to an SIU5 stimuli isolation unit. Current intensity started at 1.5 mA and was increased gradually to a maximum of 15 mA or to a level producing after-discharges. When the Grass S48G was used, the applied voltage and the current delivered with each stimulus were monitored using a Tektronix digital storage oscilloscope. Several authors have demonstrated the safety of these parameters, which do not cause electrolytic lesions in the cerebral cortex (Da Costa et al., 1998; Ojemann, 1996; Schott, 1993). The current was kept constant with variations not superior to 20%, thus avoiding responses to different thresholds. Maximal stimulation intensity depended on the sensory or motor response or the occurrence of after-discharges during the electrocorticographic monitoring.

Intraoperative stimulation was delivered across 1-mm silver ball bipolar electrodes, 5 mm apart. All evoked responses were rechecked to ensure that they were reproducible. Intraoperative stimulation was used when the surgical procedure required only a brief and not an extremely detailed mapping process (well-defined epileptogenic area). The motor responses analyzed were

TABLE 1. Patients with mosaicism or variability

Patient no.	Type of stimulation	Pathology	Response evoked
1	Intraoperative	Frontal posttraumatic gliosis	Flexion of the left hand and flexion of the forearm at the same point (overlapping/mosaicism)
2	Extraoperative	No apparent pathology	Paresthesia of fingers and deviation of the tongue and angle of the mouth at the same point (overlapping/mosaicism)
3	Extraoperative	No apparent pathology	Numbness and flexion of the left shoulder at the same point (overlapping/mosaicism)
4	Extraoperative	No apparent pathology	Flexion of the fingers and deviation of the angle of the mouth at adjacent points (overlapping/mosaicism) Inversion of finger and face representations in relation to the homunculus (variability)
5	Extraoperative	Polymicrogyria	Movement of the tongue and flexion of the right hand at the same point (overlapping/mosaicism)
6	Intraoperative	Focal cortical dysplasia	Alteration of wrist and finger representations in relation to somatotopic representation (variability)
7	Intraoperative	Tumor	Alteration of thumb and mouth representations in relation to somatotopic representation (variability)

elicited from patients who were either awake or unconscious.

Extraoperative cortical electrical stimuli were applied using subdural electrodes of 2.5 mm in diameter (inter-electrode distance, 10 mm). The electrodes (platinum or stainless steel) were mounted on a 32-electrode Silastic plate or on an eight-electrode strip (Ad-Tech Medical Instrument Corporation, Racine, WI) implanted through a craniotomy over the area to be mapped (Da Costa et al., 2000). Each patient underwent several sessions of electrical stimulation over 2 to 4 days. The electrode selected as reference was an inactive contact on the subdural grid, which was electrically silent on initial stimulation. Other reference electrodes were used randomly to confirm that the responses elicited from a particular electrode were reproducible and that they did not result from stimulation of a given cortical area between two electrodes. Afterward, we performed a sequence of stimuli that started at one of the corners of the plate or strip, each stimulus being applied through a pair of adjacent electrodes, one active and one used as reference. When a response was achieved, other surrounding electrodes were used as a reference to confirm the finding. Responses elicited were rechecked several times on at least two different days to ensure their reproducibility.

A computer program was devised to store data and to plot the position of the electrodes on standard images of the human brain or on digitized neuroimages from the actual patients. The program ensured the reliability of our data analysis because it automated the registration of electrode number, stimulation parameters (amperage, voltage, and impedance values), stimulus duration, and patient response to each stimulus. In addition, the posi-

tion of the electrodes was represented on a brain image whenever a stimulus was delivered. Only responses obtained from stimuli applied to M1 were taken into consideration (Table 1).

We looked for two different aspects of M1 organization that have been previously addressed by Schieber and Hibbard (1993): mosaicism (overlap) and variability. Mosaicism is the representation of more than one body part on a limited cerebral area. It may also be interpreted as the control of different parts or muscles of the body by a single region with single neurons, as well as the control of different body parts by small independent areas that are highly overlapping. In turn, variability is defined as two or more areas of representation in the brain, which differ from the motor homunculus in terms of spatial arrangement.

Stimuli responses were categorized based on the following criteria: To characterize *mosaicism* or overlap, we considered that the M1 functional areas for different parts of the body overlapped when two or more motor responses from distinct parts of the body were elicited on stimulation of the same cortical point or of immediately adjacent points (against what was originally proposed by Penfield and Boldrey [1937]). Specifically, we considered as overlapping those areas that, on stimulation of the same or immediately adjacent cortical points, elicited combined motor responses from somewhat distant parts of the body (for instance, finger and mouth). For the purposes of this study, we did not consider as overlap the coexistence of responses for movements of closely associated cortical regions, such as the fingers and the hands, because that could hardly be seen as unexpected.

To fall under the category of *variability*, responses had

TABLE 2. General characterization of patients

Variable	All patients, %	Patients with variations on M1, %
Gender		
Male	44.44	42.85
Female	55.56	57.14
Epilepsy classification		
Simple partial	19.44	14.28
Complex partial	44.44	28.57
Partial with secondary generalization	13.89	0
Generalized	8.33	28.57
Ignored	11.11	14.28
Nonepileptic patient	2.78	14.28
Age of epilepsy onset, y		
0–15	82.85	100
16–20	2.86	0
21–30	2.86	0
31–40	8.57	0
>40	2.86	0
Frequency of seizures		
1–3/mo	8.57	0
1–5/w	48.57	50
6–10/w	11.43	16.67
11–20/w	5.71	0
21–30/w	11.43	33.33
30–40/w	2.86	0
>40/w	11.43	0
Duration of epilepsy, y		
0–10	28.57	0
11–20	45.71	33.33
21–30	20	50
>30	5.71	16.67
Age at surgery, y		
0–15	17.14	0
16–20	8.57	0
21–30	28.57	50
31–40	34.28	33.33
>40	11.43	16.66
Laterality		
Right	42.86	50
Left	48.57	33.33
Ignored	8.57	16.67
Neurologic examination		
Normal	72.97	85.71
Hemiparesia	8.10	0
Facial palsy	5.40	0
Mental retardation without focal deficits	5.40	0
Global bradikinesia without focal deficits	2.78	14.29

to be distributed spatially on M1 in a conformation that clearly deviated from that originally postulated by Penfield's motor homunculus—namely, when a nonsomatotopic distribution of two or more motor responses was seen. Therefore, nonsomatotopic motor distribution was considered as variable in relation to the classic motor homunculus (for instance, inversion of the finger and face regions—in other words, face above the finger).

To be considered as a valid case, variability or mosaicism had to occur at the minimum level of current necessary to cause a motor response, minimizing confusion with spread of current to other areas. We excluded

from the analysis findings suggestive of mosaicism and variability for which the responses were not rechecked or for which we were uncertain of the exact electrode position. Electrical stimulation findings were analyzed further in relation to clinical and neuroimaging features to define eventual correlates of variability and mosaicism (Table 2). Contingency tables were used to compare these features in the group of patients with and without variations of M1 organization.

The study protocol was approved by the ethics committee at Hospital São Lucas, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Brazil.

TABLE 2. *Continued*

Variable	All patients, %	Patients with variations on M1, %
Global hyperreflexia with positive Hoffman and Babinski bilaterally	2.78	0
Left dysdiadochokinesia	2.78	0
NMR*		
Expansive lesion	17.07	14.29
Calcified lesion	2.44	0
Gliosis	9.75	14.29
Scar	2.44	0
Cortical dysplasia	4.88	14.29
Polymicrogyria	2.44	14.29
Hippocampus atrophy	14.63	0
Hypersignal in hippocampus	2.44	0
Hypersignal in T2 in hippocampus	14.63	0
Asymmetry between lateral ventricles	2.44	0
Unspecific alterations	4.88	0
No alterations	17.07	42.86
Ignored	4.88	0
Anatomopathologic results		
Hippocampal sclerosis	13.88	0
Cortical dysplasia	19.44	28.57
Gliosis	8.33	14.29
Vascular congestion	8.33	0
Ischemic alterations	2.78	0
Hemorrhage	5.55	0
Tumor	25	14.29
Glioma	2.78	0
Astrocytoma	11.11	14.29
Cavernous angioma	2.78	0
Oligodendroglioma	2.78	0
Glioblastoma	2.78	0
Ganglioma	2.78	0
No alterations	2.78	0
Ignored	13.88	42.86

* Some patients presented more than one alteration on MRI. NMR, nuclear magnetic resonance.

RESULTS

A total of 43 human motor cortical maps based on cortical electrical stimulation of 36 patients were analyzed. Of the 43 maps, there were 19 (44.2%) intraoperative and 24 (55.8%) extraoperative. Motor responses were obtained in 24 maps (55.8%), which were considered for the study of M1. Throughout the study we also obtained sensory responses in 14 of 24 extraoperative mappings (58.3%).

Following the criteria described earlier, we found variations of M1 (variability or mosaicism) in seven patients (19.4%). Four (11.1%) presented mosaicism, two (5.6%) presented variability, and one had both (2.8%; see Table 1). Among the seven patients with variations in M1, four had extraoperative stimulation procedures. A pathologic diagnosis for epilepsy was not achievable in three patients and the other four had, respectively, a frontal posttraumatic gliosis, a polymicrogyria, a cortical dysplasia with balloon cells, and a low-grade glioma (see Table 1).

In patient no. 1, stimulation of a same point resulted in simultaneous flexion of the hand and flexion of the forearm, suggesting mosaicism of the cortical areas responsible for hand and forearm movements. Similarly, patient no. 5 presented movement of the tongue and flexion of the right hand on stimulation of the same point. Patient nos. 2 and 3 presented an unexpected kind of mosaicism, involving sensory and motor areas. In patient no. 2, stimulation of the same point evoked paresthesia of fingers and deviation of the tongue and the angle of the mouth, showing that besides functional overlap (sensory and motor) there was also overlap of different body regions (mouth and fingers). In patient no. 3 there was simultaneous numbness and movement of the left shoulder in response to stimulation of a single point, again showing overlap of different functions (motor and sensory). Patient no. 4 presented both variability and overlap, with a horizontal orientation of the region in which flexion of the fingers and deviation of the angle of the

mouth occurred. Mosaicism also seemed evident because the distance between the different response sites is only 1 cm. In the case of patient nos. 6 and 7, there was variability with an inversion in the position of the fingers and of the wrist (patient no. 6), as well as of the thumb and of the mouth (patient no. 7). In patient no. 6 we found a representative region for the fingers above the wrist region, and in patient no. 7 the mouth was represented above the thumb (Fig. 1).

Table 2 compares clinical and imaging features of the complete group and the subgroup of seven patients with variations in the organization of M1. We did not observe any difference between these groups that could be related to the findings of variability and mosaicism.

There were two cases of meningeal irritation without infection (5.6% of the total patients), three patients had asymptomatic subdural hematoma (8.3%), and in one patient the electrode plate deviated from the original position (2.8%).

DISCUSSION

According to Colebatch et al. (1991), normal subjects may display an overlapping distribution of M1 functional regions. In fact, since the first appearance of the homunculus (Penfield and Boldrey, 1937), data obtained from neurophysiologic studies on monkeys (Donoghue et al., 1992; Schieber and Hibbard, 1993; Schieber and Poliakov, 1998) or with noninvasive, functional imaging techniques in humans (Colebatch et al., 1991; Grafton et al., 1991; Kim et al., 1993; Rao et al., 1995) support the hypothesis of functional mosaicism of motor cortical regions (Sanes et al., 1995). We have found mosaicism involving the sensorimotor regions related to the hand, the arm, the lips, and the tongue, as well as variability in the spatial cortical representation of the fingers, the wrist, the thumb, and the mouth. In one patient (patient no. 4) presenting simultaneous flexion of the fingers and deviation of the angle of the mouth, the observed regional orientation was horizontal, whereas a vertical orientation is predicted by the classic homunculus. In the same patient, the distance between the different response sites was 1 cm, which is less than what is expected according to the homunculus, thus suggesting mosaicism.

The actual frequency of mosaicism or variability was probably underestimated in our study because we excluded from the analysis those patients with mosaicism and variability for whom we were unable to define precisely the electrode positions or for whom the elicited responses were not rechecked. In addition, the cortical region investigated was restricted to areas surrounding

the possible epileptogenic zone, because we did not carry out unnecessary stimuli in other regions (besides those required for the presurgical routine of these patients). Our most frequent finding was mosaicism, which is similar to what was reported in other studies with non-human primates (Donoghue et al., 1992; Schieber and Hibbard, 1993).

Why mosaicism occurs is still open to speculation. It could be that, rather than the discrete control implied by the classic somatotopic maps, motor and cognitive functions requiring coordinated neural processing for some motor actions are mediated by overlapping representations (Sanes et al., 1995). In the current study, patients had refractory epilepsy with or without structural damage, and thus our findings should not be extrapolated prematurely to persons without either epilepsy or damage around the central regions of the cortex. In fact, we speculate that our results could be related to either the preexisting pathology, to the chronic epileptiform activity, or to both, because these may interfere with the normal cortical organization, indicating plasticity of M1. However, Penfield's homunculus was depicted from stimuli performed in the same kind of patients studied here. Thus, we think our findings suggest that the classic homunculus has failed to incorporate the actual potential to mosaicism and variability within the primary motor cortex. It is not our intention to propose a new homunculus or a new overlapping map, but rather to point out the existing potential for variations in the organization of M1.

Indeed, experimental and clinical observations suggest that the cortex is capable of reorganization after cortical lesions (Hedström et al., 1992; Ramachandran et al., 1992), specific training (Recanzone et al., 1992), or lesions of peripheral motor nerves (Cohen et al., 1991; Merzemich et al., 1983). The growth of intracortical connections could account for much of the cortical reorganizations of the sensory area (Florence et al., 1998). For instance, after long-term denervations of upper lines in macaque monkeys, the representation of the face in somatosensory cortex expands over the representation of the hand as a result of a functional expansion of this representation in the thalamic nucleus (Jones and Pons, 1998; Pons et al., 1991).

Among our patients with variations of the homunculus, only one had abnormalities on physical examination (global bradykinesia without focal deficits). Thus, we suggest that the variations in M1 do not, per se, cause clinically detectable motor abnormalities. Also, the normal motor examination in six of seven patients with mosaicism or variability suggest that the influence of structural lesions or epileptiform activity around the

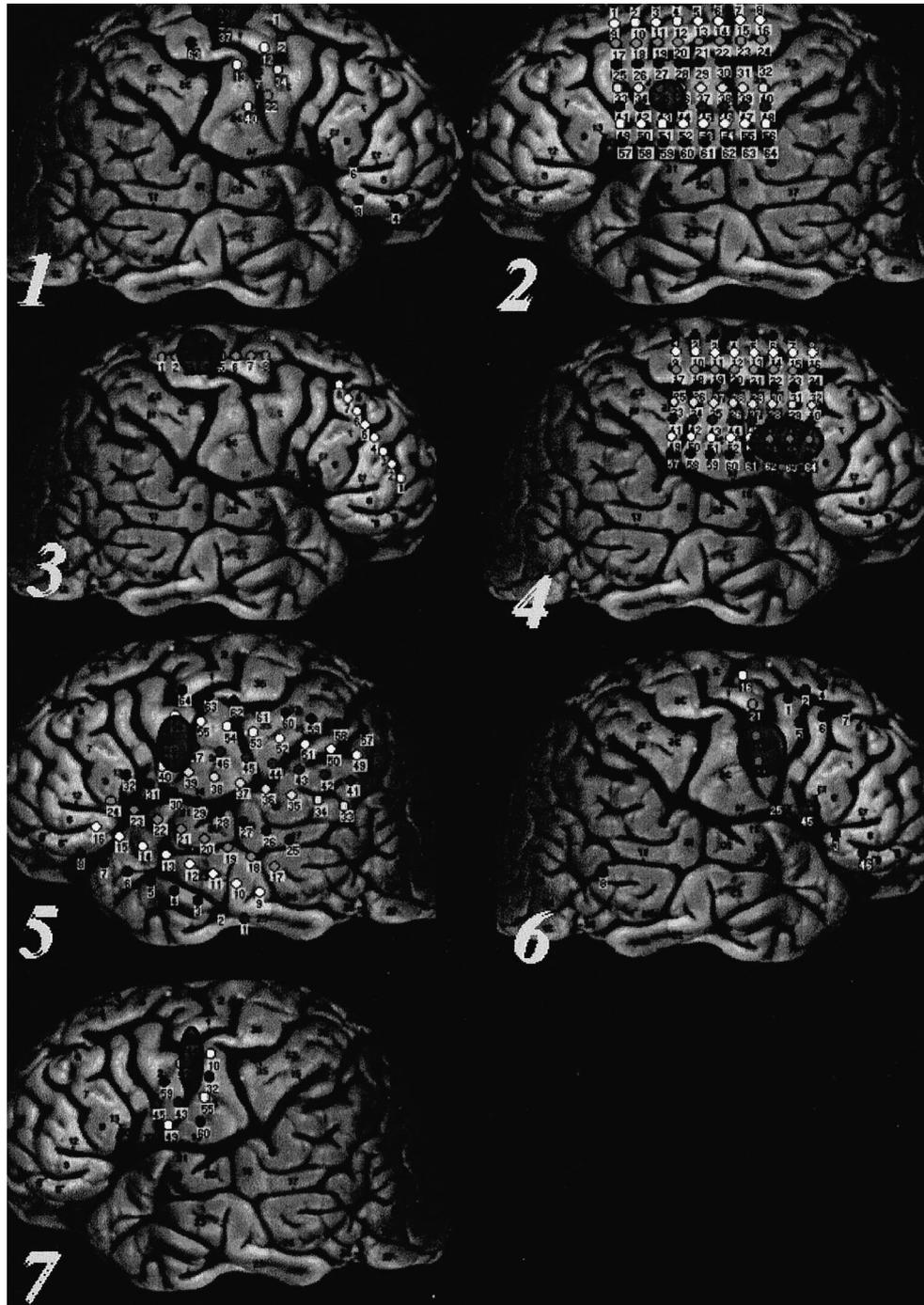


FIG. 1. The image reveals the mapping for the 7 patients with mosaicism and variability. The dark ellipse indicates where the variation in the organization of M1 was seen.

motor area may not have been a major determinant of these variations.

Indeed, some experimental findings and evidence from our series strongly suggest that this phenomenon

may be generalized to normal human beings, at least to some extent. These include the fact that mosaic patterns are observed in nonepileptic and nonlesioned primates studied by electrical stimulation (Schieber

and Hibbard, 1993), and also that no alterations were found in our other 29 epileptic patients, many of whom also had perirolandic lesions. In addition, three of our patients presented M1 somatotopic variations without any structural pathology that could justify such variations. Even artificial modeling of M1 has produced findings that are compatible with mosaicism through the use of artificial neural network computation for simulation of overlapping motor engrams (Lukashin et al., 1994). If our observations are confirmed, classic teaching and theories concerning the somatotopic organization of the sensorimotor cortex should be revised.

We think that the most important aspect to be stressed in the current work is that by using the same kind of technique used by Penfield in the 1950s, we were able to show that M1 is not as precisely organized and compartmentalized as it appears to be in neurophysiology textbooks. Penfield's homunculus is said to be an exact representation of M1, without any mention of the possible variations discussed in this paper (e.g., see Kandel et al. [2000]). It is possible that some of our results might be explained by some technical variations. For instance, 56% of our motor maps were built from extraoperative stimulation, which allows more precise localization of function. Indeed, four of the seven patients with variations were studied by extraoperative stimuli. Another potentially important detail is that we used amperage as the control variable for stimulus intensity, whereas Penfield and colleagues used voltage, which can be related to different levels of electrical current, and depends on the impedance of the underlying tissue. Despite the fact that Penfield himself established the homunculus as a pictorial simplification of M1 for mnemonic purposes only, it has been considered a very good approximation of reality. Our results, however, suggest that this simplification is superficial, and this concept has also been advanced elsewhere (Morris, 2002). At least it is becoming more clear that the homunculus is an approximation for a *functional* distribution of motor areas, rather than an *anatomic* distribution that correlates every discrete body part to a certain discrete M1 subregion. To determine to what extent it is an adequate functional representation, more studies are needed. Because ethics prevent the performance of electrical stimulation studies in normal individuals, we expect that the development of more accurate, noninvasive, brain mapping techniques may some day enable a better understanding of the relationship between body parts and their functional representation in the brain.

REFERENCES

- Barinaga M. Remapping the motor cortex [comment]. *Science* 1995; 268:1696–8.
- Branco DM, Branco BM, Coelho TM, Calcagnotto ME, Palmini A, Costa JC. Fundamentos e atualidades sobre a interpenetrância de áreas motoras corticais. *Braz J Neurol Psychiatry* 1996;0:29–33.
- Cohen LG, Bandinelli S, Findley TW, Hallett M. Motor reorganization after upper limb amputation in man; a study with focal magnetic stimulation. *Brain* 1991;114:615–27.
- Colebatch JG, Deiber M-P, Passingham RE, Friston KJ, Frackowiak RSJ. Regional blood flow during voluntary arm and hand movements in human subjects. *J Neurophysiol* 1991;65:1392–401.
- Da Costa JC, Guerreiro MM. Cirurgia de epilepsia na infância. In: Guerreiro CAM, Guerreiro MM, Cendes F, Lopes-Cendes I, eds. *Epilepsia*. São Paulo: Lemos Editorial, 2000:395–412.
- Da Costa JC, Palmini A, Calcagnotto ME, Portugez MW, Cardoso P. Estimulação elétrica cortical. In: Da Costa JC, Palmini A, Cavaleiro EA, eds. *Fundamentos Neurobiológico das Epilepsias*. Vol. 2. São Paulo: Lemos Editorial, 1998:1009–41.
- Donoghue JB, Leibovic S, Sanes JN. Organization of the forelimb area in squirrel monkey motor cortex: representation of digit, wrist and elbow muscles. *Exp Brain Res* 1992;89:1–19.
- Elbert T, Pantev C, Wienbruch C, Rockstroh B, Taub E. Increased cortical representation of the fingers of the left hand in string players. *Science* 1995;270:305–7.
- Florence SL, Taub HB, Kaas JH. Large-scale sprouting of cortical connections after peripheral injury in adult macaque monkeys. *Science* 1998;282:1117–21.
- Grafton ST, Woods RP, Mazziotta JC, Phelps ME. Somatotopic mapping of the primary cortex in humans: activation studies with cerebral blood flow and positron emission tomography. *J Neurophysiol* 1991;66:735–43.
- Hedström A, Ekholm S, Hagberg I, Malmgren K, Rydenhag B, Silfvenius H. Rearrangement of motor and sensory cortical areas following early cortical lesions. *Epilepsia* 1992;33(suppl 3):56–7.
- Jones EG, Pons TP. Thalamic and brainstem contributions to large-scale plasticity of primate somatosensory cortex. *Science* 1998; 282:1121–5.
- Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. *Principles of Neuroscience*. New York: Appleton & Lange, 2000.
- Kim SG, Ashe J, Hendrich K, et al. Functional imaging of human motor cortex at high magnetic field. *J Neurophysiol* 1993;69:297–302.
- Kleinschmidt A, Nitschke MF, Frahm J. Somatotopy in the human motor cortex hand area. A high-resolution functional MRI study. *Eur J Neurosci* 1997;9:2178–86.
- Lukashin AV, Wilcox GL, Georgopoulos AP. Overlapping neural networks for multiple motor engrams. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:8651–4.
- Merzemich MM, Kaas JH, Wall JT, Sur M, Nelson RJ, Felleman DJ. Progression of change following median nerve section in the cortical representation of the hand in areas 3b and 1 in adult owl and squirrel monkeys. *Neuroscience* 1983;10:639–65.
- Morris K. Remapping the motor cortex: death of a homunculus? *Lancet Neurol* 2002;1:402.
- Ojemann GA. Awake operations. In: Shorvon S, Dreifuss F, Fish D, Thomas D, eds. *The Treatment of Epilepsy*. London: Blackwell Science, 1996:752–8.
- Penfield W, Boldrey E. Somatic motor and sensory representation in the cerebral cortex of man as studied by electrical stimulation. *Brain* 1937;60:389–443.
- Penfield W, Jasper H. *Epilepsy and the Functional Anatomy of the Human Brain*. Boston: Little Brown, 1954.
- Penfield W, Rasmussen T. *The Cerebral Cortex of Man. A Clinical Study of Localization of Function*. New York: The Macmillan Company, 1952.

- Pons T, Garraghty PE, Ommaya AK, Kaas JH, Taub E, Mishkin M. Massive cortical reorganization after sensory deafferentation in adult macaques. *Science* 1991;252:1857–60.
- Ramachandran VS, Rogers–Ramachandran DR, Stewart M. Perceptual correlates of massive cortical reorganization. *Science* 1992;1159–60.
- Rao SM, Binder JR, Hammeke TA, et al. Somatotopic mapping of the human primary motor cortex with functional magnetic resonance imaging. *Neurology* 1995;45:919–24.
- Recanzone GH, Merzenich MM, Jenkins WM, Grajski KA, Diwse HR. Topographic reorganization of the hand representation in cortical area 3b of owl and monkeys trained in a frequency-discrimination task. *J Neurophysiol* 1992;67:1031–56.
- Sanes JN, Donoghue JP, Thangaraj V, Edelman RR, Warach S. Shared neural substrates controlling hand movements in human motor cortex. *Science* 1995;268:1775–7.
- Schieber MH, Hibbard LS. How somatotopic is the motor cortex hand area? *Science* 1993;261:489–93.
- Schieber MH, Poliakov AV. Partial inactivation of the primary motor cortex hand area: effects on individuated finger movements. *J Neurosci* 1998;18:9038–54.
- Schott GD. Penfield's homunculus: a note on cerebral cartography. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1993;56:329–33.

B816d **Branco, Daniel de Moraes**

Desenvolvimento da técnica de Voxels ponderados para lateralização da memória por ressonância magnética funcional / Daniel de Moraes Branco; orient. Jaderson Costa da Costa; co-orient. Alexandra Golby. Porto Alegre: PUCRS, 2006.

000f.: gráf. il. táb.

Tese (Doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. Área de Concentração: Neurociências.

1. DIAGNÓSTICO POR IMAGEM/métodos. 2. LATERALIDADE. 3. MEMÓRIA. 4. EPILEPSIA/cirurgia. 5. RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL. 6. HIPOCAMPO. 7. LOBO TEMPORAL. 8. NEUROIMAGEM FUNCIONAL. 9. NEUROCIÊNCIAS. 10. PROCESSAMENTO DE IMAGEM ASSISTIDA POR COMPUTADOR. 11. ESTUDOS PROSPECTIVOS. 12. ESTUDOS TRANSVERSAIS. I. Costa, Jaderson Costa da. II. Golby, Alexandra. III. Título.

C.D.D. 616.853

C.D.U. 612.821.2:616.853(043.2)

N.L.M. WM 173.7