

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

LÉKAŘSKÁ FAKULTA



**Centrálne mechanizmy spasticity a ich ovplyvnenie
liečbou botulotoxínom v obraze fMRI**

DIZERTAČNÁ PRÁCA

MUDR. ZUZANA TOMÁŠOVÁ

VEDNÝ ODBOR: NEUROLOGIE

ŠKOLITEĽ: PROF. MUDR. ING. PETR HLUŠTÍK, PHD.

OLOMOUC, APRÍL 2015

Autorské prehlásenie:

Čestne vyhlasujem, že predkladanú prácu som vypracovala samostatne pod odborným vedením školiteľa len s použitím uvedenej literatúry.

V Olomouci dňa 24.2.2015

.....
Zuzana Tomášová

Pod'akovanie

V prvom rade sa chcem poďakovať prof. MUDr. Petru Kaňovskému, CSc., prednostovi Neurologickej kliniky v Olomouci, za predloženie zaujímavých problémov a za poskytnutie cenných rád pri ich riešení. Moja veľká vďaka patrí rovnako prof. MUDr. Ing. Petru Hlušíkovi, PhD., vedúcemu Laboratória funkčnej MR Neurologickej kliniky v Olomouci, za kvalitné odborné vedenie, všestrannú podporu a za starostlivú pomoc pri úprave mojich prác. Ďakujem tiež svojej rodine za ich neustálu podporu.

OBSAH

CIEĽ PRÁCE	6
1. ÚVOD	7
2. SPASTICITA.....	12
2.1 RIADENIE HYBNOSTI	13
2.2 PATOFYZIOLÓGIA SPASTICITY.....	15
2.2.1 Upper motor neuron syndrome.....	16
2.2.2 Patofyziológia spasticity	18
2.3 KLINICKÉ PREJAVY.....	21
2.4 HODNOTENIE SPASTICITY	24
2.5 NEUROZOBRAZOVANIE V ŠTÚDIU SPASTICITY PO CMP	28
2.6 MOŽNOSTI LIEČBY	30
2.6.1 Rehabilitačná liečba	30
2.6.2 Medikamentózna liečba	31
2.6.3 Neurochirurgická a ortopedická liečba	33
3. BOTULOTOXÍNOVÁ LIEČBA.....	34
3.1 BOTULOTOXÍN V LIEČBE SPASTICITY PO CIEVNEJ MOZGOVEJ PRÍHODE	35
3.1.1 Botulotoxín typ A	37
3.1.2 Aplikácia botulotoxínu.....	39
4. CIEĽ ŠTÚDIE.....	42
5. PÔVODNÉ PRÁCE.....	43
5.1 ZMENY KORTIKÁLNEJ AKTIVÁCIE V OBRAZE FUNKČNEJ MR NAVODENÉ LIEČBOU SPASTICITY PO CIEVNEJ MOZGOVEJ PRÍHODE BOTULOTOXÍNOM A.	43
5.1.1 Súbor a metodika	43
5.1.2 Behaviorálne testovanie	44
5.1.3 Liečba	45
5.1.4 Úlohy.....	46
5.1.5 Akvizícia fMRI dát.....	47
5.1.6 Analýza	47
5.1.7 Výsledky	48
5.1.8 Diskusia	49
5.2 ZMENY AKTIVÁCIE MOTORICKÝCH A SOMATOSENZORICKÝCH ŠTRUKTÚR MOZGU V OBRAZE FUNKČNEJ MR NAVODENÉ LIEČBOU SPASTICITY BOTULOTOXÍNOM.....	58
5.2.1 Súbor a metodika	58
5.2.2 Behaviorálne testovanie	59
5.2.3 Liečba	60
5.2.4 Úlohy.....	61
5.2.5 Akvizícia fMRI dát.....	62

5.2.6 Analýza	63
5.2.7 Výsledky	64
5.2.8 Diskusia	66
6. ZÁVER	78
7. SÚHRN.....	80
8. SUMMARY	82
9. ZOZNAM SKRATIEK.....	83
10. LITERATÚRA	86
11. PRÍLOHY	95
11.1 PRÁCE SÚVISIACE S DIZERTAČNOU PRÁCOU	95
11.1.1. Pôvodné vedecké publikácie uverejnené in extenso v recenzovaných vedeckých časopisoch s IF – prvoautorské:.....	95
11.1.2. Ďalšie publikácie in extenso k téme, uverejnené v recenzovaných vedeckých časopisoch s IF – spoluautorské:	111

CIEĽ PRÁCE

Veľa štúdií sa venovalo otázke reorganizácie mozgovej kôry po cievnej mozgovej príhode, niektoré práce potvrdili, že priebeh neurálnej plasticity môže byť indukovaný stimulmi z okolia, ako je účinná rehabilitačná liečba [1,2]. Ak sa však zameriame na plastické zmeny mozgovej kôry vyvolané liečbou botulotoxínom typu A, tak naše vedomosti sú zatiaľ obmedzené.

Neexistujú žiadne presvedčivé dôkazy, že lokálna injekcia botulotoxínu typu A (BoNT-A) intramuskulárne pri terapeutických dávkach pôsobí priamo na centrálny nervový systém (CNS), viac menej niekoľko štúdií, za použitia rôznych prístupov, naznačuje, že botulotoxín A ovplyvňuje funkčnú organizáciu CNS nepriamo prostredníctvom periférnych mechanizmov. Pôsobením na alfa i gama-motoneuróny, ktoré inervujú intrafuzálne vlákna, botulotoxín A pravdepodobne mení senzorické impulzy do CNS redukciou Ia aferentnej signalizácie a tým nepriamo indukuje sekundárne centrálné zmeny.

Vieme, že mozgová hemisféra postihnutá iktom je schopná zlepšiť motoriku hemiparetickej končatiny, zrejme vďaka mechanizmu mozgovej plasticity. Predpokladá sa tiež, že liečba botulotoxínom A môže znížiť fokálnu spasticitu po CMP prostredníctvom dynamických zmien na viacerých úrovniach motorického systému, vrátane mozgovej kôry. Obidva tieto procesy by sa mali odraziť v kortikálnej aktivácii počas motorických alebo mentálnych úloh.

Cieľom našej štúdie bolo pomocou funkčnej MR lokalizovať zmeny aktivácie mozgového kortexu indukované liečbou spasticity botulotoxínom u pacientov po cievnej mozgovej príhode.

1. ÚVOD

CIEVNE MOZGOVÉ PRÍHODY

Cievne mozgové príhody (CMP) predstavujú významný zdravotnícky a sociálno-ekonomický problém súčasnej spoločnosti, pretože po nádorových ochoreniach a infarkte myokardu sú treťou najčastejšou príčinou úmrtia a prvou príčinou invalidity pacientov vo vyspelých krajinách sveta. Postihujú vo vysokom percente ľudí v najefektívnejšej fáze života. Približne 50% pacientov, ktorí prežijú, má trvalý neurologický deficit a viac než 25% vyžaduje chronickú starostlivosť. Z hľadiska frekvencie výskytu ischemické CMP sú častejšie ako CMP hemoragické. Riziko vzniku CMP stúpa s vekom, muži nižších vekových skupín sú postihnutí častejšie, avšak vo vyšších vekových kategóriách tento rozdiel mizne.

Klinický obraz závisí na etiológii CMP (malácia, hemorágia) a od toho, ktorá tepna bola postihnutá, na rozsahu, rýchlosti vzniku a na kompenzačných mechanizmoch. Najčastejší je mozgový infarkt na podklade uzáveru arteria cerebri media s kontralaterálnou hemiparézou, s dominujúcim postihnutím na hornej končatine. Nález sa mení v čase a pre liečbu je dôležité starostlivo sledovať rozsah neurologickej poruchy a jej zmeny (v čase) [3].

Následky CMP – možnosti spontánnej úpravy

Sekundárne v dôsledku ischémiou vyvolanej nezvratnej straty určitého množstva neurónov nastávajú z funkčného hľadiska dve zásadné zmeny, ovplyvňujúce motorický systém. A to zníženie celkového množstva vzruchovej aktivity z mozgu do miechy a porucha rovnováhy medzi excitačnými a inhibičnými vplyvmi na úrovni motoneurónov. Motoneuróny niektorých svalov dostávajú prevahu podnetov excitačných, čo sa prejavuje zvýšenou reaktivitou a následne spasticitou, iné (ich antagonisti) prevahu podnetov inhibičných, čím dôjde k ich útlmu. Iba v prvých hodinách možno predpokladať zlepšenie a návrat funkcie neurónov z oblastí mimo vlastnej nekrózy následkom ústupu edému, najmä pri liečbe trombolýzou [3].

Rozlišujeme niekoľko vývojových štádií CMP. V akútnom štádiu dominuje v klinickom obraze svalová slabosť, znížený svalový tonus a strata stability. Po náhlom začiatku CMP nastávajú v priebehu dní, týždňov a mesiacov z hľadiska motorickej poruchy pomalšie zmeny. Po počiatočnej „pseudochabej” paréze dochádza k rozvoju hyperreflexie a spasticity, v štádiu relatívnej úpravy je viditeľný priaznivý vývoj, počas niekoľkých mesiacov pokračuje zlepšovanie stavu, i keď sa lepšenie časom spomaľuje. V chronickom štádiu je klinický stav ustálený a nedochádza k zlepšeniu. Definitívny výsledok sa dosahuje niekedy už po pol roku, inokedy neskôr, až do 5 rokov. Na tento spontánny vývoj nasadá účinok aktívnej rehabilitačnej liečby [3].

Mechanizmus týchto zmien možno vysvetliť dvomi dejmi - teóriou sproutingu a plasticitou mozgovej kôry. Výpadkom zostupných dráh pri centrálnej lézii sa uvoľnia synaptické miesta na miešnych motoneurónoch, ktoré sa potom obsadzujú vetvičkami vypučiacimi zo zachovalých axónov (tzv. sprouting) (sú postupne „obsadené“ synaptickými vstupmi iných kôrových polí, ktorých vstupy sú nedotknuté). Dôsledkom

môže byť sčasti úprava funkčných spojení, ale tiež zvýšenie reflexných odpovedí na miešnej úrovni a tým i spasticita [3]. Prejavom neuronálnej plasticity je kôrová reorganizácia, ktorá nasleduje akonáhle sa počet informačných vstupov výrazne zvýši, alebo naopak zníži.

Plasticita je dôležitou vlastnosťou nervového systému, ktorá predstavuje jeden z kľúčových mechanizmov podporujúcich zlepšenie motorického výkonu po cievnej mozgovej príhode. Zlepšenie motorických funkcií po CMP nastáva buď prostredníctvom procesov regenerácie (obnovy) a / alebo kompenzácie, a tieto dva procesy môžu byť buď popísané na neurálnej alebo behaviorálnej úrovni. Regenerácia označuje schopnosť vykonávať predtým stratenú alebo narušenú motorickú funkciu presne tým istým spôsobom ako pred poškodením. Kompenzácia sa vzťahuje na použitie nových pohybov alebo pohybových vzorcov pre vykonanie motorickej úlohy do určitej miery odlišným spôsobom v porovnaní pred poškodením. Súhrnne, spadajú do jednej z troch všeobecných stratégií: reštitúcie - reparácie, náboru a rekvalifikácie, ktoré sa navzájom nevylučujú.

Neuroplasticita je pojem označujúci schopnosť nervového systému meniť sa v závislosti na vnútorných, či vonkajších podmienkach, a to ako fyziologických, tak patologických a na skúsenostiach, či opakujúcich sa podnetoch (učenie) [4]. Predstavuje súhrn všetkých funkčných a štruktúrnych zmien stavebných jednotiek nervového systému (a ich zoskupení), ku ktorým dochádza v dôsledku rôznych aktivít nervového systému a ktoré sprostredkujú efektívnejšie a/alebo adaptívnejšie zabezpečenie týchto aktivít [5]. Procesy neuroplasticity sa odohrávajú v mnohých diferentných štruktúrach nervového systému, od relatívne jednoduchých systémov, ako sú molekuly, k systémom komplexným, ako sú funkčné systémy. Podľa toho sa niekedy hovorí o neuronálnej plasticite (mala by sa týkať jednotlivo uvažovaných neurónov, no často sa chápe ako

synonymum termínu neuroplasticita), synaptickej plasticite (príklad vzťahu génov, mikroobvodov a synáps), plasticite mozgu, plasticite určitých anatomických oblastí mozgu (napr. plasticita prefrontálneho kortexu) a podobne. Mozog sa týmto spôsobom celoživotne mení a formuje, vďaka čomu je schopný adaptovať sa na environmentálne faktory, ktoré sa nedali anticipovať a konkretizovane zahrnúť do rámca (výlučne) genetického programovania. Z pohľadu celulárnej úrovne naďalej prebiehajú všetky vývojové etapy známe z intrauterínneho vývoja mozgu: neurogenéza (produkcia, migrácia a vývoj nových buniek -nervových alebo gliálnych - z nediferencovaných kmeňových buniek), synaptogenéza (vetvenie axónov a dendritov, vytváranie synaptických spojení), eliminácia synáps, tzv. pruning („obstrihávanie“ excesívneho vetvenia axónov a dendritov späté s redukciou počtu synaptických spojení) i apoptóza (programovaná smrť buniek) [5].

Jedným z najvýznamnejších a najpreskúmanejších mechanizmov modifikácie mozgových programov je zmena účinnosti synáps, fenomén známy ako *dlhodobá potenciácia* (LTP, long-term potentiation) a *dlhodobý útlm* (LTD, long-term depression) synaptickej účinnosti, v ktorých neuróny po stimulácii buď dlhodobo zvýšia, alebo naopak utlmia tvorbu akčných potenciálov. Podkladom LTP aj LTD je génová expresia, sprostredkovaná vstupnou stimuláciou neurónov. Dochádza k nej najmä vtedy, keď ide o intenzívnejšiu, dlhodobejšiu, frekvenčnejšiu alebo viacpočetne opakovanú stimuláciu, prípadne o špecifický vzorec stimulácie. Zdrojom takejto stimulácie sú rozmanité fyziologické a patofyziologické procesy v mozgu, sensorické a iné „zážitkové“ fenomény, ale i také arteficiálne vplyvy, ako je užívanie drog, psychofarmák a iné.

Génová expresia vedie k tvorbe funkčných a štrukturálnych proteínov, ktoré facilitujú trvanie a intenzitu modulácie neuronálnej odpovede, no substrátovo

zabezpečujú aj morfológickú prestavbu neurónu, jeho rast, prípadnú diferenciáciu, ako aj riadenie týchto dejov. Keďže sú tieto zmeny dôsledkom predchádzajúcej stimulácie neurónu, dajú sa považovať za mechanizmus (dlhodobej) neuronálnej pamäti, ktorý je elementárnym nástrojom plasticity mozgu.

Zmeny účinnosti synáps majú mimoriadny význam nielen na úrovni jednotlivých neurónov, ale zároveň v kontexte globálnejších elektrických mozgových signalizačných dejov. Ukazuje sa totiž, že už v tzv. lokálnych neurónových obvodoch (ako elementárných moduloch rozličných funkčných systémov mozgu) predstavuje aktuálna distribúcia účinnosti jednotlivých synáps charakteristiku, ktorá - z hľadiska prenosu a spracovania elektrických signálov významne determinuje pamäťový stav („mozgový podprogram“) príslušného obvodu. Zmeny v účinnosti synáps daného obvodu majú za následok zmeny jeho pamäťového stavu (programu), a tým aj zmeny ním zabezpečovaných informačných procesov [5].

V mozgu existuje množstvo „rezervných“ paralelných funkčných spojov, ktoré sa uvádzajú do aktívneho stavu odstránením inhibičných synáps či rozvojom denervačnej precitlivenosti. Nahradia tak bunky a spoje zničené následkom CMP. Okrem prospešnej reparačnej plasticity môžu byť výsledkom funkčnej obnovy poškodených neuronálnych okruhov i nepriaznivé zmeny (tzv. maladaptívna plasticita). Súčasné výskumné smery hľadajú spôsoby, ako posilniť regeneračné schopnosti nervového systému. Niektoré experimentálne práce potvrdili, že priebeh neurálnej plasticity môže byť ovplyvnený stimulmi z okolia. Jednou z možností je podanie farmák aktivujúcich vnútorné neuroplastické deje.

2. SPASTICITA

Spasticita je porucha motoriky charakterizovaná zvýšením svalového tonusu, závislom na rýchlosti pasívneho pohybu, so zvýšenými šľachovými reflexmi, na podklade hyperexcitability napínacích reflexov, ako jedna zo súčastí syndrómu lézie centrálného motoneurónu [6]. Je pomerne častým javom pri mnohých neurologických ochoreniach najrôznejšej genézy, vrátane cievnych mozgových príhod. Je všeobecne známe, že u týchto stavov je spasticita špecifickou komplikáciou, ktorá vedie k celému radu obmedzení hybnosti, aktivity pacienta, ďalším komplikáciám i k nadmernej záťaži osôb, poskytujúcich ošetrovateľskú starostlivosť týmto pacientom. Pokiaľ nie je spasticita liečená, predisponuje v dôsledku hyperaktivity svalov so zvýšeným svalovým napätím k skráteniu svalov a väzivovým zmenám [7].

2.1 RIADENIE HYBNOSTI

Hybnosť, motorika je jednou z najzákladnejších funkcií živých organizmov. Schopnosť pohybu sa rozvíja už od včasného intrauterínneho obdobia a vývoj motoriky odzrkadľuje vývoj nervovej sústavy [8]. Na riadení motoriky sa podieľajú takmer všetky oddiely CNS, neurálna organizácia hybnosti je hierarchická, pričom menšie a jednoduchšie elementy sú vo vyšších úrovniach nervového systému integrované do zložitejších vzorcov [9]. Najjednoduchšie sú monosynaptické spinálne reflexy, zložitejšia je lokomócia a najzložitejšia je organizácia vôľovej hybnosti. Činnosť všetkých cerebrálnych aj spinálnych komponent motorického systému je vzájomne závislá a vytvára jednotný celok, ktorého cieľom je optimálna funkcia prične pruhovaného svalstva [10]. Svalovú funkciu môžeme teda chápať ako akési vyjadrenie funkcie CNS. Spoločným, konečným a rozhodujúcim úsekom pre reguláciu motoriky sú najmenšie funkčné jednotky nazývané motorické jednotky. Vplyvy z vyšších oblastí CNS, rovnako ako z proprioreceptorov, exteroceptorov, interoreceptorov atď., ktoré súvisia s pohybom alebo polohou sa koordinujú na úrovni spinálnej miechy a to predovšetkým činnosťou spinálnych interneurónov. Formujú sa do svojej konečnej výstupnej podoby prostredníctvom funkcií α -motoneurónov. Súhrou uvedených vplyvov sú zaistované ako mimovoľné, tak vôľové pohyby. Jediný α -motoneurón inervuje skupinu svalových vlákien a spolu tento motoneurón a jeho cieľové vlákna tvoria funkčný element - motorickú jednotku. Alfa-motoneuróny tak predstavujú konečnú spoločnú dráhu z mnohých systémov, ktoré majú vzťah k hybnosti [4].

Ďalšou cestou, ktorá ovplyvňuje hybnosť, je cesta prostredníctvom γ -motoneurónov, ktoré vysielajú vlákna ku svalovým vretienkam. Ak sú aktivované α -motoneuróny, dochádza ku skráteniu extrafuzálnych svalových vlákien, avšak súčasne

sú aktivované tiež γ -motoneuróny, ktoré vyvolávajú kontrakciu intrafuzálnych svalových vlákien. Takto fuzimotorický systém udržuje svalové vretienka v napnutom stave v celom rozsahu polohy končatiny, bez toho, aby sa ich citlivosť znížila [9].

Aktivita gama systému je pod kontrolou supraspinálnych štruktúr - retikulárnej formácie (predovšetkým zostupnej facilitačnej oblasti), ktorej prostredníctvom sa uplatňujú regulačné vplyvy mozogka, bazálnych ganglií a mozgovej kôry. Supraspinálne riadenie svalového tonusu sa deje jednak priamym ovplyvnením aktivity alfa-motoneurónov – takto je riadený hlavne pohyb, ďalej ovplyvnením aktivity gama-motoneurónov a spinálnych interneurónov – ovplyvňované je hlavne základné napätie svalu [10].

2.2 PATOFYZIOLÓGIA SPASTICITY

Súčasná všeobecne akceptovaná definícia spasticity ju na základe Lanceho návrhu charakterizuje ako poruchu motoriky, ktorá sa vyznačuje zvýšením tonických napínaných reflexov (stretch reflex), závislého na rýchlosti pasívneho pohybu, so zvýšenými šľachovými reflexmi, ktoré vyplývajú z hyperexcitability napínaných reflexov, ako jednu zo súčastí syndrómu horného motoneurónu [6]. Je vystihovaná ako forma svalového hypertonu, ktorá vzniká na základe tzv. „velocity-dependent“ zvýšenia tonických napínaných reflexov, ktorého pôvod spočíva v abnormálnom spracovaní proprioceptívnych informácií v miešnych štruktúrach. Patofyziologický koncept spastického hypertonu bol v posledných rokoch viackrát upravovaný. Jedným z moderných konceptov (i keď tiež vychádzajúci z Lanceho teórie) je koncept P. Browna z roku 1994 [11], jeho modernizovanou verziou z roku 2002 je Sheeanov koncept [12], o rok neskôr doložený Decquem v roku 2003 [13] a naposledy publikovaná koncepcia patofyziológie spasticity z roku 2011 Rosalesom a spolupracovníkmi [14].

Pojem „velocity-dependent“ znamená, že čím rýchlejšie dochádza k napínaniu, tým viac rastie rezistencia svalu a výraznejšia je reflexná aktivita. Celý proces je tiež dynamický, tj. pokiaľ je pasívne pretiahnutie svalu zabrzdené, spastická svalová kontrakcia ustáva, v závislosti na stupni spasticity. Mohutnosť reflexnej spastickej odpovede je aj „length-dependent“, tj. priamo úmerne závisí na dĺžke pretiahnutia svalu [10].

Uvedená pomerne striktno fyziologicky založená definícia zdôrazňuje fakt, že spasticita je jedným z príznakov syndrómu horného (prvého) motoneurónu, anglicky „upper motor neuron syndrome (UMN)“. Stručne povedané, spasticita je klinická

odpoveď založená na zvýšenej excitabilite fázických a tonických napínicích reflexov, prítomná u mnohých pacientov s UMN léziou.

2.2.1 Upper motor neuron syndrome

Poškodenie kortikofugálnych vlákien (pyramidálnych a parapyramidálnych) vedie k motorickým deficitom, ktoré sú súhrnne popísané ako *syndróm horného motoneurónu*. Vyznačujú sa kombináciou negatívnych javov (napr. zníženie alebo strata svalovej sily, svalová dyskoordinácia, neobratnosť, excesívna svalová únavnosť a (na hornej končatine) príznak tzv. „clumsy hand“ [15,10] a pozitívnych javov.

Medzi pozitívne symptómy patrí:

- Spasticita
- Hyperreflexia šľachových reflexov
- Klony (repetitívna aktivácia napínicieho reflexu)
- Flexorové spazmy (dezinhibované flexorové obranné reflexy)
- Abnormálne kožné reflexy (pozitívny Babinského príznak)

ale tiež komplexnejšie príznaky, ako sú

- Eferentné pálenie (z anglického „efferent drive“, výlučne eferentný fenomén nezávislý na podnetoch z periférie, kontinuálna svalová kontrakcia prítomná bez akejkoľvek

senzorickej spätnej väzby alebo stimulácie a akejkolvek vôľovej svalovej kontrakcie, najznámejším prejavom je Wernickeovo-Mannovo držanie u hemiparetických pacientov)

- Asociované reakcie (forma vzdialenej synkinézy, vzniká dôsledkom poruchy ihibície práve týchto asociovaných pohybov)
- Prítomnosť ko-kontrakcie (prejav porušenej recipročnej inhibície, kontrakcia svalov, ktoré sú za bežných okolností pri prevedení pohybu inhibované), a ďalšie

[8,10]

Hyperexcitabilita spinálnych segmentálnych reflexov tvorí základ väčšiny pozitívnych klinických príznakov syndrómu UMN, ktoré majú spoločnú nadmernú svalovú aktivitu. Tieto miešne reflexy môžu byť rozdelené do dvoch skupín, propioceptívne reflexy a kožné/nociceptívne reflexy. Proprioceptívne reflexy zahŕňajú napínacie reflexy (tonické a fázičné) a pozitívnu podpornú reakciu. Kožné a nociceptívne reflexy sú flexorové a extenzorové reflexy (vrátane komplexného Babinského príznaku). Fenomén vreckového nožíka je jav, ktorý kombinuje vlastnosti oboch skupín, aspoň na dolných končatinách, je spôsobený modifikáciou aktivity patologického tonického napínacieho reflexu pomocou aferentných vlákien slúžiacich normálne flexorovým reflexom [16]. Pri spasticite kladie pasívne napínaný sval postupne čoraz väčší odpor, a keď prestaneme sval napínať, vracia sa perovite späť do pôvodnej polohy. Keď prekonáme maximálny odpor, sval náhle povolí a ďalší pohyb je ľahko možný. Uhol, v ktorom k tomuto „povoleniu“ dôjde v podstate zodpovedá charakteristikám spastickej odpovedi [17].

Spasticita ako fenomén má špecifickú definíciu, ale často je používaná (mäúco) ako kolektívny termín pre všetky pozitívne symptómy UMN syndrómu. Viac menej tieto pozitívne vlastnosti sa nie vždy vyskytujú spoločne a aj iné faktory môžu prispieť k pacientovej hypertónii. Okrem toho, patofyziológia pozitívnych javov syndrómu UNM nie je jednotná a tiež ich reakcia na medikamentóznú liečbu môže byť odlišná.

2.2.2 Patofyziológia spasticity

Normálny svalový tonus závisí na rovnováhe medzi inhibičnými vplyvmi tzv. rýchly spinálny napínací reflex (jedná sa o vplyv dorzálnej retikulospinálnej dráhy) a facilitačným pôsobením (mediálna retikulospinálna dráha a v menšej miere aj vestibulospinálna dráha) na alfa-a gama-motoneuróny svalov - extenzorov [18].

Spasticita vzniká následkom straty tlmivého pôsobenia mozgu na gama-motoneuróny, ktoré inervujú intrafuzálne vlákna, čo vedie k zvýšeniu napínacích reflexov. K spasticite dochádza pri kombinovanej lézii zostupných dráh motorického systému - pyramídových, ktoré predstavujú priame spojenie mozgovej kôry (Brodmanova area 4, 6, 3, 1, 2, 5 a 7) s alfa-motoneurónmi a parapiramídových, u ktorých podnety hlavne z premotorického kortexu frontálneho laloku vedú k miešnym segmentom nepriamo (prerušovane), prepojené na úrovni štruktúr mozgového kmeňa. Nadväzujúce kmeňové motorické dráhy, ktoré sa podieľajú na supraspinálnej regulácii hybnosti, ktorých lézia vyvoláva vznik spastickej parézy, sú tractus reticulospinalis, tractus olivospinalis, tractus tectospinalis, tractus vestibulospinalis a podľa niektorých autorov i tractus rubrospinalis [19]. Tieto dráhy sa zakončujú v miešnych segmentoch podobne ako pyramídové trakty, ale okrem tiel alfa-motoneurónov sa zakončujú na

telách interneurónov v predných krídlach šedej hmoty miešnej. Tieto interneuróny majú inhibičný vplyv ako na alfa-motoneuróny, tak predovšetkým na gama-motoneuróny, ktoré inervujú intrafuzálne vlákna. Strata inhibície gama-motoneurónov vedie k excesívnej impulzácii a hyperkontrakcii intrafuzálnych vlákien, čo spätne-väzbovo vyvoláva excesívnu stimuláciu alfa-motoneurónov (navyše tiež zbavených inhibičného vplyvu interneurónov) a hyperkontrakcii extrafuzálnych vlákien, vrátane typických spastických odpovedí [20-21,10].

Anatomická lokalizácia lézie UMN hrá významnú úlohu pri určovaní výsledného klinického obrazu. Klinická forma spasticity se líši v závislosti od toho, či je postihnutá motorická kôra, či capsula interna, či sa jedná o inkompletnú alebo kompletnú miešnu léziu.

P. Brown v diskusii o patofyziológii spasticity zdôraznil význam dvoch systémov vlákien: (1) dorzálnej retikulospinálnej dráhy, ktorá má inhibičné účinky na napínanie spinálnereflexy, a (2) mediálnej retikulospinálnej a vestibulospinálnej dráhy, ktoré spoločne facilitujú tonus extenzorov [11]. Brown predpokladá, že pri lézii v oblasti motorickej kôry a kapsulárnej lézii, sú oslabené kortikálne vplyvy na inhibičné centrum v mozgovom kmeni, majúce za následok spastickú hemiplégiu (hemiparézu), s tzv. antigravitačným typom postury. U tohto typu spasticity nie sú obvyklé flekčné spazmy (vzhľadom k zachovanej štruktúre retikulospinálnej dráhy). Pri inkompletných miešnych léziách (napr. vo včasných štádiách roztrúsenej mozgovomiešnej sklerózy), ktoré postihujú trakt kortikospinálny, je obvykle postihnutý aj dorzálny retikulospinálny trakt, čo vedie k oslabeniu až strate inhibičných vplyvov na tonický napínací reflex, avšak facilitačné pôsobenie cestou mediálnych retikulospinálnych a vestibulospinálnych dráh pretrváva. Výsledkom je rozvoj ťažkej spasticity v príslušných segmentoch s maximom v oblasti antigravitačných svalov, s prejavom paraparézy dolných končatín

extenčného typu. U tohto typu spasticity sú obvyklé extenčné i flekčné spazmy. Pokiaľ je tento trakt ušetrený, vyskytuje sa len paréza, strata podpory reflexov, a prípadne uvoľnenie flexorových reflexov (Babinského príznak). Pri ťažkej, či kompletnej transverzálnej miešnej lézii, kedy dochádza k úplnej strate supraspinálnej kontroly, nachádzame miernejšiu spastickú kontrakciu, v popredí sú flekčné spazmy, paraplégia s flekčným typom spasticity [10,4].

2.3 KLINICKÉ PREJAVY.

Spasticita sa vyskytuje pri mnohých neurologických ochoreniach - detská mozgová obrna, cievne mozgové príhody (CMP), sclerosis multiplex, kraniocerebrálne a miešne traumy, degeneratívne ochorenia (hereditárna spastická paraparéza), zápalové ochorenia mozgu a miechy. Centrálna paréza so spasticitou sa vyskytuje ako v akútnom štádiu týchto neurologických ochorení, tak je typickým príznakom prekonaných ochorení, či jedným z najzávažnejších príznakov u chronických ochorení [18].

Spasticita po CMP býva častým následkom, ktorý zhoršuje funkčný stav pacienta a limituje ho v bežných denných činnostiach (Activity of Daily Living, ADL). Ťažká spasticita často vyústi v abnormálne držanie tela, spôsobuje bolestivé vnemy, zvyšuje spotrebu energie v priebehu pohybovej aktivity, a môže rovnako rušiť vôľové pohyby a viesť k, alebo zhoršiť pacientovo motorické funkčné postihnutie. Pri spasticite dochádza k progredientnému skráteniu spastických svalov, čím je značne obmedzená možnosť pohybu antagonistických svalov. Predisponuje ku vzniku kontraktúr. Spasticita často spôsobuje problémy pri fyzikálnej terapii, sťažuje ošetrovateľskú a hygienickú starostlivosť [18,4] (viz tab. 1 a 2). Pri cerebrálnom type spasticity (po CMP) ide v prevažnej väčšine o spasticitu hornej končatiny flekčno-pronačného typu a spasticitu dolnej končatiny extenčného typu. Spasticita ramena a ruky je vždy nepriaznivá a vedie k väčšiemu funkčnému postihnutiu paretickej hornej končatiny. Najväčším problémom je flekčná spasticita prstov, nasledovaná flekčnou spasticitou v lakti a ruky, addukčnou spasticitou v ramene a pronačnou spasticitou predlaktia. Na dolnej končatine je najväčším problémom extenčná spasticita s ekvinóznou posturou nohy a menej často s inverznou deformitou členka. So zmeneným došľapom potom súvisí neistota pri chôdzi so zvýšenou incidenciou pádov so vznikom komplikujúcich

Tab. 1. Typy spasticity na horných končatinách[18,4]

Typ spasticity	Postihnuté svaly	Pridružené príznaky
addukčná spasticita ramena	m. pectoralis major, m. latissimus dorsi, m. teres major, m. subscapularis	často prítomná aj vnútorná rotácia, pac. má problémy s obliekaním, hygienou, bolesť v ramene
flekčná spasticita v lakti	m. brachioradialis, m. biceps brachii, m. brachialis	flektovaný lakeť vadí pri obliekaní a hygiene, ruka naráža lakťom
pronačná spasticita predlaktia	m. pronator teres, m. pronator quadratus	viazne supinácia, ruka sa nemôže dobre nastaviť k uchopeniu predmetov
flekčná spasticita ruky	m. flexor carpi radialis, m. flexor carpi ulnaris, m. palmaris longus, m. flexor digitorum superficialis a profundus	často sa objavuje syndróm karpálneho tunela
spastická ruka so zatvorenými prstami	m. flexor digitorum superficialis a profundus, rôzne kombinácie jednotlivých porcií	nie je možný úchop, problémy s maceráciou kože ruky
„intrinsic plus posture“	flexia v MP a extenzia v PIP kĺboch, flexorov prstov, mm. interossei dorsales, ďalšie svaly ruky	blokuje úchop aj jemné pohyby prstov a ruky
spasticita ruky s addukciou a flexiou palca	m. flexor pollicis longus, m. adductor pollicis	prekáža pri úchope prstov i úchope rúk

Tab. 2. Typy spasticity na dolných končatinách[18,4]

Typ spasticity	Postihnuté svaly	Pridružené príznaky
spasticita svalov predkolenia vedúca k rozvoju pes equinovarus	m. gastrocnemius med., m. solleus, m. tibialis anterior, m. tibialis posterior, m. peroneus longus, flexory prstov, laterálne hemstringy	pac. našľapuje na špičku, obtiažna lokomócia
spasticita svalstva predkolenia vedúca k rozvoju pes valgus	mm. peronei, mm. gastrocnemius – solleus, m. tibialis anterior (oslabený), dlhé flexory prstov, (oslabený)	deformita nohy, vedie k preťaženiu kolena a rozvoju valgozity v kolennom kĺbe
striátový palec	m. extensor hallucis longus	problémy s obuvou
extenčná spasticita v kolennom kĺbe	m. gluteus maximus, m. rectus femoris, mm. vasti, mm. gastrocnemii, hemstringy, m. iliopsoas (oslabený)	malé krôčiky, časté sú pády, cirkumdukcia
flekčná spasticita v kolennom kĺbe	hemstringy (mediálne aj laterálne), m. quadriceps, mm. gastrocnemii	nutná súčasná flexia v bedrovom kĺbe ipsilaterálne aj flexia v bedrovom a kolennom kĺbe kontralaterálne, chôdza je obtiažna, malými krôčikmi
addukčná spasticita stehien	mm. adductor longus et magnus, m. gracilis, m. iliopsoas (oslabený), m. pectineus (oslabený)	„nožnicovitá“ chôdza, problémy s hygienou, obliekáním, sedením, chôdzou

poranení (fraktúry predkolenia, fraktúry krčka stehennej kosti, poranenie kolena) [7].

Na druhej strane môže spasticita dolných končatín – hlavne extenčná – mať určitý prospešný vplyv na hybnosť pacienta so spastickou parézou (lepšie umožní stoj či chôdzu ako chabá paréza končatiny) [18]. Vývoj spasticity na hemiplegickej dolnej končatine môže tiež znížiť riziko hlbokoj žilovej trombózy hypomobilnej dolnej končatiny a osteoporózy.

2.4 HODNOTENIE SPASTICITY

Spasticitu je možné hodnotiť prostredníctvom mechanických prístrojov, elektrofyziologických techník a klinických vyšetrení. Mechanické prístroje (kyvadlový test) merajúce svalovú rezistenciu proti pasívnemu pohybu sa používajú zatiaľ len vo výskume [3,10].

Neurofyziologická diagnostika umožňuje stanoviť podiel patofyziologických mechanizmov na vzniku spasticity a umožňuje cielenejšiu terapiu. Zahŕňa elektrofyziologické testy ako Hoffmannov reflex (H reflex), T reflex a F odpoveď. Polyelektromyografia identifikuje spastické svaly a určuje stupeň ich postihnutia [10].

Elektrofyziologické merania ukazujúce hyperexcitabilitu napínacieho reflexu sú doménou neurofyziológov a neurológov. Podobne ako testy stanovenia prahového uhla pre elektromyografickú aktivitu a napínací reflex pri torzii, elektrofyziologický a vibračný inhibičný reflex majú aj nálezy vyšetrenia H reflexu značnú interindividuálnu aj intraindividuálnu variabilitu [22-25]. Pri dodržaní štandardných testovacích podmienok sú však tieto metódy spoľahlivé a poskytujú reprodukovateľné výsledky korelujúce s pacientovým stavom aj pri opakovanom vyšetrení [26]. Je potrebné konštatovať, že použitie vybraných elektrofyziologických testov nemusí vždy znamenať diagnostický alebo terapeutický prínos pre pacientov so spastickým syndrómom. Aj napriek tomu sa ich použitie odporúča, nakoľko ide o pomerne jednoduché a neinvazívne vyšetrenia, ktoré nie sú prístrojovo, časovo a finančne náročné [10].

Medzi klinické vyšetrenia patrí:

- meranie rozsahu pasívnej a aktívnej pohyblivosti v kĺboch

- palpácia a meranie intenzity svalového tonusu

- klinické testovacie metódy a škály hodnotiace svalový tonus a spasticitu (spazmové škály, Ashworthova škála, Tardieuho škála a ich modifikácie)

Modifikovaná Ashworthova a Tardieuho škála sú základnými klinickými vyšetrovacími metódami v hodnotení spasticity, ktoré síce testujú intenzitu svalového tonusu, ale bez hodnotenia účinku spasticity na samotnú funkciu. Každé testovanie je potrebné aktuálne zaznamenať pri vykonávaní (zapísať dátum aj čas), pretože aj opakované merania ovplyvňujú svalový tonus.

Pri testovaní spasticity musíme brať do úvahy aj dĺžku trvania samotného ochorenia, ktorého následkom je spastický syndróm, plasticitu CNS, pridružené ochorenia pacienta, predchádzajúce operačné výkony, aktuálnu medikamentóznú liečbu a samozrejme aj psychický stav. Uvedené faktory môžu zásadnou mierou ovplyvniť naše meranie [17].

Ashworthova škála

Jedná sa o stupnicu, ktorá hodnotí spasticitu na základe odporu, ktorý kladie sval pri pasívnom pohybe. Každému stupňu prislúcha určitá charakteristika odolnosti svalu voči pasívnemu naťahovaniu, prevádzaného vyšetrujúcim. Zaviedol ju v r.1964 britský neurológ B. Ashworth ako testovaciu škálu na hodnotenie účinnosti antispastických liekov u pacientov so sklerózou multiplex. Postupne sa stala základnou klinickou

vyšetrovacou metódou v hodnotení spasticity. Pri tomto testovaní sa segment končatiny pohybuje v rozpätí pohybu daného kĺbu, bez ohľadu na rýchlosť prevedeného pohybu.

Modifikovaná škála Ashworthovej bola upravená v r. 1987 americkými lekármi Bohannonom a Smithom, má o jeden stupeň viac a je špecifickejšia [27,4].

Ashworthova škála:

- 1 - bez zvýšenia svalového tonusu
- 2 - ľahký nárast svalového napätia kladúci odpor pri pasívnom pohybe
- 3 - značné zvýšenie svalového napätia, ale pasívny pohyb je možné previesť
- 4 - významné zvýšenie svalového napätia, pasívny pohyb je sťažený
- 5 - postihnutá končatina je proti flexii i extenzii rigidná

Modifikovaná Ashworthova škála (MAS):

- 0 - svalový tonus nezvýšený
- 1 - mierne zvýšenie svalového tonusu, manifestujúce sa pri uchopení a uvoľnení, alebo minimálne zvýšenie odporu na konci rozsahu pohybu vyšetrovanej časti končatiny (flexie alebo extenzie)
- 1+ - mierne zvýšenie svalového tonusu, manifestujúce sa pri uchopení, nasledované minimálnym odporom v priebehu ďalšieho pohybu (menej ako polovicu rozsahu v danom kĺbe)
- 2 - výraznejší vzostup svalového tonusu po celú dobu rozsahu pohybu vyšetrovanej časti končatiny

3 - podstatný vzostup svalového tonusu, pasívny pohyb je sťažený

4 - postihnutá časť končatiny je v trvale abnormálnom postavení, nie je možné s ňou pasívne pohybovať

Tardieuho škála

Zaviedol ju v r.1954 francúzsky detský neurológ prof. Guy Tardieu, ktorý popísal hodnotenie spasticity meraním uhla v kĺbe pri troch daných rozdielnych rýchlostiach pasívneho natiahnutia svalu. Je posudzovaná intenzita a doba trvania svalovej reakcie na natiahnutie na päťstupňovej stupnici a uhol v kĺbe, pri ktorom je svalová reakcia prvýkrát pocítená. Táto metóda bola veľmi časovo náročná a preto bola zjednodušená na Modifikovanú Tardieuho škálu. Škála hodnotí dynamiku svalovej dĺžky [28-29].

2.5 NEUROZOBRAZOVANIE V ŠTÚDIU SPASTICITY PO CMP

V priebehu rokov poskytujú neinvazívne zobrazovacie technológie nové možnosti v štúdiu a hodnotení patofyziológie CMP pre klinickú diagnostiku, ako aj pre vedecký výskum. Medzi hlavné neuroradiologické metódy v súčasnosti patrí počítačová tomografia (CT) aj s možnosťou vyšetrenia CT angiografie, pozitronová emisná tomografia (PET) a predovšetkým magnetická rezonancia (MR), ktorá umožňuje nielen podrobne zobrazovať anatómiu mozgu z rôznych „pohľadov,, rôznymi sekvenciami, zachytiť intrakraniálny tepenný i žilový systém pomocou MR angiografie, ale navyše poskytuje informácie aj o jeho činnosti mapovaním mozgových spojení pomocou vyšetrení Diffusion Tensor Imaging (DTI) a MR tractography a hlavne mapovaním činnosti mozgu pomocou metód funkčného zobrazovania (fMRI) a neinvazívnym sledovaním metabolizmu mozgu využitím metódy MR spektroskopie (MRS) [30].

Funkčná magnetická rezonancia (fMRI, functional magnetic resonance imaging) detekuje lokálne zmeny v prietoku krvi alebo zmeny oxygenácie krvi (tzv. BOLD efektu, blood oxygenation level dependent), ktoré sa objavujú v aktivovaných (a teda aj metabolicky zvýšene aktívnych) oblastiach mozgu. BOLD fMRI, ktorý je dnes základom väčšiny používaných aplikácií fMRI, využíva zmenu pomeru okysličenej a neokysličenej krvi v mieste neuronálnej aktivity, čo sa označuje ako BOLD efekt [31].

Najčastejšie využívanou technikou snímania BOLD fMRI je technika EPI (angl. echo-planar imaging), ktorá je citlivá na zmenu lokálnej nehomogenity magnetického poľa a vďaka tomu produkuje T_2^* - vážené zobrazenie, navyše ide o veľmi rýchlu sekvenciu, čo je podmienkou dostatočného časového rozlíšenia tejto metódy.

Výhodou fMRI voči iným metódam registrácie aktivačných zmien mozgu je súčasné získavanie funkčných dát s dátami anatomickými, čo umožňuje významne zvýšiť presnosť lokalizácie zmien aktivity do príslušných anatomických štruktúr. Významná je tiež možnosť 3D zobrazenia mozgu a simultánneho zachytenia a zobrazenia viacerých súčasne prebiehajúcich procesov v mozgu. Vzhľadom na interindividuálnu variabilitu v detailnej anatómii mozgovej kôry, najmä jej funkčného zapojenia, predstavuje zásadnú výhodu fMRI možnosť interindividuálneho priemerovania viacerých zobrazení u určitého jedinca [32]. Metóda funkčnej magnetickej rezonancie umožňuje mapovanie primárnych a sekundárnych motorických oblastí a tiež ďalších vysoko špecializovaných oblastí v mozgovej kôre človeka. V posledných rokoch sa MR tiež využíva na posúdenie funkčnej a štrukturálnej reorganizácie poškodeného mozgového tkaniva v neskorších štádiách po CMP, aj u pacientov s motorickým postihnutím, vrátane spasticity. Lepšie pochopenie mechanizmov mozgovej regenerácie poskytuje priestor pre nové terapeutické stratégie.

Prvé články o využití fMRI k neinvazívnemu vyšetreniu zmien vzorcov aktivácie u pacientov po ikte sa objavili v druhej polovici 90-tych rokov. Cao et al. vykonali priekopnícke fMRI štúdie na subjektoch po mozgových príhodách, trpiacich hemiparézou. Od tej doby, početné BOLD fMRI štúdie demonštrovali preskupenie ipsi- a kontralaterálnych funkčných mozgových oblastí u pacientov v rekonvalescencii po CMP trpiacich hemiparézou, afáziou, či hemianopsiou.

2.6 MOŽNOSTI LIEČBY

Spasticitu možno terapeuticky ovplyvniť farmakologicky (celkovým užívaním centrálnych myorelaxancií, lokálnym obstrekom spastických svalov), liečebnou rehabilitáciou (reflexnou inhibíciou spastických svalov v rámci facilitačných metód) aj chirurgicky pomocou selektívnej rizotómie alebo implantáciou pumpy pre intratekálne podávanie baclofenu. Vhodná je kombinácia fyzikálnej liečby s farmakologickou. Fokálna alebo multifokálna spasticita, predovšetkým v dôsledku cievnych mozgových príhod, je v súčasnej dobe úspešne liečená intramuskulárnou injekciou botulotoxínu A.

2.6.1 Rehabilitačná liečba

Fyzioterapiu a ergoterapiu indikuje rehabilitačný lekár. Dôležitým postupom je včasné zahájenie individuálne zameranej pohybovej a fyzikálnej liečby. Úlohou fyzioterapie je aktívne sa podieľať na obnovení hybnosti trupu a končatín vrátane návratu lokomócie, zabránenia vzniku kontraktúr, udržania kĺbnej pohyblivosti a fyziologickej dĺžky končatín. Vyrovnaná svalová aktivita zaisťuje optimálne statické zaťaženie jednotlivých kĺbov. Pre zaistenie správnej lokomócie je dôležitá posturálna aktivita fázických svalov. Fyzioterapeut používa techniky na neurovývojovom podklade napr. propioceptívnu neuromuskulárnu facilitáciu, senzomotorickú stimuláciu, techniky reflexnej lokomócie a ďalšie metodiky určené pre neurologické poruchy hybnosti. Ich spoločným ukazovateľom je reflexné pôsobenie, ktoré vedie k facilitácii vôľovej hybnosti, ale súčasne aj k inhibícii patologickej reflexnej aktivity (spasticity) [33].

Pri stavoch po CMP sa môžu používať už v akútnom štádiu, ale efektívne sú predovšetkým v subakútnom štádiu, kedy ovplyvňujú vracajúcu sa vôľovú hybnosť a súčasne aj realizáciu účelových pohybov v rámci chôdze a sebaobslužných činností (Bobath concept, reflexná metóda podľa Vojtu, PNF - propioceptívna neuromuskulárna facilitácia, event. „Kabatova metóda“ a metóda podľa S. Brunnströmvej) [3].

Dôležitý je aj tréning jemnej motoriky. Správne funkčné postavenie končatín je podporované vhodným využitím ortéz a dláh na prevenciu, prípadne korekciu už vzniknutých kontraktúr a deformít [7].

2.6.2 Medikamentózna liečba

Farmakologická liečba zahŕňa medikamenty aplikované celkovo (prevažne perorálne), intratekálne a lokálne (do svalu) (viz tab. 3) [18].

Systémová **farmakologická liečba** (v kombinácii s rehabilitáciou) je najčastejším spôsobom liečby u pacientov s generalizovanou spasticitou (tab. 3). Má však mnohé nevýhody. Väčšina liekov používaných k liečbe spasticity okrem predpokladaného zníženia svalového tonusu ovplyvňuje ďalšie funkcie CNS (pozornosť, koncentráciu, náladu, poznávanie apod.) a má rôzne výrazné nežiaduce vedľajšie účinky. Mnoho pacientov liečených myorelaxanciami sa sťažuje na ospalosť, únavnosť, nesústredenosť i slabosť. Miestom účinku u väčšiny liekov užívaných v liečbe spasticity je ovplyvnenie funkcie neurotransmitterov alebo neuromodulačných látok v CNS, ktoré hrajú dôležitú úlohu v rozvoji spastického syndrómu (glutamát, noradrenalin, serotonin, GABA a glycin). Cieľom farmakoterapie je supresia excitácie (cez glutamát), posilnenie inhibície (cez gabaergný systém alebo glycin), niektoré môžu pôsobiť aj na periférne

neuromuskulárne spojenia [10]. Pri fokálnej spasticite, ktorú sa u dospelých pacientov po cievnej mozgovej príhode snažíme ovplyvniť, má dlhodobá perorálna myorelaxačná liečba len obmedzený a druhoradý význam.

Intrathekálna aplikácia antispastických liekov si vyžaduje implantáciu programovateľnej pumpy do podkožia brucha a katétra do subarachnoidálneho priestoru. Pôvodnou indikáciou bola výrazná spasticita dolných končatín spinálneho pôvodu, neskôr sa indikácia rozšírila aj na spasticitu cerebrálnej etiológie. Tento spôsob umožňuje priamu dodávku lieku do oblasti centrálného nervového systému a redukuje tak celkové nežiaduce účinky [10]. U pacientov so spasticitou po CMP je indikácia tejto formy liečby veľmi zriedkavá.

Blokády periférnych nervov (aplikácie 5% phenolu, 50% alkoholu) do motorických bodov spastických svalov sa u pacientov s fokálnou spasticitou po CMP, s ohľadom na bolestivosť a invazivitu metódy, indikujú len okrajovo.

Tab. 3. Farmakologická liečba spasticity

Forma aplikácie farmaka	Názov lieku
Systémové (perorálne) podanie	baclofen, diazepam, ketazolam, klonazepam, tetrazepam, piracetam, gabapentin, tiagabin, dantrolen, lamotrigin, riluzol, tinazidin, klonidin, cyproheptadin,
Intrathekálna aplikácia	baclofen, klonidin, morfín
Neurolytický prístup (k periférnemu nervu)	50%alkohol,2–5%phenol
Aplikácia k motorickým bodom	5 % phenol
Botulotoxín A	Dysport, Botox, a ďalšie preparáty

2.6.3 Neurochirurgická a ortopedická liečba

Chirurgické zákroky sa používajú v prípade ťažkej formy spasticity s kontraktúrami a pri neúčinnosti, prípadne intolerancii farmakoterapie. Neurochirurgické techniky smerujú k ovplyvneniu spasticity na princípe prerušenia reflexného oblúka na rôznych úrovniach alebo zvýšením inhibičných vplyvov na motoneuróny predných rohov miešnych. Možno ich rozdeliť na zákroky na úrovni miechy (myelotómia s preťatím dráh pri spasticite dolných končatín), na miešnych koreňoch (selektívna zadná rhizotómia u detí so spastickou formou detskej mozgovej obrny) a na periférnych nervoch (neurektómia – n.ischiadicus, n.obturatorius, n. pudendus, n.tibialis). Ortopedické korekčné procedúry (tenotómia, presuny šliach, SPLATT – split anterior tibialis transfer – s podstatným zlepšením spastickej chôdze) slúžia k riešeniu následkov dlhotrvajúcej spasticity [10,18].

3. BOTULOTOXÍNOVÁ LIEČBA

Intramuskulárne injekcie botulotoxínu sa v súčasnosti považujú za štandardnú formu liečby stavov charakterizovaných neadekvátnou a nadmernou aktivitou motoneurónov, prejavujúce sa abnormným svalovým napätím ako sú cervikálna dystónia, faciálne dyskinézy, či spasticita hornej a dolnej končatiny pri mnohých neurologických ochoreniach najrôznejšej genézy. V roku 1989 bola publikovaná prvá štúdia hodnotiaca efekt botulotoxínu v liečbe spasticity u dospelých pacientov a to v dôsledku cievnej mozgovej príhody [34].

3.1 BOTULOTOXÍN V LIEČBE SPASTICITY PO CIEVNEJ MOZGOVEJ PRÍHODE

Dase a spolupracovníci ako prvý preukázali pozitívny účinok lokálnych injekcií botulotoxínu na zmiernenie spasticity horných končatín u pacientov po cievnej mozgovej príhode. V ďalších rokoch boli publikované ďalšie, rozsiahlejšie štúdie potvrdzujúce terapeutický efekt botulotoxínu na zlepšenie klinického stavu (zmiernenie spasticity horných a dolných končatín) u dospelých pacientov po cievnych mozgových príhodách, súčasne bola hľadaná optimálna dávka botulotoxínu s ohľadom na bezpečnosť tejto liečby a liečebné režimy [10].

Simpson a ďalší v multicentrickej, randomizovanej, dvojito slepej, placebom kontrolovanej štúdií použil botulotoxin A v liečbe spasticity u 39 pacientov s chronickou spasticitou horných končatín po cievnej mozgovej príhode (aplikácia v celkovej dávke buď 75, 150 alebo 300 medzinárodných jednotiek (UI) botulotoxínu A alebo placebo do flexorov predlaktia a zápästia - m. biceps brachii, m. flexor carpi radialis, a m. flexor carpi ulnaris) [35]. V tejto 3 - mesačnej štúdií došlo k významnému zníženiu spasticity v lakti aj ruke, a to podľa niekoľkých škál (vrátane Modifikovanej Ashworthovej škály), predovšetkým v skupinách liečených 300 UI botulotoxínu A. Závažnejšie nežiadúce účinky neboli zistené.

Bakheit AM, Pittock S, Moore AP a ďalší hodnotili účinok a bezpečnosť botulotoxínu (Dysport®) u pacientov so spasticitou horných končatín v dôsledku cievnej mozgovej príhody [36]. V tejto dvojito slepej, placebom kontrolovanej štúdií došlo opäť k redukcii spasticity a zlepšeniu rozsahu v postihnutom kĺbe. Klinický účinok trval najmenej 16 týždňov po aplikácii botulotoxínu. Podobné pozitívne výsledky dosiahli aj ďalší autori. Pri liečbe spasticity dolných končatín po cievnej mozgovej príhode aplikovali Burbaud a spolupracovníci v dvojito slepej, placebom

kontrolovanej štúdií botulotoxín pod EMG kontrolou do viacerých svalov dolných končatín – m. triceps surae, soleus, tibialis posterior, flexor digitorum longus v celkovej dávke 1000 MU Dysportu® [37]. Klinické vyšetrenia aj videozáznamy ukázali signifikantné zlepšenie v skóre spasticity a rozsahu pohybu v postihnutom kĺbe, bez ohľadu na stupeň spasticity, najmä u pacientov liečených do jedného roka po cievnej mozgovej príhode. V randomizovanej, dvojito slepej štúdií, v závislosti od dávky Mancini a spolupracovníci injikovali botulotoxín A u pacientov so spastickou nohou následkom cievnej mozgovej príhody v 3 rôznych celkových dávkach (167-540 UI Botoxu®) do postihnutých svalov dolných končatín. Stredné dávky (320 UI rozdelené medzi 2-5 svalmi) sa ukázali najúčinnnejšie s ohľadom na efektívnosť a nežiadúce účinky [38].

Kaji R, Osako Y a kol. aplikoval rôzne dávky botulotoxínu v rozmedzí 120-150 UI, alebo 200-240 UI u 109 pacientov so spasticitou hornej končatiny po cievnej mozgovej príhode [39]. Preukázal zníženie spasticity svalov hornej končatiny pri vyššej dávke botulotoxínu A. Väčšina klinických štúdií hodnotila účinok jednotlivej dávky botulotoxínu, pričom sledovanie väčšinou nepresiahlo 12 týždňov. Gordon a spolupracovníci v multicentrickej štúdií hodnotili dlhodobú účinnosť a bezpečnosť liečby botulotoxínom A u 110 pacientov so spasticitou po cievnej mozgovej príhode, po dobu 12-54 týždňov a po opakovanej aplikácií botulotoxínu (2-4 cykly). Autori aplikovali u väčšiny pacientov dávky Botoxu v rozmedzí 200-240 UI do 4 postihnutých svalov horných končatín a sledovali vplyv jednak na úroveň spasticity (MAS), ale tiež na funkčnú disabilitu pri starostlivosti o hygienu ruky, obliekanie, vplyv na bolesti a polohu končatiny. Autori preukázali významné zmiernenie spasticity ruky a prstov a zlepšenie hybnosti pretrvávajúce v priebehu liečebných cyklov, vrátane aktivít dennej činnosti [40].

Neberúc do úvahy etiológiu, objavenie sa botulotoxínu v liečbe spasticity fokálneho či multifokálneho charakteru predstavuje signifikantný pokrok v liečbe tejto poruchy hybnosti, ktorá zreteľne obmedzuje motorické schopnosti pacienta a jeho sebestačnosť a poskytuje dobré výsledky pre mnohých pacientov. Botulotoxín v liečbe fokálnej spasticity po cievnej mozgovej príhode je v súčasnosti súčasťou liečebných štandardov.

3.1.1 Botulotoxín typ A

Botulotoxín typ A je neurotoxín, ktorý ak je injikovaný priamo do svalu, vyvoláva chemickú denerváciu motorickej platničky. Je jeden zo siedmich sérotypov (A-G), produkovaných anaeróbnou baktériou *Clostridium botulinum*. Botulotoxín typ A je jedna z najjedovatejších dostupných substancií a je klinikom známy ako toxín, zapríčiňujúci botulizmus [41].

Podstatou terapeutického efektu botulotoxínu je zníženie vylučovania acetylcholínu na myoneurálnej platničke. Výhodou oproti iným formám liečby je vysoká špecifickosť pôsobenia (na myoneurálnom spojení), doba trvania účinku (pri prvom podaní týždne až mesiace), veľká potentnosť liečby vyžadujúca minimálnu dávku botulotoxínu, ktorá nespúšťa imúnne mechanizmy, alergické reakcie a podobné prejavy. Má zároveň vysoko selektívny mechanizmus účinku, čo znamená, že terapeutický efekt sa dosahuje bez vedľajších účinkov [41].

Po aplikácii do cieľového svalu je botulotoxín A selektívne vychytávaný presynaptickými zakončeniami cholinergných nervov, kde štiepením SNAP-25 (synaptosomal-associated protein 25), väzbových proteínov nevyhnutných k úspešnému

spojeniu a uvoľneniu acetylcholínu z vezikúl v nervových zakončeníach, blokuje periférne uvoľnenie acetylcholínu a teda prenos signálu na nervovosvalovej platničke. To vedie k reverzibilnej, čiastočnej denervácii daného svalu. Zapríčiňuje tak dočasné zníženie nervovosvalovej aktivity a klinicky oslabenie vybraného svalu (2.-7. deň po aplikácii). Zotavenie po intramuskulárnej injekcii nastáva obvykle v priebehu 12 týždňov pomocou procesu nazývaného sprouting, alebo pučanie, keď dochádza k rastu nových terminálnych zakončení v okolí blokovanej nervovosvalovej platničky. Opakovaná aplikácia do svalu vyvolá pôvodný terapeutický efekt.

Botulotoxín-A blokuje uvoľňovanie acetylcholínu na nervovosvalovom spojení oboch extrafuzálnych aj intrafuzálnych vlákien, čím navodzuje periódu výrazne zmiernenej spastickej kontrakcie, počas ktorej môže fyzioterapeut intenzívnou rehabilitačnou liečbou dosiahnuť podstatné zlepšenie motorických schopností. Svojím pôsobením na intrafuzálne vlákna botulotoxín A znižuje patologickú aferentáciu do vyšších etáží CNS, čím prispieva k možnému spätno-väzbovému ovplyvneniu štruktúr generujúcich abnormálnu svalovú kontrakciu.

Pacienti po CMP s fokálnou spasticitou by mali byť v prvom rade indikovaný k lokálnej aplikácii botulotoxínu v kombinácii s rehabilitáciou.

Vstupné kritériá: [42]

- stredne ťažká až ťažká spasticita trvajúca najmenej 2 mesiace
- fokálna distribúcia spasticity
- po rehabilitačnej liečbe nedochádza k ďalšiemu zlepšeniu
- po aplikácii botulotoxínu je nutná účasť v aktívnom rehabilitačnom a liečebnom programe

Vyrad'ovacie kritériá:

- fixné kontraktúry a deformity kĺbov
- gravidita
- neuromuskulárne choroby
- antikoagulační liečba s INR nad 2.5

3.1.2 Aplikácia botulotoxínu

Pred zahájením liečby je vhodné stanoviť liečebné ciele, predpokladaný charakter funkčného zlepšenia a spôsoby hodnotenia účinku liečby. Lekár aplikuje botulotoxín do vybraných svalov na základe klinického vyšetrenia a kineziologickej analýzy, identifikovaných palpačným vyšetrením. Pri aplikácii do hlbších svalov končatín je nutné k presnému zacieleniu svalu alebo jednotlivých svalových fascikulov použiť elektromyografické vyšetrenie (EMG) a aplikáciu previesť pod EMG kontrolou. Veľkosť dávky a počet injekčných miest sa určí individuálne na základe typu a stupňa spasticity, počtu a lokalizácie postihnutých svalov, druhu preparátu, prítomnosti lokálnej svalovej slabosti a reakcie pacienta na predchádzajúcu liečbu. Aby sa zabránilo tvorbe protilátok proti botulotoxínu je potrebné podávať čo najnižšiu účinnú dávku, s minimálnym odstupom 12 týždňov. Botulotoxin A je pre klinickú prax dostupný pod predajným názvom Botox® (Allergan Inc., Irvine, California, USA) a Dysport® (Ipsen Limited, Slough, UK). Botulotoxin musí byť aplikovaný v dávkách, ktoré neprekračujú tzv. evidence-based stanovené maximálne dávky pri jednom terapeutickom sedení, tj. 7 U (jednotiek)/kg telesnej váhy pri Botoxe® a 30 MU (myšie jednotky)/kg telesnej váhy

pri Dysporte®. Jedna originálna ampulka Botoxu® obsahuje 100 U, ktoré je možné rozriediť do rôznych koncentrácií. Väčšinou sa používajú koncentráte 2-10 U/0.1ml. Nemalo by sa dávať viac ako 50 jednotiek na akékoľvek miesto a toxín sa musí riediť tak, aby nebolo injikovaných viac ako 0.25ml roztoku do každého miesta [41]. Ampulka Dysportu® obsahuje 500 MU, obvyklé používané riedenie je 2.5ml/ampulku. Pri spasticite hornej končatiny po CMP je odporúčaná dávka 1000 U, rozdelená medzi nasledovnými piatimi svalmi: musculus flexor digitorum profundus (FDP), flexor digitorum superficialis (FDS), flexor carpi ulnaris (FCU), flexor carpi radialis (FCR) a biceps brachii (BB). Odporúčané rozdelenie dávky uvádza tabuľka 4 (Ipsen Pharma DYSPORT). Umiestnenie injekcií sa má riadiť štandardným umiestnením používaným pri EMG, prípadne na základe palpačného nálezu. Do všetkých svalov sa podá injekcia do jedného miesta, okrem BB, kde sa podá do dvoch miest.

Tab. 4: Dávkovanie BTX A 500 U v 1 ampulke pri spasticite hornej končatiny po CMP

	BB	FDP	FDS	FCU	FCR	Celková dávka
BTX 500 U						
1 amp	300-400 U	150 U	150-250 U	150 U	150 U	1000 U

Vedľajšie účinky liečby botulotoxínom vznikajú väčšinou následkom difúzie do svalov, alebo iných štruktúr, ktoré sú v blízkosti injikovaného svalu. U pacientov liečených botulotoxínom pre spasticitu horných končatín po CMP sa môže vyskytnúť svalová slabosť končatín, dysfágia, náhodné poranenia (pády).

Po aplikácii botulotoxínu do svalov musí nasledovať **rehabilitačná liečba**, s využitím techniky propioceptívnej neuromuskulárnej facilitácie s využitím reflexne inhibičných pohybov a polohovania v antispastických vzorcoch, prípadne dlahovania. Pri každej návšteve je verifikovaný účinok predchádzajúcej aplikácie botulotoxínu pomocou cieleného klinického vyšetrenia, vyhodnotený podľa jednotlivých škál. Podmienkou pre pokračovanie v liečbe botulotoxínom je pozitívny účinok terapie v zmysle redukcie spasticity, zlepšenia poruchy motoriky, sebestačnosti, či zlepšenia kvality života pacienta.

U nás sú v súčasnosti dostupné viaceré preparáty s účinnou látkou botulotoxínu A (Botox®, Dysport®, Viastabel®) a jeden preparát, ktorého účinnou látkou je botulotoxín typu B (Neurobloc ®). Pomer dávky botulotoxínu A medzi preparátmi Dysport (firmy Beaufort Ipsen) a Botox (firmy Allergan) nie je konštantný, v prepočtoch je možné použiť 1 jednotku Botoxu za 3–5 jednotek Dysportu [7].

4. CIEĽ ŠTÚDIE

Na základe vyššie uvedených skutočností sme formulovali aj ciele našich štúdií:

1. Overiť účinnosť liečby BoNT-A na spasticitu hornej končatiny u pacientov po prekonanej cievnej mozgovej príhode.
2. Zhodnotiť vplyv liečby BoNT-A na spasticitu a následnú remodeláciu mozgového kortexu.
3. Dokumentovať tento predpokladaný efekt zmenami v aktivácii mozgovej kôry, preukázanými pomocou funkčnej magnetickej rezonancie.
4. Lokalizovať a posúdiť zmeny BOLD aktivácie mozgového kortexu indukované liečbou botulotoxinom A u sledovaných pacientov.

Zohľadňujúc vek v čase rozvoja cievnej mozgovej príhody a stupeň parézy sme pacientov rozdelili do 2 skupín. Prvá z nich predstavovala štyroch pacientov (dvoch mužov, dve ženy; vo veku 25.5 ± 3.4 rokov, v rozsahu 22 - 31) s hemiplégiou, druhou bola skupina piatich pacientov (štyroch mužov, jednu ženu, priemerného veku 67.0 ± 11.1 rokov, v rozsahu 54 - 80 rokov) s hemiparézou.

5. PŔVODNÉ PRÁCE

5.1 ZMENY KORTIKÁLNEJ AKTIVÁCIE V OBRAZE FUNKČNEJ MR NAVODENÉ LIEČBOU SPASTICITY PO CIEVNEJ MOZGOVEJ PRÍHODE BOTULOTOXÍNOM A.

Publikované:

Šenkárová Z, Hlušík P, Otruba P, Herzig R, Kaňovský P. Modulation of cortical activity in patients suffering from upper arm spasticity following stroke and treated with botulinum toxin A: an fMRI study. *J Neuroimaging* 2010;20:9-15.

5.1.1 Súbor a metodika

Náš súbor pozostával zo 4 pacientov (2 mužov, 2 žien; vo veku 25.5 ± 3.4 rokov, v rozsahu 22 - 31), ktorí boli vyšetrení a registrovaní v Iktovom centre Neurologickej kliniky, FN Olomouc, ČR v období od januára 2005 do januára 2007.

Do štúdie boli zaradení dospelí pacienti trpiaci distálnou spasticitou hornej končatiny (podľa Sheeanovej definície) následkom ischemickej cievnej mozgovej príhody, so stupňom spasticity 1+ a vyšším podľa modifikovanej Ashworthovej škály, ktorí boli schopní spolupracovať s lekárom pri vykonaní vyšetrení, bez anamnézy sluchového, či zrakového postihnutia, bez senzorickej afázie, motorickej alebo ideomotorickej apraxie, či kognitívneho deficitu a potom, čo vyjadrili súhlas s účasťou v štúdiu podpísaním informovaného súhlasu. Vylúčení boli pacienti so významným kognitívnym deficitom (MMSE 24 a menej) [43] a depresiou (podľa Zungovej škály [*Zung Self-rating Depression Scale, SDS*]) [44]. Na posúdenie rozsahu neurologického

postihnutia boli použité hodnotiace škály NIHSS (z pacientovej dokumentácie v úvode CMP), zmeny funkčného stavu po CMP hodnotené pomocou MRC (*modified MRC scale*) [45] a test Barthelovej k zhodnoteniu aktivity pri zaradení do štúdie.

U všetkých subjektov bola prítomná plégia a akrálna spasticita hornej končatiny (HK) v dôsledku cievnej mozgovej príhody s lokalizáciou ischemického ložiska v povodí arteria cerebri media, bez MR zobraziteľnej lézie motorického kortexu. Všetci zaradení pacienti boli v stabilizovanom stave, v čase od 2 do 11 mesiacov od vzniku CMP, v priemere 5,75, SD = 4,1 mesiacov.

Ischemická CMP bola u všetkých pacientov diagnostikovaná na základe anamnézy, klinického vyšetrenia a MR alebo CT vyšetrenia mozgu. U všetkých pacientov bolo na začiatku štúdie prevedené vyšetrenie MR s cieľom zistiť veľkosť a lokalizáciu ischemického ložiska (mozgového infarktu).

Základné charakteristiky vyšetrovanej skupiny pacientov uvádza tabuľka 5 a mapu lézií obrázok 1.

Protokol štúdie bol v súlade s Helsinskou deklaráciou z roku 1975 (v znení novely z 2000) a bol schválený Etickou komisiou našej nemocnice.

5.1.2 Behaviorálne testovanie

Mieru spasticity v rámci klinických vyšetrení sme hodnotili pomocou modifikovanej stupnice podľa Ashwortha [27]. K posúdeniu funkčného deficitu bol použitý špecializovaný rehabilitačný protokol zameraný na testovanie motorických

funkcií, ktorý bol špeciálne zostavený pre využitie v klinickej rehabilitácii za použitia vzorového protokolu metódy Gross Motor Function Measure (GMFM) [46].

Funkčné testy vykonával rehabilitačný lekár zaslepený v protokole a liečbe. Cílené klinické vyšetrenia boli v priebehu štúdie realizované dvakrát, v nultom týždni, kedy boli pacienti zaradení do štúdie a liečenia BoNT-A a týždni štvrtom, štyri týždne po injekcii BoNT-A.

5.1.3 Liečba

Pacienti boli liečení injekciami botulotoxínu A do postihnutých svalov a následne podstúpili intenzívnu rehabilitačnú terapiu (v závislosti od zostaveného rehabilitačného protokolu) po dobu 4 týždňov.

Aplikovaný botulotoxín A (BOTOX®, Allergan Inc, Irvine, CA) mal koncentráciu 50 U/ml. Výsledná dávka bola 200 U, rozdelená medzi nasledovnými štyrmi svalmi: musculus flexor carpi radialis, flexor carpi ulnaris, flexor digitorum superficialis a musculus flexor digitorum profundus. Postihnuté svaly sa injikovali jednorazovo, v nultom týždni, každú dávkou 50U do jedného miesta. K lokalizácii vybraných svalov bolo použité elektromyografické vedenie, s výhodou techniky elektrickej stimulácie.

Všetci pacienti boli na antiagregačnej liečbe, preto bola nutná po každej injekcii aspoň na jednu minútu digitálna kompresia nad miestom vpichu. Po pätnástich minútach bola vykonaná kontrola miesta vpichu.

Rehabilitačná liečba sa vykonávala v čase prijatia na oddelenie a opäť pokračovala na druhý deň po injekcii BoNT-A, dvakrát denne celkovo 2 hodiny. Protokol

rehabilitačnej liečby bol zostavený pred začiatkom štúdie a dôsledné dodržiavanie rehabilitačnej liečby vo vzťahu k protokolu bolo opakovane kontrolované počas liečby [46].

5.1.4 Úlohy

Jeden deň pred funkčným zobrazovaním mozgu sa testované subjekty naučili a precvičili si sekvenčný pohyb prstov zdravej ruky (podľa Rolandovej paradigmy), s frekvenciou približne jeden pohyb každú sekundu. Po dosiahnutí plynulého bezchybného výkonu s nepostihnutou rukou, boli účastníci štúdie požiadaní, aby si predstavili, že sa nacvičovaný pohyb uskutočňuje na plegickej končatine. Toto cvičenie je chápané ako mentálna stimulácia pohybu, spojená s centrálnym dráždením kinestetických buniek pri predstave pohybu [47]. Nasledujúci deň tesne pred vlastným fMRI vyšetrením si pacienti znovu krátko precvičili požadovanú úlohu.

Počas MRI vyšetrenia boli pohyby prstov vykonávané so zavretými očami, začiatok a koniec pohybových blokov bol signalizovaný akusticky prednahratými hlasovými inštrukciami (štart/stop) cez MR-kompatibilné slúchadlá. V blokovej paradigme, 15 s predstavy pohybu sa striedalo s 15 sekundovým kľudovým intervalom podľa hlasových povelov. Každý experimentálny beh pozostával z 12 opakovaní rovnakých blokov pohybu a pokoja, v celkovom trvaní 1 behu 6 minút.

U každého účastníka boli vyšetrené 2 takéto šesťminútové behy plegickou rukou. Rovnako ako klinické hodnotenia, funkčné MRI vyšetrenie sa opakovalo 2x: pred a 4 týždne po injekcii BoNT-A do spastickej HK.

5.1.5 Akvizícia fMRI dát

MRI dáta boli získavané pomocou MR prístrojov s magnetickým poľom 1,5 Tesla (Avanto a Symphony, Siemens, Erlangen, Nemecko) so štandardnou hlavovou cievkou. MR zobrazovací protokol snímal celý objem mozgu 30 axiálnymi rezmi s hrúbkou 5 mm, vrátane morfológických T1-vážených obrazov, poskytujúcich okamžitú šablónu pre funkčné dáta, ďalej FLAIR sekvencie (fluid-attenuated inversion recovery) pre vizualizáciu mozgových lézií, T2*-vážené funkčné (BOLD) snímky získané počas plnenia úloh a v čase pokoja, a 3D štruktúrne snímky vo vysokom rozlíšení (MPRAGE, magnetization-prepared rapid acquisition gradient echo).

BOLD snímky boli nasnímané za použitia gradient-echo EPI sekvencie, TR / TE = 2500/40 ms, FOV 220 mm, s rozlíšením 3.4 mm x 3.4 mm x 5 mm. 144 objemov bolo získaných každých 6 minút funkčného behu. Hlava vyšetřovaného subjektu bola znehybnená pomocou podušiek pre zaistenie maximálneho komfortu a minimalizácii pohybov hlavy. Vykonávanie úlohy a prítomnosť zrkadlových pohybov bolo monitorované vizuálne. Behy obsahujúce chyby boli prerušené a znova zopakované.

5.1.6 Analýza

Pred samotnou fMRI analýzou boli obrazové dáta dvoch pacientov s léziou pravej hemisféry stranovo prevrátené ľavo-pravým smerom, aby bola možná skupinová analýza pohybu postihnutou rukou [48].

K spracovaniu fMRI dát bol použitý program FEAT (fMRI Expert Analysis Tool) verzia 5.91, ktorá je súčasťou FSL (FMRIB je Software Library, www.fmrib.ox.ac.uk/

FSL).

Uplatnili sme nasledovné štatistické predspracovanie: korekciu pohybu s využitím MCFLIRT, [49] korekciu na časový posun náboru vrstiev (slice-timing) pomocou Fourierova priestoru časové rady s fázovým posunom, non-brain odstraňovanie pomocou BET, [50] priestorové vyhladenie s použitím Gaussovho filtra (FWHM 10mm), normalizáciu intenzity úplnej 4D dátovej sady jedným multiplikačným faktorom, high-pass filtráciu časového priebehu (Gaussian vážených najmenších štvorcov priliehajúce priamke, so $\sigma = 15,0$ s). Štatistické spracovanie bolo prevedené pomocou lineárneho modelu (FILM) s korekciou autokorelácie signálu [51]. Funkčné dáta boli normalizované do štandardného stereotaktického priestoru MNI s použitím FLIRT [49,52].

Skupinová analýza bola prevedená metódou FLAME (FMRIB's Local Analysis of Mixed Effects), iba stupeň 1 (t.j. bez konečného MCMC stupňa) [53, 54]. Ako výsledok analýzy boli vygenerované prahované štatistické Z-mapy s korigovanou hladinou významnosti $P=0,05$ [55].

5.1.7 Výsledky

5.1.7.1 Behaviorálne a klinické

BoNT-A liečba spôsobila zníženie spasticity horných končatín v celej skupine (priemerná zmena MAS bola 2,1, $P = 0,0013$, jednostranný párový t-test) 4 týždne po injekcii BTX. Priemerné MAS skóre v týždni 0 bolo 3,5 (SD 0,57), a v 4.týždni 1,38 bodov (SD 0,49). Žiaden z pacientov nemal klinické známky depresie (Zung) alebo kognitívneho deficitu (MMSE) počas štúdie.

5.1.7.2 Zobrazovacie výsledky

Výsledky pred BoNT-A liečbou

Skupinové výsledky pri predstave pohybu preukázali u pacientov pred BoNT-A liečbou aktiváciu rozsiahlej bilaterálnej siete kortikálnych oblastí zahrňujúcu: kontralaterálny primárny motorický kortex, suplementárnu motorickú oblasť (SMA), bilaterálny premotorický kortex, lobulus parietalis superior, precuneus/zadná cingulárna kôra, bazálne gangliá a ipsilaterálne cerebellum (Obrázok 2A).

Výsledky po BoNT-A liečbe

Po liečbe BoNT-A bola fMRI aktivácia vznikajúca v súvislosti s predstavou pohybu obmedzená na mediálnu a kontralaterálnu senzorickú a motorickú kôru. Žiadny signifikantný vzostup kôrovej aktivity nebol odhalený v prípade kontrastu post- > pre-BoNT-A. Na druhej strane porovnanie aktivity mozgu pred BoNT-A liečbou s aktivitou po liečbe BoNT-A preukázalo signifikantné zníženie ($P < 0.05$) aktivácie v oblasti zadnej cingulárnej kôry/precuneus (MNI koordináty: -8, -48, 0), (viz obr. 3).

5.1.8 Diskusia

Reparačné procesy hybných funkcií u pacientov po cievnej mozgovej príhode sa zvyčajne objavujú v priebehu týždňov a mesiacov po mozgovom poškodení. Je

preukázané, že základom aspoň časti reparačných schopností je jedna z najzaujímavejších vlastností šedej hmoty mozgu - funkčná reorganizácia centrálného nervového systému. Kôrová reorganizácia je prejavom neuronálnej plasticity [56].

Mozgová plasticita je pojem označujúci schopnosť mozgu adaptovať sa a meniť v priebehu času. Možno povedať, že štruktúra i funkcia mozgu nesie v sebe potenciál dynamickej premeny (Oxford English Dictionary) a naznačuje, že mozog je neustále reorganizovaný [56]. Výsledkom môžu byť pozitívne i negatívne zmeny. Adaptácia nemusí nutne viesť k reštitúcii, dokonca môže narušiť reziduálnu funkciu. Táto narušená plasticita, ktorá na rozdiel od fyziologickej reparačnej plasticity vedie k deformovanej senzitivno-motorickej reorganizácii je označovaná ako maladaptívna plasticita. Fenomén maladaptívnej plasticity mozgu bol spomínaný už v prácach venovaných dystónii, fantómovej bolesti končatiny po amputácii a allodýnii [57-59]. Vývoj spasticity po cievnej mozgovej príhode môže súvisieť s podobnými maladaptívnymi procesmi.

V našej štúdii zameranej na spasticitu horných končatín po cievnej mozgovej príhode sme testovali neuronálne koreláty medzi kortikálnou aktiváciou počas motorickej úlohy a zlepšením spasticity po liečbe botulotoxínom pomocou BOLD metódy fMRI. V skupine hemiplegických pacientov aktivovala predstava pohybov prstov rozsiahlu sieť mozgových oblastí zahrňujúcu kontralaterálnu motorickú kôru, doplnkovú (suplementárnu) areu, bilaterálnu premotorickú kôru a kôru lobulus parietalis superior, ktorá je totožná s oblasťou, aktivitu ktorej podmieňuje akcia vlastnej ruky [60].

Senzomotorické oblasti aktivovavné v súvislosti s liečbou BoNT-A pri porovnaní aktivity mozgu po liečbe BoNT-A a pred touto liečbou doložili redukciu v rozsahu a výraznejšiu lateralizáciu mozgovej aktivity v senzomotorickej oblasti po liečbe BoNT-

A (viz obr. 2), podobne ako už bolo popísané v minulosti [48,61]. Novým objavom bol relatívny pokles aktivity v zadnej časti cingulárnej kôry/kôry precuneu po liečbe botulotoxínom, v porovnaní s aktivitou pred touto liečbou.

Sme si vedomí limitácií našej štúdie, v neposlednom rade malým počtom pacientov, preto interpretácia našich funkčno-zobrazovacích dát musí prebiehať s opatrnosťou.

O pôvode aktivácie cingulárnej kôry pred liečbou BoNT-A je možné diskutovať. Nie je celkom jasné, či aktivita v zadnej cingulárnej kôre pred injekciou BoNT-A predstavuje lokálne zvýšenú aktiváciu, či funkčnú reorganizáciu ako výsledok adaptívnej kortikálnej plasticity po cievnej mozgovej príhode, alebo, či je vyvolaná špecifickými podmienkami potrebnými pre pokus o pohyb plegickou rukou. Podporným argumentom pre významnejšiu úlohu neuronálnej plasticity bol i nízky priemerný vek pacientov v našej skupine. Počas nášho náboru pacientov sa vyčlenila skupina mladších pacientov; mladší pacienti mali menej kontraindikácií pre aplikáciu botulotoxínu.

Jedným z možných vysvetlení je, že tieto zmeny reprezentujú uniformný vzorec aktivity pri poškodení mozgu ako formu maladaptácie na zvýšenú patologickú propioceptívnu aferentáciu (cestou Ia vlákien), ktorá zvyšuje plasticitu kortikálnych a subkortikálnych štruktúr, vedúcu k maladaptívnej reorganizácii týchto oblastí s následnou manifestáciou spasticity.

Za fyziologických podmienok, kôrový motorický systém pozostáva z množstva nezávislých paralelných motorických a senzomotorických okruhov, ktoré zahŕňajú primárnu motorickú kôru M1, dorzolaterálnu premotorickú kôru, doplnkovú motorickú kôru (supplementary motor area, SMA), cingulárne motorické oblasti (CMA) a hlboké štruktúry prepojené na kortikálnej úrovni a s projekciou do miešnych motoneurónov [62]. Za prítomnosti spasticity, môžeme predpokladať, že funkčný motorický okruh

riadiaci pohyb sa rozširuje a zahŕňa štruktúry mimo klasický motorický systém [63].

Útlm aktivity v zadnej cingulárnej kôre po účinnej terapii spasticity v našej štúdií môže nasvedčovať, že BoNT-A blokádu neurotransmisie na neuromuskulárnej platničke γ -motoneurónov mení patologické senzorické impulzy do centrálného nervového systému redukciou Ia aferentnej signalizácie a tým nepriamo inhibuje pre-existujúci spätnoväzbový model. Túto hypotézu potvrdzujú podobné predchádzajúce štúdie, ktoré skúmali centrálnu účinky liečby botulotoxínom za použitia techník ako PET a EMG, ktoré predpokladajú kôrovú reorganizáciu po liečbe BoNT-A u pacientov s fokálnou dystóniou [64-65].

Aj keď môžu existovať určité obavy, že spontánna regenerácia či zmeny súvisiace s funkčnou pohybovou rehabilitáciou by mohli mať vplyv na naše výsledky, je niekoľko dôvodov, prečo veríme, že nehrajú úlohu pri našich zisteniach. Jedným z nich je aj fakt, že najväčšie zmeny organizácie kortikálnych máp počas reparačných dejov po cievnej mozgovej príhode sa objavujú v období prvých niekoľkých mesiacov po začiatku CMP, aj keď sa zlepšovanie časom spomaľuje [66]. Všetci naši pacienti boli v chronickom štádiu pre reštitúciu motorických porúch po CMP a prvé vyšetrenie fMRI v našej štúdií nebolo vykonané skôr ako 12 týždňov po cievnej príhode. V chronickej fáze vývoja po CMP sú motorické mapy a pohybové stereotypy už zafixované, ako bolo znázornené aj v štúdií Johansen-Berg a spolupracovníci [67].

Rozhodli sme sa porovnať naše výsledky s niekoľkými prácami študujúcimi pomocou funkčných metód aktivitu mozgu u ľudí po CMP, ktoré sa pokúsili definovať zmeny zodpovedné za úspešnú rehabilitáciu pacientov po CMP, vrátane dvoch štúdií s hemiplegickými pacientami [2,68-72]. Analýzy v týchto štúdiách ukázali zmeny aktivity v senzomotorických oblastiach spojené s úspešnou rehabilitáciou [67], ale

nezaznamenali oblasť aktivity v zadnom cingule, na druhej strane sa ukázali zmeny neuronálnej aktivity v oblastiach v našich výsledkoch nezaznamenaných. (cerebellum, sekundárny somatosenzitívny kortex)

Cingulárna kôra, nazývaná tiež cingulum, leží nad corpus callosum a je hlavnou súčasťou limbického systému. Predná a zadná časť cingulárnej kôry má rôznu cytoarchitektúru a plní odlišné funkcie. Bolo dokázané, že predná cingulárna kôra, pozostávajúca z BA 25 a 24, zodpovedá predovšetkým za exekutívne funkcie, cielenú pozornosť, rovnako ako za visceromotorickú a somatomotorickú kontrolu a reakcie na škodlivé stimuly. Na druhej strane, zadná cingulárna kôra, ktorá zahŕňa BA 29, 30, 23 a 31, je spájaná s funkciami, ako je pracovná pamäť, kódovanie vizuomotorických úloh a extrapersonálneho priestoru, pamäťou pre priestorové vzťahy, dynamický presun priestorovej pozornosti a globálnu pozornosť [73-75]. Úloha zadného cingula však nebola doteraz celkom presne objasnená. Bol spomínaný v súvislosti s motorickým výkonom a zručnosťami [76-79].

Predstava o funkcii zadnej cingulárnej kôry v súvislosti s obnovou hybnosti po CMP bola v našej štúdií podložená znížením jej aktivácie indukovaným liečbou BoNT-A. Je pravdepodobné, že táto klasická súčasť limbického systému môže hrať úlohu pri príprave pohybu, počas abnormálnej propioceptívnej aferencie zo spastických svalov paretickej končatiny takto primárne ovplyvňujúcej klasické motorické štruktúry

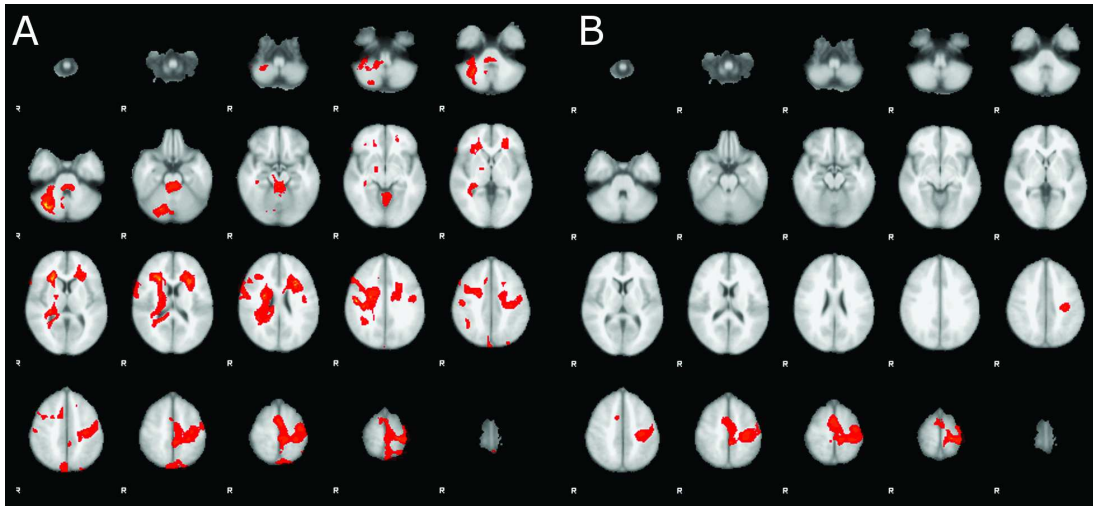
Tab. 4.: Demografické a klinické dáta pacientov

Pacient č.	Pohlavie M/Ž	Vek (roky)	Strana lézie	Lokalizácia lézie	Dominancia ruky
1	M	31	P	thalamus, capsula, BG	N
2	M	22	Ľ	BG, capsula	D
3	Ž	24	Ľ	thalamus, BG, capsula	D
4	Ž	25	P	thalamus, capsula, BG	N
Súhrn	2M/2Ž	25.5±3.4	2L/2P	heterogénna	2D/2N

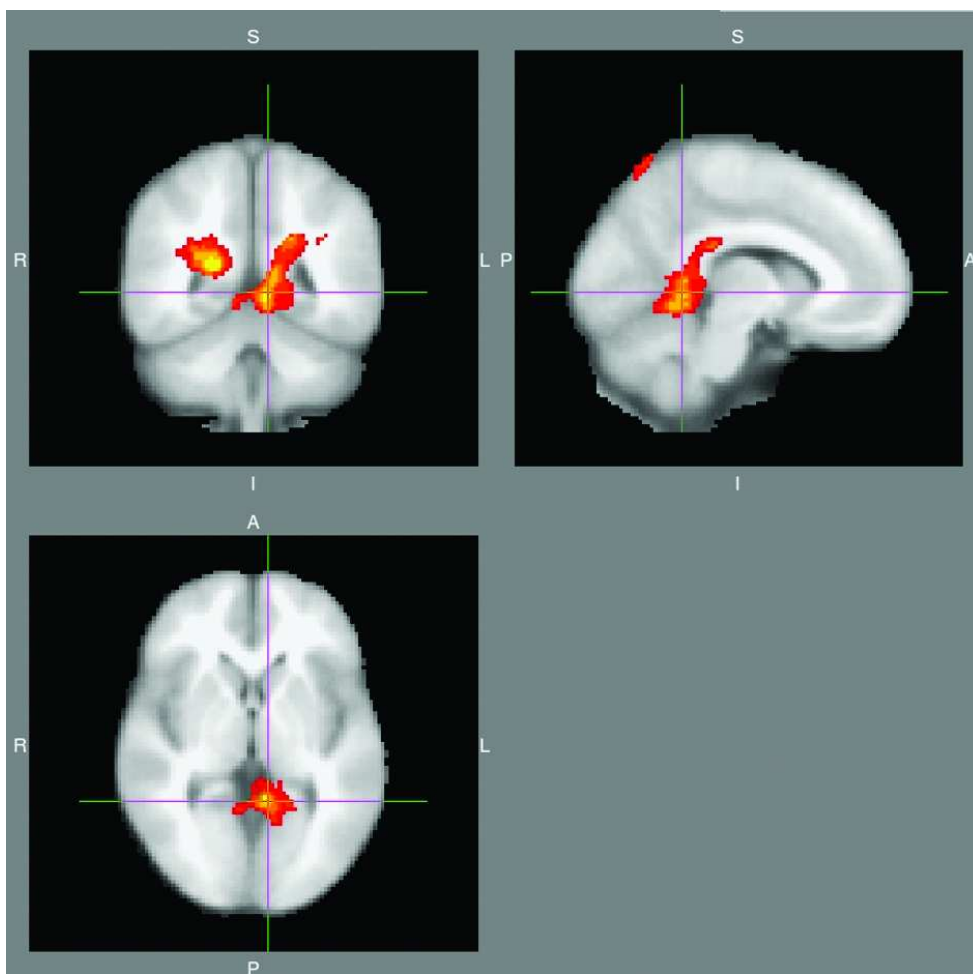
M = mužské, Ž = ženské, P = pravá, Ľ = ľavá, N = postihnutá nedominantná končatina, D = postihnutá dominantná končatina



Obr. 1.: Lokalizácia lézií u jednotlivých pacientov zobrazená na axiálne Talairachovej šablóne (z = +12mm).
90x115mm (300 x 300 DPI)



Obr. 2.: Priemerná skupinová aktivácia motorického systému počas predstavy pohybu prstov pred liečbou spasticity HK BoNT-A (A) a po liečbe BoNT-A(B). Pravá strana mozgu je zobrazená naľavo. 165x76mm (300 x 300 DPI)



Obr. 3.: Účinok BoNT-A liečby so signifikantným znížením aktívácie v oblasti zadnej cingulárnej kôry/precuneus po liečbe BoNT-A (skupinový post-hoc kontrast v pozadí s MNI šablónou). Pravá strana mozgu je zobrazená vľavo. 80x78mm (300 x 300 DPI)

5.2 ZMENY AKTIVÁCIE MOTORICKÝCH A SOMATOSENZORICKÝCH ŠTRUKTÚR MOZGU V OBRAZE FUNKČNEJ MR NAVODENÉ LIEČBOU SPASTICITY BOTULOTOXÍNOM.

Publikované:

Tomášová Z, Hlušík P, Král M, Otruba P, Herzig R, Krobot A, Kaňovský P. 2011. Cortical Activation Changes in Patients Suffering from Post-Stroke Arm Spasticity and Treated with Botulinum Toxin A. *J Neuroimaging*.

5.2.1 Súbor a metodika

Náš súbor pozostával z 5 pacientov (4 mužov, 1 ženy, priemerného veku 67.0 ± 11.1 rokov, v rozsahu 54 - 80 rokov), ktorí boli vyšetrení a registrovaní v Iktovom centre Neurologickej kliniky, FN Olomouc, ČR.

Do štúdie boli zaradení dospelí pacienti s hemiparézou, trpiaci distálnou spasticitou hornej končatiny (podľa Sheeanovej definície) ako následok ischemickej cievnej mozgovej príhody, so stupňom spasticity 1+ a vyšším podľa modifikovanej Ashworthovej škály, ktorí boli schopní spolupracovať s lekárom pri vykonaní vyšetrení, bez anamnézy sluchového, či zrakového postihnutia, bez senzorickej afázie, motorickej alebo ideomotorickej apraxie, či kognitívneho deficitu a potom, čo vyjadrili súhlas s účasťou v štúdiu podpísaním informovaného súhlasu. Vylúčení boli pacienti so významným kognitívnym deficitom (MMSE 24 a menej) [43] a depresiou (podľa Zungovej škály, *Zung SDS*) [44]. Na posúdenie rozsahu neurologického postihnutia následkom CMP a jeho dopadu na funkčné schopnosti pacienta boli použité nasledovné hodnotiace škály - NIHSS (z pacientovej dokumentácie v úvode CMP), skóre k posúdeniu motorických schopností pomocou MRC (*modified MRC scale*) -

hodnotenie svalovej sily podľa Medical Research Council [45] a test Barthelovej (Barthel index) k zhodnoteniu schopnosti každodenných činností pri zaradení do štúdie.

U všetkých subjektov bola prítomná akrálna spasticita hornej končatiny (HK) v dôsledku cievnej mozgovej príhody s lokalizáciou ischemického ložiska v povodí arteria cerebri media, bez MR zobraziteľnej lézie motorického kortexu. Všetci zaradení pacienti boli v stabilizovanom stave, v čase od 9 do 21 mesiacov od vzniku CMP, v priemere 14,0, SD = 4,0 mesiacov.

Všetci pacienti sa podrobili kompletnej neinvazívnej neurologickej diagnostike, ktorá pozostávala z klinického vyšetrenia, vrátane detailnej anamnézy a MR alebo CT vyšetrenia mozgu. Na začiatku štúdie bolo u všetkých pacientov prevedené vyšetrenie MRI s cieľom zistiť veľkosť a lokalizáciu mozgového infarktu.

Základné charakteristiky vyšetrovanej skupiny pacientov uvádza tabuľka 5 ($x \pm SD$) a mapu lézií obrázok 4.

Protokol štúdie bol v súlade s Helsinskou deklaráciou z roku 1975 (v znení novely z 2000) a bol schválený Etickou komisiou našej nemocnice.

5.2.2 Behaviorálne testovanie

Mieru spasticity v rámci klinických vyšetrení sme hodnotili pomocou modifikovanej stupnice podľa Ashwortha [27]. K posúdeniu funkčného deficitu následkom poškodenia nervového systému bol použitý špecializovaný rehabilitačný protokol zameraný na testovanie motorických funkcií. Bol špeciálne zostavený pre využitie v klinickej rehabilitácii za použitia vzorového protokolu metódy (systemu) Gross Motor Function Measure (GMFM) [46].

Funkčné testy vykonával rehabilitačný lekár zaslepený v protokole a liečbe. Cielené klinické vyšetrenia boli realizované v priebehu štúdie trikrát, v nultom týždni, kedy boli pacienti zaradení do štúdie a liečeni BoNT-A, následne v štvrtom a jedenástom týždni po injekcii BoNT-A (keď sa očakáva maximálny účinok botulotoxínu a po jeho vymiznutí).

Za predpokladu, že účinky fyzioterapie sa budú postupne v priebehu času vyvíjať, táto longitudinálna štúdia, vo svojom dizajne ich umožňuje oddeliť od prechodného účinku BoNT-A, ako je znázornené na obr. 6. Pokiaľ sa klinický alebo obrazový parameter zmení od 1. fMR merania do 2. a 3. merania, liečebný efekt v čase 2. merania (rozdiel S2-S1) môže byť rozložený na prechodný účinok BoNT a progresívny účinok času a rehabilitáciu (RHB) využitím špecifického štatistického kontrastu (pozri Analýza dát).

5.2.3 Liečba

Všetci pacienti boli liečení injekciami botulotoxínu A intramuskulárne do postihnutých svalov v týždni nultom, vždy po fMRI vyšetrení. Následne podstúpili intenzívnu rehabilitačnú terapiu (v závislosti od zostaveného rehabilitačného protokolu) po dobu 4 týždňov.

BoNT-A injekcie boli vykonané podľa WE MOVE odporúčaní, a to na základe predchádzajúcich klinických skúseností našich a ďalších vyšetrujúcich [80-81].

Botulinum toxín A (BOTOX®, Allergan Inc, Irvine, CA) bol použitý na prípravu roztoku s koncentráciou 50U/ml. Štyri najviac postihnuté svaly - musculus flexor carpi radialis, flexor carpi ulnaris, flexor digitorum superficialis a musculus flexor digitorum

profundus boli injikované každý dávkou 50U. Do všetkých svalov sa podávala injekcia do jedného miesta pod elektromyografickou kontrolou, s využitím elektrickej stimulácie pre lokalizáciu svalu, ktorý sa mal liečiť.

Všetci piati pacienti boli na antiagregačnej liečbe, preto bola nutná po každej injekcii aspoň na jednu minútu digitálna kompresia nad miestom vpichu. Po pätnástich minútach bola vykonaná kontrola miesta vpichu.

Rehabilitačná liečba s cieľom ovplyvniť spasticitu paretickej hornej končatiny sa vykonávala v čase prijatia na oddelenie a opäť pokračovala na druhý deň po injekcii BoNT-A, dvakrát denne celkovo 1 hodinu. Základom rehabilitačného programu u všetkých pacientov boli metódy na neurofyziologickom podklade, predovšetkým kombinácia konceptu manželov Bobathových a PNF (proprioceptívnej neuromuskulárnej facilitácie).

Lôžková fyzioterapia (4 týždne) bola nasledovaná ambulatnou rehabilitačnou starostlivosťou až do tretieho klinického a fMRI hodnotenia (celkom 11 týždňov). Protokol rehabilitačnej liečby bol zostavený pred začiatkom štúdie a dôsledné dodržiavanie rehabilitačnej liečby vo vzťahu k protokolu bolo opakovane kontrolované počas meraní [46].

5.2.4 Úlohy

Jeden deň pred funkčným zobrazovaním mozgu sa testované subjekty naučili a precvičili si sekvenčný pohyb prstov paretickej ruky (podľa Rolandovej paradigmy) [82], s frekvenciou približne jeden pohyb každú sekundu. Nasledujúci deň si pacienti pred vlastným MRI vyšetrením znovu krátko precvičili požadovanú úlohu.

V MRI skeneri boli pohyby rúk vykonávané so zavretými očami, začiatok a koniec pohybových blokov bol signalizovaný ústne prednahratými hlasovými inštrukciami (štart / stop) cez MR-kompatibilné slúchadlá. V blokovej paradigme, 15 s pohybu sa striedalo s 15 s kľudovým intervalom podľa hlasových povelov. Každý experimentálny beh pozostával z 12 opakovaní rovnakých blokov pohybu a pokoja, v celkovom trvaní 1 behu 6 minút.

U každého účastníka boli vyšetrené 2 takéto šesťminútové behy paretickou rukou. Rovnako ako klinické hodnotenia funkčné MRI vyšetrenie sa opakovalo 3x: pred, 4 a 11 týždňov po injekcii BTX do spastickej HK.

5.2.5 Akvizícia fMRI dát

MRI dáta boli získavané pomocou MR prístrojov s magnetickým poľom 1,5 Tesla (Avanto a Symphony, Siemens, Erlangen, Nemecko) so štandardnou hlavovou cievkou. MR zobrazovací protokol snímal celý objem mozgu 30 axiálnymi rezmi s hrúbkou 5 mm, vrátane morfológických T1-vážených obrazov s vysokým rozlíšením poskytujúcich podklad pre funkčné dáta, ďalej FLAIR sekvencie (fluid-attenuated inversion recovery) pre vizualizáciu mozgových lézií, T2 *-vážené funkčné (BOLD) snímky získané počas plnenia úloh a v čase pokoja, a 3D štruktúralne snímky vo vysokom rozlíšení (MPRAGE, magnetization-prepared rapid acquisition gradient echo).

BOLD snímky boli nasnímané za použitia gradient-echo EPI sekvencie, TR / TE = 2500/40 ms, FOV 220 mm, s rozlíšením 3.4 mm x3.4 mm x5 mm. 144 objemov bolo získaných každých 6 minút funkčného behu. Hlava vyšetřovaného subjektu bola znehybnená pomocou podušiek pre zaistenie maximálneho komfortu a minimalizácii

pohybov hlavy. Vykonávanie úlohy a prítomnosť zrkadlových pohybov bolo monitorované vizuálne. Behy obsahujúce chyby boli prerušené a znova zopakované.

5.2.6 Analýza

Pred samotnou fMRI analýzou boli obrazové dáta jedného pacienta s léziou pravej hemisféry stranovo prevrátené ľavo-pravým smerom, aby bola možná skupinová analýza pohybu postihnutej rukou [48]. K spracovaniu fMRI dát bol použitý program FEAT (fMRI Expert Analysis Tool) verzia 5.98, ktorá je súčasťou FSL (FMRIB Software Library, www.fmrib.ox.ac.uk / FSL). V rámci procesu predspracovania nameraných dát sme uplatnili nasledovné kroky: korekciu pohybu s využitím MCFLIRT, [49] korekciu na časový posun náboru vrstiev (slice-timing) pomocou Fourierova priestoru časové rady s fázovým posunom, non-brain odstraňovanie pomocou BET, [50] priestorové vyhladenie s použitím Gaussovho filtra (FWHM 10mm), normalizáciu globálnej intenzity úplnej 4D dátovej sady jedným multiplikačným faktorom, high-pass filtráciu časového priebehu (Gaussian vážených najmenších štvorcov priliehajúce priamke, so $\sigma = 15.0s$). Štatistické spracovanie bolo prevedené pomocou lineárneho modelu (FILM) s korekciou autokorelácie signálu. [51] Funkčné dáta boli normalizované do štandardného stereotaktického priestoru MNI s použitím FLIRT [49,52,83].

Skupinová analýza bola prevedená metódou FLAME (FMRIB's Local Analysis of Mixed Effects), stupeň 1+2 s automatickou detekciou odľahlých hodnôt. [53,54]. Ako výsledok analýzy boli vygenerované prahované štatistické Z-mapy s korigovanou hladinou významnosti $P=0,05$ [54-55].

Štatistické Z obrazy (T/F skóre v Gaussovom rozdelení, contrast target vs frequent)

sme prahovali pomocou klastrov na korigovanej hladine štatistickej významnosti $p = 0,05$ [55]. Táto analýza vytvorila skupinu priemerných aktiváčnych máp pre každé z troch meraní. Okrem toho boli rozdiely vo veľkosti aktivácia (BOLD efektu) medzi meraniami testované pomocou post-hoc lineárnych kontrastov (párové t-testy). Efekt liečby BoNT nezávislý na čase (pozri obrázok 5), bol testovaný pomocou špecifických post-hoc lineárnych kontrastov, porovnávajúc vážený priemer sedení 1 a 3 (S_2), so sedením 2, s použitím časovej vzdialenosti od relácie 2 ako váhy : $S_2 = (7 * 4 * S_1 + S_3) / 11$ v porovnaní s S_2 .

5.2.7 Výsledky

5.2.7.1 Behaviorálne a klinické

BoNT liečba spôsobila zníženie spasticity horných končatín v celej skupine (priemerná zmena MAS od východiskovej hodnoty bola 0,6, $P = 0,07$, jednostranný párový t-test) 4 týždne po injekcii BoNT. Priemerné MAS skóre bolo nasledovné: v týždni 0: 2,3 (SD 0,67), v týždni 4: 1,7 bodov (SD 0,27) a na 11. týždeň: 2,2 bodov (SD 0,45). MAS skóre v týždni 11 sa významne nelíšili od týždňa 0 (MAS zmena 0,1, $p = 0,352$, jednostranný párový t-test). Vizuálna kontrola neodhalila prítomnosť významných zrkadlových pohybov. Žiaden z pacientov nemal klinické známky depresie (Zung) alebo kognitívneho deficit (MMSE) počas štúdie.

5.2.7.2 Zobrazovacie výsledky

Výsledky pred BoNT-A liečbou

Štatistické mapy zo skupinovej analýzy získané počas pohybu postihnutou rukou pred BoNT-A liečbou ukázali rozsiahlu účasť aktívnych oblastí v oboch hemisférach, zahrňujúcu: primárnu motorickú kôru kontralaterálne k ruke, ktorá daný pohyb vykonávala, suplementárnu motorickú areu, bilaterálny premotorický kortex, lobulus parietalis superior a bazálne gangliá (obr. 6A).

Výsledky po BoNT-A liečbe

Po liečbe BoNT-A bola fMRI aktivácia vznikajúca počas pohybu rukou obmedzená na strednú čiaru a kontralaterálnu senzorickú a motorickú kôru (obr. 6B). Počas vyšetrenia 3 (11 týždň), sa aktivovala rovnaká neuronálna sieť senzomotorických kôrových oblastí veľmi podobne ako pri vyšetrení pred BoNT-A liečbou (obr. 6C). Vizuálna kontrola naznačila niekoľko oblastí s odlišnou aktiváciou medzi vyšetrením 1 (pred liečbou) a 3 (off-BoNT), viacmenej priame porovnanie s použitím párového t-testu dokladá, že sa topografia aktivovaných miest (BOLD odozva) signifikatne nelíši.

V skupinových dátach, aktivačná mapa u pacientov po liečbe BoNT-A v porovnaní s aktivitou mozgu pred liečbou (vyšetrenie 1) a po vymiznutí účinku BoNT-A (vyšetrenie 3) preukázala prechodnú skríženú aktivitu mozočka (fyziologickú), chýbajúca pri pre- a off-BoNT vyšetrení. Na druhej strane kontrast pre- > post-BTX detekoval signifikantný pokles ($P < 0.05$) aktivácie v rozsiahlej kontralaterálnej sieti kortikálnych oblastí po liečbe BoNT-A tvorenej dorzolaterálnou oblasťou prefrontálnej kôry (DLPFC), lobulus parietalis inferior, premotorickou kôrou, ďalej kôrou gyrus

frontalis inferior (Brocova area) a gyrus postcentralis (tabuľka 6). Najsilnejší hotspot nájdený v DLPFC je zobrazený na obrázku 7.

5.2.8 Diskusia

Pokusy na zvieratách aj klinické skúsenosti čoraz viac preukazujú reorganizáciu vo viacerých mozgových štruktúrach, ktorá nastupuje paralelne s deficitmi po CMP [56, 84-85]. Tieto zmeny môžu byť zdá sa ako prospešné, ktoré sú základom obnovy a zároveň škodlivé, tj. môžu zhoršiť reziduálnu funkciu (tzv. maladaptívna plasticita). K príkladom maladaptívnej plasticity mozgu patrí dystónia, fantómové bolesti končatiny po amputácii, a alodýnia, prípadne tiež rozvoj bolesti a spasticity po cievnej mozgovej príhode [57-59].

V našej súčasnej štúdii, vychádzajúc z predchádzajúcej práce sme s využitím funkčnej MR posudzovali fenomén neuroplasticity vyskytujúci sa v súvislosti so spasticitou po CMP a vo vzťahu k funkčnému zlepšeniu indukovanému liečbou botulotoxínom [86].

Predtým sme korelovali zmeny aktivácie mozgového kortexu súvisiace s botulotoxínovou liečbou spasticity v skupine hemiplegických pacientov po CMP [86]. Táto štúdia však predstavovala niekoľko obmedzení: V prvom rade, pri hemiplégii je motorická úloha spojená s navodením mentálnej simulácie pohybu, čo je ťažké skontrolovať. Za druhé, dizajn štúdie dvoch vyšetrení neumožňoval úplné oddelenie liečebného účinku botulotoxínu od možných skresľujúcich účinkov času a rehabilitácie. So zreteľom na tieto obmedzenia, v terajšej štúdii sme hodnotili zmeny v kortikálnej aktivácii u pacientov so zachovaným pohybom ruky skúmaným v 3 fMRI sedeniach, t.j.

pridaním tretieho vyšetrenia v časovom okamihu, keď vymizne účinok BoNT-A. Tento prístup umožňuje oddeliť prechodné (BoNT-A) a postupné (rehabilitácia, regenerácia) zmeny, ako je popísané v metódach a je znázornené na obrázku 5, a mali by umožniť presnejšiu lokalizáciu centrálnych procesov indukovaných liečbou spasticity botulotoxínom.

V každom sedení sa zistilo, že pohyby prstov paretickej ruky aktivovali rozsiahlu neuronálnu sieť tvorenú dobre popísaným frontoparietálnym senzomotorickým systémom, pričom najvýznamnejšie oblasti aktivácie boli nájdené v kontralaterálnej motorickej kôre, doplnkovej motorickej kôre, bilaterálnej premotorickej kôre a lobulus parietalis superior a inferior.

Analýza zo všetkých vyšetrení identifikovala tri nasledujúce oblasti, kde došlo k signifikantnej zmene fMRI signálu vplyvom účinnej terapie BoNT-A: „klasické“ motorické kôrové oblasti (primárna motorická a somatosenzorická kôra, premotorická kôra), kde bol pozorovaný signifikantný pokles fMRI aktivity, kôrové oblasti spracúvajúce najmä kognitívne aspekty pohybovej kontroly a plánovania (DLPFC, Brockova oblasť) a mozoček (s prechodnou skríženou aktiváciou pri 2. vyšetrení)..

V prvom rade, vplyvom BoNT-A liečby bola v našej skupine pacientov zaznamenaná signifikantná redukcia a výraznejšia lateralizácia aktivácie v oblasti senzomotorickej kôry (Obrázok 5), známa aj z predošlých štúdií venovaných motorickej obnove po CMP [48, 61]. Neuronálne podklady rozdielnej kôrovej aktivity indukované liečbou spasticity botulotoxínom A u pacientov po cievnej mozgovej príhode v analogickej štúdií vyšetrovali autori Manganotti a spolupracovníci, kde obdobne pozorovali trend smerom k normalizácii pohybom vyvolanej aktivácie mozgu [87]. Avšak, existujú viaceré metodologické rozdiely medzi našou štúdiou a autorov

Manganotti et al., ktoré obmedzujú podrobnejšie porovnanie ich výsledkov: po prvé, Mang. štúdia obsahovala dve vyšetrenia a žiadnu rehabilitáciu; naša štúdia zahŕňala tri vyšetrenia a súčasne rehabilitáciu. Po druhé, uvedení autori použili pri štatistickej analýze fMRI aktivácie intraindividuálnu analýzu (jednotlivca), prahovanie a sčítavanie voxelov. To umožňuje pozorovanie jednotlivých účinkov, ale prahovanie na úrovni jednotlivcov je senzitivne na iné zdroje variability BOLD signálu okrem liečebného účinku aj u zdravých jedincov, a tak ešte viac u pacientov. Naopak, v našej štúdii sme zvolili bežnejšiu skupinovú analýzu s použitím spoločného anatomického priestoru a kontrasty medzi meraniami boli vykonané ako priame štatistické porovnanie veľkosti aktivácie (BOLD efektu) medzi meraniami, čo je považované za viac robustné. Navyše, v štúdii autorov Manganotti et al. boli v porovnaní s našou štúdiou zaradení okrem pacientov s prekonaným mozgovým infarktom pacienti s intracerebrálnym krvácaním. Depozity hemosiderínu by mohli byť príčinou (nežiadúcej) variability BOLD signálu. Na druhej strane v našej práci chýbala EMG-fMRI koregistrácia, takže nemôžeme posúdiť navrhovanú úlohu svalových synkinéz a ko-kontrakcie v pozorovanej aktivácii rozsiahlejších častí senzomotorických kôrových oblastí [87]. Napriek tomu, existuje viacero argumentov proti dominantnej úlohe tohto konkrétneho faktora: zvýšenú aktivitu senzomotorickej kôry pri hemiparéze po CMP potvrdilo aj viacero predchádzajúcich fMRI štúdií zameraných na túto problematiku aj pri absencii významnej spasticity a ko-kontrakcií [48,61].

Navyše, podobný efekt nárastu aktivácie sme preukázali aj v priebehu predstavy pohybu u hemiplegických pacientov po CMP [88]. Napokon zvýšená aktivácia bola popisovaná tiež u iných neurologických ochorení s motorickým deficitom, ale bez zjavných synkinéz a ko-kontrakcií, ako roztrúsená skleróza a amyotrofická laterálna

skleróza. Preto zvýšená aktivácia senzomotorických kôrových oblastí sa zdá byť všeobecnejším kompenzačným modelom za prítomnosti motorického deficitu.

Je potrebné uviesť, že štatistické mapy zo skupinovej analýzy pred BoNT-A liečbou (vyšetrenie 1) (Obrázok 6A) a po vymiznutí účinku BoNT-A (Obrázok 6C) demonštrujú viditeľné rozdiely vo vzorcoch aktivácie, ktoré sú v protiklade s absenciou signifikantných rozdielov zistených priamym štatistickým porovnaním. Hoci skupinové štatistické mapy môžu navrhovať všeobecné trendy pre rozdiely a zmeny, ich priestorové vzorce môžu preháňať malé rozdiely cez použitie prahovania (aj keď je to nutné); aktivácia v určitej oblasti môže byť mierne nadprahová v jednom stave a mierne podprahová v inom, pričom použitie prahovania mení tento tento pomerne malý kvantitatívny rozdiel v nápadný kvalitatívny aktívno-neaktívny rozdiel.

Druhým významným výsledkom našej štúdie je nález relatívne zníženej aktivácie v kontralaterálnej frontoparietálnej sieti kôrových oblastí po liečbe BTX s hotspots zahrňujúc (v poradí klesajúcej významnosti) gyrus frontalis inferior, gyrus postcentralis a gyrus frontalis medius/dorzolaterálna prefrontálna kôra.

Ako už bolo uvedené, pohyby spasticitou postihnutej končatiny aktivovali extenzívnu prevažne bilaterálnu sieť kôrových oblastí v primárnych a non-primárnych senzitivno-motorických oblastiach počas testovanej motorickej úlohy. Predpokladá sa, že doplnková (suplementárna) motorická area a premotorická kôra sú zapojené do motorických funkcií vyššieho rádu, ako je plánovanie akcií, koordinácia a načasovanie vôľových pohybov a tieto oblasti sú vysoko prepojené navzájom aj medzi oboma hemisférami. Okrem uvedených očakávaných výsledkov, je možné špekulovať o pôvode nadmernej aktivácie gyrus frontalis inferior, postcentrálneho gyru a gyrus frontalis medius/dorzolaterálny prefrontálny kortex. Tieto pozorovania naznačujú, že

zmena aktivácie kôrových oblastí, ktoré dovtedy neboli zapojené do špecifickej funkcie je indukovaná vykonávaním úlohy využívajúcej poškodené kortikálne reprezentácie alebo siete. To tiež môže znamenať vznik všeobecne nežiadúcich vzorcov pohybu v poškodenom mozgu ako prejav maladaptívneho kompenzačného mechanizmu sprostredkovaného trvalým zvýšením patologickej proprioceptívnej aferentácie (Ia vláknami) v teréne spasticity. S liečbou súvisiaca alterácia alebo potlačenie tejto formy kortikálnej „plasticity“ môže signalizovať schopnosť BoNT-A indukovať dočasnú normalizáciu extenzívnej kortikálnej aktivácie spomínaných kôrových oblastí, zatiaľ čo prechodne vedie k obnoveniu predpokladanej aktivácie mozočka.

Medzi hlavné motorické oblasti mozgovej kôry patrí vo frontálnych lalokoch primárna motorická kôra, premotorická kôra, doplnková (suplementárna) motorická kôra – označuje sa SMA a cingulárne motorické oblasti (CMA), prepojené na kortikálnej úrovni a s projekciami k motoneurónom chrbticovej miechy [62]. Za patologických podmienok, pri poškodení mŕtvicou, zasahujúcom štruktúry motorického systému, sa predpokladá, že funkčné okruhy riadiace pohyb sa rozšíria a budú zahŕňať štruktúry mimo klasický motorický systém [63]. Dynamické zmeny v intenzite už existujúcich spojení v distribuovaných neurónových sieťach, s úlohou súvisiace zmeny kortiko-kortikálnej a kortiko-subkortikálnej spojitosti a modifikácie mapovania medzi behaviorálnou a neurálnou aktivitou sa uskutočňujú v reakcii na zmeny v aferentných vstupoch alebo eferentnej požiadavky. Taktiež rýchle prebiehajúce zmeny môžu byť nasledované vytvorením nových spojení prostredníctvom rastu a arborizácie dentritických vetvičiek. Avšak nesú zo sebou riziko vzniku nežiadúcich vzorcov pohybu. Kortikálna plasticita predstavuje mechanizmus pre vývoj a učenie, rovnako tak môže byť príčinou patológie [89].

Liečbou navodená normalizácia aktivácie v kontralaterálnej frontoparietálnej kortikálnej sieti, demonštrovaná v našej štúdiu, môže byť interpretovaná schopnosťou BoNT-A indukovať normalizáciu a moduláciu procesov spracovania senzomotorických informácií na úrovni mozgovej kôry. Tento účinok je možné vysvetliť redukciou Ia aferentných signálov, sprostredkovanou blokádou neuromuskulárnej junktie γ -motoneurónov a tým je nepriamo inhibovaný už existujúci spätnoväzbovo navodený režim spacovania. Týmto spôsobom dochádza k alterácii narušenej senzorickej signalizácie do centrálného nervového systému. Tento koncept je v súlade s recentnými štúdiami testujúcimi centrálnu účinky BoNT-A liečby u pacientov s fokálnou dystóniou použitím techník ako EMG, PET a fMRI, ktorých výsledky naznačujú centrálnu reorganizáciu následkom liečby týmto neurotoxinom [63-64,90].

Jedným z cieľov našej štúdie bolo umožniť analýzu účinku BoNT-A nezávisle od možných súbežne prebiehajúcich procesov spontánnej funkčnej obnovy a motorických zmien súvisiacich s rehabilitáciou, ako už bolo popísané. Je teda možné vyvodzovať, že naše pozorovanie zmien vzorca je pravdepodobnejšie spojené s reliéfom spasticity, než so súbežnou fyzikálnou terapiou.

Brodmannove oblasti (BA) 44 a 45 v ľavostrannom gyrus frontalis inferior tvoria Brocovu oblasť, klasicky považovanú za oblasť zodpovednú za produkciu reči. Liečbou botulotoxínom typu A navodená deaktivácia Brocovej oblasti môže byť prekvapujúca. V poslednom čase, viacero experimentov ukázalo, že Brocova oblasť neslúži len tvorbe reči, ale je zapojená v mnohých rôznych kognitívnych a percepčných ako aj motorických úlohách, nie bezpodmienečne v súvislosti s rečou. Okrem jazykovej funkcie je dôležitým prínosom účasť BA 44 v motorickej oblasti a motorickými procesmi [91]. Niekoľko štúdií, ktoré funkčnými metódami vyšetrovali aktiváciu

kôrových oblastí mozgu pri realizácii úchopu a pri manipulácii (s predmetmi), zaznamenalo významnú aktiváciu BA 44 [92-94].

Dorzolaterálna prefrontálna kôra (DLPFC) je asociačná oblasť čelového laloka, jej súčasťou sú Brodmannove oblasti 9 a 46 s odlišným cytoarchitektonickým charakterom a odlišnými prepojeniami ako ostatné viac posteriórne motorické kôrové oblasti frontálneho laloka. Okrem dobre známych funkcií ako účasť pri tzv pracovnej pamäti (working memory), na exekutívnych funkciách a motorickom programovaní, bola rôznymi pozorovaniami z predošlých štúdií dokumentovaná súvislosť DLPFC aj s motorickou činnosťou a motorickými schopnosťami [95]. Za prítomnosti spasticity, je možné interpretovať uvedenú aktiváciu ako kompenzátny mechanizmus pacientov v snahe vyrovnať sa s náročným testovaným sekvenčným pohybom prstov ruky, so zapojením Brocovej oblasti a DLPFC. Jedným z vysvetlení, ku ktorému sa prikláňame je, že sa frontálne kôrové oblasti môžu zapojiť do plánovania pohybu, keď sú klasické motorické štruktúry facilitované abnormnou propioceptívnou aferenciou zo spastických svalov paretickej HK.

Napokon, prechodná (fyziologická) cerebelárna aktivácia detekovaná v našej štúdii počas 2. vyšetrenia (session), môže vyplývať zo zlepšenia motorických funkcií v spojení s relatívnou „normalizáciou“ aktivácie motorického systému v tom čase. To môže súvisieť s hláseným (referovaným) zapojením mozočka , keď sa aktivácia motorického systému približuje k normálnemu aktivačnému vzorcu pri úspešnej motorickej obnove [72], alebo intenzívnej rehabilitácii po CMP [67]. V našej štúdii návrat spasticity zaznamenaný v treťom vyšetrení pravdepodobne prevláda nad účinkami rehabilitácie a tak je opäť pozorovaná redukcia aktivácie v cerebelle.

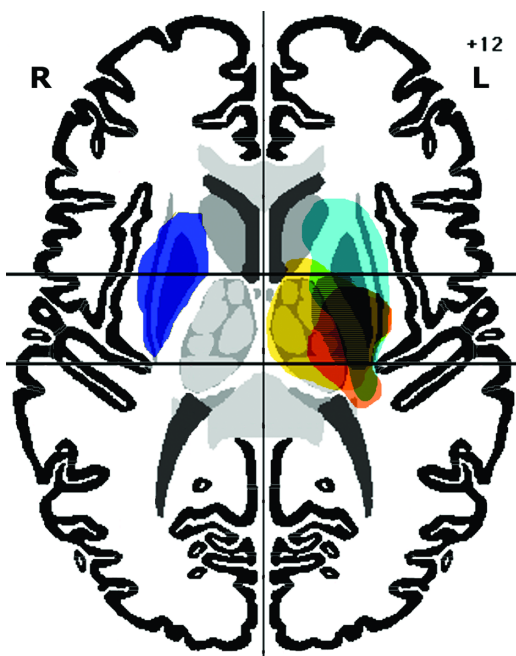
Ďalšia funkčná MRI štúdia testujúca antispastický efekt BoNT liečby v porovnaní s opakovaným cvičením pomocou ručného bicykla u pacientov trpiacich spasticitou hornej končatiny v chronickom štádiu CMP detekovala nárast aktivácie v ipsilaterálnom primárnom senzomotorickom kortexe a kontralaterálnej sekundárnej somatosenzorickej oblasti po 14 týždňoch repetitívnych cvičení [96]. Zatiaľ čo uvedené je v súlade s výsledkami iných štúdií testujúcich len vplyv samotnej rehabilitácie [67], protokol Diserens a spolupracovníkov [96] nezhľadával fMRI vyšetrenia v čase maximálneho účinku BoNT-A (naše session 2) a tým nebolo možné vyhodnotiť (prechodný) účinok BoNT-A porovnať ho s našou štúdiou. Na strane druhej, žiadny významný rozdiel nebol nájdený v prípade našej štúdie v súvislosti s rehabilitáciou v priebehu 11 týždňov (porovnaním vyšetrení 1 a 3). Mohlo by to vyplývať z rozdielov v charakteristikách pacientov (veľkosti a lokalizácii infarktu, stupňa a charaktere motorického deficitu, veľkosti skupiny), ako aj rozdielnym trvaním a charakterom fyzioterapie. Vyžaduje si to obsiahlejšiu štúdiu, aby bolo možné správne vyhodnotiť ako prechodné tak aj dlhotrvajúce zmeny súvisiace s liečbou BoNT-A a rehabilitáciou, aplikované samostatne, či spoločne.

V našej štúdií musíme pripustiť relatívne malú veľkosť skupiny pacientov, ktorá má do istej miery nižšiu štatistickú silu k detekcii menších efektov liečby a selekcii len subkortikálnych infarktov, čo ďalej obmedzuje možnosť zovšeobecnenia výsledkov na celú populáciu pacientov so spasticitou následkom ischemickej cievnej mozgovej príhody.

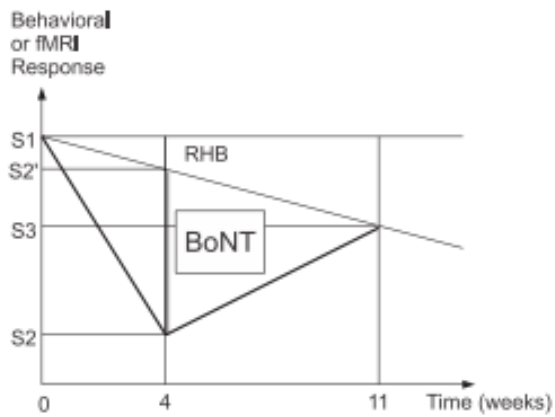
Tab. 5: Demografické a klinické charakteristiky pacientov

Pacient č.	Pohlavie M/Ž	Vek (roky)	Strana lézie	Lokalizácia lézie	Vstupné NIHSS	Dominancia ruky	Zung SDS Index	MMSE	mMRC FE	mMRC FF	Barthel index	Čas od rozvoja CMP (mesiace)
1	M	54	L	thalamus, capsula, BG	9	N	31	24	3-4	4	85	15
2	M	60	P	BG, capsula	3	D	41	28	4	4-5	90	9
3	Ž	64	L	thalamus, BG, capsula	5	D	50	N/A	3-4	4	65	13
4	M	77	L	thalamus, capsula, BG	5	N	40	24	2-3	3	70	21
5	M	80	L	thalamus	5		49	N/A	3-4	4	20	12
Súhrn	2M/2Ž	25.5±3.4	2L/2P	heterogénna	5.4±2.2	2D/2N	42.2±7.7				66.0±27.7	14.0±4.4

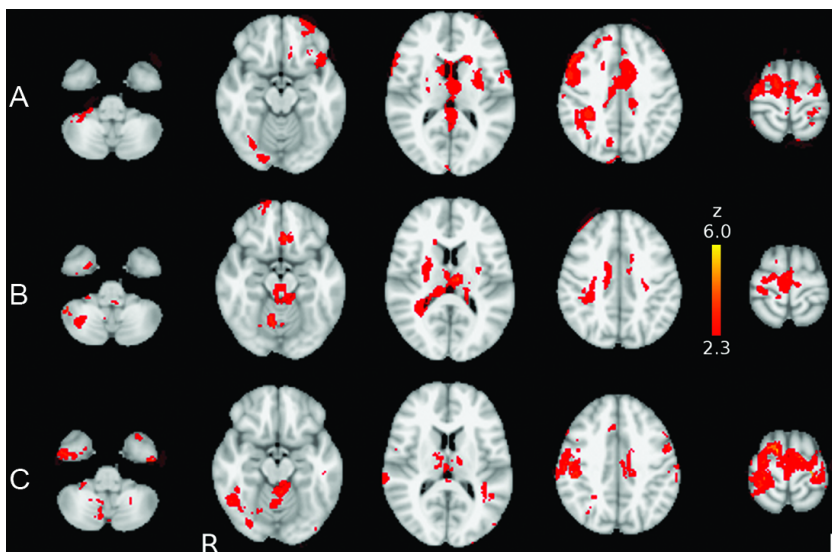
M = mužské, Ž = ženské, P = pravá, L = ľavá, N = postihnutá nedominantná končatina, D = postihnutá dominantná končatina, mMRC = modifikovaná MRC škála, FE = extenzory prstov, FF = flexory prstov, N/A = nepoužiteľné – MMSE skóre nie je možné interpretovať pre expresívnu afáziu.



Obr. 4.: Lokalizácia lézií u jednotlivých pacientov zobrazená na axiálne Talairachovej šablóne (z = +12mm).



Obr. 5.: Dekompozícia liečebného účinku po 4 týždňoch ($S2-S1$) na komponenty - progresívnu rehabilitáciu $RHB = S2'-S1$ a prechodný účinok BoNT-A $= S2-S2'$ (vertikálna dvojité čiar); $S2'$ je vážený priemer z prvého ($S1$) a tretieho ($S3$) vyšetrenia. Pozri Metódy pre podrobnejší popis a vzorce. $190 \times 130 \text{ mm}$ ($300 \times 300 \text{ DPL}$).

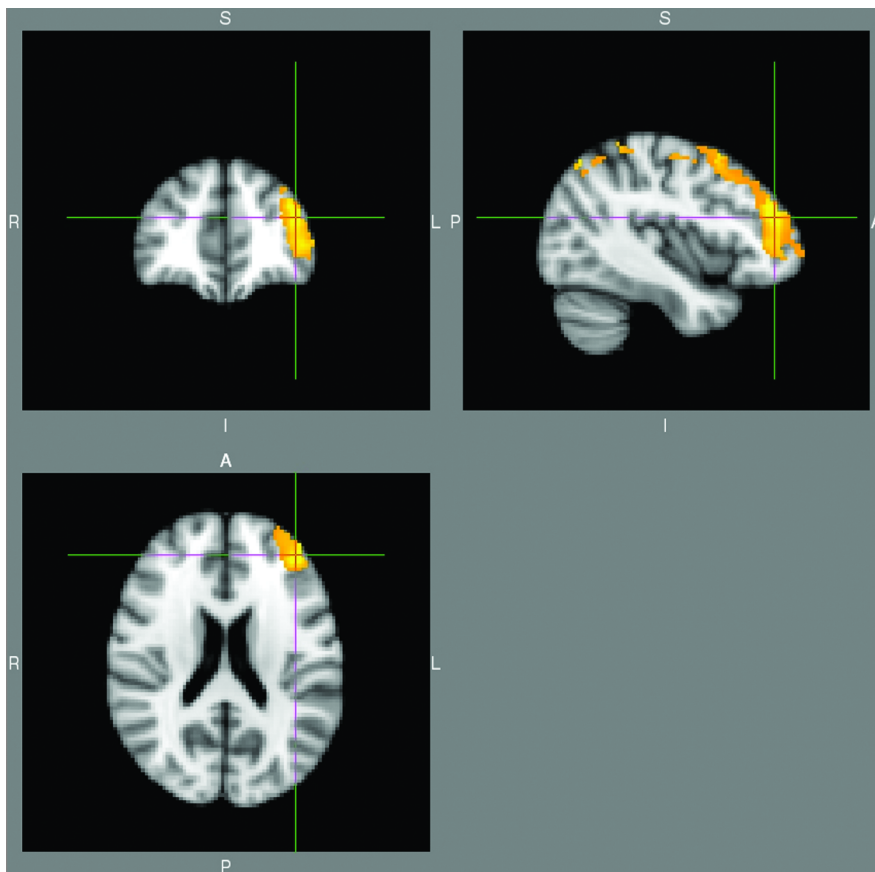


Obr. 6.: fMRI aktivácia motorického systému indukovaná pohybom prstov (A) pred BoNT liečbou, (B) po BoNT liečbe spasticity HK a (C) počas off-BoNT vyšetrenia. Štatistické mapy skupinových priemerov (z-skóre) sú znázornené farebne na pozadí MNI anatomickej šablóny. Pravá strana mozgu je zobrazená vľavo.

Tab. 6: Oblasti ukazujúce zmeny BOLD odpovede indukované liečbou BoNT-A

Oblasť(H-O)	Z-max	x	y	z
43% IFG/BA44	6.93	-54	34	8
27% IFG/BA44, 23% IFG/BA45	6.31	-58	22	10
72% PostCG, 5% SMG	6.08	-58	-18	42
52% PostCG, 26% SMG	6.04	-60	-24	42
51% MFG	5.84	-40	14	48
47% MFG, 2% SFG	5.6	-38	14	52

Vysvetlivky: H-O = Harvard-Oxford Cortical Structural Atlas; IFG = gyrus frontalis inferior; PostCG = gyrus postcentralis; SMG = gyrus supramarginalis; MFG = gyrus frontalis medius BA = Brodmannova area.



Obr. 7.: Účinok liečby BoNT – DLPFC, oblasť s najviac signifikantným poklesom aktivity v motorickom systéme po liečbe. Skupinový post-hoc kontrast (z-skóre) porovnávajúci vyšetrenie 2 k váženému priemeru 1 a 3 (pozri obr. 5 a Metódy pre detailnejší popis) v pozadí s MNI šablónou. Pravá strana mozgu je zobrazená vľavo.

6. ZÁVER

Cieľom dizertačnej práce bolo pomocou metódy funkčnej MR posúdiť predpokladaný efekt liečby BoNT-A zmenami v aktivácii mozgovej kôry u pacientov so spasticitou po prekonanej cievnej mozgovej príhode.

V obidvoch prezentovaných štúdiách bola testovanou motorickou úlohou, v prípade prvej štúdie mentálnou stimuláciou pohybu pred liečbou BoNT-A aktivovaná rozsiahla sieť kôrových oblastí v oboch hemisférach predovšetkým senzomotorického systému.

Vplyvom účinnej terapie spasticity BoNT-A došlo k významnej zmene fMRI signálu s poklesom aktivity v oblasti zadnej cingulárnej kôry/ precuneu v prvej štúdii u hemiplegických pacientov, v prípade skupiny hemiparetických pacientov bola nájdená prechodnú skríženú aktivitu mozočka a významný pokles aktivácie v rozsiahlej kontralaterálnej sieti kortikálnych oblastí, tvorenej najmä dorzolaterálnou oblasťou prefrontálnej kôry (DLPFC), lobulus parietalis inferior, premotorickou kôrou, ďalej kôrou gyrius frontalis inferior (Brocova area) a gyrius postcentralis.

Jedným z možných vysvetlení je, že tieto zmeny reprezentujú uniformný vzorec aktivity pri poškodení mozgu ako formu maladaptácie na zvýšenú patologickú proprioceptívnu aferentáciu (cestou Ia vlákien), vedúcu k maladaptívnej reorganizácii týchto oblastí s následnou manifestáciou spasticity.

Liečbou navodenú normalizáciu aktivácie môžeme interpretovať schopnosťou BoNT-A indukovať moduláciu procesov spracovania senzomotorických informácií na úrovni mozgovej kôry, tj. centrálnym mechanizmom. Tento účinok je možné vysvetliť redukciou Ia aferentných signálov, sprostredkovanou blokádou

neuromuskulárnej funkcie γ -motoneurónov a tým je nepriamo inhibovaný už existujúci spätnoväzbovo navodený režim spacovania. Týmto spôsobom dochádza k alterácii narušenej senzorickej signalizácie do centrálného nervového systému.

Analýza výsledkov v oboch prezentovaných štúdiách doložila fakt, že štruktúry vo vnútri aj mimo okruhy klasického senzomotorického systému môžu byť spojené s reliéfom spasticity HK po cievnej mozgovej príhode. Oblasť zadného cingula je zapojená do funkcií ako globálna pozornosť alebo komplexné motorické učenie, avšak za určitých okolností môže tiež modulovať motorické spracovávanie. Brocova oblasť a dorzolaterálna prefrontálna kôra sa podieľajú na komplexných kognitívnych funkciách, avšak za určitých okolností môžu rovnako (taktiež) participovať v procese senzomotorického spracovania.

7. SÚHRN

Cievna mozgová príhoda predstavuje v akútnej fáze ohrozenie života, neskôr môže viesť k závažným trvalým následkom. Terapia spasticity má dôležitý podiel na prevencii sekundárnych komplikácií, ktoré so sebou prináša a tým podporuje dosiahnutie čo najvyššej kvality života pacienta po cievnej mozgovej príhode.

V poslednom období sa výskum v oblasti patofyziológie spasticity zameriava na úlohu plasticity mozgovej kôry v tomto procese. Mapovanie aktivácie mozgového kortexu predovšetkým za pomoci funkčnej magnetickej rezonancie u pacientov po ikte vzbudzuje záujem z viacerých hľadísk, vrátane terapeutických. Súčasné výskumné smery hľadajú spôsoby, ako posilniť regeneračné schopnosti nervového systému, či ovplyvniť priebeh neurálnej plasticity stimulmi z okolia. Jednou z možností je podanie farmák aktivujúcich vnútorné neuroplastické deje. V našej práci sme študovali zmeny aktivácie mozgového kortexu u pacientov po CMP, liečených lokálnou aplikáciou botulotoxínu do spastických svalov. Štúdia priniesla niekoľko poznatkov. Jedným z hlavných výsledkov je predpoklad, že v situácii poškodenia mozgu iktom a funkčnom výpadku tzv. motorických oblastí kôry, dochádza k zmene aktivácie kôrových oblastí, ktoré dovtedy neboli zapojené do špecifickej motorickej funkcie. To môže znamenať vznik všeobecne nežiadúcich vzorcov pohybu v poškodenom mozgu ako prejav maladaptívneho kompenzačného mechanizmu, ktorý je najpravdepodobnejšie sprostredkovaný trvalým zvýšením patologickej proprioceptívnej aferencie (Ia vláknami) v teréne spasticity. Efektívnou liečbou spasticity botulotoxinom ovplyvnením intrafuzálnych svalových vlákien predpokladáme navodenie „normalizácie“ tejto aktivácie, čím naznačujeme schopnosť botulotoxínu indukovať moduláciu procesov

spracovávania senzomotorických informácií na úrovni mozgovej kôry ako možným centrálnym účinkom.

8. SUMMARY

Stroke is in an acute phase threat to life, then can lead to serious permanent damage. Treatment of spasticity is an important contribution to the prevention of secondary complications that entails, and supports the achievement of the best possible quality of life after stroke.

Recently, research of the pathophysiology of spasticity focuses on the role of plasticity of the cerebral cortex in this process. Mapping the activation of the brain cortex mainly using functional magnetic resonance imaging in patients after stroke raises interest in several respects, including therapeutic. Current research directions looking for ways to enhance the regenerative capacity of the nervous system, or to affect the course of neural plasticity with stimuli from the environment. One possibility is the administration of drugs that trigger internal neuroplastic changes. In our work, we studied changes in cerebral cortex activation in patients after stroke treated with topical application of botulinum toxin in spastic muscles. The study yielded several findings. One of the main results is the assumption that in a situation of brain impairment after a stroke and functional failure of the so-called motor cortex areas, there is a change in the activation of cortical areas, which had never been involved in a specific motor function. This may give rise to the generally undesirable patterns of movement in the damaged brain as a manifestation of maladaptive compensatory mechanism that is most likely mediated by a sustained increase in pathological proprioceptive afferent signals (Ia fibers) in the field of spasticity. Effective botulinum toxin treatment of spasticity affecting intrafusal muscle fibers assume induce "normalization" of activation, which demonstrates the ability of botulinum toxin to induce modulation processes sensory information processing at the level of the cerebral cortex as a possible central action.

9. ZOZNAM SKRATIEK

ADL	aktivity každodenného života (Activity of Daily Living)
BB	musculus biceps brachii
BOLD	blood oxygenation level dependent
BoNT-A	botulotoxín typu A (botulinum neurotoxin type A)
CNS	centrálny nervový systém
CMP	cievna mozgová príhoda
CT	počítačová tomografia
DTI	Diffusion Tensor Imaging
DLPFC	dorzolaterálny prefrontálny kortex
EMG	elektromyografia
EPI	echoplanárne zobrazenie (echo-planar imaging)
FEAT	fMRI Expert Analysis Tool
FCR	musculus flexor carpi radialis
FCU	musculus flexor carpi ulnaris
FDP	musculus flexor digitorum profundus
FDS	musculus flexor digitorum superficialis

FLAIR	fluid attenuated inversion recovery
FLAME	FMRIB's Local Analysis of Mixed Effects
fMRI	funkčná magnetická rezonancia (functional magnetic resonance imaging)
GMFM	Gross Motor Function Measure
H-reflex	Hoffmannov reflex
IFG	Gyrus frontalis inferior
LTD	dlhodobý útlm (long-term depression)
LTP	dlhodobá potenciácia (long-term potentiation)
MAS	modifikovaná Ashworthova škála
MCFLIRT	Motion Correction using FMRIB's Linear Image Registration Tool
MFG	Gyrus frontalis medius
MNI	Montreal Neurological Institute
MPRAGE	magnetization-prepared rapid acquisition gradient echo
MR, MRI	magnetická rezonancia
MRC	Medical Research Council scale
mMRC	modified MRC
PET	pozitronová emisná tomografia

PNF	proprioceptívna neuromuskulárna facilitácia
PostCG	gyrus postcentralis
RHB	rehabilitácia
SDS	Self-rating Depression Scale,
SNAP	Synaptozomálny asociovaný proteín (synaptosomal-associated protein)
SMA	suplementárna motorická area
SMG	gyrus supramarginalis
UMN	upper motor neuron syndrome

10. LITERATÚRA

1. Liepert J, Bauder H, Miltner WHR, Taub E, Weiller C. Treatment-Induced Cortical Reorganization After Stroke in Humans. *Stroke* 2000;31:1210–6.
2. Liepert J, Uhde I, Gräf S, Leidner O, Weiller C. Motor cortex plasticity during forced-use therapy in stroke patients: a preliminary study. *J. Neurol.* 2001;248:315–21.
3. Votava J. Rehabilitace osob po cévní mozkové příhodě. *Neurol. praxi* 2001;4:184–9.
4. Kolář P, et al. Rehabilitace v klinické praxi. 1. ed. Galén; 2009.
5. Rakús A. Neuroplasticita. *Neurol. prax* 2009;10:77–9.
6. Lance JW. The control of muscle tone, reflexes, and movement: Robert Wartenberg Lecture. *Neurology* 1980;30:1303–13.
7. Ehler E, Štětkařová I. Botulotoxin v léčbě spasticity. *Cesk Slov Neurol N* 2009;72:317–21.
8. Ambler Z, Bednařík J, Růžička E, a kolektiv. *Klinická neurologie - část obecná*. 1. ed. TRITON; 2004.
9. Nicholls JG, Martin AR, Wallace BG, Fuchs PA. *Od neuronu k mozku*. 1. ed. Academia; 2013.
10. Kaňovský P, Bareš M, Dufek J, a kolektiv. *Spasticita: Mechanismy, diagnostika a léčba*. Maxdorf; 2004.
11. Brown P. Pathophysiology of spasticity. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994;57:773–7.
12. Sheean G. The pathophysiology of spasticity. *Eur. J. Neurol.* 2002;9 Suppl 1:3–9; dicussion 53–61.
13. Decq P. Pathophysiology of spasticity. *Neurochirurgie* 2003;49:163–84.
14. Rosales RL, Kanovsky P, Fernandez HH. What's the "catch" in upper-limb post-stroke spasticity: expanding the role of botulinum toxin applications. *Parkinsonism Relat. Disord.* 2011;17 Suppl 1:S3–10.

15. Cuadrado ML, Arias JA, Palomar MA, Linares R. The pyramidal tract: new pathways. *Rev Neurol* 2001;32:1151-8.
16. Barnes MP, Johnson GR. Upper Motor Neurone Syndrome and Spasticity: Clinical Management and Neurophysiology. Cambridge University Press; 2008.
17. Filep R. Diagnostika a možnosti liečby spasticity v rámci rehabilitácie. *Rehabilitácia* 2010;47:45-7, 49-59.
18. Ehler E. Současná terapie spasticity se zaměřením na lokální aplikaci botulotoxinu. *Neurol praxi* 2001;3:128-32.
19. Chen R, Yung D, Li J-Y. Organization of Ipsilateral Excitatory and Inhibitory Pathways in the Human Motor Cortex. *J Neurophysiol* 2003;89:1256-64.
20. Mertens P. Anatomical basis of motricity for the study of spasticity. *Neurochirurgie* 2003;49:154-62.
21. Shimura K, Kasai T. Effects of proprioceptive neuromuscular facilitation on the initiation of voluntary movement and motor evoked potentials in upper limb muscles. *Hum Mov Sci* 2002;21:101-13.
22. Akman MN, Bengi R, Karatas M, Kiliç S, Sözü S, Ozker R. Assessment of spasticity using isokinetic dynamometry in patients with spinal cord injury. *Spinal Cord* 1999;37:638-43.
23. Powers RK, Marder-Meyer J, Rymer WZ. Quantitative relations between hypertonia and stretch reflex threshold in spastic hemiparesis. *Ann. Neurol.* 1988;23:115-24.
24. Nance PW, Shears AH, Nance DM. Reflex changes induced by clonidine in spinal cord injured patients. *Paraplegia* 1989;27:296-301.
25. Delwaide PJ. Contribution of human reflex studies to the understanding and management of the pyramidal syndrome. In: *Electromyography in CNS disorders*. London: Butterworths; 1984. page 77-109.
26. Martišová D. Použitie FIM testu pri funkčnom vyhodnotení rehabilitačnej liečby u pacientov s kraniocerebrálnym poranením. *Rehabilitácia* 2008;45:154-9.
27. Bohannon RW, Smith MB. Interrater reliability of a modified Ashworth scale of muscle spasticity. *Phys Ther* 1987;67:206-7.

28. Boyd RN, Graham HK. Objective measurement of clinical findings in the use of botulinum toxin type A for the management of children with cerebral palsy. *European Journal of Neurology* 1999;6:s23–35.
29. Haugh AB, Pandyan AD, Johnson GR. A systematic review of the Tardieu Scale for the measurement of spasticity. *Disabil Rehabil* 2006;28:899–907.
30. Pažourková M, Krupa P. Zobrazovací vyšetření v diagnostice spastického syndromu. In: *Spasticita: Mechanismy, diagnostika, léčba*. Praha: Maxdorf; 2004. page 142–6.
31. [/http://fmri.mchmi.com/main_index.php?strana=5/](http://fmri.mchmi.com/main_index.php?strana=5/).
32. Vaňatka R, et al. Funkcionálna magnetická rezonancia (fMRI) - prehľadný článok. *Slov. radiol.* 2009;16:119–23.
33. Pavlů D. Přístupy speciálních fyzioterapeutických konceptů k ovlivňování spasticity. *Rehabilitace a fyzikální lékařství* 1999;6:138–41.
34. Das TK, Park DM. Botulinum toxin in treating spasticity. *Br J Clin Pract* 1989;43:401–3.
35. Simpson DM, Alexander DN, O'Brien CF, Tagliati M, Aswad AS, Leon JM, et al. Botulinum toxin type A in the treatment of upper extremity spasticity: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Neurology* 1996;46:1306–10.
36. Bakheit AMO, Thilmann AF, Ward AB, Poewe W, Wissel J, Muller J, et al. A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Dose-Ranging Study to Compare the Efficacy and Safety of Three Doses of Botulinum Toxin Type A (Dysport) With Placebo in Upper Limb Spasticity After. *Stroke* 2000;31:2402–6.
37. Burbaud P, Wiart L, Dubos JL, Gaujard E, Debelleix X, Joseph PA, et al. A randomised, double blind, placebo controlled trial of botulinum toxin in the treatment of spastic foot in hemiparetic patients. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.* 1996;61:265–9.
38. Mancini F, Sandrini G, Moglia A, Nappi G, Pacchetti C. A randomised, double-blind, dose-ranging study to evaluate efficacy and safety of three doses of botulinum toxin type A (Botox) for the treatment of spastic foot. *Neurol. Sci.* 2005;26:26–31.

39. Kaji R, Osako Y, Suyama K, Maeda T, Uechi Y, Iwasaki M. Botulinum toxin type A in post-stroke lower limb spasticity: a multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *J Neurol* 2010;257:1330–7.
40. Gordon MF, Brashear A, Elovic E, Kassicieh D, Marciniak C, Liu J, et al. Repeated dosing of botulinum toxin type A for upper limb spasticity following stroke. *Neurology* 2004;63:1971–3.
41. Kováč M. Botulotoxínová léčba. 1. ed. Brno: Tribun EU; 2009.
42. Ehler E, Vaňásková E, Štětkařová I. Standardy pro léčbu spasticity po CMP. Česká neurologická společnost ČLS J.E.P2009;
43. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. “Mini-mental state”. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975;12:189–98.
44. Zung WW. A self-rating depression scale. *Arch. Gen. Psychiatry* 1965;12:63–70.
45. Paternostro-Sluga T, Grim-Stieger M, Posch M, Schuhfried O, Vacariu G, Mittermaier C, et al. Reliability and validity of the Medical Research Council (MRC) scale and a modified scale for testing muscle strength in patients with radial palsy. *J Rehabil Med* 2008;40:665–71.
46. Krobot A, Schusterová B, Tomsová J, Kristková V, Konečný P. Specific protocol of physiotherapy in stroke patients. *Cesk Slov Neurol N* 71:V74.
47. Solodkin A, Hlustik P, Chen EE, Small SL. Fine modulation in network activation during motor execution and motor imagery. *Cereb. Cortex* 2004;14:1246–55.
48. Ward NS, Brown MM, Thompson AJ, Frackowiak RSJ. Neural correlates of outcome after stroke: a cross-sectional fMRI study. *Brain* 2003;126:1430–48.
49. Jenkinson M, Bannister P, Brady M, Smith S. Improved optimization for the robust and accurate linear registration and motion correction of brain images. *Neuroimage* 2002;17:825–41.
50. Smith SM. Fast robust automated brain extraction. *Hum Brain Mapp* 2002;17:143–55.

51. Woolrich MW, Ripley BD, Brady M, Smith SM. Temporal autocorrelation in univariate linear modeling of FMRI data. *Neuroimage* 2001;14:1370–86.
52. Jenkinson M, Smith S. A global optimisation method for robust affine registration of brain images. *Med Image Anal* 2001;5:143–56.
53. Beckmann CF, Jenkinson M, Smith SM. General multilevel linear modeling for group analysis in FMRI. *Neuroimage* 2003;20:1052–63.
54. Woolrich MW, Behrens TEJ, Beckmann CF, Jenkinson M, Smith SM. Multilevel linear modelling for FMRI group analysis using Bayesian inference. *Neuroimage* 2004;21:1732–47.
55. Worsley KJ. Statistical analysis of activation images. In: *Functional MRI: an introduction to methods*. Oxford University Press; 2001. page 251–70.
56. Pascual-Leone A, Amedi A, Fregni F, Merabet LB. The plastic human brain cortex. *Annu. Rev. Neurosci.* 2005;28:377–401.
57. Pujol J, Roset-Llobet J, Rosinés-Cubells D, Deus J, Narberhaus B, Valls-Solé J, et al. Brain cortical activation during guitar-induced hand dystonia studied by functional MRI. *Neuroimage* 2000;12:257–67.
58. Flor H. Remapping somatosensory cortex after injury. *Adv Neurol* 2003;93:195–204.
59. Maihöfner C, Handwerker HO, Birklein F. Functional imaging of allodynia in complex regional pain syndrome. *Neurology* 2006;66:711–7.
60. Roth M, Decety J, Raybaudi M, Massarelli R, Delon-Martin C, Segebarth C, et al. Possible involvement of primary motor cortex in mentally simulated movement: a functional magnetic resonance imaging study. *Neuroreport* 1996;7:1280–4.
61. Ward NS, Brown MM, Thompson AJ, Frackowiak RSJ. Neural correlates of motor recovery after stroke: a longitudinal fMRI study. *Brain* 2003;126:2476–96.
62. Strick PL. Anatomical organization of multiple motor areas in the frontal lobe: implications for recovery of function. *Adv Neurol* 1988;47:293–312.
63. Weiller C, Chollet F, Friston KJ, Wise RJ, Frackowiak RS. Functional reorganization of the brain in recovery from striatocapsular infarction in man. *Ann. Neurol.* 1992;31:463–72.

64. Gelb DJ, Yoshimura DM, Olney RK, Lowenstein DH, Aminoff MJ. Change in pattern of muscle activity following botulinum toxin injections for torticollis. *Ann. Neurol.* 1991;29:370–6.
65. Ceballos-Baumann AO, Sheean G, Passingham RE, Marsden CD, Brooks DJ. Botulinum toxin does not reverse the cortical dysfunction associated with writer’s cramp. A PET study. *Brain* 1997;120 (Pt 4):571–82.
66. Traversa R, Cicinelli P, Oliveri M, Giuseppina Palmieri M, Filippi MM, Pasqualetti P, et al. Neurophysiological follow-up of motor cortical output in stroke patients. *Clin Neurophysiol* 2000;111:1695–703.
67. Johansen-Berg H, Dawes H, Guy C, Smith SM, Wade DT, Matthews PM. Correlation between motor improvements and altered fMRI activity after rehabilitative therapy. *Brain* 2002;125:2731–42.
68. Nelles G, Spiekramann G, Jueptner M, Leonhardt G, Müller S, Gerhard H, et al. Evolution of functional reorganization in hemiplegic stroke: a serial positron emission tomographic activation study. *Ann. Neurol.* 1999;46:901–9.
69. Marshall RS, Perera GM, Lazar RM, Krakauer JW, Constantine RC, DeLaPaz RL. Evolution of cortical activation during recovery from corticospinal tract infarction. *Stroke* 2000;31:656–61.
70. Liepert J, Bauder H, Miltner WHR, Taub E, Weiller C. Treatment-induced cortical reorganization after stroke in humans. *Stroke* 2000;31:1210–6.
71. Nelles G, Jentzen W, Jueptner M, Müller S, Diener HC. Arm training induced brain plasticity in stroke studied with serial positron emission tomography. *Neuroimage* 2001;13:1146–54.
72. Small SL, Hlustik P, Noll DC, Genovese C, Solodkin A. Cerebellar hemispheric activation ipsilateral to the paretic hand correlates with functional recovery after stroke. *Brain* 2002;125:1544–57.
73. Vogt BA, Absher JR, Bush G. Human retrosplenial cortex: where is it and is it involved in emotion? *Trends Neurosci.* 2000;23:195–7.
74. Mesulam MM, Nobre AC, Kim YH, Parrish TB, Gitelman DR. Heterogeneity of cingulate contributions to spatial attention. *Neuroimage* 2001;13:1065–72.

75. Raichle ME, MacLeod AM, Snyder AZ, Powers WJ, Gusnard DA, Shulman GL. A default mode of brain function. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2001;98:676–82.
76. Jäncke L, Shah NJ, Peters M. Cortical activations in primary and secondary motor areas for complex bimanual movements in professional pianists. *Brain Res Cogn Brain Res* 2000;10:177–83.
77. Puttemans V, Wenderoth N, Swinnen SP. Changes in brain activation during the acquisition of a multifrequency bimanual coordination task: from the cognitive stage to advanced levels of automaticity. *J. Neurosci.* 2005;25:4270–8.
78. Sakai K, Hikosaka O, Miyauchi S, Takino R, Sasaki Y, Pütz B. Transition of brain activation from frontal to parietal areas in visuomotor sequence learning. *J. Neurosci.* 1998;18:1827–40.
79. Milton J, Solodkin A, Hlustík P, Small SL. The mind of expert motor performance is cool and focused. *Neuroimage* 2007;35:804–13.
80. Kanovský P, Slawek J, Denes Z, Platz T, Sassin I, Comes G, et al. Efficacy and safety of botulinum neurotoxin NT 201 in poststroke upper limb spasticity. *Clin Neuropharmacol* 2009;32:259–65.
81. Brashear A, Gordon MF, Elovic E, Kassicieh VD, Marciniak C, Do M, et al. Intramuscular injection of botulinum toxin for the treatment of wrist and finger spasticity after a stroke. *N. Engl. J. Med.* 2002;347:395–400.
82. Roland PE, Larsen B, Lassen NA, Skinhøj E. Supplementary motor area and other cortical areas in organization of voluntary movements in man. *J. Neurophysiol.* 1980;43:118–36.
83. Woolrich M. Robust group analysis using outlier inference. *Neuroimage* 2008;41:286–301.
84. Kim YR, van Meer MPA, Mandeville JB, Tejima E, Dai G, Topalkara K, et al. fMRI of delayed albumin treatment during stroke recovery in rats: implication for fast neuronal habituation in recovering brains. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2007;27:142–53.

85. Kim YR, van Meer MPA, Tejima E, Murata Y, Mandeville JB, Dai G, et al. Functional MRI of delayed chronic lithium treatment in rat focal cerebral ischemia. *Stroke* 2008;39:439–47.
86. Dressler D, Saberi FA, Barbosa ER. Botulinum toxin: mechanisms of action. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria* 2005;63:180–5.
87. Manganotti P, Acler M, Formaggio E, Avesani M, Milanese F, Baraldo A, et al. Changes in cerebral activity after decreased upper-limb hypertonus: an EMG-fMRI study. *Magn Reson Imaging* 2010;28:646–52.
88. Senkárová Z, Hlustík P, Otruba P, Herzig R, Kanovský P. Modulation of cortical activity in patients suffering from upper arm spasticity following stroke and treated with botulinum toxin A: an fMRI study. *J Neuroimaging* 2010;20:9–15.
89. Pascual-Leone A, Amedi A, Fregni F, Merabet LB. The plastic human brain cortex. *Annu. Rev. Neurosci.* 2005;28:377–401.
90. Opavský R, Hluštík P, Otruba P, Kaňovský P. Sensorimotor network in cervical dystonia and the effect of botulinum toxin treatment: a functional MRI study. *J. Neurol. Sci.* 2011;306:71–5.
91. Fadiga L, Craighero L. Hand actions and speech representation in Broca's area. *Cortex* 2006;42:486–90.
92. Binkofski F, Buccino G, Posse S, Seitz RJ, Rizzolatti G, Freund H. A fronto-parietal circuit for object manipulation in man: evidence from an fMRI-study. *Eur. J. Neurosci.* 1999;11:3276–86.
93. Gerardin E, Sirigu A, Lehericy S, Poline JB, Gaymard B, Marsault C, et al. Partially overlapping neural networks for real and imagined hand movements. *Cereb. Cortex* 2000;10:1093–104.
94. Grèzes J, Armony JL, Rowe J, Passingham RE. Activations related to “mirror” and “canonical” neurones in the human brain: an fMRI study. *Neuroimage* 2003;18:928–37.
95. Halsband U, Lange RK. Motor learning in man: a review of functional and clinical studies. *J. Physiol. Paris* 2006;99:414–24.

96. Diserens K, Ruegg D, Kleiser R, Hyde S, Perret N, Vuadens P, et al. Effect of repetitive arm cycling following botulinum toxin injection for poststroke spasticity: evidence from FMRI. *Neurorehabil Neural Repair* 2010;24:753-62.

11. PRÍLOHY

11.1 PRÁCE SÚVISIACE S DIZERTAČNOU PRÁCOU

11.1.1. Pôvodné vedecké publikácie uverejnené in extenso v recenzovaných vedeckých časopisoch s IF – prvoautorské:

1. Senkárová Z, Hlušík P, Otruba P, Herzig R, Kanovský P. Modulation of cortical activity in patients suffering from upper arm spasticity following stroke and treated with botulinum toxin A: an fMRI study. *J Neuroimaging* 2010;20:9–15. IF 2008: 1.811.
2. Tomášová Z, Hlušík P, Král M, Otruba P, Herzig R, Krobot A, et al. Cortical Activation Changes in Patients Suffering from Post-Stroke Arm Spasticity and Treated with Botulinum Toxin A. *J Neuroimaging* 2013;23:337–44. IF 2011: 1.509

Modulation of Cortical Activity in Patients Suffering from Upper Arm Spasticity following Stroke and Treated with Botulinum Toxin A: An fMRI Study

Zuzana Šenkárová, MD, Petr Hlušík, MD, MSc, PhD, Pavel Otruba, MD, Roman Herzig, MD, PhD, Petr Kaňovský, MD, PhD

From the Departments of Neurology (ZŠ, PH, PO, PH, PK) and Radiology (PH), Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University and University Hospital, Olomouc, Czech Republic.

ABSTRACT

BACKGROUND AND PURPOSE

Botulinum toxin (BTX) treatment can relieve focal arm spasticity after stroke, presumably through dynamic changes at multiple levels of the motor system, including the cerebral cortex. However, the neuroanatomical correlate of BTX spasticity relief is not known and should be reflected in changes of cortical activation during motor tasks assessed using repeated functional magnetic resonance imaging (fMRI).

METHODS

Four patients (2 males, 2 females, mean age 25.5 years) with hemiplegia and distal arm spasticity after chronic ischemic stroke sparing the motor cortex were studied. fMRI during mental movement simulation of the impaired hand was performed in 2 sessions before and 4 weeks after BTX treatment. The change in arm spasticity was assessed using the modified Ashworth scale (MAS).

RESULTS

BTX treatment significantly decreased arm spasticity across the group (mean MAS change 2.1). Whereas fMRI during imagined movement pre-BTX treatment showed extensive bilateral network of active areas, post-BTX activation was confined to the midline and contralateral sensorimotor cortices. The pre- > post-BTX contrast revealed a significant decrease in activation of the posterior cingulate/precuneus region after BTX treatment.

CONCLUSION

This small study suggests that structures outside the classical motor system, such as the posterior cingulate/precuneus region, may be associated with the relief of poststroke arm spasticity.

Keywords: Stroke, arm spasticity, functional magnetic resonance imaging, botulinum toxin.

Acceptance: Received July 2, 2008, and in revised form November 15, 2008. Accepted for publication February 4, 2009.

Correspondence: Address correspondence to MUDr. Zuzana Šenkárová, Department of Neurology, University Hospital, I. P. Pavlova 6, 77520 Olomouc, Czech Republic. E-mail: zsenkarova@email.cz

Conflict of Interest: There are no conflicts of interest associated with this manuscript, financial or otherwise. The manuscript has been read and approved by all authors.

The paper was presented in part as a lecture at the 16th European Stroke Conference in Glasgow, United Kingdom, in May 2007, and as a poster at the 17th Meeting of the European Neurological Society, Rhodes, Greece, in June 2007.

J Neuroimaging 2010;20:9-15.
DOI: 10.1111/j.1552-6569.2009.00375.x

Introduction

Stroke is the most important cause of neurological disabilities in adults. The clinical features and subsequent disability following stroke occur secondary to ischemia-induced neuronal loss. Damage to the corticofugal fibers (pyramidal and parapyramidal) leads to motor deficits, which are present in more than 80% of stroke patients.^{1,2} These deficits, which are collectively described as the upper motor neuron syndrome, are characterized by a combination of negative phenomena (eg, muscle weakness) and positive phenomena (eg, spasticity).^{2,3} Spasticity is a common impairment, which can be present in more than a half of all patients at a year following stroke. Although muscle weakness is an important factor in the motor functional disability in these patients, the contribution of muscle spasticity is often quite significant. Spasticity frequently causes problems with posture, transfers, physical therapy, nursing care, and hygiene.⁴ Focal spasticity, particularly resulting from cerebral disorders, is currently being treated successfully with botulinum toxin (BTX) A injections into the spastic muscles. BTX is currently consid-

ered to be the treatment of choice in focal spasticity following stroke.⁵

BTX acts by blocking acetylcholine release at the neuromuscular junction of both extrafusal and intrafusal fibers. We hypothesize that because of this dual effect, BTX treatment can relieve focal spasticity after stroke through dynamic changes at multiple levels of the motor system, presumably including the cerebral cortex. The neuromuscular junction site of action is definite, but there is some evidence that there might be other sites of action (eg, sensory) that could contribute to the anti-spastic action, and there could be central nervous system (CNS) changes involved as well.⁶ BTX probably alters sensory inputs to the CNS, with reduction of Ia afferent signals, and thus may indirectly induce secondary central changes. This phenomenon has been already described in dystonia and can also be presumed in cerebral spasticity.⁷⁻⁹

On the other hand, the brain hemisphere impaired by stroke is able to restore motor function of the disabled arm, probably because of the mechanism of cortical plasticity. Both these

Table 1. Patient Characteristics

Patient No.	Sex	Age (Years)	Lesion Side	Lesion Location	Hand Dominance
1	M	31	R	Thalamus, capsule, basal ganglia (BG)	N
2	M	22	L	BG, capsule	D
3	F	24	L	Thalamus, BG, capsule	D
4	F	25	R	Thalamus, capsule, BG	N
Summary	2M/2F	25.5 ± 3.4 years	2L/2R	Heterogeneous	2D/2N

L = left; R = right; D = dominant hand impaired; N = non-dominant hand impaired.

processes should be reflected in the changes of cortical activation during motor or mental tasks, as assessed using functional magnetic resonance imaging (MRI) (fMRI).

The aim of our fMRI study was to localize the changes in cerebral cortex activation in stroke patients suffering from upper limb spasticity and treated with BTX A.

Patients and Methods

Patients

The patients were recruited in the Stroke Centre at the Department of Neurology, University Hospital, Olomouc, Czech Republic, between January 2005 and January 2007. The study was conducted in accordance with the Helsinki Declaration of 1975 (as revised in 2000) and was approved by the local ethics committee of our hospital.

The study group consisted of 4 patients (2 males, 2 females; aged 25.5 ± 3.4 years, range 22-31 years). All patients suffered from distal arm plegia and spasticity of upper arm following ischemic stroke at 1+ and higher of modified Ashworth scale (MAS) and showed an ability to cooperate during the performed examinations, for example, with normal hearing and vision (corrected) and not suffering from major aphasia, and were enrolled after having provided informed consent to their participation in the study. Screening was performed to exclude patients with significant cognitive deficit (Mini-Mental State Examination [MMSE]¹⁰), and depression (Zung self-rating depression scale¹¹).

The stroke in all patients had been diagnosed by clinical history, clinical examination, and brain MR or brain computed tomography (CT) examinations. The time from stroke onset to the study entry ranged from 2 to 11 months, and the mean was 5.75 (standard deviation [SD] = 4.1 months). In all patients, the infarction was visualized by MRI at the beginning of the study to reveal its size and location.

The patients' characteristics are listed in Table 1, and the map of lesions is shown in Figure 1.

Behavioral Assessment

Spasticity was evaluated during clinical examination using the MAS.¹² The motor function was assessed quantitatively according to a dedicated physiotherapeutic protocol, which tested the functional motor skills and was developed for use in a clinical rehabilitation setting using the Gross Motor Function Measure protocol template.¹³ The functional assessment was done by

a rehabilitation specialist blinded to the protocol and treatment. The assessments were done at week 0, when patients were screened, enrolled, and injected with BTX, and then at week 4, 4 weeks following the injection of BTX.

Treatment

The patients were treated with BTX A injections into the muscles of the affected arm and then they underwent intensive rehabilitation treatment (according to the tailored protocol) for a period of 4 weeks. BTX A (BOTOX[®]; Allergan, Inc., Irvine, CA) was used for the preparation of the solution. The flexor carpi radialis, flexor carpi ulnaris, flexor digitorum superficialis, and flexor digitorum profundus muscles were always injected; the dose used for the injection into 1 muscle was always 50



Fig 1. Lesion localization in individual patients displayed on an axial Talairach-Tournoux atlas template ($z = +12$ mm). Talairach J, Tournoux P. Co-planar Stereotaxic Atlas of the Human Brain. 1st ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1988.

U. Injection of BTX into each muscle in all 4 patients was always performed with the electromyographic (EMG) guidance, preferably with electrical stimulation for localization of the muscle intended to be treated. All patients were receiving antiplatelet therapy, so digital compression of the injection site has been performed for at least 1 minute after each injection. Fifteen minutes after injection, the injection sites were inspected.

The rehabilitation treatment was done during the admittance to the hospital ward, and the treatment was started the second day after the injection procedure. The patients underwent sessions of tailored rehabilitation treatment each day, and each such exercise session lasted 1 hour. The protocol of rehabilitation treatment was set up prior to the start of the study, and the proper adherence of rehabilitation treatment to the protocol has been repeatedly checked during the sessions.¹³

Tasks

Prior to the functional brain imaging session, the subjects practiced sequential movement of the healthy fingers (Roland's paradigm) at the rate of approximately 1 movement every second. After attaining smooth, error-free performance with the healthy hand, the subjects were asked to imagine performing the same movement with the impaired fingers. The instructions encouraged performing mental simulation of movement, associated with a kinesthetic feeling (kinetic imagery).¹⁴

In the MRI scanner, hand movements were performed with eyes closed; beginning- and end-of-movement blocks were signaled verbally (start/stop) in MR-compatible headphones. In a block paradigm, imagery of sequential finger movement alternated with rest (15 seconds). Each experimental run consisted of 12 repetitions of the same imagery-rest block pairs for a total of 6 minutes. Each participant had 2 experimental runs with the impaired hand. The fMRI examinations were done at week 0, when patients were screened, enrolled, and injected with BTX, and then at week 4, 4 weeks following the injection of BTX.

Data Acquisition

MRI data were acquired on 1.5-Tesla scanners (Avanto and Symphony; Siemens, Erlangen, Germany) with a standard head coil. The MR imaging protocol covered the whole brain with 30 axial slices, 5-mm thick, including anatomical T₁-weighted images to provide an immediate overlay with functional data, fluid attenuated inversion recovery (FLAIR) images to visualize brain lesions, functional T₂-weighted blood oxygen level-dependent (BOLD) images during task performance and rest, and a high-resolution 3-dimensional anatomical scan (magnetization-prepared rapid acquisition gradient echo [MPRAGE]). BOLD images were acquired with gradient echo echo planar imaging (repetition time/echo time = 2,500/40 ms, field of view = 220 mm) to provide 3.4-mm × 3.4-mm × 5.0-mm resolution. In total, 144 images were acquired per each 6-minute functional run. The subject's head was immobilized with cushions to assure maximum comfort and minimize head motion.

Analysis

Prior to fMRI analysis, the imaging data of 2 patients with right hemispheric lesion were flipped in the left-right direction to

allow group analysis of movement imagery with the impaired hand.¹⁵

fMRI data processing was carried out using FEAT (fMRI Expert Analysis Tool), version 5.91, part of FMRIB's software library (FSL; <http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl>). The following prestatistics processing was applied: motion correction using FMRIB's MCFLIRT¹⁶; slice-timing correction using Fourier space time-series phase-shifting; nonbrain removal using FMRIB's BET¹⁷; spatial smoothing using a Gaussian kernel of 10-mm full width at half-maximum; grand-mean intensity normalization of the entire 4-dimensional data set by a single multiplicative factor; and high-pass temporal filtering (Gaussian weighted least-squares straight-line fitting, with sigma = 15.0 seconds). Time-series statistical analysis was carried out using FMRIB's FILM with local autocorrelation correction.¹⁸ Registration to high-resolution structural and/or standard space images was carried out using FMRIB's FLIRT.^{16,19}

Higher-level analysis was carried out using FMRIB's local analysis of mixed effects (FLAME) stage 1 only (ie, without the final Metropolis-Hastings Markov Chain Monte Carlo-based stage).^{20,21} Z (Gaussianized T/F) statistic images were thresholded using clusters determined by $Z > 1.5$ and a (corrected) cluster significance threshold of $P = .05$.²²

Results

Behavioral

BTX treatment decreased arm spasticity across the group (mean MAS change 2.1, $P = .0013$, 1-sided paired *t*-test) measured 4 weeks following the BTX injection. The mean MAS score at week 0 was 3.5 (SD = .57), and the mean MAS score at week 4 was 1.38 points (SD = .49).

None of the patients showed any signs of clinical depression (Zung) or cognitive deficit (MMSE) during the study period.

Imaging

Group fMRI during imagined movement prior to BTX treatment showed an extensive bilateral network of active areas, including the contralateral motor cortex, supplementary motor area, bilateral premotor cortices, superior parietal lobe, pre-cuneus/posterior cingulate, basal ganglia, and ipsilateral cerebellum (Fig 2A). fMRI activation during imagined movement after BTX treatment was limited to the midline and contralateral sensory and motor cortices (Fig 2B).

Across the patient group, the post- > pre-BTX contrast did not reveal any significant increase of cortical activation after BTX. On the other hand, the pre- > post-BTX contrast revealed a significant decrease ($P < .05$) in activation of the posterior cingulate/precuneus region after BTX treatment, a region centered on Montreal Neurological Institute coordinates (-8, -48, 0) (see Fig 3).

Discussion

Functional motor recovery after stroke commonly occurs in surviving patients in the weeks and months following the injury. There is evidence that cerebral reorganization underlies at least some of this recovery.²³ Brain plasticity means that the structure and function of the brain have a "capacity for being moulded" (Oxford English Dictionary) and implies that the brain is continually reorganizing.²³ However, in special cases,

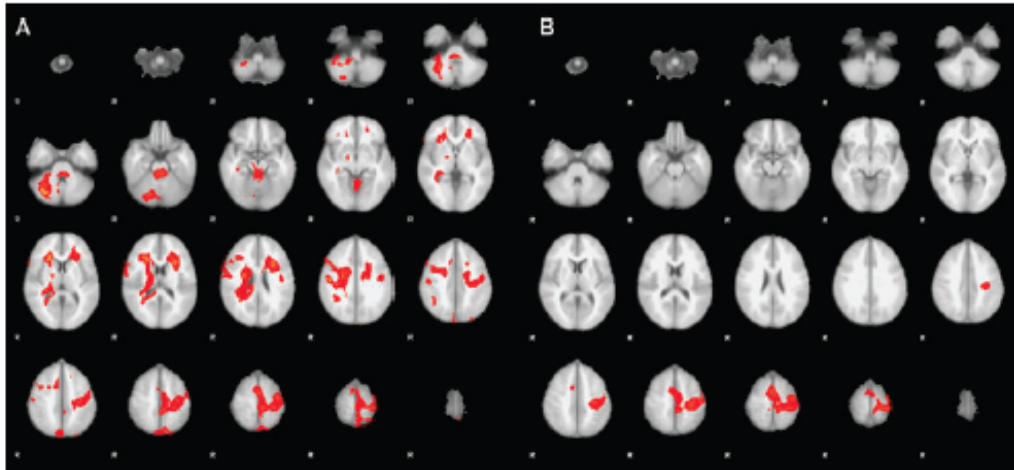


Fig 2. Functional MRI activation of the motor system during imagery of finger movement (A) before and (B) after BTX treatment of arm spasticity. Group average statistical maps (z-score) are overlaid in color on the MNI anatomical template. Right side of the brain is displayed on the left.

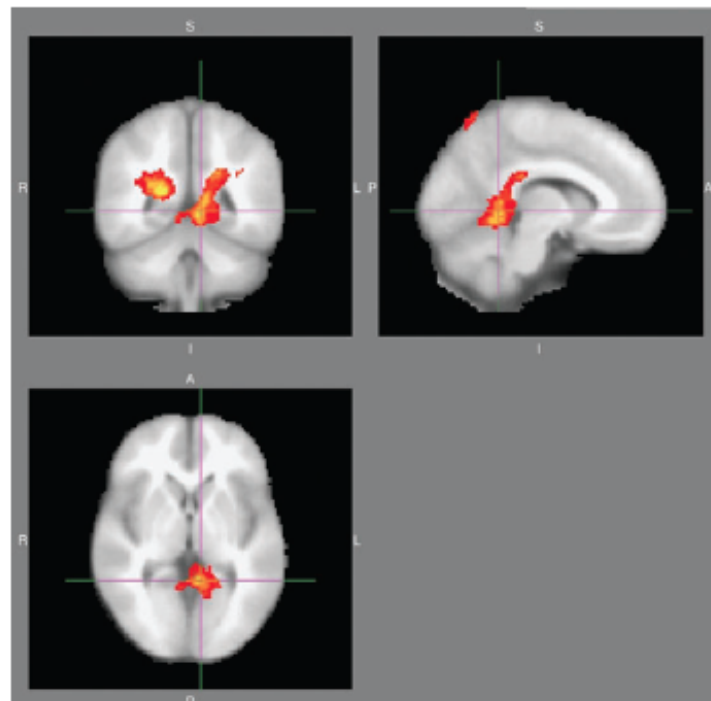


Fig 3. BTX treatment effect. Location of significant decrease in motor system activation after BTX treatment (group posthoc contrast overlaid on the MNI anatomical template). Right side of the brain is displayed on the left.

plasticity does not bring only positive benefits. Adaptations may not necessarily lead to restitution, but can even impair residual function (so-called maladaptive plasticity). Maladaptive plasticity in the brain has been reported in conditions such as dystonia, phantom limb pain after amputation, and allodynia.²⁴⁻²⁶ The development of pain and spasticity after stroke may also be related to such maladaptive processes.

In our study of poststroke arm spasticity, we investigated the relationship between dynamic changes in movement-related brain activation and motor improvement induced by BTX treatment using fMRI. Imagery of finger movements evoked activation in the same cortical areas as those associated with performed movements²⁷; the most significant regions of activation during imagery of the stroke-affected hand movement were found in the contralateral motor cortex, supplementary motor area, bilateral premotor cortices, and superior parietal lobe.

One of the observed treatment-related changes was the notable reduction in the extent and also the more prominent lateralization of the active sensorimotor network after BTX treatment (see Fig 2), similar to that shown previously.^{15,28}

A novel finding was the relative decrease of activation in the posterior cingulate/precuneus region after BTX treatment, when compared with that seen in the patients prior to the treatment.

First of all, our study is limited by the small number of patients; therefore, the results should be interpreted with caution. Whether the posterior cingulate activation before the injection of BTX is due to usual functional reorganization mediated by brain plasticity following stroke, or whether this is caused by a specific condition necessary for the attempt to move a paretic hand, is not completely clear. The role of plasticity may have been more prominent in this patient group because the average patient age was low. The younger patient group emerged during our patient recruitment; the younger patients had fewer contraindications to the use of BTX.

Nevertheless, it is possible to speculate on the origins of this pretreatment activation. A potential interpretation might be that these changes represent a uniform reaction pattern of the lesioned brain as a form of maladaptation for the increased pathological proprioceptive afferentation (via Ia fibers), which is associated with spasticity.

Under physiological conditions, the cortical motor system is thought to consist of a number of independent parallel motor and sensorimotor loops that include the primary motor cortex, dorsolateral premotor cortex (PMd), supplementary motor area (SMA), cingulate motor areas (CMA), and deep gray matter structures interconnected at the cortical level and with projections to spinal cord motor neurons.²⁹ In the presence of spasticity, we can assume that the movement-related functional circuit is extended and includes structures outside the classical motor system.³⁰

Our findings of treatment-related reduced activation of the posterior cingulate suggest that BTX probably alters impaired gating of sensory inputs to the CNS by blocking of the neuromuscular junction of the γ -motor neurons, which leads to a reduction of Ia afferent signals, and thus indirectly inhibits pre-existing feedback-driven execution mode. This hypothesis

support similar previous studies investigating the central effects of BTX treatment^{31,32} using techniques such as positron emission tomography and EMG that presume central reorganization following BTX treatment in patients with focal dystonia.

Although there might be some concern that spontaneous functional recovery or motor rehabilitation-related changes could affect our results, there are several reasons as to why we believe that these mechanisms do not play a role in the findings. First, the largest changes in cortical maps during recovery processes after stroke have been seen in the first few months after stroke, which is also when the steepest recovery curves are seen.³³ Our patients were all in the chronic stage of poststroke recovery; the mean period between stroke onset and the first fMRI examination in our study was 5.75 months. In the chronic stage after stroke, motor maps studied with fMRI are stable, as illustrated in the double-baseline observation of Johansen-Berg et al.³⁴

Second, we compared our results with several previous studies that attempted to define the changes in brain activity that are responsible for successful recovery and rehabilitation after stroke in humans,³⁵⁻⁴⁰ including 2 studies involving patients with hemiplegia.^{35,36} Posterior cingulate changes were not revealed in any of these. Some of the studies also attempted to focus the investigation on regions correlated with successful motor rehabilitation,³⁴ but the resulting patterns did not include the posterior cingulate either; instead, other regions not present in our results (cerebellum or secondary sensory) showed changes. We therefore assume that our observed pattern of change is more likely to be related to the relief of spasticity rather than to the concomitant physical therapy.

The cingulate gyrus is a principal component of the limbic system. The anterior and posterior cingulate cortices have different cytoarchitecture and subserve distinctive functions. The anterior cingulate cortex, consisting of areas 25 and 24, primarily subserves executive functions related to the executive attention, as well as visceromotor and skeletomotor control, and responses to noxious stimuli. On the other hand, the posterior cingulate cortex, consisting of areas 29, 30, 23, and 31, has been associated with functions such as working memory, encoding of visuomotor tasks and extrapersonal space, topokinetic and topographical memory, dynamic relocation of spatial attention, and global attention.⁴¹⁻⁴³ The posterior cingulate has also been related to motor performance and motor skill.⁴⁴⁻⁴⁷

Although the posterior cingulate region has rarely been discussed in the context of motor recovery studies of patients, we found a decrease in activation induced by BTX treatment of poststroke spasticity. This may imply that this—classical limbic—cortex may play a role in the preparation of the movement when the classical motor structures are gated by the abnormal proprioceptive input from the spastic muscles of paretic extremity.

Conclusion

This is the first, albeit small, study suggesting that structures outside the classical motor system may be associated with the relief of poststroke arm spasticity. The posterior cingulate/precuneus region has been implicated in functions such as global attention

or complex motor learning; however, in special circumstances, it probably can modulate motor processing as well.

We thank Andrea Bártková, M.D., Martin Nevrlý, M.D., and Hana Vranová, M.D., for patient recruitment and Michal Kral, M.D., for technical assistance in preparation of Figure 1. This work was supported by the IGA Ministry of Health Czech Republic grant NR8367-3/2005 and NS9920-4/2008.

References

1. Peltonen M, Stegmayr B, Asplund K. Time trends in long-term survival after stroke: the Northern Sweden Multinational Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease (MONICA) study, 1985–1994. *Stroke* 1998;29:1358-1365.
2. Sheean G. Neurophysiology of spasticity. In: Barnes M, Johnson G, eds. *Upper Motor Neuron Syndrome and Spasticity*. Cambridge: Cambridge University Press, 2001:12-78.
3. Burke D. Spasticity as an adaptation to pyramidal tract injury. *Adv Neurol* 1988;47:401-423.
4. Barnes MP. Medical management of spasticity in stroke. *Age Ageing* 2001;30(Suppl 1):13-16.
5. Ward AB, Aguilar M, De Beyl Z, et al. Use of botulinum toxin type A in management of adult spasticity—a European consensus statement. *J Rehabil Med* 2003;35:98-99.
6. Antonucci F, Rossi C, Gianfranceschi L, et al. Long-distance retrograde effects of botulinum neurotoxin A. *J Neurosci* 2008;28:3689-3696.
7. Kaňovský P, Bares M, Dufek J. *Spasticita: Mechanizmy, Diagnostika a Léčba*. Praha: Maxdorf, 2004.
8. Kanovsky P, Streltova H, Dantel P, et al. Long-term remission of cervical dystonia induced by treatment with botulinum toxin A—signal of the possible effect on the central dystonic mechanism? (in Czech). *Ces Slov Neurol Neurochir* 1998;51:123-134.
9. Kanovsky P, Streltova H, Dufek J, et al. Change in lateralization of the P22/N30 cortical component of median nerve somatosensory evoked potentials in patients with cervical dystonia after successful treatment with botulinum toxin A. *Mov Disord* 1998;13:108-117.
10. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state." A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975;12:129-138.
11. Zung WW. A self-rating depression scale. *Arch Gen Psychiatry* 1965;12:63-70.
12. Bohannon RW, Smith MB. Interrater reliability of a modified Ashworth scale of muscle spasticity. *Phys Ther* 1987;67:206-207.
13. Krobot A, Schusterová B, Tomšová J, et al. Specific protocol of physiotherapy in stroke patients (in Czech). *Ces Slov Neurol Neurochir* (in press).
14. Solodkin A, Hlustik P, Chen EE, et al. Fine modulation in network activation during motor execution and motor imagery. *Cereb Cortex* 2004;14:1246-1255.
15. Ward NS, Brown MM, Thompson AJ, et al. Neural correlates of motor recovery after stroke: a longitudinal fMRI study. *Brain* 2003;126:2476-2496.
16. Jenkinson M, Bannister P, Brady M, et al. Improved optimization for the robust and accurate linear registration and motion correction of brain images. *Neuroimage* 2002;17:825-841.
17. Smith SM. Fast robust automated brain extraction. *Hum Brain Mapp* 2002;17:143-155.
18. Woolrich MW, Ripley BD, Brady M, et al. Temporal autocorrelation in univariate linear modeling of fMRI data. *Neuroimage* 2001;14:1370-1386.
19. Jenkinson M, Smith S. A global optimisation method for robust affine registration of brain images. *Med Image Anal* 2001;5:143-156.
20. Beckmann CF, Jenkinson M, Smith SM. General multilevel linear modeling for group analysis in fMRI. *Neuroimage* 2003;20:1052-1063.
21. Woolrich MW, Behrens TE, Beckmann CF, et al. Multilevel linear modelling for fMRI group analysis using Bayesian inference. *Neuroimage* 2004;21:1732-1747.
22. Worsley KJ. Statistical analysis of activation images. In: Jezzard P, Matthews PM, Smith SM, eds. *Functional MRI: an Introduction to Methods*. Oxford: Oxford University Press, 2001:251-270.
23. Pascual-Leone A, Amadi A, Fregni F, et al. The plastic human brain cortex. *Annu Rev Neurosci* 2005;28:377-401.
24. Pujol J, Roset-Llobet J, Rostnes-Cubells D, et al. Brain cortical activation during guitar-induced hand dystonia studied by functional MRI. *Neuroimage* 2000;12:257-267.
25. Flor H. Remapping somatosensory cortex after injury. *Adv Neurol* 2003;93:195-204.
26. Mathofner C, Handwerker HO, Birklein F. Functional imaging of allodynia in complex regional pain syndrome. *Neurology* 2006;66:711-717.
27. Roth M, Decety J, Raybaudi M, et al. Possible involvement of primary motor cortex in mentally simulated movement: a functional magnetic resonance imaging study. *Neuroreport* 1996;7:1280-1284.
28. Ward NS, Brown MM, Thompson AJ, et al. Neural correlates of outcome after stroke: a cross-sectional fMRI study. *Brain* 2003;126:1430-1448.
29. Strick PL. Anatomical organization of multiple motor areas in the frontal lobe: implications for recovery of function. [Review]. *Adv Neurol* 1987;47:293-312.
30. Weiller C, Chollet F, Friston KJ, et al. Functional reorganization of the brain in recovery from striatocapsular infarction in man. *Ann Neurol* 1992;31:463-472.
31. Gelb DJ, Yoshimura DM, Olney RK, et al. Change in pattern of muscle activity following botulinum toxin injections for torticollis. *Ann Neurol* 1991;29:370-376.
32. Ceballos-Baumann AO, Sheean G, Passingham RE, et al. Botulinum toxin does not reverse the cortical dysfunction associated with writer's cramp. A PET study. *Brain* 1997;120(Pt 4):571-582.
33. Traversa R, Cicinelli P, Olivetti M, et al. Neurophysiological follow-up of motor cortical output in stroke patients. *Clin Neurophysiol* 2000;111:1695-1703.
34. Johansen-Berg H, Dawes H, Guy C, et al. Correlation between motor improvements and altered fMRI activity after rehabilitative therapy. *Brain* 2002;125:2731-2742.
35. Nelles G, Spiekermann G, Jueptner M, et al. Evolution of functional reorganization in hemiplegic stroke: a serial positron emission tomographic activation study. *Ann Neurol* 1999;46:901-909.
36. Marshall RS, Perera GM, Lazar RM, et al. Evolution of cortical activation during recovery from corticospinal tract infarction. *Stroke* 2000;31:656-661.
37. Liepert J, Bauder H, Wolfgang HR, et al. Treatment-induced cortical reorganization after stroke in humans. *Stroke* 2000;31:1210-1216.
38. Liepert J, Uhde I, Graf S, et al. Motor cortex plasticity during forced-use therapy in stroke patients: a preliminary study. *J Neurol* 2001;248:315-321.
39. Nelles G, Jentzen W, Jueptner M, et al. Arm training induced brain plasticity in stroke studied with serial positron emission tomography. *Neuroimage* 2001;13:1146-1154.
40. Small SL, Hlustik P, Noll DC, et al. Cerebellar hemispheric activation ipsilateral to the paretic hand correlates with functional recovery after stroke. *Brain* 2002;125:1544-1557.
41. Vogt BA, Absher JR, Bush G. Human retrosplenial cortex: where is it and is it involved in emotion? *Trends Neurosci* 2000;23:195-197.

42. Mesulam MM, Nobre AC, Kim YH, et al. Heterogeneity of cingulate contributions to spatial attention. *Neuroimage* 2001;13:1065-1072.
43. Ratchle ME, MacLeod AM, Snyder AZ, et al. A default mode of brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:676-682.
44. Jancke L, Shah NJ, Peters M. Cortical activations in primary and secondary motor areas for complex bimanual movements in professional pianists. *Cogn Brain Res* 2000;10:177-183.
45. Puttemans V, Wenderoth N, Swinnen SP. Changes in brain activation during the acquisition of a multifrequency bimanual coordination task: from the cognitive stage to advanced levels of automaticity. *J Neurosci* 2005;25:4270-4278.
46. Sakai K, Hikosaka O, Miyauchi S, et al. Transition of brain activation from frontal to parietal areas in visuomotor sequence learning. *J Neurosci* 1998;18:1827-1840.
47. Milton J, Solodkin A, Hlustik P, et al. The mind of expert motor performance is cool and focused. *Neuroimage* 2007;35:804-813.

Clinical Investigative Study

Cortical Activation Changes in Patients Suffering from Post-Stroke Arm Spasticity and Treated with Botulinum Toxin A

Zuzana Tomášová, MD, Petr Hlušík, MD, MSc, PhD, Michal Král, MD, Pavel Otruba, MD, Roman Herzig, MD, PhD, Alois Krobot, MD, PhD, Petr Kaňovský, MD, PhD

From the Departments of Neurology (ZT, PH, MK, PO, RH, PK), Rehabilitation (AK) and Radiology (PH), Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University and University Hospital, Olomouc, Czech Republic.

ABSTRACT

BACKGROUND AND PURPOSE

Botulinum toxin (BoNT) treatment relieves focal arm spasticity after stroke, likely acting at several hierarchical levels of the motor system. The central correlate of BoNT-induced spasticity relief may be detected using repeated functional MRI (fMRI) during motor task.

METHODS

Five patients (4 males, 1 female, mean age 67 years) with hemiparesis and distal arm spasticity after chronic ischemic stroke were studied. fMRI was performed while moving the paretic hand in three sessions: before and 4 and 11 weeks after BoNT treatment.

RESULTS

Arm spasticity significantly decreased following BoNT treatment across the group (mean modified Ashworth scale change .6). fMRI prior to BoNT treatment showed extensive bilateral active networks, whereas post-BoNT activation was limited to midline and contralateral sensorimotor cortices, and the third examination, when the toxin effect has worn off, again showed extensive activation similar to pre-BoNT examination. Post-BoNT session 2 compared to sessions 1 and 3 demonstrated a significantly less activation in contralateral frontoparietal areas including inferior frontal, postcentral, and middle frontal gyri as well as transient crossed cerebellar activation.

CONCLUSION

Relief of post-stroke arm spasticity may be associated with changes at several hierarchical levels of the cortical sensorimotor system, including the prefrontal cortex.

Keywords: Stroke, arm spasticity, functional magnetic resonance imaging, finger movement, botulinum toxin.

Acceptance: Received January 4, 2011, and in revised form August 26, 2011. Accepted for publication September 17, 2011.

Correspondence: Address correspondence to Prof. MUDr. Ing. Petr Hlušík, PhD, Department of Neurology, University Hospital, I. P. Pavlova 6, 77520 Olomouc, Czech Republic. E-mail: phlustik@upol.cz.

Conflicts of Interest: There are no conflicts of interest associated with this manuscript, financial or otherwise. The manuscript has been read and approved by all authors.

The paper was presented in part as a lecture at the 60th Annual Meeting of the American Academy of Neurology in Chicago, IL, USA in April 2008 and as a poster at 18th Meeting of the European Neurological Society, Nice, France, in June 2008.

J Neuroimaging 2011;XX:1–8.
DOI: 10.1111/j.1552-6569.2011.00682.x

Introduction

Long-term sequelae of stroke include motor deficits, which are collectively described as the upper motor neuron syndrome, including both negative (eg, weakness) and positive (eg, spasticity) phenomena.^{1,2} Spasticity is a chronic motor disorder and is characterized by a velocity-dependent increase in tonic stretch reflex (muscle tone), with exaggerated tendon jerks resulting from hyperexcitability of the stretch reflex.³

It is generally recognized that spasticity after stroke may interfere with motor and activity performance, cause pain, and lead to secondary complications.⁴ Spasticity therapy has emerged as an important approach to alleviate such symptoms. Botulinum toxin A (BoNT), injected into the spastic muscles, has emerged as the first-line treatment of focal or multifocal spasticity.⁵

BoNT causes a temporary block of neuromuscular transmission by inhibiting acetylcholine release at the neuromuscular junction of both extrafusal and intrafusal muscle fibers. This dual effect of BoNT may also be related to modified spindle afferent discharge that could contribute to the antispastic action and there could be CNS changes involved as well.⁶ BoNT probably alters sensory inputs to the central nervous system with reduction of Ia afferent signals, and thus may indirectly induce secondary central changes in activation at several hierarchical levels of the motor system, presumably including cerebral cortex. This phenomenon has been already described in dystonia⁷⁻⁹ and observations at the CNS level have recently been reported also for cerebral spasticity.¹⁰⁻¹¹

We have previously studied the neuroanatomical correlate of BoNT-related post-stroke spasticity relief using functional

Table 1. Patient Characteristics

Patient No.	Sex	Age (years)	Lesion side	Lesion location	Initial NIHSS	Hand Dominance	Zung SDS Index	MMSE	mMRC FE	mMRC FF	Barthel index	Time Post-Stroke (months)
1	M	54	L	Thalamus, capsule, BG	9	D	31	24	3-4	4	85	15
2	M	60	R	BG, capsule	3	N	41	28	4	4-5	90	9
3	F	64	L	Thalamus, BG, capsule	5	D	50	N/A	3-4	4	65	13
4	M	77	L	Thalamus, capsule, BG	5	D	40	24	2-3	3	70	21
5	M	80	L	Thalamus	5	D	49	N/A	3-4	4	20	12
Summary	4M/1F	67.0 ± 11.1	4L/1R	Heterogeneous	5.4 ± 2.2	4D/1N	42.2 ± 7.7				66.0 ± 27.7	14.0 ± 4.4

Note: L = left; R = right; D = dominant hand impaired; BG = basal ganglia; NIHSS = NIH stroke scale; mMRC = modified MRC scale; FE = finger extensors; FF = finger flexors; N/A = not applicable – the MMSE score could not be interpreted because of the presence of expressive aphasia.

MRI (fMRI).¹¹ A small group of hemiplegic stroke patients exhibited changes in the activation of posterior cingulate related to BoNT spasticity treatment. However, the study presented several limitations: First, in the presence of hemiplegia, the motor task involved mental simulation of movement, which is difficult to monitor. Secondly, the two-session study design did not allow complete separation of the BoNT treatment effect from possible confounding effects of time and rehabilitation.

Our present fMRI study was designed to overcome these limitations studying hemiparetic patients with preserved hand movement and adding a third study session at the time point when BoNT effects diminish. This approach should allow more specific localization of central processes related to BoNT-induced spasticity relief.

Patients and Methods

Patients were studied using previously published protocol.¹¹ The following text summarizes the methodology and highlights differences particular for the present study.

Patients

The patients were recruited in the Stroke Centre at Department of Neurology, University Hospital, Olomouc, Czech Republic. The study was conducted in accordance with the Helsinki Declaration of 1975 (as revised in 2000) and it was approved by the local ethics committee of our hospital.

Study group consisted of 5 patients (4 males, 1 female; aged 67.0 ± 11.1 years, range 54-80). All patients suffered from distal arm paresis and spasticity following ischemic stroke at 1+ and higher of Modified Ashworth Scale, showed ability to cooperate during the performed examinations, and were enrolled after having provided informed consent with their participation in the study. Screening was performed to exclude patients with significant cognitive deficit (MMSE¹²), and depression (Zung Self-rating Depression Scale¹³). Further clinical evaluation included NIH stroke scale at stroke onset (from patients' records), and finger flexor and extensor strength (modified MRC scale¹⁴) and Barthel score at study enrollment.

The stroke in all patients has been diagnosed by clinical history, clinical examination, and brain MRI or brain CT examinations. The time from stroke onset to the study entry ranged from 9 to 21 months, mean was 14.0 months, SD = 4.0 months. In all patients, the infarction was visualized by MRI at the beginning of the study to reveal its size and location.



Fig 1. Lesion localization in individual patients displayed on an axial Talairach template (z = +12 mm).

The patients' characteristics are listed in Table 1, and the map of lesions is shown in Fig 1.

Behavioral Assessment

Spasticity was evaluated during clinical examination using the Modified Ashworth Scale.¹⁵ The motor function was assessed quantitatively according to a dedicated physiotherapeutic protocol, which tested the functional motor skills and was developed for use in a clinical rehabilitation setting using the Gross Motor Function Measure (GMFM) protocol template.¹⁶ The functional assessment was done by a rehabilitation specialist blinded to the protocol and treatment. The assessments were done at Week 0, when patients were screened, enrolled, and injected with BoNT, then at Week 4, four weeks following the injection of BoNT (when BoNT effect is assumed to be maximal), and at Week 11, eleven weeks after BoNT injection (disappearance of BoNT effect). Since physiotherapy effects are expected to be gradually developing over time, this longitudinal design permits their separation from the transient effect of BoNT, as

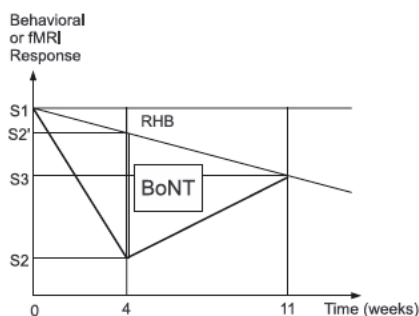


Fig 2. Decomposition of treatment effect at 4 weeks ($S_2 - S_1$) into progressive rehabilitation $RHB = S_2' - S_1$ and transient botulinum toxin $BoNT = S_2 - S_2'$ (vertical double line) components; S_2' is the weighted average of the first (S_1) and third (S_3) sessions. See Methods for additional description and the formula.

illustrated in Figure 2. When a behavioral or imaging parameter changes from session 1 (S_1) to session 2 (S_2) and session 3 (S_3), the treatment effect at session 2 (difference $S_2 - S_1$) may be decomposed into a transient BoNT effect and a progressive effect of time and rehabilitation (RHB) using a specific statistical contrast (see Data Analysis).

Treatment

The patients were treated with botulinum toxin A injections into the muscles of affected arm, and then they underwent intensive rehabilitation treatment (according to the tailored protocol) for the period of 4 weeks. The BoNT injections were done according to the WE MOVE (Worldwide Education and Awareness for Movement Disorders) recommendations, and on the basis of previous clinical experience of ours and other investigators.^{17,18} Botulinum toxin A (BOTOX[®], Allergan Inc., Irvine, CA) was used for the preparation of solution. The flexor carpi radialis, flexor carpi ulnaris, flexor digitorum superficialis, and flexor digitorum profundus muscles were always injected, and the dose used for the injection into one muscle was always 50 U. Injection of BoNT into each muscle in all 5 patients was always performed with the EMG guidance, preferably with electrical stimulation for localization of the muscle intended to be treated. All patients were receiving antiplatelet therapy, so digital compression of the injection site was performed for at least 1 minute after each injection. Fifteen minutes after the injection, the injection sites were inspected.

The rehabilitation treatment, aiming to reduce spasticity in the paretic upper limb, was done during the admittance to the hospital ward and the treatment was started the second day after the injection procedure. Each workday, the patients underwent two sessions of tailored rehabilitation treatment, for a total of 1 hour, using a combination of postural therapy from the Bobath concept and diagonal patterns from PNF (proprioceptive neuromuscular facilitation). Inpatient physiotherapy (4 weeks) was followed by outpatient therapy until the third clinical and fMRI evaluation (total of 11 weeks). The protocol of rehabilitation treatment was set up prior to the start of the study and the proper adherence of rehabilitation treatment to the protocol was repeatedly checked during the sessions.¹⁶

Tasks

One day before the functional brain imaging session, subjects learned and practiced a sequential finger movement (Roland's paradigm¹⁹) with the paretic hand, at the rate of approximately one movement every second. On the following day, a short practice session immediately preceded the imaging session.

In the MRI scanner, hand movements were performed with eyes closed, beginning and end of movement blocks were signaled verbally (start/stop) in MR-compatible headphones. In a block paradigm, sequential finger movement alternated with rest (15 s). Each experimental run consisted of 12 repetitions of the same movement-rest block pairs, for a total of 6 minutes. Each participant had two experimental runs with the impaired hand. Like the behavioral assessments, the fMRI examinations were done at Week 0, Week 4, and Week 11.

Data Acquisition

Magnetic resonance imaging data were acquired on 1.5 Tesla scanners (Avanto and Symphony, Siemens, Erlangen, Germany) with a standard head coil. The MR imaging protocol covered the whole brain with 30 axial slices 5 mm thick, including anatomical T_1 -weighted images to provide an immediate overlay with functional data, fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) images to visualize brain lesions, functional T_2^* -weighted (blood oxygenation level-dependent [BOLD]) images during task performance and rest, and a high-resolution 3D anatomical scan (MPRAGE). BOLD images were acquired with gradient echo EPI, $TR/TE = 2500/40$ ms, FOV 220 mm, to provide $3.4 \times 3.4 \times 5$ mm resolution. 144 volumes were acquired per each 6-minute functional run. Subject's head was immobilized with cushions to assure maximum comfort and minimize head motion. Task performance and the presence of mirror movements were monitored visually. Runs containing errors were aborted and restarted.

Analysis

Prior to fMRI analysis, the imaging data of 1 patient with right-hemispheric lesions were flipped in the left-right direction to allow group analysis of movement with the impaired hand.²⁰ fMRI data processing was carried out using FMRI Expert Analysis Tool (FEAT) Version 5.98, part of FMRIB's Software Library (FSL; www.fmrib.ox.ac.uk/fsl). The following pre-statistics processing was applied; motion correction using MCFLIRT;²¹ slice-timing correction using Fourier-space time-series phase-shifting; non-brain removal using BET;²² spatial smoothing using a Gaussian kernel of full width at half-maximum (FWHM) 10 mm; grand-mean intensity normalization of the entire 4D data set by a single multiplicative factor; high-pass temporal filtering (Gaussian-weighted least-squares straight line fitting, with $\sigma = 15.0$ s). Time-series statistical analysis was carried out using FILM with local autocorrelation correction, including the 6 motion estimate vectors in the model to remove residual signal changes due to motion.²³ Registration to high-resolution structural and/or standard space images was carried out using FLIRT.^{21,24}

Higher-level analysis was carried out using FMRIB's Local Analysis of Mixed Effects (FLAME) stage 1 and 2 with

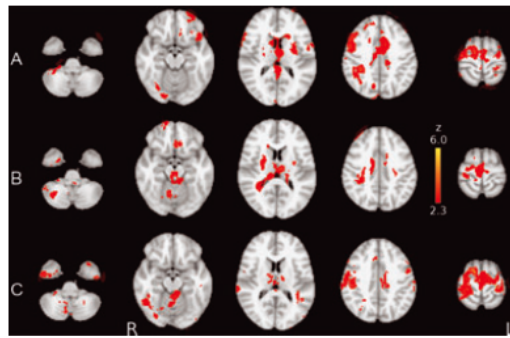


Fig 3. fMRI activation of the motor system during finger movement (A) before BoNT treatment, (B) after BoNT treatment of arm spasticity, and (C) during off-BoNT examination. Group average statistical maps (Z-score) are overlaid in color on the MNI anatomical template. Right side of the brain is displayed on the left.

automatic outlier detection.²⁵⁻²⁷ Z (Gaussianized T/F) statistic images were thresholded using clusters determined by $Z > 2.3$ and a (corrected) cluster significance threshold of $P = .05$.²⁸ This analysis produced group mean activation maps for each of the three sessions. Additionally, between-session differences in the magnitude of activation (BOLD response) were tested with post hoc linear contrasts (paired *t*-tests). The effect of BoNT treatment independent of time (see Fig 2) was tested with specific post hoc linear contrasts, comparing the weighted average of sessions 1 and 3 ($S2'$) with session 2, using temporal distance from session 2 as the weights: $S2' = (7*S1 + 4*S3)/11$ versus $S2$.

Results

Behavioral

BoNT treatment caused a reduction in arm spasticity across the group (mean MAS change from baseline .6, $P = .07$, one-sided paired *t*-test) 4 weeks after the BoNT injection. The mean MAS scores were: at Week 0: 2.3 (SD .67), at Week 4: 1.7 points (SD .27), and at Week 11: 2.2 points (SD .45). MAS scores at Week 11 did not significantly differ from Week 0 (MAS change.1, $P = .352$, one-sided paired *t*-test). Visual monitoring did not reveal the presence of significant mirror movements.

Imaging

Group maps of fMRI activation during impaired hand movement prior to BoNT treatment showed an extensive participation of active areas in both hemispheres, including contralateral primary motor cortex, supplementary motor area (SMA), bilateral premotor cortices, superior parietal lobe, and basal ganglia (Fig 3A). Movement-related fMRI changes during hand movement after BoNT treatment were restricted to midline and contralateral sensory and motor cortices (Fig 3B). During session 3 (Week 11), a pattern of extensive activation of sensorimotor cortical areas reappeared, very similar to the pre-BoNT examination (Fig 3C). Whereas visual inspection suggests several areas differing in activation between session 1 (pre-treatment) and

3 (off-BoNT), direct comparison using a paired *t*-test revealed no areas of significantly different activation (BOLD response) magnitude.

Across the patient group, the activation map of average statistical differences between the post-BoNT session ($W4$) and sessions 1 and 3 manifested a transient crossed cerebellar activation (physiological), absent in pre- and off-BoNT examinations. On the other hand, the complementary contrast revealed a significant decrease ($P < .05$) in activation of the contralateral cortical network including the following areas: dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC), inferior parietal lobule, premotor cortex, inferior frontal gyrus (Broca's area), and postcentral gyrus (see Table 2). The strongest hotspot located in the DLPFC is shown in Figure 4.

Discussion

There is extensive and ever growing evidence that the evolution of post-stroke deficits is paralleled by reorganization in multiple brain structures.²⁹ These changes may apparently be both beneficial, such as those underlying recovery,²⁹ and detrimental, ie, may impair residual function (so-called maladaptive plasticity). Examples of maladaptive plasticity in the brain include dystonia, phantom limb pain after amputation, and allodynia,³⁰⁻³² and possibly also the development of pain and spasticity after stroke.

In our present study, analogous to our previous work,³³ we have reviewed functional neuroimaging findings on plasticity phenomena occurring in connection with post-stroke arm spasticity and their relationship to functional improvement induced by BoNT treatment.

Previously, we have studied the cortical correlates of BoNT-related relief of spasticity in a group of hemiplegic stroke patients.³³ However, that study presented several limitations: First, in the presence of hemiplegia, the motor task involved mental simulation of movement, which is difficult to monitor. Secondly, the two-session study design did not allow complete separation of the BoNT treatment effect from possible confounding effects of time and rehabilitation. In view of these limitations, in the present study we assessed the changes in cortical activation in patients with preserved hand movement examined in 3 fMRI sessions, ie, adding a third study session at the time point when BoNT effects diminish. This approach permits decomposition of transient (BoNT) and progressive (rehabilitation, recovery) changes as described in the Methods and illustrated in Figure 2 and should allow more specific localization of central processes related to BoNT-induced spasticity relief.

In each session, finger movements with the paretic hand evoked activation in the well-described frontoparietal sensorimotor system; the most significant regions of activation during movement of the stroke-affected hand were found in the contralateral motor cortex, SMA, bilateral premotor cortices, and the superior and inferior parietal lobe.

The analysis across sessions identified three clusters in which fMRI signal changed significantly with improved post-stroke arm spasticity after BoNT treatment: the standard parts of motor system (primary motor and somatosensory cortex,

Table 2. Regions Showing BOLD Response Changes Related to BTX Treatment

Region (H-O)	Z-max	x	y	z
43% IFG/BA44	6.93	-54	34	8
27% IFG/BA44, 23% IFG/BA45	6.31	-58	22	10
72% PostCG, 5% SMG	6.08	-58	-18	42
52% PostCG, 26% SMG	6.04	-60	-24	42
51% MFG	5.84	-40	14	48
47% MFG, 2% SFG	5.6	-38	14	52

H-O = Harvard-Oxford Cortical Structural Atlas; IFG = inferior frontal gyrus; PostCG = postcentral gyrus; SMG = supramarginal gyrus; MFG = middle frontal gyrus; BA = Brodmann area.

premotor cortex) with decreased fMRI activity, cortical areas participating in cognitive aspects of movement control and planning (DLPFC, Broca's area), and the cerebellum (with transient crossed activation at session 2).

First, BoNT treatment induced a clear reduction in the extent and also more prominent lateralization of the active sensorimotor network (see Fig 2), similar to that shown previously in motor recovery after stroke.^{20,34} A similar effect representing a trend toward normalization of movement-induced brain activation was reported by Manganotti and colleagues¹⁰ in a study similar to ours, involving stroke patients with hemipare-

sis and upper-limb spasticity studied treated with BoNT-A and studied with fMRI. However, there are several methodological differences between Manganotti and colleagues¹⁰ and our study, which limit a more detailed comparison of their results: First, their study involved two examinations and no rehabilitation; our study included three examinations and concomitant rehabilitation. Secondly, their fMRI motor activation was quantified using within-subject analysis, thresholding, and voxel counting. This permits observation of individual effects but thresholding individual data is sensitive to other sources of BOLD signal variability besides the treatment effect even in normal subjects, and even more so in patients. In contrast, our study relied on more common group analysis using a common anatomical space and between-session contrasts implemented as direct statistical comparison of the local BOLD response across sessions, which is considered more robust. Additionally, Manganotti and colleagues included patients with brain hemorrhage, where hemosiderin deposits may contribute to BOLD signal variability, whereas our study selected only brain infarctions. On the other hand, our study lacked within-scanner EMG monitoring, so we could not assess the suggested role of muscle synkinesias and co-contraction in the observed extended recruitment of sensorimotor cortical areas.¹⁰ Still, there are several arguments against a dominant role of this particular factor: extended recruitment of sensorimotor

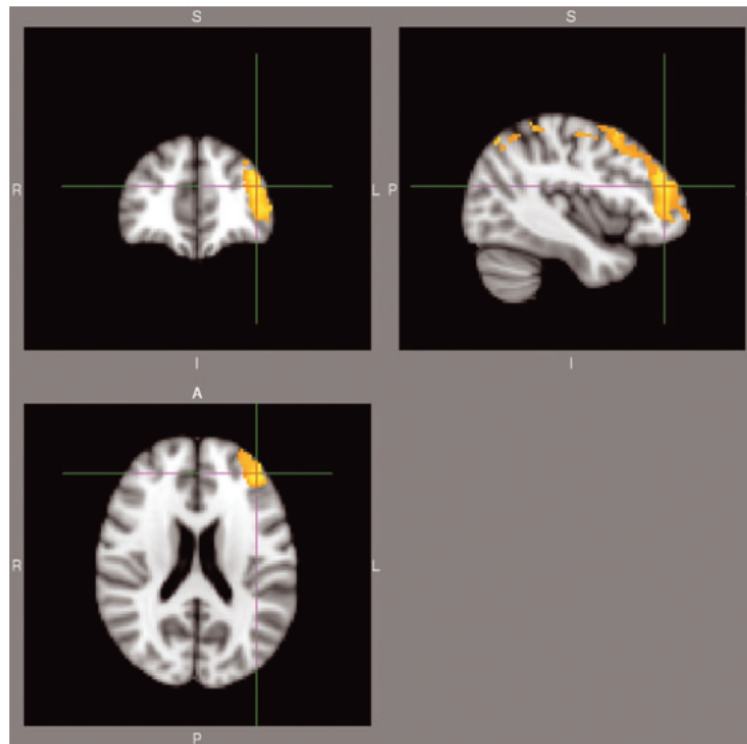


Fig 4. BoNT treatment effect—DLPFC, location of the most significant decrease in motor system activation after BoNT treatment. Group post hoc contrast (z-score) comparing session 2 to the weighted average of sessions 1 and 3 (see Fig 2 and Methods for more detailed description) is overlaid on the MNI anatomical template. Right side of the brain is displayed on the left.

cortices has been reported in stroke hemiparesis even in the absence of significant spasticity and co-contractions, eg, by Ward and colleagues^{20,34} Furthermore, we have observed an analogous extended pattern during motor imagery in stroke patients with hand plegia.¹¹ Finally, such overactivation has been described in other neurological conditions with motor deficit but without manifest synkinesias and co-contractions, such as multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis. Hence, enhanced recruitment of sensorimotor cortical areas seems to be a more general compensatory pattern in the presence of motor deficit.

It may be noted that group statistical maps for sessions 1 (pre-treatment; see Fig 3A) and 3 (off-BoNT; Fig 3C) do manifest visible differences in the activation patterns, which contrasts with the absence of significant differences found on direct statistical comparison. Although group statistical maps may suggest general trends for differences and changes, their spatial patterns may exaggerate minor differences through the (albeit necessary) use of thresholding; activation in a particular region may be slightly above threshold in one condition and slightly below threshold in another while the use of thresholding changes this rather small quantitative difference to a conspicuous qualitative active-inactive difference.

Our second regional result and a new finding was the relative treatment-induced decrease of activation in a contralateral frontoparietal network with hotspots including (in the order of decreasing significance) inferior frontal gyrus, postcentral gyrus, and middle frontal gyrus/dorsolateral prefrontal cortex.

As mentioned above, impaired hand movements activated an extensive mostly bilateral network of active areas in primary and non-primary sensorimotor regions during the performance of a motor task. SMA and premotor cortex are both supposed to be involved in higher order motor functions, such as planning of action, coordination, and timing of voluntary action and these regions are highly interconnected within and between hemispheres. Beyond these expected results, we may speculate on the origins of the pre-treatment overactivation of inferior frontal gyrus, postcentral gyrus, and middle frontal gyrus/dorsolateral prefrontal cortex. It is possible that cortical areas which were not previously involved in the specific function become active during the performance of task that utilizes impaired functional areas or networks. It can also signify a general response pattern of the lesioned brain as a maladaptive compensatory mechanism related to a lasting increased pathological proprioceptive afferentation (via Ia fibers) associated with spasticity. BoNT therapeutic alteration or suppression of this form of cortical "plasticity" normalizes temporarily the extensive activation of mentioned cortical areas, while it transiently restores the expected activation of the cerebellum.

The canonical cortical motor network is thought to consist of frontal areas including the primary motor cortex, dorsal and ventral lateral premotor cortex, SMA, and cingulate motor areas (CMA), interconnected at the cortical level and with projections to spinal cord motor neurons.³⁵ Under pathological conditions, such as stroke damaging the motor-related structures, it is assumed that the movement-related functional circuit becomes extended and includes structures outside the classical motor system.³⁶

Dynamic shifts in the strength of preexisting connections across distributed neural networks, changes in task-related cortico-cortical and corticosubcortical coherence, and modifications of the mapping between behavior and neural activity take place in response to changes in afferent input or efferent demand. Such rapid, ongoing changes may be followed by the establishment of new connections through dendritic growth and arborization. However, they harbor the danger that the evolving pattern of neural activation may in itself lead to abnormal behavior. Plasticity is the mechanism for development and learning, as much as a cause of pathology.²⁹

For the treatment-related normalized activation within the contralateral frontoparietal cortical network, we favor the interpretation that BoNT, through blockage of the neuromuscular junction of the γ -motor neurons, induces a reduction of Ia afferent signals and thus indirectly inhibits pre-existing feedback-driven execution mode. In this way, it alters impaired gating of sensory inputs to the central nervous system. This concept is in line with studies investigating the central effects of BoNT treatment in patients with focal dystonia³⁷⁻³⁹ using techniques such as EMG, PET, and fMRI, the results of which suggest central reorganization following botulinum toxin treatment.

One of the aims of our study design was to permit the analysis of BoNT effect independently of possible parallel processes of spontaneous functional recovery and motor rehabilitation-related changes, as described previously. We therefore assume that our observed pattern of change is more likely to be related to relief of spasticity rather than to the concomitant physical therapy.

Brodman areas (BA) 44 and 45 in the left inferior frontal gyrus form Broca's area, classically considered the region of brain responsible for speech production. The presence of Broca's area deactivation after BoNT therapy applied to the arm may thus be surprising. Recently, however, several experiments have shown that Broca's area is involved in many different cognitive and perceptual tasks as well as motor tasks, not necessarily related to speech. Besides language function, one important contribution of BA44 is found in the motor domain and motor-related processes.⁴⁰ Several studies reported significant activation of BA 44 during execution of grasping and manipulation.⁴¹⁻⁴³

The DLPFC is an association area, consisting of BA 9 and 46 with different cytoarchitecture and different connectivity than the more posterior motor areas of the frontal lobe. Although the role of the DLPFC was considered to be limited to only such functions as working memory, executive functions, and decision making, in a few previously published studies DLPFC has also been related to motor performance and motor skill.⁴⁴ In the presence of spasticity, it is possible that the patients adapt their strategy to cope with the required sequential finger movement, engaging the Broca's area and DLPFC. We favor the alternative, although not mutually exclusive, explanation that frontal cortical areas may engage in the programming of movement when the classical motor structures are gated by the abnormal proprioceptive input from the spastic muscles of the paretic extremity.

Lastly, transient (physiological) cerebellar activation appearing at session 2 may result from improvement of motor function

associated with the relative “normalization” of motor system activation at that time. This may relate to the reported cerebellar engagement when motor system activation approaches the normal pattern with successful motor recovery⁴⁵ or intensive rehabilitation⁴⁶ after stroke. In our study, the return of spasticity at session 3 likely dominates over the effects of rehabilitation and so cerebellar activation becomes diminished again.

Another study using a combination of rehabilitation and BoNT for chronic post-stroke arm spasticity⁴⁷ reported fMRI activity increases in the ipsilesional primary sensorimotor cortex and in the contralesional secondary somatosensory area following 14 weeks of repetitive arm cycling. Whereas this is in good agreement with other studies of rehabilitation alone,⁴⁶ the protocol of Diserens and colleagues⁴⁷ did not include fMRI examinations at the time of maximum BoNT effect (our session 2) and thus the (transient) effect of BoNT cannot be evaluated and compared with our study. On the other hand, our study did not find significant fMRI changes due to rehabilitation over the 11 weeks (comparing sessions 1 and 3). This could result from differences in patient characteristics (stroke size and location, degree and character of motor deficit, group size), as well as different duration and character of physiotherapy. A more comprehensive study would be required to properly evaluate both the transient and long-term changes due to BoNT and physiotherapy, applied alone as well as together.

We have to acknowledge the relatively small size of our patient group, which reduces the overall statistical power to detect smaller effects and the selection of subcortical infarcts only, which further limits the possibility to generalize the results to the whole population of patients suffering from arm spasticity after stroke.

Conclusion

The present study suggests that structures both within and outside the classical sensorimotor system may be associated with the relief of post-stroke arm spasticity. Broca’s area and the DLPFC region have been implicated in complex cognitive functions, however, in special circumstances they may participate in modulation of sensorimotor processing as well.

We thank Andrea Bártková, MD, PhD, Martin Nevrlý, MD, and Hana Příkrylová-Vranová, MD, for patient recruitment. This work was supported by the IGA Ministry of Health Czech Republic grant number NS9920-4/2008.

References

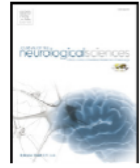
1. Sheean G. Neurophysiology of spasticity. In: Barnes M, Johnson G, eds. *Upper Motor Neuron Syndrome and Spasticity*. Cambridge: Cambridge University Press; 2001:12-78.
2. Burke D. Spasticity as an adaptation to pyramidal tract injury. *Adv Neurol* 1988;47:401-423.
3. Lance JW. The control of muscle tone, reflexes, and movement: Robert Wartenberg Lecture. *Neurology* 1980;30:1303-1313.
4. Collin C, Wade DT, Davies S, et al. The Barthel ADL Index: a reliability study. *Int Disabil Stud* 1988;10:61-63.
5. Simpson DM, Gracies JM, Yablon SA, et al. Botulinum neurotoxin versus tizanidine in upper limb spasticity: a placebo-controlled study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009;80:380-385.

6. Antonucci F, Rossi C, Gianfranceschi L, et al. Long-distance retrograde effects of botulinum neurotoxin A. *J Neurosci* 2008;28:3689-3696.
7. Kaňovský P, Bareš M, Dufek J. *Spasticita: mechanismy, diagnostika a léčba*. Praha: Maxdorf, 2004.
8. Kaňovský P, Streitová H, Daniel P, et al. Long-term remission of cervical dystonia induced by treatment with botulinum toxin A—Signal of the possible effect on the central dystonic mechanism? (in Czech). *Ces Slov Neurol Neurochir* 1998;61:123-134.
9. Kaňovský P, Streitová H, Dufek J, et al. Change in lateralization of the P22/N30 cortical component of median nerve somatosensory evoked potentials in patients with cervical dystonia after successful treatment with botulinum toxin A. *Mov Disord* 1998;13:108-117.
10. Manganotti P, Acler M, Formaggio E, et al. Changes in cerebral activity after decreased upper-limb hypertonus: an EMG-fMRI study. *Magn Reson Imaging* 2010;28(5):646-652.
11. Šenkárová Z, Hlušík P, Otruba P, et al. Modulation of cortical activity in patients suffering from upper arm spasticity following stroke and treated with botulinum toxin A: an fMRI study. *J Neuroimaging* 2010;20:9-15.
12. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. “Mini-mental state”. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975;12:189-198.
13. Zung WW. A self-rating depression scale. *Arch Gen Psychiatry* 1965;12:63-70.
14. Paternostro-Sluga T, Grim-Stieger M, Posch M, et al. Reliability and validity of the Medical Research Council (MRC) scale and a modified scale for testing muscle strength in patients with radial palsy. *J Rehabil Med* 2008;40:665-671.
15. Bohannon RW, Smith MB. Interrater reliability of a modified Ashworth scale of muscle spasticity. *Phys Ther* 1987;67:206-207.
16. Krobot A, Schusterová B, Tomsová J, et al. Specific protocol of physiotherapy in stroke patients (in Czech). *Ces Slov Neurol Neurochir* 2008;71/104:V74.
17. Kanovsky P, Slawek J, Denes Z, et al. Efficacy and safety of botulinum neurotoxin NT 201 in poststroke upper limb spasticity. *Clin Neuropharmacol* 2009;32(5):259-265.
18. Brashear A, Gordon MP, Elovic E, et al. Intramuscular injection of botulinum toxin for the treatment of wrist and finger spasticity after a stroke. *N Engl J Med* 2002;347:395-400.
19. Roland PE, Larsen B, Lassen NA, et al. Supplementary motor area and other cortical areas in organisation of voluntary movements in man. *J Neurophysiol* 1980;43: 118-136.
20. Ward NS, Brown MM, Thompson AJ, et al. Neural correlates of outcome after stroke: a cross-sectional fMRI study. *Brain* 2003;126:1430-1448.
21. Jenkinson M, Bannister P, Brady M, et al. Improved optimization for the robust and accurate linear registration and motion correction of brain images. *Neuroimage* 2002;17:825-841.
22. Smith SM. Fast robust automated brain extraction. *Hum Brain Mapp* 2002;17:143-155.
23. Woolrich MW, Ripley BD, Brady M, et al. Temporal autocorrelation in univariate linear modeling of FMRI data. *Neuroimage* 2001;14:1370-1386.
24. Jenkinson M, Smith S. A global optimisation method for robust affine registration of brain images. *Med Image Anal* 2001;5:143-156.
25. Beckmann CF, Jenkinson M, Smith SM. General multilevel linear modeling for group analysis in FMRI. *Neuroimage* 2003;20:1052-1063.
26. Woolrich MW, Behrens TE, Beckmann CF, et al. Multilevel linear modelling for FMRI group analysis using Bayesian inference. *Neuroimage* 2004;21:1732-1747.
27. Woolrich M. Robust group analysis using outlier inference. *Neuroimage* 2008;41:286-301.
28. Worsley KJ. Statistical analysis of activation images. In: Jezzard P, Matthews PM, Smith SM, eds. *Functional MRI: An Introduction to Methods*. Oxford: Oxford University Press, 2001:251-270.

29. Pascual-Leone A, Amedi A, Fregni F, et al. The plastic human brain cortex. *Annu Rev Neurosci* 2005;28:377-401.
30. Pujol J, Roset-Llobet J, Rosines-Cubells D, et al. Brain cortical activation during guitar-induced hand dystonia studied by functional MRI. *Neuroimage* 2000;12:257-267.
31. Flor H. Remapping somatosensory cortex after injury. *Adv Neurol* 2003;93:195-204.
32. Maihofner C, Handwerker HO, Birklein F. Functional imaging of allodynia in complex regional pain syndrome. *Neurology* 2006;66:711-717.
33. Dressler D, Adib Saberi F. Botulinum toxin: mechanisms of action. *Eur Neurol* 2005;53:3-9.
34. Ward NS, Brown MM, Thompson AJ, et al. Neural correlates of motor recovery after stroke: a longitudinal fMRI study. *Brain* 2003;126:2476-2496.
35. Strick PL. Anatomical organization of multiple motor areas in the frontal lobe: implications for recovery of function. *Adv Neurol* 1987;47:293-312.
36. Weiller C, Chollet F, Friston KJ, et al. Functional reorganization of the brain in recovery from striatocapsular infarction in man. *Ann Neurol* 1992;31:463-472.
37. Gelb DJ, Yoshimura DM, Olney RK, et al. Change in pattern of muscle activity following botulinum toxin injections for torticollis. *Ann Neurol* 1991;29:370-376.
38. Ceballos-Baumann AO, Sheean G, Passingham RE, et al. Botulinum toxin does not reverse the cortical dysfunction associated with writer's cramp. A PET study. *Brain* 1997;120:571-582.
39. Opavský R, Hluštík P, Otruba P, et al. Sensorimotor network in cervical dystonia and the effect of botulinum toxin treatment: a functional MRI study. *J Neurol Sci* 2011;306:71-75.
40. Fadiga L, Craighero L. Hand actions and speech representation in Broca's area. *Cortex* 2006;42:486-490.
41. Binkofski F, Buccino G, Posse S, et al. A fronto-parietal circuit for object manipulation in man: evidence from an fMRI-study. *Eur J Neurosci* 1999;11:3276-3286.
42. Gerardin E, Sirigu A, Lehericy S, et al. Partially overlapping neural networks for real and imagined hand movements. *Cereb Cortex* 2000;10:1093-104.
43. Grezes J, Armony JL, Rowe J, et al. Activations related to "mirror" and "canonical" neurones in the human brain: an fMRI study. *Neuroimage* 2003;18:928-937.
44. Halsband U, Lange RK. Motor learning in man: a review of functional and clinical studies. *J Physiol Paris* 2006;99:414-424.
45. Small SL, Hlustik P, Noll DC, et al. Cerebellar hemispheric activation ipsilateral to the paretic hand correlates with functional recovery after stroke. *Brain* 2002;125:1544-1557.
46. Johansen-Berg H, Dawes H, Guy C, et al. Correlation between motor improvements and altered fMRI activity after rehabilitative therapy. *Brain* 2002;125:2731-2742.
47. Diserens K, Ruegg D, Kleiser R, et al. Effect of repetitive arm cycling following botulinum toxin injection for poststroke spasticity: evidence from fMRI. *Neurorehabil Neural Repair* 2010;24:753-762.

11.1.2. Ďalšie publikácie in extenso k téme, uverejnené v recenzovaných vedeckých časopisoch s IF – spoluautorské:

1. Veverka T, Hluštík P, Tomášová Z, Hok P, Otruba P, Král M, et al. BoNT-A related changes of cortical activity in patients suffering from severe hand paralysis with arm spasticity following ischemic stroke. *J. Neurol. Sci.* 2012;319:89–95. IF2011 2,353
2. Veverka T, Hluštík P, Hok P, Tomášová Z, Otruba P, Král M, Tüdös Z, Krobot A, Herzig R, Kaňovský P. Differences in the modulation of cortical activity in patients suffering from upper arm spasticity following stroke and treated with botulinum toxin A: mental movement simulation and motor paradigm. *Cesk Slov Neurol N* 2013;76:175-182. IF 2012: 0,366



BoNT-A related changes of cortical activity in patients suffering from severe hand paralysis with arm spasticity following ischemic stroke

Tomáš Veverka^{a,*}, Petr Hlušík^{a,c}, Zuzana Tomášová^a, Pavel Hok^a, Pavel Otruba^a, Michal Král^a, Zbyněk Tüdös^c, Jana Zapletalová^d, Roman Herzig^a, Alois Krobot^b, Petr Kaňovský^a

^a Department of Neurology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University and University Hospital, Olomouc, Czech Republic

^b Department of Physiotherapy, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University and University Hospital, Olomouc, Czech Republic

^c Department of Radiology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University and University Hospital, Olomouc, Czech Republic

^d Department of Biophysics, Biometry and Statistics, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University and University Hospital, Olomouc, Czech Republic

ARTICLE INFO

Article history:

Received 7 December 2011

Received in revised form 19 April 2012

Accepted 2 May 2012

Available online 9 June 2012

Keywords:

Stroke

Arm spasticity

Functional MRI

Botulinum toxin

ABSTRACT

Background: Investigations were performed to localize and analyze the botulinum toxin (BoNT-A) related changes of cerebral cortex activation in chronic stroke patients suffering from severe hand paralysis with arm spasticity. Effects on task-related cerebral activation were evaluated by functional magnetic resonance imaging (fMRI).

Methods: 14 patients (5 males, 9 females, mean age 55.3 years) suffering from upper limb post-stroke spasticity were investigated. The change of arm spasticity was assessed by using the modified Ashworth scale (MAS). fMRI sessions were performed before (W0), four weeks (W4) and 11 weeks (W11) after BoNT-A application. Patients were scanned while performing imaginary movement with the impaired hand. Group fMRI analysis included patient age as a covariate.

Results: BoNT-A treatment was effective in alleviation of arm spasticity. Mean MAS was at Week 0: 2.5 (SD 0.53), at Week 4: 1.45 (SD 0.38), at Week 11: 2.32 (SD 0.44).

Task-related fMRI prior to the treatment showed extensive activation of bilateral frontoparietal sensorimotor cortical areas, anterior cingulate gyrus, pallidum, thalamus and cerebellum.

Effective BoNT-A treatment (W4) resulted in partial reduction of active network volume in most of the observed areas, whereas BoNT-free data (W11) revealed further volume reduction in the sensorimotor network.

On direct comparison, significant activation decreases associated with BoNT-A treatment were located in areas outside the classical sensorimotor system, namely, ipsilesional lateral occipital cortex, supramarginal gyrus and precuneus cortex. On comparison of W4 and W11, no activation increases were found, instead, activation further decreased in ipsilesional insular cortex, contralesional superior frontal gyrus and bilateral frontal pole.

Conclusions: Whole brain activation patterns during BoNT-A treatment of post-stroke arm spasticity and further follow up document predominantly gradual changes both within and outside the classical sensorimotor system.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Stroke is a leading cause of disability in Western countries [1]. Up to two thirds of stroke survivors experience impaired function and spasticity of the upper limb, and the impairment of the wrist and fingers is prevailing compared to proximal shoulder muscles [2,3].

The degree of muscle weakness is crucial in determining the degree of movement deficit, but spasticity may also contribute [4,5]. Spasticity frequently causes problems of common daily activities, hygiene, nursing care and also physiotherapy [6]. A recent prospective study has found a spasticity prevalence rate of 38% one year after stroke [7].

Recommended treatment strategies to relieve spasticity combine physiotherapy procedures with Botulinum toxin A (BoNT-A) application. [8,9]. BoNT-A acts at the neuromuscular junction and the mechanism of action on muscle spindles has been well described [10,11]. There is small but growing evidence that BoNT-A also exerts effects through supraspinal mechanisms and can even affect cortical reorganization [12]. The hypothesis of central reorganization following BoNT-A treatment has been supported by studies using neurophysiological and imaging methods in patients with focal dystonia [13–17]. Most of previous fMRI studies in stroke patients have described changes in task-related cortical activity following physiotherapy treatment, e.g., constraint-induced therapy [18]. Only several studies reported cortical changes after BoNT-A injections into the spastic muscles [19,20].

In two previous pilot fMRI studies, we have hypothesized that BoNT-A treatment can relieve focal spasticity through dynamic changes at multiple levels of motor system, presumably including cerebral cortex

* Corresponding author at: Department of Neurology, University Hospital, I. P. Pavlova 6, 77520 Olomouc, Czech Republic. Tel.: +420 588 443 419; fax: +420 585 428 201.
E-mail address: veverka.tomas@seznam.cz (T. Veverka).

[21,22]. These processes have been reflected in the changes of cortical activation during motor and mental tasks. Nevertheless, the results of these pilot studies have been limited by the small number of subjects.

The aim of our present study was to localize and analyze the BoNT-A related changes of cerebral cortex activation in chronic stroke patients suffering from severe hand paralysis with arm spasticity.

For that, we designed a protocol involving three serial fMRI sessions. This approach allowed documenting the whole brain activation pattern during treatment of spasticity and further follow ups.

2. Material and methods

2.1. Patients

The study has been approved by the institutional ethical committee, and all subjects gave written consent for the study in accordance with Declaration of Helsinki.

Study group consisted of 14 pre-morbidly right-handed patients (5 males, 9 females, mean age 55.3 years, range 22–78) with chronic ischemic stroke in the middle cerebral artery territory. Ischemic lesions were subcortical or corticosubcortical. The time from stroke onset to the study entry ranged from 3 to 83 months, the median was 7 months.

All patients suffered from distal arm plegia and spasticity of upper extremity following ischemic stroke at 1+ and higher of modified Ashworth scale (MAS) [23]. Severity of hand paralysis measured using modified Medical Research Council scale (mMRC) [24] ranged from 0 to 2+, which did not allow the patients to perform an overt hand motor task. Enrolled patients were naive to BoNT-A and drugs affecting muscle hypertonus. Exclusion criteria were time after stroke less than 3 months, severe cognitive deficit and severe depression, assessed using the MMSE [25] and Zung Self-rating Depression Scale [26], which could affect cooperation during the study protocol; and finally the magnetic resonance imaging exclusion criteria. The patients' characteristics are listed in Table 1.

2.2. Clinical evaluation

Patients were studied using a previously published protocol [22]. Patients were clinically examined (after previous screening) at Week 0, when they were enrolled into the study and injected with BoNT-A, then at Week 4, four weeks following the injection of BoNT-A, when BoNT-A effect is assumed to be maximal, and at Week 11, three months after the BoNT-A injection, when peripheral BoNT-A effect was expected to wane.

Several standardized scales were used: the Modified Ashworth Scale (MAS) to evaluate spasticity; the modified Medical Research Council (mMRC) scale to test upper extremity strength; the National Institutes of Health (NIH) [27] stroke scale to assess neurological impairment, the Barthel Index (BI) [28] and the modified Rankin Scale (mRS) [29] to assess disability. The MAS was assessed separately for fingers and wrist and the values averaged together.

2.3. Task

Patients were scanned while performing imaginary finger movement with the impaired hand. As demonstrated previously, kinesthetic imagery of finger movements evoked activation in the same cortical areas as those associated with performed movements [30]. Each subject first trained a sequential finger movement with the non-paretic hand (Roland's paradigm) [31] at the rate of approximately 1 movement per second and then was asked to imagine performing the same movement with the impaired fingers in association with kinesthetic feeling [32]. Inside the bore of the scanner, the task was performed with eyes closed, instructions to start and stop task performance were signaled verbally (start/stop) in MR-compatible headphones. In a block paradigm, imagery of finger movement alternated with rest (15 s). Each experimental run consisted of 12 repetitions of the same imagery-rest block pairs, for a total of 6 min. Each participant had two experimental runs with the impaired hand. Like the behavioral assessments, the functional MRI examinations were done at Week 0, Week 4, and at Week 12.

2.4. Treatment

The patients were treated with BoNT-A injections into the muscles of the affected arm at Week 0. The injections were done using EMG guidance (Medtronic Keypoint, Alpine Biomed ApS, Denmark) and electrical muscle stimulation. These muscles were always treated: flexor carpi ulnaris (FCU), flexor carpi radialis (FCR), flexor digitorum superficialis (FDS), flexor digitorum profundus (FDP). When there was a need for additional injections into other muscles of the upper limb to relieve the spasticity effectively, these were injected using the same technique: flexor pollicis longus (FPL) in two patients, biceps brachii (BB) in one patient and pronator teres (PT) in two patients were injected. The dose of BoNT-A (Botox®) per muscle was 50 U (therefore 100 U in biceps brachii). The effect of BoNT-A treatment was tested using both clinical (MAS) and imaging assessments.

Table 1
Demographic and clinical characteristics.

Patient	Sex	Age	Stroke onset to WO (months)	Lesion	Affected hand	mRS	BI	NIHSS	MMSE	Zung SDS index	mMRC (WF/WE)	mMRC (FF/FE)	Mean MAS (W0)	Mean MAS (W4)	Mean MAS (W11)
1	M	31	7	Thalamus, IC, BG	Left	3	90	5	30	34	1+/0	1+/1+	3	1.5	2.5
2	M	22	3	BG, IC	Right	3	85	8	29	30	0/0	0/0	3	1	2.5
3	F	74	3	BG, insula, thalamus, FT	Left	4	40	9	24	45	0/0	0/0	3	2	3
4	F	76	6	Thalamus, IC, insula	Left	4	45	7	24	65	1/0	1/0	3	1.75	2.5
5	F	78	5	Thalamus, IC	Right	4	60	10	N/A	49	0/0	0/0	3	2	3
6	F	44	83	Insula, FP	Right	2	95	4	29	39	2/1	2/1	2	1	2
7	F	64	6	Insula, BG, FT	Right	3	70	8	N/A	63	0/0	0/0	2	1.25	1.75
8	F	25	11	Thalamus, IC, BG	Left	3	80	5	29	64	1/0	0/0	2.5	1.5	2.5
9	M	68	9	Thalamus, BG, FT, insula	Left	3	75	7	29	34	0/0	0/0	3	1.75	3
10	F	69	4	BG, insula, thalamus	Right	3	80	6	27	48	0/0	0/0	2	1	2
11	M	33	32	BG, IC	Left	3	70	5	28	59	2/1	2+/1	2	1	2
12	M	67	64	Insula, FT	Right	2	95	6	N/A	50	2/1	2/1+	2	1.25	2
13	F	51	23	BG, insula, FT	Right	3	65	9	N/A	43	0/0	0/0	3	2	2
14	F	73	7	IC, F	Right	2	100	3	25	40	2+/2	2+/2	1.5	1.25	1.75

Note: L = left; R = right; BG = basal ganglia; IC = internal capsule; F = frontal lobe; T = temporal lobe; P = parietal lobe; NIHSS = NIH stroke scale; mMRC = modified MRC scale; BI = Barthel index; WF = wrist extensors; WE = wrist flexors; FF = finger flexors; FE = finger extensors; MAS = Modified Ashworth scale; N/A = not applicable – the MMSE score could not be interpreted because of the presence of expressive aphasia.

All patients underwent a dedicated physiotherapy protocol [33]. The rehabilitation treatment started the seventh day after the BoNT-A injection and included daily physiotherapy sessions, each lasted 1 h. Initial inpatient part of tailored physiotherapy treatment lasted 1–2 weeks and thereafter outpatient treatment followed. Proper adherence to the physiotherapy protocol has been repeatedly checked every session within the whole study.

2.5. Data acquisition

Like the behavioral assessments, the functional MRI examinations were done at Week 0, Week 4 and Week 11.

Magnetic resonance imaging data were acquired on 1.5 Tesla scanners (Avanto and Symphony, Siemens, Erlangen, Germany) with a standard head coil. The MR imaging protocol covered the whole brain with 30 axial slices 5 mm thick, including anatomical T₁-weighted images to provide an immediate overlay with functional data, fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) images to visualize brain lesions, functional T₂*-weighted (BOLD) images during task performance and rest, and a high-resolution 3D anatomical scan (MPRAGE). BOLD images were acquired with gradient echo EPI, TR/TE = 2500/40 ms, FOV 220 mm, to provide 3.4 × 3.4 × 5 mm resolution. 144 images were acquired per each 6-minute functional run. Subject's head was immobilized with cushions to assure maximum comfort and minimize head motion.

2.6. Analysis

Prior to fMRI analysis, the imaging data of 6 patients with right-hemispheric lesions were flipped in the left–right direction to allow group analysis of movement imagery using the impaired hand [18,34].

fMRI data processing was carried out using FEAT (fMRI Expert Analysis Tool) Version 5.98, part of FSL (FMRIB's Software Library, www.fmrib.ox.ac.uk/fsl). The following pre-statistics processing was applied: motion correction using MCFLIRT [35]; slice-timing correction using Fourier-space time-series phase-shifting; non-brain removal using BET [36]; spatial smoothing using a Gaussian kernel of full width at half-maximum (FWHM) 10 mm; grand-mean intensity normalization of the entire 4D dataset by a single multiplicative factor; high-pass temporal filtering (Gaussian-weighted least-squares straight line fitting, with sigma = 15 s). Time-series statistical analysis was carried out using FILM with local autocorrelation correction [37]. Registration to high-resolution structural and/or standard space images was carried out using FLIRT [35,38].

Higher-level analysis was carried out using FLAME (FMRIB's Local Analysis of Mixed Effects) stages 1 and 2 with automatic outlier detection [39,40]. Because of large age range of the studied group, patient age was used as a covariate to minimize the confounding age-related variability in the BOLD response. Z (Gaussianized T/F) statistic images were thresholded using a corrected cluster significance threshold of $P = 0.05$ [41]. Group mean activation maps were generated for each session, furthermore, post-hoc linear contrasts yielded maps of significant pairwise differences between sessions. The design using three sessions permitted decomposition of the treatment effect at 4 weeks into the progressive time and/or rehabilitation component and the transient botulinum toxin effect. This effect of BoNT-A treatment independent of time was tested with additional post-hoc linear contrasts, comparing the weighted average of sessions 1 and 3 and session 2, using temporal distance from session 2 as the weights: $(7^*S1 + 4^*S3)/11$ versus $S2$ [22].

3. Results

3.1. Behavioral

BoNT-A and physiotherapy treatment decreased arm spasticity across all patients measured 4 weeks following the BoNT-A injection (mean MAS change from baseline 1.05, $p = 0.002$, Wilcoxon Signed

Ranks Test with Bonferroni correction) The mean MAS score at Week 11 did not significantly differ from Week 0 (mean MAS change 0.18, $p = 0.167$, Wilcoxon Signed Ranks Test with Bonferroni correction). The mean MAS scores were: at Week 0: 2.5 (SD 0.55), at Week 4: 1.45 (SD 0.39), at Week 11: 2.32 (SD 0.45); these values are represented in Fig. 1.

3.2. Imaging – group average

Group maps of the BOLD activity during imagined movement prior to the BoNT-A treatment (W0) showed an extensive bilateral network of active areas, including ipsilesional primary motor cortex, bilateral supplementary motor area, bilateral premotor cortex, bilateral cortex bordering the intraparietal sulcus, predominantly contralesionally, ipsilesional parietal operculum, anterior cingulate gyrus, contralesional inferior and medial frontal gyrus (premotor cortex), thalamus, pallidum, ipsilesional cerebellum (Fig. 2A).

After BoNT-A treatment (W4), the active network became reduced and manifested hotspots in a subset of previously active areas: ipsilesional primary motor cortex, bilateral supplementary motor area, bilateral premotor cortex (predominantly contralesional), bilateral intraparietal sulcus, and basal ganglia. Differences against the initial session (W0) included extended activation in the contralesional thalamus, bilateral activation in the cerebellar hemispheres (increased activity contralesionally) and vermis (Fig. 2B).

Third fMRI session (W11) revealed a further reduced BOLD activity pattern including ipsilesional primary motor cortex, bilateral supplementary motor area, bilateral premotor cortex, ipsilesional intraparietal sulcus, and ipsilesional cerebellum (Fig. 2C).

Overall, whereas the frontoparietal cortical areas manifested progressive reduction in extent and increasing laterality, the ipsilesional cerebellar activation remained approximately the same and the contralesional cerebellar hemisphere became transiently engaged in session 2 (W4).

3.3. Between-session contrasts

The fMRI W0 > W4 contrast revealed a significant decrease of activation in an ipsilesional area bordering the lateral occipital cortex, intraparietal sulcus and precuneus cortex (Fig. 3A).

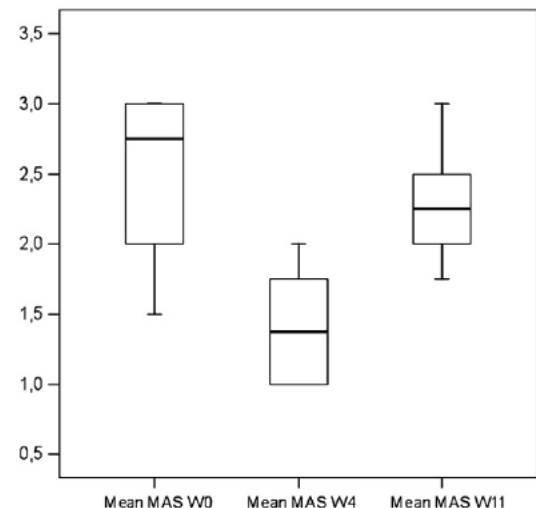


Fig. 1. Effect of BoNT-A treatment on mean MAS scores. Note: The edges of the box represent the 25th and 75th percentiles, the horizontal thick line in the interior of the box represents the median and the whiskers represent the maximum and minimum.

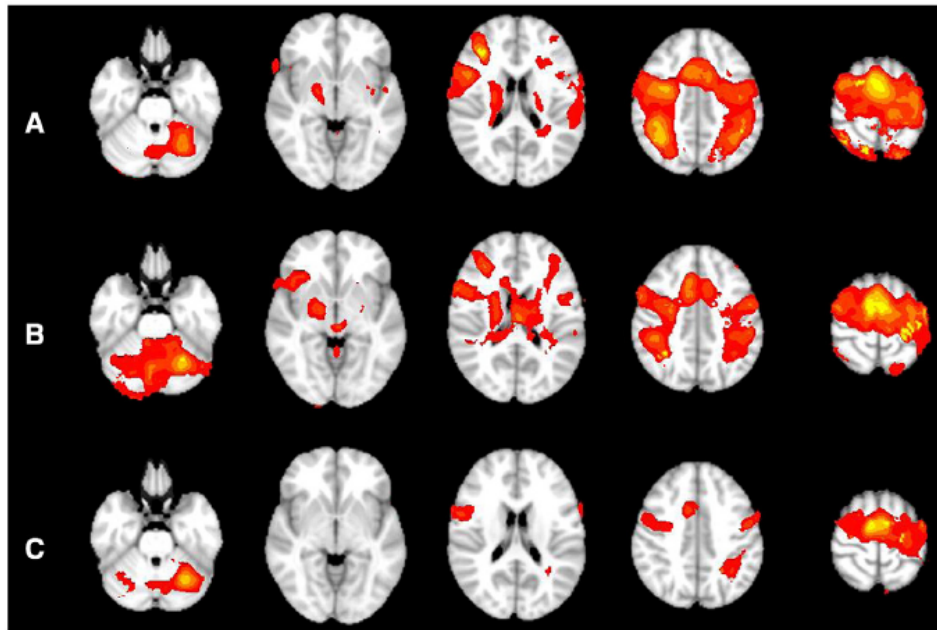


Fig. 2. Functional MRI activation during imagery of finger movement (A) before BoNT-A treatment, (B) 4 and (C) 11 weeks after BoNT-A application. Group average statistical maps (z-score) are overlaid in color on the MNI anatomical template. Right side of the brain is displayed on the left.

The fMRI W4>W11 contrast showed significant decrease of activation in ipsilesional insular cortex, contralesional superior frontal gyrus on the mesial hemispheric surface (pre-supplementary motor area) and bilateral frontal pole (Fig. 3B).

The fMRI W0>W11 contrast showed significant decrease of activation in the ipsilesional lateral occipital cortex, frontal pole, contralesional superior frontal gyrus (pre-supplementary motor area) and bilateral postcentral gyrus (Fig. 3C).

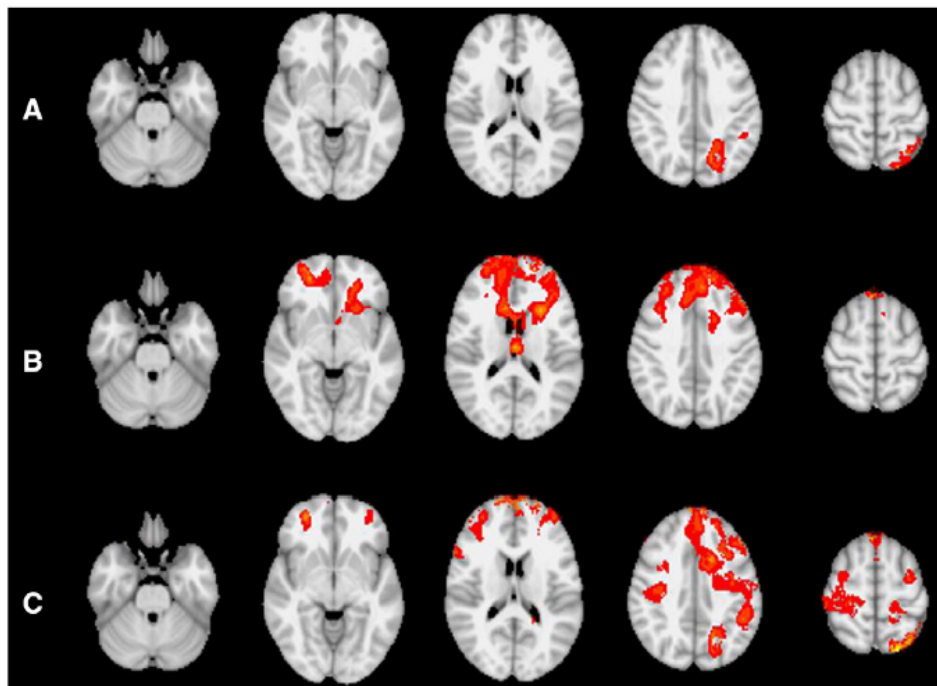


Fig. 3. Between-session fMRI contrasts: A = W0>W4 contrast, B = W4>W11 contrast, C = W0>W11 (group post-hoc contrast overlaid on the MNI anatomical template). Right side of the brain is displayed on the left.

The remaining between-session contrasts as well as the additional two contrasts designed to display the specific BoNT-A effect separated from longitudinal effects of time and/or rehabilitation (see **Materials and methods**) did not reveal any areas of significant change in the local BOLD effect magnitude.

Summary of the active areas' coordinates and statistical parameters for individual contrasts are provided in **Table 2**.

4. Discussion

In this study, we provide new evidence for central effects of BoNT-A. In the periphery, BoNT-A affects intrafusal fibers as well as extrafusal ones and thus alters pathological sensory inputs to the CNS by blocking of the neuromuscular junction of the gamma motor neurons. This blockade leads to a reduction of Ia afferent signals and indirectly inhibits pre-existing feedback-driven execution mode [38]. This might be the mechanism how BoNT-A treatment reduces maladaptive plasticity; and the hypothesis of central reorganization following BoNT-A treatment is widely supported by the studies employing neurophysiologic and imaging methods in focal and segmental dystonia [13–17] and our own pilot data from patients with post-stroke arm spasticity [21,22].

In our present observation, task-related fMRI prior to the treatment showed extensive activation of cortical and subcortical regions. The most significant regions of activation were found in bilateral frontoparietal sensorimotor cortical areas, anterior cingulate gyrus, pallidum, thalamus and cerebellum. As we have concluded in our pilot work [21,22], this pretreatment activation might represent a general response of the lesioned brain, in this case including central effects of the increased pathological proprioceptive afferentation (via Ia fibers), which is associated with spasticity. In patients with plegia, frustration at the inability of voluntary hand movement may also be considered to contribute to the expanded activation but the apparent universality of this phenomenon and its independence of the severity of movement deficit make this contribution less likely.

As expected, combined BoNT-A treatment and physiotherapy significantly relieved spasticity. This clinical improvement expressed in MAS scores was associated with partial reduction of active network volume in most of the observed areas. This trend agrees with findings in our previous pilot studies and other recent studies focused on fMRI cerebral changes after BoNT-A application in stroke patients [19–22]. A notable exception to this trend regards the cerebellar hemispheres, which either appear similarly active across the three imaging sessions (ipsilesional) or manifest transient activation at the time of maximal BoNT-A effect (contralesional). This will be further discussed below.

In contrast to our previously published study on a small sample size using the same study timing but real finger movement during fMRI [22], BoNT-off data (W11) revealed further volume reduction in the frontoparietal sensorimotor network. This further reduction was independent of the degree of spasticity, because MAS at W11 was similar to that before treatment (W0). We assume that BoNT-A application could modify the process of cerebral plasticity and that this impact persists despite temporary effect of BoNT-A on muscle fibers.

Certainly, it might be argued that observed longitudinal changes are an epiphenomenon of post-stroke recovery. Functional imaging studies showed that motor recovery is associated with massive recruitment of areas in the motor system early after stroke. Initial increased bilateral sensorimotor activity patterns normalize within recovery [42–44]. The largest changes have been seen in the first few months after stroke [45], whereas our patients were all in the chronic stage of stroke; median period from stroke onset to the first fMRI in our study was 7 months. In the chronic stage after stroke, the motor maps are stable as was proven previously [18]. Therefore we assume that spontaneous functional recovery changes do not contribute significantly to our findings.

Absence of transient sensorimotor activation changes which could be attributed to BoNT-A effect may also result from the fMRI task used. Although mental simulation of movement with kinesthetic feeling engages similar frontoparietal areas as real movement execution [32], it certainly lacks afferent input associated with real movement. Perhaps it is this afferent component which is most influenced by BoNT-A therapy.

Contralesional cerebellum revealed transient activation at session W4. This BoNT-A related activation may relate to the reported cerebellar engagement when motor system activation approaches the normal pattern with successful motor recovery [46] or intensive rehabilitation [18] after stroke. Similar transient effect was observed in our previous study in patients with preserved finger movement [22]. Ipsilesional cerebellar activation remains unchanged over time which may represent a third pattern of temporal evolution, independent of the frontoparietal gradual decrease and the transient contralesional cerebellar engagement.

On direct statistical comparison, significant activation decreases associated with BoNT-A treatment were located in areas outside the classical sensorimotor system, namely, ipsilesional lateral occipital cortex, supramarginal gyrus and precuneus cortex. On direct comparison of W4 and W11, no activation increases were found as in our previous study [22], instead, activation further decreased in the ipsilesional insular cortex, contralesional superior frontal gyrus (pre-supplementary motor area) and bilateral frontal pole.

Regarding the role of individual areas manifesting significant change between sessions, the lateral occipital cortex is a large region

Table 2
Local maxima for between-session contrasts.

	Area description	Voxels	Maximum Z-score	x mm	y mm	z mm
Contrast 1: W0>W4	Cluster 1	1928				
	Left lateral occipital cortex		4.16	−24	−74	58
	Left supramarginal gyrus		3.78	−48	−44	58
	Left precuneus cortex		3.77	−16	−64	38
Contrast 2: W4>W11	Cluster 1	14,190				
	Left insular cortex		4.83	−26	18	12
	Left frontal pole		4.52	−20	64	18
	Right frontal pole		4.25	12	50	42
	Right superior frontal gyrus		4.21	4	34	58
Contrast 3: W0>W11	Cluster 1	12,734				
	Left lateral occipital cortex		5.37	−24	−74	58
	Right superior frontal gyrus		5.27	6	52	32
	Left frontal pole		5.08	−20	64	18
	Right frontal pole		4.92	22	38	−24
	Cluster 2	3248				
	Right postcentral gyrus		4.59	48	−32	62

that appears to play an important role in object recognition and to be essential for analyzing object shape [47]. The cortex bordering the intraparietal sulcus (on the lateral surface of the parietal lobe) is relevant for visuomotor tasks comprising target selections for arm and eye movements, object manipulation and visuospatial attention [48]. Precuneus is an association area on the medial surface of the brain hemisphere. Recent functional imaging findings in healthy subjects suggest a central role for the precuneus in a wide spectrum of highly integrated tasks, including visuospatial imagery, episodic memory retrieval, self-processing operations and motor expertise [49,50]. Precuneus activation decrease related to BoNT-A effect was also observed in our previous pilot study [21]. The insular cortex is considered to be a part of the limbic system and has dense connections with both cortical and subcortical areas. Overall, the insular cortex is integral to the experience of emotions, the processing of multimodal sensory information including pain, the control of motor responses and interpersonal behavior [51]. In one study, insular cortex has been associated with motor recovery from stroke [52]. Possible reasons for insular participation may reflect emotional and experiential changes associated with reduced spasticity: on one hand, reduced pain of passive stretch would decrease unpleasant emotional responses, on the other hand, experience of functional changes in their paralyzed limb, such as reduced tone and increased range of movement may result in positive emotions and expectations. The functional changes would naturally be accompanied by secondary benefits (reduced caregiver burden, more positive feedback from therapists, etc.) and strengthened patients' hope for functional recovery.

Pre-SMA is the rostral part of the extended SMA, on the mesial hemispheric surface, which is implicated in the planning of motor actions, performing of sequence of movements from memory. The pre-SMA has only a sparse direct projection in the corticospinal system, it is, nevertheless, considered to be a part of motor system. Pre-SMA plays a cardinal role in exerting control over voluntary actions in situations of response conflict [53]. Frontal pole cortex contributes to many aspects of cognition, but its fundamental function remains unclear [54]. Contralateral primary somatosensory cortex was among the areas showing significant decrease when comparing W0 and W11; this is in agreement with the pattern of gradually reduced bilateral frontoparietal sensorimotor cortical activation observed across mean activation maps.

Among the areas showing significant change across sessions, pre-supplementary motor area is the only one considered a part of the motor system, as mentioned above. All other discussed structures have only rarely been reported in the context of volitional motor control. So, we assume that these structures may contribute to movement performance in the situation when sensorimotor and adjacent cortex has to process abnormal proprioceptive inputs from the spastic muscles of the paretic extremity. Permanent spastic muscle hypertonus probably impair the gating of sensory signals to the CNS and therefore abnormally modulates processes on various levels of CNS including cerebral cortex. In such situation, the execution of motor task requires more extensive recruitment of various areas and the pattern of task related activation significantly extends and all above mentioned structures may be included. This activation in extended areas is then reduced following the decrease in magnitude of spastic contraction after successful BoNT-A treatment.

Other factors that may have contributed to sensorimotor network changes over time include the effects of improved tone and range of movement. The reduced muscle tone likely made passive movement easier and the increased range of movement may have made therapeutic changes more profound.

We are aware of the fact, that our study has some limitations. The study population was age-heterogeneous and the young individuals and elderly patients with various capacities of brain adaptation processes were enrolled. To overcome this limitation was patient age used as an independent covariate in group analysis.

Because our study population consisted of completely paralyzed patients, imagery of finger movements was used as a task. As demonstrated previously, imagery of finger movements evoked activation in the similar cortical areas as those associated with actively performed movements [32]. Mental simulation of movement is difficult to monitor, however, the training in our patients was intensive and long enough to overcome this limit.

For the serious ethical reasons, the study design with the use of concurrent physiotherapy did not involve any control group. BoNT-A is considered to be a first-line treatment for focal spasticity and, according to the current recommendations, should be used in combination with physiotherapy [8,55]. Future studies should be also designed with respect to ethical aspects, nevertheless, the subjects should be randomly assigned into three branches; two active of them treated using either BoNT-A or physiotherapy. This approach would allow evaluating fMRI effect of BoNT-A and physiotherapy separately. Whether this would be possible in the future is a question of the ethical standards in the applied clinical research.

5. Conclusion

The present whole-brain functional MRI study during BoNT-A treatment of post-stroke arm spasticity and further follow up manifested predominantly gradual changes both within and outside the classical sensorimotor system, their association with the temporal dynamics of clinical BoNT-A effect was not clear.

Conflict of interest

There are no conflicts of interest associated with this manuscript, financial or otherwise. The manuscript has been read and approved by all authors.

Acknowledgment

This work was supported by the IGA Ministry of Health Czech Republic grant number NS9920-4/2008.

References

- [1] Mathers CD, Loncar D. Projection of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med* 2006;3:e442.
- [2] Jørgensen HS, Nakayama H, Raaschou HO, Vive-Larsen J, Stoier M, Olsen TS. Outcome and time course of recovery in stroke. Part I: outcome. The Copenhagen Stroke Study. *Arch Phys Med Rehabil* 1995;76:399–405.
- [3] Colebatch JG, Gandevia SC. The distribution of muscular weakness in upper motor neuron lesions affecting the arm. *Brain* 1989;112:749–63.
- [4] Kamper DG, Fischer HC, Cruz EG, Rymer WZ. Weakness is the primary contributor to finger impairment in chronic stroke. *Arch Phys Med Rehabil* 2006;87:1262–9.
- [5] Ada L, O'Dwyer N, O'Neill E. Relation between spasticity, weakness and contracture of the elbow flexors and upper limb activity after stroke: an observational study. *Disabil Rehabil* 2006;15–30(28):891–7.
- [6] Barnes MP. Medical management of spasticity in stroke. *Age Ageing* 2001;30(Suppl. 1):13–6.
- [7] Watkins CL, Leathley MJ, Gregson JM, Moore AP, Smith TL, Sharma AK. Prevalence of spasticity post-stroke. *Clin Rehabil* 2002;16:515–22.
- [8] Ward AB, Aguilar M, De Beyer Z, Gedlin S, Kanovsky P, Molteni F, et al. Use of botulinum toxin type A in management of adult spasticity—a European consensus statement. *J Rehabil Med* 2003;35:98–9.
- [9] Hesse S, Werner C. Post-stroke motor dysfunction and spasticity: novel pharmacological and physical treatment strategies. *CNS Drugs* 2003;17:1093–107.
- [10] Dressler D, Saberi FA, Barbosa ER. Botulinum toxin: mechanisms of action. *Arq Neuropsiquiatr* 2005;63:180–5.
- [11] Rosales RL, Dressler D. On muscle spindles, dystonia and botulinum toxin. *Eur J Neurol* 2010;17(Suppl. 1):71–80.
- [12] Currà A, Trompetto C, Abbruzzese G, Berardelli A. Central effects of botulinum toxin type A: evidence and supposition. *Mov Disord* 2004;19(Suppl. 8):S60–4.
- [13] Gilio F, Currà A, Lorenzano C, Modugno N, Manfredi M, Berardelli A. Effects of botulinum toxin type A on intracortical inhibition in patients with dystonia. *Ann Neurol* 2000;48:20–6.
- [14] Kaňovsky P, Bareš M, Streitova H, Klajblová H, Pavel D, Rektor I. The disorder of cortical excitability and cortical inhibition in focal dystonia is normalised following successful botulinum toxin treatment: an evidence from somatosensory evoked potentials

- and transcranial magnetic stimulation recordings. *Neurology* 2005;64(Suppl 1): A381.
- [15] Opavský R, Hluštík P, Otruba P, Kaňovský P. Sensorimotor network in cervical dystonia and the effect of botulinum toxin treatment: a functional MRI study. *J Neurol Sci* 2011;306:71–5.
- [16] Opavský R, Hluštík P, Otruba P, Kaňovský P. Somatosensory cortical activation in cervical dystonia and its modulation with botulinum toxin: an fMRI study. *Int J Neurosci* 2012;122(1):45–52.
- [17] Kaňovský P, Rosales RL. Debunking the pathophysiological puzzle of dystonia—with special reference to botulinum toxin therapy. *Parkinsonism Relat Disord* 2011;17(Suppl. 1):S11–4.
- [18] Johansen-Berg H, Dawes H, Guy C, Smith SM, Wade DT, Matthews PM. Correlation between motor improvements and altered fMRI activity after rehabilitative therapy. *Brain* 2002;125:2731–42.
- [19] Manganotti P, Acler M, Formaggio E, Avesani M, Milanese F, Baraldo A, et al. Changes in cerebral activity after decreased upper-limb hypertonus: an EMG-fMRI study. *Magn Reson Imaging* 2010;28:646–52.
- [20] Diserens K, Ruegg D, Kleiser R, Hyde S, Perret N, Vuadens P, et al. Effect of repetitive arm cycling following botulinum toxin injection for poststroke spasticity: evidence from fMRI. *Neurorehabil Neural Repair* 2010;24:753–62.
- [21] Šenkárová Z, Hluštík P, Otruba P, Herzig R, Kaňovský P. Modulation of cortical activity in patients suffering from upper arm spasticity following stroke and treated with botulinum toxin A: an fMRI study. *J Neuroimaging* 2010;20:9–15.
- [22] Tomášová Z, Hluštík P, Král M, Otruba P, Herzig R, Krobot A, Kaňovský P. Cortical activation changes in patients suffering from post-stroke arm spasticity and treated with botulinum toxin A. *J Neuroimaging* 2012; in print.
- [23] Bohannon RW, Smith MB. Interrater reliability of a modified Ashworth scale of muscle spasticity. *Phys Ther* 1986;67:206–7.
- [24] Paternostro-Sluga T, Grim-Stieger M, Pösch M, Schuhfried O, Vacariu G, Mittermaier C, et al. Reliability and validity of the Medical Research Council (MRC) scale and a modified scale for testing muscle strength in patients with radial palsy. *J Rehabil Med* 2008;40:665–71.
- [25] Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975;12:189–98.
- [26] Zung WW. A Self-Rating Depression Scale. *Arch Gen Psychiatry* 1965;12:63–70.
- [27] Brott T, Adams Jr HP, Olinger CP, Marler JR, Barsan WG, Biller J, et al. Measurements of acute cerebral infarction: a clinical examination scale. *Stroke* 1989;20:864–70.
- [28] Mahoney FI, Barthel DW. Functional evaluation: the Barthel Index. *Md State Med J* 1965;14:61–85.
- [29] Quinn TJ, Dawson J, Walters MR, Lees KR. Variability in modified Rankin scoring across a large cohort of international observers. *Stroke* 2008;39:2975–9.
- [30] Roth M, Decety J, Raybaudi M, Massarelli R, Delon-Martin C, Segebarth C, et al. Possible involvement of primary motor cortex in mentally simulated movement: a functional magnetic resonance imaging study. *Neuroreport* 1996;7:1280–4.
- [31] Roland PE, Larsen B, Lassen NE, Skinhaj E. Supplementary motor area and other cortical areas in organisation of voluntary movements in man. *J Neurophysiol* 1980;43:118–36.
- [32] Solodkin A, Hlustik P, Chen EE, Small SL. Fine modulation in network activation during motor execution and motor imagery. *Cereb Cortex* 2004;14:1246–55.
- [33] Krobot A, Schusterová B, Tomsová J, Kristková V, Konečný P. Specific protocol of physiotherapy in stroke patients (in Czech). *Cesk Slov Neurol Neurochir* 2008;71/104:V74.
- [34] Ward NS, Brown MM, Thompson AJ, Frackowiak RS. Neural correlates of outcome after stroke: a cross-sectional fMRI study. *Brain* 2003;126:1430–48.
- [35] Jenkinson M, Bannister P, Brady M, Smith S. Improved optimization for the robust and accurate linear registration and motion correction of brain images. *Neuroimage* 2002;17:825–41.
- [36] Smith SM. Fast robust automated brain extraction. *Hum Brain Mapp* 2002;17:143–55.
- [37] Woolrich MW, Ripley BD, Brady M, Smith SM. Temporal autocorrelation in univariate linear modeling of fMRI data. *Neuroimage* 2001;14:1370–86.
- [38] Jenkinson M, Smith S. A global optimisation method for robust affine registration of brain images. *Med Image Anal* 2001;5:143–56.
- [39] Beckmann CF, Jenkinson M, Smith SM. General multilevel linear modeling for group analysis in fMRI. *Neuroimage* 2003;20:1052–63.
- [40] Woolrich MW, Behrens TE, Beckmann CF, Jenkinson M, Smith SM. Multilevel linear modelling for fMRI group analysis using Bayesian inference. *Neuroimage* 2004;21:1732–47.
- [41] Worsley KJ. Statistical analysis of activation images. In: Jezzard P, Matthews PM, Smith SM, editors. *Functional MRI: an introduction to methods*. Oxford: Oxford University Press; 2001. p. 251–70.
- [42] Calautti C, Leroy F, Guinestre JY, Marié RM, Baron JC, Calautti C, et al. Sequential activation brain mapping after subcortical stroke: changes in hemispheric balance and recovery. *Neuroreport* 2001;12:3883–6.
- [43] Feydy A, Carlier R, Roby-Brami A, Bussel B, Cazalis F, Pierot L, et al. Longitudinal study of motor recovery after stroke: recruitment and focusing of brain activation. *Stroke* 2002;33:1610–7.
- [44] Marshall RS, Perera GM, Lazar RM, Krakauer JW, Constantine RC, DeLaPaz RL. Evolution of cortical activation during recovery from corticospinal tract infarction. *Stroke* 2000;31:656–61.
- [45] Traversa R, Cicinelli P, Oliveri M, Giuseppina Palmieri M, Filippi MM, Pasqualetti P, et al. Neurophysiological followup of motor cortical output in stroke patients. *Clin Neurophysiol* 2000;111:1695–703.
- [46] Small SL, Hlustik P, Noll DC, Genovese C, Solodkin A. Cerebellar hemispheric activation ipsilateral to the paretic hand correlates with functional recovery after stroke. *Brain* 2002;125:1544–57.
- [47] Grill-Spector K, Kourtzi Z, Kanwisher N. The lateral occipital complex and its role in object recognition. *Vision Res* 2001;41:1409–22.
- [48] Grefkes C, Fink GRJ. The functional organization of the intraparietal sulcus in humans and monkeys. *Anatomy* 2005;207:3–17.
- [49] Cavanna AE, Trimble MR. The precuneus: a review of its functional anatomy and behavioural correlates. *Brain* 2006;129:564–83.
- [50] Milton J, Solodkin A, Hlustik P, Small SL. The mind of expert motor performance is cool and focused. *Neuroimage* 2007;35:804–13.
- [51] Nagai M, Kishi K, Kato S. Insular cortex and neuropsychiatric disorders: a review of recent literature. *Eur Psychiatry* 2007;22:387–94.
- [52] Weiller C, Ramsay SC, Wise RJ, Friston KJ, Frackowiak RS. Individual patterns of functional reorganization in the human cerebral cortex after capsular infarction. *Ann Neurol* 1993;33:181–9.
- [53] Nachev P, Kennard C, Husain M. Functional role of the supplementary and pre-supplementary motor areas. *Nat Rev Neurosci* 2008;9:856–69.
- [54] Tsujimoto S, Genovesio A, Wise SP. Frontal pole cortex: encoding ends at the end of the endbrain. *Trends Cogn Sci* 2011;15:169–76.
- [55] Simpson DM, Gracies JM, Graham HK, Miyasaki JM, Naumann M, Russman B, et al. Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. Assessment: botulinum neurotoxin for the treatment of spasticity (an evidence-based review): report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2008;70:1691–8.

Differences in the Modulation of Cortical Activity in Patients Suffering from Upper Arm Spasticity Following Stroke and Treated with Botulinum Toxin A

Rozdíly v modulaci kortikální aktivity u pacientů po cévní mozkové příhodě s reziduální spasticitou ruky léčených botulotoxinem A

Abstract

Aim: The aim of our functional magnetic resonance (fMRI) study was to localize the changes of cerebral cortex activation in stroke patients suffering from upper limb spasticity and treated with botulinum toxin A (BoNT). **Materials and methodology:** 34 patients suffering from upper limb post-stroke spasticity were examined; 9 of these patients were grouped into two homogenous subgroups that allowed independent further analysis. Group A consisted of four patients (2 males, 2 females; aged 25.5 ± 3.4 years, range 22–31 years) who suffered from hand plegia. Group B consisted of five patients (4 males, 1 female; aged 67.0 ± 11.1 years, range 54–80) who were able to perform real finger movement. The change of arm spasticity was assessed by using the modified Ashworth scale (MAS). fMRI was performed during imaginary movement (group A) or real movement of the impaired hand (group B). fMRI sessions were performed before (W0) and four weeks (W4) after BoNT treatment. Group B underwent additional fMRI 11 weeks (W11) after BoNT application. **Results:** BoNT treatment decreased arm spasticity in all patients assessed 4 weeks following the BoNT injection. fMRI pre-BoNT treatment showed extensive and bilateral task-related activation of cortical areas. Following the BoNT treatment, temporary and partial shift towards normal distribution of activity occurred. The pre>post-BoNT contrast revealed a significant decrease in activation of the posterior cingulate/precuneus region (group A) and dorsolateral prefrontal cortex (group B). **Conclusion:** Our results imply that structures outside the traditional sensorimotor system may play a role in the relief of post-stroke spasticity.

Souhrn

Cíl: Cílem naší fMR studie bylo lokalizovat změny aktivace mozkového kortexu u pacientů po cévní mozkové příhodě s reziduální spasticitou ruky léčených botulotoxinem A (BoNT). **Soubor a metodika:** Bylo vyšetřeno 34 pacientů po prodělané cévní mozkové příhodě s reziduální spasticitou ruky; z tohoto počtu vyšetřených byly nezávisle analyzovány dvě homogenní podskupiny. Skupina A byla tvořena 4 mladými pacienty (2 muži, 2 ženy, věk $25 \pm 3,4$ let, rozptyl 22–31 let) s plegií ruky. Skupina B byla tvořena 5 staršími pacienty (4 muži, 2 ženy, věk $67 \pm 11,1$ let, rozptyl 54–80) s parézou ruky. Mozkový motorický systém byl mapován pomocí funkční magnetické rezonance (fMR) během provádění motorické úlohy postiženou končetinou (skupina A: myšlený pohyb prstů; skupina B: skutečný pohyb prstů). Vyšetření bylo opakováno dvakrát, vždy před a čtyři týdny po aplikaci BoNT. Skupina B byla vyšetřena ještě potřetí s odstupem 11 týdnů od aplikace BoNT. Změna spasticity byla hodnocena pomocí modifikované Ashworthovy škály (MAS). **Výsledky:** Léčba BoNT snížila spasticitu u všech pacientů; hodnoceno čtyři týdny po aplikaci. fMR před aplikací BoNT ukazovalo abnormně rozsáhlou a bilaterální aktivaci korových oblastí během motorické úlohy. Po aplikaci BoNT došlo k dočasné a částečné normalizaci obrazu aktivace. Kontrast pre- > post-BoNT prokázal signifikantní snížení aktivace v zadním cingulu/precuneu (skupina A) a dorzolaterálním prefrontálním kortexu (skupina B). **Závěr:** Naše výsledky naznačují, že i struktury mimo klasický senzomotorický systém se uplatňují u postiktální spasticity.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE "uniform requirements" for biomedical papers.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

T. Veverka¹, P. Hlustik^{1,2}, P. Hok¹, Z. Tomasova¹, P. Otruba¹, M. Kral¹, Z. Tudos², A. Krobot³, R. Herzig¹, P. Kanovsky¹

Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University and University Hospital, Olomouc:

¹ Department of Neurology

² Department of Radiology

³ Department of Physiotherapy



Tomas Veverka, MD
Department of Neurology
Faculty of Medicine and Dentistry
Palacký University
and University Hospital
I. P. Pavlova 6
775 20 Olomouc
e-mail: veverka.tomas@seznam.cz

Accepted for review: 28. 3. 2011
Accepted for print: 8. 2. 2013

Key words

stroke – spasticity – functional magnetic resonance imaging – botulinum toxin

Klíčová slova

cévní mozková příhoda – spasticita ruky – funkční magnetická rezonance – botulotoxin

This work was supported by the IGA Ministry of Health Czech Republic grant number NT13575-4/2012 and by institutional support of UH Olomouc.

DIFFERENCES IN THE MODULATION OF CORTICAL ACTIVITY IN PATIENTS SUFFERING FROM UPPER ARM SPASTICITY

Introduction

Impairment of corticofugal tracts (tr. corticospinalis) in ischemic stroke leads to motor deficit presented by the majority of the surviving patients [1]. Up to two thirds of stroke survivors experience impaired function and spasticity of the upper limb [2]. A lesion in the sensory or motor circuits typically causes greater weakness of the wrist and fingers than proximal shoulder muscles [3]. Most of the motor function recovery or improvement occurs within 3–6 months post stroke and recovery is expected to plateau six months

post stroke [4]. Three recovery mechanisms are suggested [5]. Restitution includes processes that follow successful recanalisation of the occluded vessel and function restitution in the penumbra zone. Substitution includes processes likely related to brain plasticity [6–12]. Compensation comprises functional improvement achieved by modification of the movement pattern.

Brain plasticity means that the structure and function of the brain are continually reorganizing [13]. Reorganization of the sensory-motor maps is caused by affe-

rent inputs, i.e. interactions with the environment, its changes, learning etc. Brain plasticity after stroke is associated with substitution by undamaged areas in primary sensory and motor cortex and other cortical areas. Performance of an active motor task after stroke is associated with lateral and posterior displacement of activity in M1, probably into S1 [9,14]. The displacement occurs progressively over time in association with recovery of hand function [15].

The degree of muscle weakness is crucial in determining the degree of mo-

Tab. 1. Patient demographic characteristics.

Patient	Group	Sex	Age	Time post stroke (months)	Affected hand (side)	Severity of paresis	Number of fMRI sessions	Task
1		M	72	23	R	M	3	real
2	A	M	31	7	L	S	3	imagine
3	A	M	22	3	R	S	3	imagine
4	A	F	24	3	R	S	2	imagine
5	B	F	64	14	R	M	3	real
6		M	62	10	L	M	2	real
7		M	61	6	R	M	1	real
8	B	M	54	15	R	M	3	real
9		F	74	3	L	S	3	imagine
10		F	76	6	L	S	3	imagine
11		M	56	4	L	M	1	real
12		M	72	72	R	M	1	real
13		F	68	5	R	S	3	imagine
14	B	M	77	18	R	M	3	real
15	B	M	60	9	L	M	3	real
16		M	66	10	R	S	2	imagine
17		F	44	83	R	S	3	imagine
18		F	64	6	R	S	3	imagine
19	A	F	25	11	L	S	3	imagine
20		M	80	6	L	M	3	real/imagine
21		M	68	9	L	S	3	imagine
22	B	M	80	12	R	M	3	real
23		F	69	4	R	S	3	imagine
24		M	33	32	L	S	3	imagine
25		M	70	4	L	S	2	real
26		M	68	7	L	M	3	real
27		M	55	8	L	S	1	imagine
28		M	67	64	R	S	3	imagine
29		F	34	14	L	M	3	real
30		F	66	3	L	S	3	real
31		F	51	23	R	S	3	imagine
32		M	44	3	L	M	3	real
33		F	64	35	L	S	2	imagine
34		F	73	7	R	S	3	imagine

S – severe (unable to perform finger movement), M – mild (able to perform finger movement)

DIFFERENCES IN THE MODULATION OF CORTICAL ACTIVITY IN PATIENTS SUFFERING FROM UPPER ARM SPASTICITY

Tab. 2. Group A characteristics.

Patient No.	Sex	Age (years)	Lesion side	Lesion location	Hand dominance	Zung SDS index	MMSE	mMRC FE	mMRC FF	Barthel index
1	M	31	R	thalamus, capsule, BG	N	34	30	1-2	0	90
2	M	22	L	BG, capsule	D	30	29	0	0	85
3	F	24	L	thalamus, BG, capsule	D	44	30	1-2	1	90
4	F	25	R	thalamus, capsule, BG	N	54	29	0	0	80
Summary	2M/2F	25.5 ± 3.4	2L/2R	hetero- geneous	2D/2N	40.5 ± 10.8	29.5 ± 0.6			86.3 ± 4.8

L – left, R – right, D – dominant hand impaired, N – non-dominant hand impaired, BG – basal ganglia, mMRC – modified MRC scale, FE – finger extensors, FF – finger flexors

vement deficit [16,17]. Other motor (especially spasticity) and non-motor (e.g. neglect, sensory impairment, emotional and speech-related difficulties) may also contribute. Spasticity frequently causes problems with common daily activities, hygiene, physical therapy, and nursing care [18]. A prospective study found spasticity prevalence to be 38% one year after stroke [19]. Focal spasticity is currently successfully treated with botulinum toxin [20,21].

There is growing evidence that BoNT treatment can relieve focal spasticity not only due to the peripheral site of action [22]. We hypothesized that besides the well-known neuromuscular junction site of action, BoNT treatment can relieve focal spasticity through dynamic changes at multiple levels of the motor system, presumably including the cerebral cortex. These processes should be reflected in changes of cortical activation during motor or mental tasks, as assessed using functional magnetic resonance imaging (fMRI).

The aim of our fMRI study was to localize the changes in cerebral cortex activation in stroke patients suffering from upper limb spasticity and treated with BoNT.

Patients and methods

The study was approved by the institutional ethics committee and all subjects gave written consent for the study in accordance with the Helsinki Declaration.

A total of 34 patients who were in the chronic phase of ischemic stroke and manifesting with distal upper arm spasticity, were enrolled (tab. 1).

Four patients discontinued the study protocol and were excluded from further analysis. Twenty five patients underwent the complete protocol with 3 fMRI sessions; 5 patients underwent an incomplete protocol with 2 fMRI sessions. All enrolled patients suffered from unilateral distal arm weakness with spasticity following ischemic stroke at point 1+ or higher of the modified Ashworth scale (MAS). Exclusion criteria were the duration of post-stroke period less than 3 months, severe cognitive deficit and severe depression assessed using the MMSE and Zung scales [23,24], as these could alter participation in the study; and magnetic resonance imaging exclusion criteria.

Nevertheless, the whole group of enrolled patients was very heterogeneous. Patients differed in several characteristics, especially age, severity of neurological impairment and degree of spasticity. To obtain more homogeneous subgroups suitable for group analysis, we considered age and severity of neurological impairment as two main variables affecting both motor system plasticity and functional MRI task selection. Two subgroups that emerged using this classification were analyzed independently.

The first subgroup (group A) consisted of 4 young patients (2 males, 2 females; aged 25.5 ± 3.4 years, range 22–31 years) who suffered from hand plegia (movement disability) and performed imagined finger movement as the functional MRI activation task [25]. The patients' characteristics are listed in tab. 2.

The second subgroup (group B) consisted of 5 elderly patients (4 males,

1 female; aged 67.0 ± 11.1 years, range 54–80) who were able to perform real finger movement; this type of task allowed visual control and correction of finger movement. These patients also underwent an additional fMRI session 3 months following the BoNT application, when the effect on muscle fibers diminished [26]. The patients' characteristics are listed in tab. 3.

Patients were studied using a previously published protocol [25]. Spasticity was evaluated during clinical examination using the Modified Ashworth Scale [27]. The assessments were done at Week 0, when patients were screened, enrolled and injected with BoNT, then at Week 4, four weeks following the injection of BoNT (when BoNT effect is assumed to be maximal) and at Week 11 (only group B), 3 months after the BoNT injection, when the effect on muscle fibers ceased.

Similarly to behavioral assessments, functional MRI examinations were done at Week 0, Week 4 and Week 11 (only group B).

Task

The task itself was a sequential finger movement or mental movement simulation in Roland's paradigm using the impaired hand. Patients with hand plegia (group A) first practiced the task with their healthy fingers and, when in the MRI scanner, they were asked to imagine performing the same movement with their impaired fingers. Patients with preserved movement of the impaired hand moved their fingers (in the sequential Roland's paradigm) under visual control of a technician.

Tab. 3. Group B characteristics.

Patient No.	Sex	Age (years)	Lesion side	Lesion location	Hand dominance	Zung SDS index	MMSE	mMRC FE	mMRC FF	Barthel index
1	M	54	L	thalamus, capsule, BG	D	31	24	3-4	4	85
2	M	60	R	BG, capsule	N	41	28	4	4-5	90
3	F	64	L	thalamus, capsule, BG	D	50	N/A	3-4	4	65
4	M	77	L	thalamus, capsule, BG	D	40	24	2-3	3	70
5	M	80	L	thalamus	D	49	N/A	3-4	4	20
Summary	4M/1F	67.0 ± 11.1	4L/1R	heterogeneous	4D/1N	42.2 ± 7.7				66.0 ± 27.7

L – left, R – right, D – dominant hand impaired, N – non-dominant hand impaired, BG – basal ganglia, mMRC – modified MRC scale, FE – finger extensors, FF – finger flexors, N/A – not applicable – the MMSE score could not be interpreted because of the presence of expressive aphasia

In the MRI scanner, the task was performed with eyes closed, and the beginning and end of the active block were signalled verbally (start/stop) in MR-compatible headphones. The block paradigm timing was 15 s on (active task) – 15 s off (rest). Each experimental run consisted of 12 repetitions of the same task-rest block pairs, for a total of 6 minutes. Each participant had two experimental runs with the impaired hand.

Treatment

The patients were treated with BoNT A injections into muscles of the affected arm at week 0. Treatment was injected using EMG guidance (Medtronic Keypoint, Alpine Biomed ApS, Denmark) and electrical muscle stimulation. The following muscles were always treated: the flexor carpi ulnaris muscle (FCU), the flexor carpi radialis muscle (FCR), the flexor digitorum superficialis muscle (FDS), and the flexor digitorum profundus muscle (FDP). When there was a need for additional injections into other muscles of the upper limb, they were injected using the same technique; the following muscles were injected: m. brachioradialis (BR) in one patient, m. biceps brachii (BB) in one patient, m. pronator teres (PT) in two patients. The dose of BoNT (Botox®) was 50 U (100 U in biceps brachii) per muscle. The effect of the BoNT treatment was tested using both clinical (MAS) and imaging assessments.

Data acquisition

Magnetic resonance imaging data were acquired on 1.5 Tesla scanners (Avanto

and Symphony, Siemens, Erlangen, Germany) with a standard head coil. The MR imaging protocol covered the whole brain with 30 axial slices 5 mm thick, including anatomical T₁-weighted images to provide an immediate overlay with functional data, fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) images to visualize brain lesions, functional T₂*-weighted (BOLD) images during task performance and rest, and a high-resolution 3D anatomical scan (MPRAGE). BOLD images were acquired with gradient echo EPI, TR/TE = 2,500/40 ms, FOV 220 mm, to provide 3.4 × 3.4 × 5 mm resolution. 144 images were acquired per each 6-minute functional run. A subject's head was immobilized with cushions to ensure maximum comfort and to minimize head movement.

Analysis

fMRI data processing was carried out using FEAT (fMRI Expert Analysis Tool) Version 5.98, part of FSL (FMRIB's Software Library, www.fmrib.ox.ac.uk/fsl). The following pre-statistics processing was applied: motion correction using MCFLIRT [28]; slice-timing correction using Fourier-space time-series phase-shifting; non-brain removal using BET [29]; spatial smoothing using a Gaussian kernel of full width at half-maximum (FWHM) 10 mm; grand-mean intensity normalization of the entire 4D dataset by a single multiplicative factor; high-pass temporal filtering (Gaussian-weighted least-squares straight line fitting, with sigma = 15.0 s). Time-series statistical analysis was carried out

using FILM with local autocorrelation correction [30]. Registration to high resolution structural and/or standard space images was carried out using FLIRT [28,31].

Higher-level analysis was carried out using FLAME (FMRIB's Local Analysis of Mixed Effects) stage 1 and 2 with automatic outlier detection [32–34]. Z (Gaussianized T/F) statistic images were thresholded using a corrected cluster significance threshold of $p = 0.05$ [35]. In group B, the longitudinal 3-session design permits separation of the physiotherapy effects, expected to be gradually developing over time, from the transient effect of BoNT. The treatment effect at session 2 (W4) may be decomposed into a transient BoNT effect and a progressive effect of time and physiotherapy using specific post-hoc linear contrasts, comparing the weighted average of sessions 1 and 3 and session 2, using temporal distance from session 2 as the weights: $(7 \times S1 + 4 \times S3)/11$ versus S2.

Results

Behavioral

BoNT treatment decreased arm spasticity across all patients measured 4 weeks following the BoNT injection.

In group A, the mean MAS scores were 3.5 (SD= .57) at Week 0, 1.38 (SD= .49) at Week 4 and the mean MAS change from baseline was 2.1 ($P = .0013$, one-sided paired t-test).

In group B, the mean MAS scores were 2.3 (SD= .67) at Week 0, 1.7 (SD= .27) at Week 4 and the mean MAS change from baseline was 0.6 ($P = .0724$, one-si-

ded paired t-test). In group B, the mean MAS score at Week 11 was 2.2 (SD= .45) and did not significantly differ from Week 0 (MAS change 0.1, $p = 0.352$, one-sided paired t-test).

Imaging – group mean

Functional MRI during impaired hand movement or during imagined movement before BoNT treatment showed an extensive bilateral network of active areas, including the contralesional motor cortex, supplementary motor area, bilateral pre-motor cortices, bilateral superior parietal lobes, precuneus/posterior cingulate, bilateral basal ganglia and ipsilesional cerebellum (fig. 1a).

Imaging – treatment effects

After the BoNT-treatment, both groups manifested reduction of previously widespread activation towards normal spatial distribution of activity into the midline and contralesional sensorimotor cortex (fig. 1b).

fMRI 11 weeks after the BoNT application (group B) showed a similar pattern of activation as the session prior to the BoNT treatment (fig. 1c).

In the group of patients with arm plegia (group A) the pre>post-BoNT contrast revealed a significant decrease ($p < 0.05$) in activation of the posterior cingulate/precuneus region close to the midline, centered on the Montreal Neurological Institute (MNI) coordinates $-8, -48, 0$ (fig. 2).

In the group of patients with preserved finger movement (group B), the pre>post-BoNT contrast revealed a significant decrease ($p < 0.05$) in activation of the following contralesional cortical areas: dorsolateral prefrontal cortex, inferior frontal gyrus, and post-central gyrus (fig. 3). Local maxima for between-session contrast reflecting BoNT treatment effect in group B are shown in tab. 4.

Discussion

Cerebral plasticity plays an important role in post-stroke recovery. Functional imaging studies showed that motor recovery is associated with massive recruitment of areas in the motor system early after the stroke. Initial increase in bilateral sensorimotor activity patterns normalize during recovery [36–39]. Alleviation of the extent and bilateral movement-related activity is

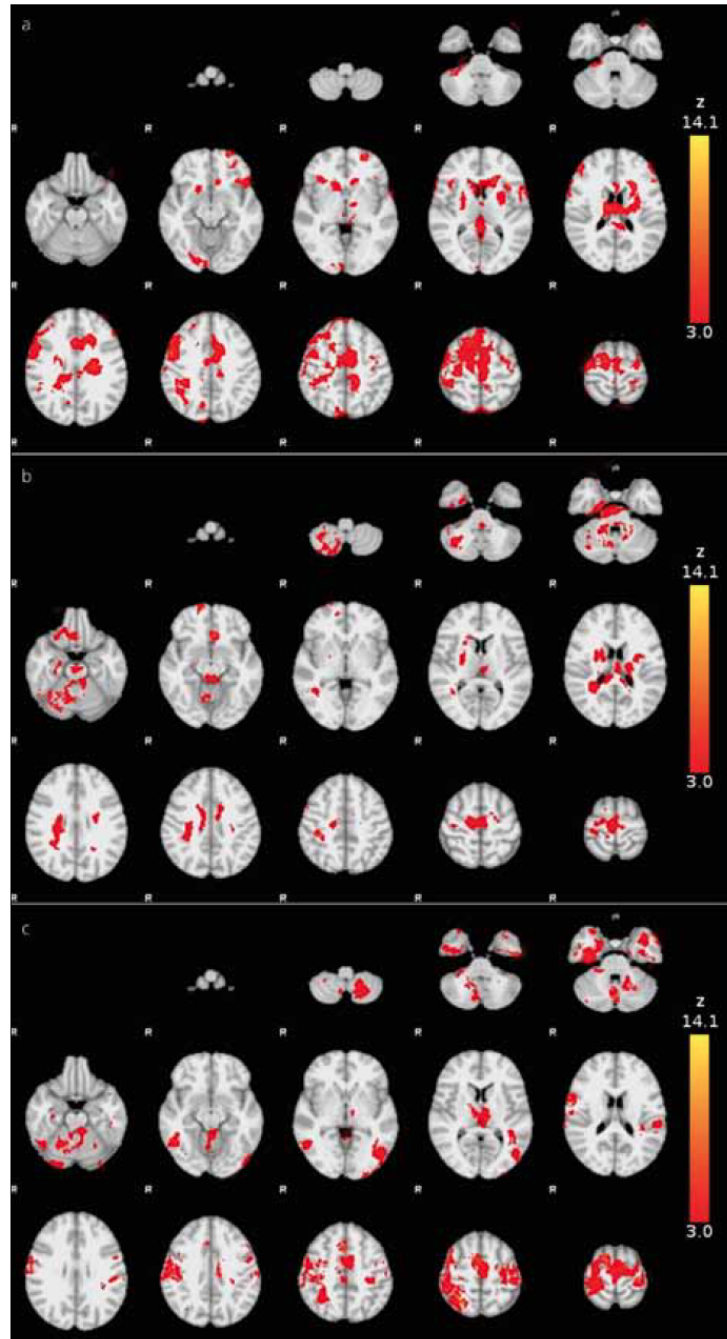


Fig. 1. Functional MRI activation during a real finger movement (a) before BoNT treatment, (b) four and (c) eleven weeks following BoNT administration. Group mean statistical maps (Z-score) are overlaid in color on the MNI anatomical template. Right side of the brain is displayed on the left.

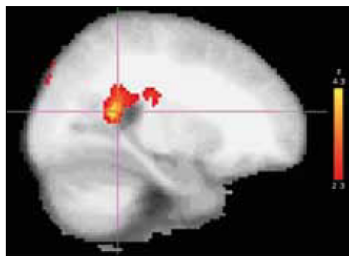


Fig. 2. BoNT treatment effect in group A: location, posterior cingulate/precuneus region of the most significant decrease of activation after BoNT treatment (group post-hoc contrast overlaid on an MNI anatomical template). Right side of the brain is displayed on the left.

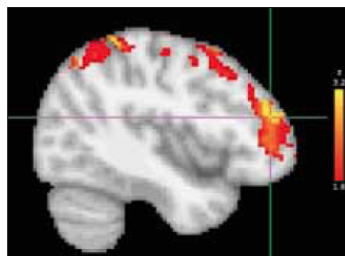


Fig. 3. BoNT treatment effect in group B: location, dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC) of the most significant decrease of activation after BoNT treatment (group post-hoc contrast overlaid on the MNI anatomical template). Right side of the brain is displayed on the left.

recovery-dependent: patients demonstrating poor motor recovery continue to activate a number of primary and non-primary motor regions more than those demonstrating good recovery [40,41].

Processes of cerebral plasticity may not be purely beneficial but can in fact even impair residual function (maladaptive plasticity) as reported in conditions such as dystonia, phantom limb pain and allodynia [42–45]. Development of spasticity after stroke may also be related to such maladaptive processes.

At present, BoNT is a well-established part of multimodal antispastic treatment. It has been proven that BoNT acts peripherally. However, there also is some evidence that BoNT acts through a supraspinal mechanism and can even affect cortical reorganization [21,46,47].

Most of the previous fMRI studies described changes in task-related cortical activity after specific rehabilitative treatment, e.g. constraint-induced therapy [41]. Only a few studies reported

cortical changes after BoNT injections into the spastic muscles [25,26,48].

In our research, we focused on the relationship between dynamic changes in movement-related brain activation and alleviation of spasticity induced by BoNT treatment.

In both our experiments, functional MRI examination done prior to the treatment showed widespread and bilateral activation during the motor task. The most significant regions of activation were found in the contralesional motor cortex, supplementary motor area, bilateral premotor cortices, bilateral superior parietal lobe, precuneus/posterior cingulate, bilateral basal ganglia and ipsilesional cerebellum. Imagery of finger movements (group A) evoked activation in the same cortical areas as those associated with performed movements (group B), similar to that shown previously [49].

We can assume that this pretreatment activation might be a uniform pattern of the lesioned brain as a form of maladaptation due to increased pathological proprioceptive afferentation (via Ia fibers) that is associated with spasticity.

As expected, BoNT-derived alleviation of spasticity was found in both groups and it was more prominent in the group of completely plegic patients with higher MAS before treatment. Also, the BoNT treatment-related reduction of abnormal

Tab. 4. Regions showing BOLD response changes related to BTX treatment in group B – significance of local maxima, MNI coordinates and atlas-based anatomical description.

Cluster Index	Z	x	y	z	Area (Harvard-Oxford Cortical Structural Atlas)
1	3.1	-40	44	20	„86% Frontal Pole, 1% Middle Frontal Gyrus“
1	3.09	-30	-30	74	„29% Postcentral Gyrus, 7% Precentral Gyrus“
1	3.09	-46	-54	58	„13% Angular Gyrus, 12% Supramarginal Gyrus, posterior division, 10% Lateral Occipital Cortex, superior division, 4% Superior Parietal Lobule“
1	3.08	-54	-42	52	„42% Supramarginal Gyrus, posterior division, 27% Supramarginal Gyrus, anterior division, 3% Superior Parietal Lobule, 2% Angular Gyrus“
1	3.06	-50	-48	54	„50% Supramarginal Gyrus, posterior division, 14% Angular Gyrus, 4% Superior Parietal Lobule, 3% Supramarginal Gyrus, anterior division, 1% Lateral Occipital Cortex, superior division“
1	3.06	-46	-42	62	„12% Superior Parietal Lobule, 8% Postcentral Gyrus, 1% Supramarginal Gyrus, anterior division“
1	2.93	-48	-22	62	„62% Postcentral Gyrus“
1	2.92	-46	-34	60	„52% Postcentral Gyrus, 6% Superior Parietal Lobule, 1% Supramarginal Gyrus, anterior division“
1	2.89	-30	-24	74	„24% Precentral Gyrus, 7% Postcentral Gyrus“
1	2.88	-30	-30	70	„59% Postcentral Gyrus, 15% Precentral Gyrus, 1% Superior Parietal Lobule“

extent and bilateral activation was observed in both groups. We extended the protocol of the first experiment by adding a third fMRI session (group B) at the time when BoNT effect on muscle fibers waned. BoNT-off data revealed a wide recruitment of cortical areas similar to that before the treatment. This approach allowed us to distinguish the BoNT-related effect from other mechanisms that could affect the results, e.g., spontaneous functional recovery or rehabilitation-related changes. In addition, all patients were in the chronic post-ischemic stroke stage, when activation patterns are stable [41].

In the periphery, BoNT affects intrafusal fibers as well as extrafusal ones and thus alters pathological sensory inputs to the CNS by blocking the neuromuscular junction of the gamma motor neurons. This blockade leads to a reduction of Ia afferent signals and indirectly inhibits the pre-existing feedback-driven execution mode [50]. This might be the mechanism through which the BoNT treatment reduces maladaptive plasticity. The hypothesis of central reorganization following BoNT treatment is supported by studies using neurophysiologic and imaging methods in patients with focal dystonia [51–53].

In both our experiments, decreased activation was found not only in the traditional motor regions but surprisingly also in regions that are not usual components of the motor system. The strongest hotspots were identified within the posterior cingulate cortex in group A and the dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC) in group B.

The posterior cingulate (group A), consisting of Brodmann areas 29, 30, 23, and 31, is a component of the limbic system and has been associated with functions such as working memory, encoding of visuomotor tasks and extrapersonal space and global attention [54–56].

The posterior cingulate cortex has been frequently mentioned in connection with the default network [57]. The dorsolateral prefrontal cortex (group B) is thought to be an association area that includes parts of the superior and middle frontal gyrus, a minor portion of the inferior frontal gyrus in Brodmann areas 9 and 46 [58]. DLPFC has been associated with such functions as working memory, decision making and executive functions [59–61]. Both posterior cingulate and DLPFC also contribute to motor performance and

motor skill [62,63]. DLPFC has dense connections with cingulate cortices as was confirmed in previous studies [64,65].

On one hand, the localization of changes in both groups falls in the same functional category of “extended” motor system, i.e., areas that are not active during performance of common motor tasks but are related to either complex aspects of motor planning or adaption to extended motor skill learning or injury of motor structures. On the other hand, there are obvious differences between the groups. It is rational to associate them primarily with the basic differences between the groups, i.e., age and severity of paresis. We presume that motor control in the elderly patients with preserved voluntary hand movement resembles healthy subjects. DLPFC is a frontal association area, hierarchically superior to the premotor cortex and is activated in healthy subjects while planning and performing complex motor tasks, even though it has no direct connections to spinal motor neurons and acts through hierarchically lower premotor and motor areas. From this perspective, DLPFC is closer to the traditional cortical motor system (areas with corticospinal projections). On the other hand, the posterior cingulate/pre-cuneus area that manifested changes in the group of younger patients with hand plegia, is also mentioned in association with the motor system but at a qualitatively different level. This greater functional “distance” could be linked to inability to perform real voluntary hand movements in the presence of subcortical lesion of the corticospinal tract and, consequently, abnormal movement control. In such a situation, the motor network may engage anatomically and functionally more “distant” cortical areas. Unfortunately, these speculations are difficult to support with ancillary data as, for example, analogous studies in stroke patients with hand plegia treated for spasticity are presently unavailable. However, since both our pilot groups involved rather a small number of patients, the results should be interpreted with caution and generalization of our results to the whole clinical population is impossible. Nevertheless, we assume that the above mentioned areas may play a role in performing movement in situation when the traditional motor structures are engaged

in the processing of abnormal proprioceptive input from the spastic muscles of a paretic extremity.

References

- Hendricks HT, van Limbeek J, Geurts AC, Zwarts MJ. Motor recovery after stroke: a systematic review of the literature. *Arch Phys Med Rehabil* 2002; 83(11): 1629–1637.
- Jørgensen HS, Nakayama H, Raaschou HO, Vi-ve-Larsen J, Støier M, Olsen TS. Outcome and time course of recovery in stroke. Part I: Outcome. The Copenhagen Stroke Study. *Arch Phys Med Rehabil* 1995; 76(5): 399–405.
- Colebatch JG, Gandevia SC. The distribution of muscular weakness in upper motor neuron lesions affecting the arm. *Brain* 1989; 112(3): 749–763.
- Page SJ, Gater DR, Bach-Y-Rita P. Reconsidering the motor recovery plateau in stroke rehabilitation. *Arch Phys Med Rehabil* 2004; 85(8): 1377–1381.
- Dobkin BH, Carmichael TS. Principles of recovery after stroke. In: Barnes M, Dobkin B, Bogousslavsky J (eds). *Recovery after Stroke*. Cambridge: Cambridge University Press 2005.
- Weiller C, Chollet F, Friston KJ, Wise RJ, Frackowiak RS. Functional reorganization of the brain in recovery from striatocapsular infarction in man. *Ann Neurol* 1992; 31(5): 463–472.
- Ward NS, Brown MM, Thompson AJ, Frackowiak RS. Longitudinal changes in cerebral response to proprioceptive input in individual patients after stroke: an fMRI study. *Neurorehabil Neural Repair* 2006; 20(3): 398–405.
- Rijntjes M, Weiller C. Recovery of motor and language abilities after stroke: the contribution of functional imaging. *Prog Neurobiol* 2002; 66(2): 109–122.
- Calautti C, Baron JC. Functional neuroimaging studies of motor recovery after stroke in adults: a review. *Stroke* 2003; 34(6): 1553–1566.
- Bütefisch CM, Davis BC, Wise SP, Sawaki L, Kopylev L, Classen J et al. Mechanisms of use-dependent plasticity in the human motor cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97(7): 3661–3665.
- Rossini PM, Calautti C, Pauri F, Baron JC. Post-stroke plastic reorganisation in the adult brain. *Lancet Neurol* 2003; 2(8): 493–502.
- Cramer SC. Functional imaging in stroke recovery. *Stroke* 2004; 35 (11 Suppl 1): 2695–2698.
- Pascual-Leone A, Amedi A, Fregni F, Merabet LB. The plastic human brain cortex. *Annu Rev Neurosci* 2005; 28: 377–401.
- Weiller C, Ramsay SC, Wise RJ, Friston KJ, Frackowiak RS. Individual patterns of functional reorganization in the human cerebral cortex after capsular infarction. *Ann Neurol* 1993; 33(2): 181–189.
- Jaillard A, Martin CD, Garambois K, Lebas JF, Hommel M. Vicarious function within the human primary motor cortex? A longitudinal fMRI stroke study. *Brain* 2005; 128(5): 1122–1138.
- Kamper DG, Fischer HC, Cruz EG, Rymer WZ. Weakness is the primary contributor to finger impairment in chronic stroke. *Arch Phys Med Rehabil* 2006; 87(9): 1262–1269.
- Ada L, O'Dwyer N, O'Neill E. Relation between spasticity, weakness and contracture of the elbow flexors and upper limb activity after stroke: an observational study. *Disabil Rehabil* 2006; 28(13–14): 891–897.
- Barnes MP. Medical management of spasticity in stroke. *Age Ageing* 2001; 30 (Suppl 1): 13–16.
- Watkins CL, Leathley MJ, Gregson JM, Moore AP, Smith TL, Sharma AK. Prevalence of spasticity post stroke. *Clin Rehabil* 2002; 16(5): 515–522.

DIFFERENCES IN THE MODULATION OF CORTICAL ACTIVITY IN PATIENTS SUFFERING FROM UPPER ARM SPASTICITY

20. Ward AB, Aguilar M, De Beyl Z, Gedin S, Kanovsky P, Molteni F et al. Use of botulinum toxin type A in management of adult spasticity – a European consensus statement. *J Rehabil Med* 2003; 35(2): 98–99.
21. Rosales RL, Dressler D. On muscle spindles, dystonia and botulinum toxin. *Eur J Neurol* 2010; 17 (Suppl 1): 71–80.
22. Antonucci F, Rossi C, Gianfranceschi L, Rossetto O, Caleo M et al. Long-distance retrograde effects of botulinum neurotoxin A. *J Neurosci* 2008; 28(14): 3689–3696.
23. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. „Mini-mental state“. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975; 12(3): 189–198.
24. Zung WW. A self-rating depression scale. *Arch Gen Psychiatry* 1965; 12: 63–70.
25. Senkarova Z, Hlustik P, Otruba P, Herzig R, Kanovsky P. Modulation of cortical activity in patients suffering from upper arm spasticity following stroke and treated with botulinum toxin A: an fMRI study. *J Neuroimaging* 2010; 20(1): 9–15.
26. Tomasova Z, Hlustik P, Kral M, Otruba P, Herzig R, Krobot A et al. Cortical activation changes in patients suffering from post-stroke arm spasticity and treated with botulinum toxin A. *J Neuroimaging* 2011. DOI: 10.1111/j.
27. Bohannon RW, Smith MB. Interrater reliability of a modified Ashworth scale of muscle spasticity. *Phys Ther* 1987; 67(2): 206–207.
28. Jenkinson M, Bannister P, Brady M, Smith S. Improved optimization for the robust and accurate linear registration and motion correction of brain images. *Neuroimage* 2002; 17(2): 825–841.
29. Smith SM. Fast robust automated brain extraction. *Hum Brain Mapp* 2002; 17(3): 143–155.
30. Woolrich MW, Ripley BD, Brady M, Smith SM. Temporal autocorrelation in univariate linear modeling of fMRI data. *Neuroimage* 2001; 14(6): 1370–1386.
31. Jenkinson M, Smith S. A global optimisation method for robust affine registration of brain images. *Med Image Anal* 2001; 5(2): 143–156.
32. Beckmann CF, Jenkinson M, Smith SM. General multilevel linear modeling for group analysis in fMRI. *Neuroimage* 2003; 20(2): 1052–1063.
33. Woolrich MW, Behrens TE, Beckmann CF, Jenkinson M, Smith SM. Multilevel linear modelling for fMRI group analysis using Bayesian inference. *Neuroimage* 2004; 21(4): 1732–1747.
34. Woolrich M. Robust group analysis using outlier inference. *Neuroimage* 2008; 41(2): 286–301.
35. Worsley KJ. Statistical analysis of activation images. In: Jezzard P, Matthews PM, Smith SM (eds). *Functional MRI: an introduction to methods*. Oxford: Oxford University Press 2001: 251–270.
36. Small SL, Hlustik P, Noll DC, Genovese C, Solodkin A. Cerebellar hemispheric activation ipsilateral to the paretic hand correlates with functional recovery after stroke. *Brain* 2002; 125(7): 1544–1557.
37. Calautti C, Leroy F, Guineestre JY, Marié RM, Baron JC. Sequential activation brain mapping after subcortical stroke: changes in hemispheric balance and recovery. *Neuroreport* 2001; 12(18): 3883–3886.
38. Feydy A, Carlier R, Roby-Brami A, Bussel B, Cazalis F, Pierot L et al. Longitudinal study of motor recovery after stroke: recruitment and focusing of brain activation. *Stroke* 2002; 33(6): 1610–1617.
39. Marshall RS, Perera GM, Lazar RM, Krakauer JW, Constantine RC, DeLaPaz RL. Evolution of cortical activation during recovery from corticospinal tract infarction. *Stroke* 2000; 31(3): 656–661.
40. Ward NS, Brown MM, Thompson AJ, Frackowiak RS. Neural correlates of outcome after stroke: a cross-sectional fMRI study. *Brain* 2003; 126(6): 1430–1448.
41. Johansen-Berg H, Dawes H, Guy C, Smith SM, Wade DT, Matthews PM. Correlation between motor improvements and altered fMRI activity after rehabilitative therapy. *Brain* 2002; 125(12): 2731–2742.
42. Pujol J, Roset-Llobet J, Rosinés-Cubells D, Deus J, Narberhaus B, Valls-Solé J et al. Brain cortical activation during guitar-induced hand dystonia studied by functional MRI. *Neuroimage* 2000; 12(3): 257–267.
43. Flor H. Remapping somatosensory cortex after injury. *Adv Neurol* 2003; 93: 195–204.
44. Maihöfner C, Handwerker HO, Birklein F. Functional imaging of allodynia in complex regional pain syndrome. *Neurology* 2006; 66(5): 711–717.
45. Kanovsky P. Dystonia: a disorder of motor programming or motor execution? *Mov Disord* 2002; 17(6): 1143–1147.
46. Kaňovský P, Streitová H, Daniel P, Hekerlová R, Bareš M, Dufek J. Dlouhodobá remise cervikální dystonie navozená léčbou botulotoxinem A – signál možného ovlivnění centrálního dystonického mechanismu? *Cesk Slov Neurol N* 1998; 61/94(2): 123–134.
47. Kanovsky P, Streitova H, Dufek J, Znojil V, Daniel P, Rektor I. Change in lateralization of the P22/N30 cortical component of median nerve somatosensory evoked potentials in patients with cervical dystonia after successful treatment with botulinum toxin A. *Mov Disord* 1998; 13(1): 108–117.
48. Manganotti P, Acler M, Formaggio E, Avesani M, Milanese F, Baraldo A et al. Changes in cerebral activity after decreased upper-limb hypertonus: an EMG-fMRI study. *Magn Reson Imaging* 2010; 28(5): 646–652.
49. Roth M, Decety J, Raybaudi M, Massarelli R, Delon-Martin C, Segebarth C et al. Possible involvement of primary motor cortex in mentally simulated movement: a functional magnetic resonance imaging study. *Neuroreport* 1996; 7(7): 1280–1284.
50. Rosales RL, Arimura K, Takenaga S, Osame M. Extrafusal and intrafusal muscle effects in experimental botulinum toxin-A injection. *Muscle Nerve* 1996; 19(4): 488–496.
51. Kanovsky P, Bares M, Streitova H, Klajblova H, Daniel P, Rektor I. Abnormalities of cortical excitability and cortical inhibition in cervical dystonia Evidence from somatosensory evoked potentials and paired transcranial magnetic stimulation recordings. *J Neurol* 2003; 250(1): 42–50.
52. Gelb DJ, Yoshimura DM, Olney RK, Lowenstein DH, Aminoff MJ. Change in pattern of muscle activity following botulinum toxin injections for torticollis. *Ann Neurol* 1991; 29(4): 370–376.
53. Ceballos-Baumann AO, Sheean G, Passingham RE, Marsden CD, Brooks DJ. Botulinum toxin does not reverse the cortical dysfunction associated with writer's cramp. A PET study. *Brain* 1997; 120(4): 571–582.
54. Mesulam MM, Nobre AC, Kim YH, Parrish TB, Gitelman DR. Heterogeneity of cingulate contributions to spatial attention. *Neuroimage* 2001; 13(6): 1065–1072.
55. Bollinger J, Rubens MT, Zanto TP, Gazzaley A. Expectation-driven changes in cortical functional connectivity influence working memory and long-term memory performance. *J Neurosci* 2010; 30(43): 14399–14410.
56. Bledowski C, Rahm B, Rowe JB. What „works“ in working memory? Separate systems for selection and updating of critical information. *J Neurosci* 2009; 29(43): 13735–13741.
57. Uddin LQ, Kelly AM, Biswal BB, Xavier Castellanos F, Milham MP. Functional connectivity of default mode network components: correlation, anticorrelation, and causality. *Hum Brain Mapp* 2009; 30(2): 625–637.
58. Rajkowska G, Goldman-Rakic PS. Cytoarchitectonic definition of prefrontal areas in the normal human cortex: II. Variability in locations of areas 9 and 46 and relationship to the Talairach Coordinate System. *Cereb Cortex* 1995; 5(4): 323–337.
59. Halsband U, Lange RK. Motor learning in man: a review of functional and clinical studies. *J Physiol Paris* 2006; 99(4–6): 414–424.
60. Galea JM, Albert NB, Ditye T, Miall RC. Disruption of the dorsolateral prefrontal cortex facilitates the consolidation of procedural skills. *J Cogn Neurosci* 2010; 22(6): 1158–1164.
61. Vanderhasselt MA, De Raedt R, Leyman L, Baeken C. Role of the left DLPFC in endogenous task preparation: experimental repetitive transcranial magnetic stimulation study. *Neuropsychobiology* 2010; 61(3): 162–168.
62. Jäncke L, Shah NJ, Peters M. Cortical activations in primary and secondary motor areas for complex bimanual movements in professional pianists. *Brain Res Cogn Brain Res* 2000; 10(1–2): 177–183.
63. Milton J, Solodkin A, Hlustik P, Small SL. The mind of expert motor performance is cool and focused. *Neuroimage* 2007; 35(2): 804–813.
64. Petrides M, Pandya DN. Dorsolateral prefrontal cortex: comparative cytoarchitectonic analysis in the human and the macaque brain and corticocortical connection patterns. *Eur J Neurosci* 1999; 11(3): 1011–1036.
65. Paus T, Castro-Alamancos MA, Petrides M. Cortico-cortical connectivity of the human mid-dorsolateral frontal cortex and its modulation by repetitive transcranial magnetic stimulation. *Eur J Neurosci* 2001; 14(8): 1405–1411.

www.csgh.info

