

**LÉKAŘSKÁ FAKULTA UNIVERZITY PALACKÉHO
V OLOMOUCI**



**Kortiko - subkortikální aktivace u cervikální dystonie
a její modifikace terapií botulotoxinem**

Obor Neurologie

MUDr. Robert Opavský

OLOMOUC

2012

Autorské prohlášení

Prohlašuji, že jsem dizertační práci vypracoval samostatně s použitím uvedené literatury.

V Olomouci dne 20.4.2012

MUDr. Robert Opavský

Poděkování

Rád bych touto cestou srdečně poděkoval prof. MUDr. Petru Kaňovskému, CSc., přednostovi Neurologické kliniky v Olomouci, za podnět k této práci, trvalou podporu a cenné připomínky. Mé velké poděkování patří také prof. MUDr. Ing. Petru Hlušítkovi, PhD., vedoucímu Laboratoře funkční MR Neurologické kliniky v Olomouci, za uvedení do problematiky funkční magnetické rezonance, pomoc a konzultace při zpracování dat a interpretaci výsledků.

Dále bych chtěl poděkovat své rodině za trpělivost a vytvoření podmínek k napsání této práce.

Obsah

Seznam použitých zkratk	6
Cíl práce	8
1 Úvod	9
1.1. Dystonie	9
1.2. Klasifikace dystonií	9
1.3. Genetika primárních torzních dystonií	12
1.4. Zobrazovací a elektrofyziologické metody ve studiu etiopatogeneze dystonií	17
1.4.1. Funkční magnetická rezonance	18
1.4.2. Pozitronová emisní tomografie	22
1.4.3. Magnetoencefalografie	23
1.4.4. Evokované potenciály	24
1.4.4.1. Somatosenzitivní evokované potenciály	24
1.4.4.2. Transkraniální magnetická stimulace	25
1.5. Patofyziologie idiopatických fokálních dystonií a její obraz v elektrofyziologických a zobrazovacích metodách	31
1.5.1. Nedostatečná inhibice	32
1.5.2. Poruchy somatosenzitivního systému	34
1.5.3. Poruchy senzitivně-motorické integrace	37
1.5.4. Poruchy neuroplasticity	37
1.5.4.1. Poruchy kortikální plasticity	38
1.5.4.2. Poruchy plasticity bazálních ganglií	41
1.5.5. Nálezy metod funkčního mapování u idiopatických fokálních dystonií	43
1.5.6. Metodologické poznámky k zobrazování neuroplasticity	45
1.6. Léčba dystonií	46
1.6.1. Botulotoxin	47
1.6.2. Hluboká mozková stimulace	51
1.6.3. Ostatní neurochirurgické metody	52
1.6.4. Fyzioterapie a rehabilitace	52
2 Původní práce	53
2.1. Senzitivně-motorické okruhy u cervikální dystonie a jejich ovlivnění terapií botulotoxinem: fMRI studie	53
2.1.1. Soubor a metodika	53
2.1.2. Výsledky	59
2.1.3. Diskuze	61

2.2. Abnormní somatosenzitivní kortikální aktivace u cervikální dystonie a její modulace botulotoxinem: fMRI studie.....	72
2.2.1. Soubor a metodika.....	72
2.2.2. Výsledky.....	77
2.2.3. Diskuze.....	79
3 Závěr.....	89
4 Souhrn.....	91
5 Summary.....	93
6 Literatura.....	95
7 Publikace.....	116
7.1. Práce související s dizertační prací.....	116
7.2. Ostatní publikace.....	118
8 Přílohy.....	121

Seznam použitých zkratek

AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-4-propionová kyselina (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-4-propionic acid)
BG	bazální ganglia
BOLD	blood oxygenation level dependent*
BoNT-A	botulotoxin typu A (botulinum neurotoxin type A)
CNS	centrální nervový systém
CMAP	sumační motorický akční potenciál (compound muscle action potential)
DBS	hluboká mozková stimulace (deep brain stimulation)
DYT	primární monogenní dystonie
EMG	elektromyografie
EPI	echoplanární zobrazení (echo-planar imaging)
FDR	fokální dystonie ruky
FEAT	fMRI Expert Analysis Tool
FLAIR	fluid attenuated inversion recovery*
FLAME	FMRIB Local Analysis of Mixed Effects*
fMRI	funkční magnetická rezonance (functional magnetic resonance imaging)
GABA	kyselina gama-aminomáselná (gamma-aminobutyric acid)
GAG	guanin-adenin-guanin trinukleotid
ICF	intrakortikální facilitace (intracortical facilitation)
ICA	analýza nezávislých komponent (independent component analysis)
IPL	lobulus parietalis inferior (inferior parietal lobule)
ISI	interstimulační interval (interstimulation interval)
LICI	dlohointervalová intrakortikální inhibice (long-interval intracortical inhibition)
LTD	dlouhodobá deprese (long-term depression)
LTP	dlouhodobá potenciace (long-term potentiation)
MCFLIRT	Motion Correction using FMRIB's Linear Image Registration Tool*
MEG	magnetoencefalografie
MEP	motorický evokovaný potenciál
MNI	Montreal Neurological Institute

MPRAGE	magnetization-prepared rapid acquisition gradient echo*
MR	magnetická rezonance
NMDA	N-methyl-D-asparagová kyselina (N-methyl-D-aspartic acid)
PAS	párová asociativní stimulace
PMd	dorzální premotorický kortex
PET	pozitronová emisní tomografie
rTMS	repetitivní transkraniální magnetická stimulace
SDT	prostorový diskriminační práh (spatial discrimination threshold)
SEP	somatosenzitivní evokované potenciály
SICI	krátká intrakortikální inhibice (short-interval intracortical inhibition)
SMA	suplementární motorická area
SNAP	synaptozomální asociovaný protein (synaptosomal associated protein)
SP	perioda útlumu (silent period)
SQUID	supravodivé kvantové interferenční zařízení (superconducting quantum interference device)
S1	primární somatosenzitivní kortex
S2	sekundární somatosenzitivní kortex
TBS	theta burst stimulation*
tDCS	transkraniální stimulace stejnosměrným proudem
TDT	časový diskriminační práh (temporal discrimination threshold)
TES	transkraniální elektrická stimulace
TMS	transkraniální magnetická stimulace
VAMP	protein asociovaný s vezikulou (vesicle associated protein)
PPC	zadní parietální kortex (posterior parietal cortex)

* neexistuje ustálený český ekvivalent

Cíl práce

Tématem dizertační práce jsou fokální dystonie a efekt jejich léčby pomocí botulotoxinu typu A (BoNT-A) v obraze funkční magnetické rezonance (fMRI).

V úvodu jsou podány základní informace o klasifikaci, etiopatogenezi a léčbě dystonií, dále jsou popsány funkčně-zobrazovací a elektrofyziologické metody využívané ke studiu této skupiny chorob.

Vzhledem ke skutečnosti, že většina funkčně-zobrazovacích studií demonstrujících abnormality senzitivního a motorického systému u fokálních dystonií pocházejí od pacientů trpících fokální dystonií ruky (FDR) a naopak informace o cervikální dystonii (CD), která představuje nejfrekventnější formu fokální dystonie, jsou relativně sporadické, rozhodli jsme se studovat tuto klinickou jednotku.

Cílem vlastní výzkumné práce bylo pomocí BOLD (blood oxygenation level dependent) metody fMRI porovnat senzitivní a motorickou cerebrální aktivaci v okruzích reprezentujících nepostiženou část těla u pacientů s fokální dystonií a zdravých dobrovolníků. Dalším cílem bylo posouzení změn BOLD aktivace indukovaných léčbou botulotoxinem typu A u pacientů.

V první části výzkumné práce jsou prezentována data z vyšetření motorické úlohy, při které byl prováděn náročný pohyb prstů ruky, významně závislý na propioceptivní aferentaci. Tato úloha byla zvolena z důvodu dokumentovaných poruch senzitivně-motorické integrace u pacientů s fokálními dystoniemi a jejich předpokládané významné úloze v patogenezi této skupiny chorob. S ohledem na demonstrované rozsáhlé abnormality ve zpracování somatosenzitivní informace u fokálních dystonií byla v druhé části výzkumné práce testována úloha s elektrickou somatosenzitivní stimulací nervus medianus.

1 Úvod

1.1. Dystonie

Dystonie představují syndrom, který je nalézán u etiologicky heterogenní skupiny onemocnění. Pro dystonie jsou charakteristické mimovolní, přetrvávající svalové kontrakce postihující jednu nebo více částí těla, které vedou ke kroucení a opakovaným pohybům nebo abnormálnímu postavení postižené části těla. Dystonické pohyby jsou někdy rytmické a mohou být doprovázeny tremorem. Pokud jsou dystonické stahy kontinuální, vedou k výrazné změně konfigurace či držení postižených částí těla. Dystonie bývá obvykle zhoršována pohybem. Volní pohyby bývají rušeny nadměrnými stahy participujících svalů, ale i zapojením svalových skupin normálně se na daném pohybu nepodílejících. K manifestaci dystonie může docházet vlivem specifického pohybu nebo může být vázána na provádění specifické činnosti (tzv. „task-specific“ dystonie) (Kaňovský, 2007).

Frekvence výskytu dystonií není přesně známa, v případě primárních dystonií je prevalence v Evropě odhadována na 15,2 případů na 100 000 obyvatel, z čehož fokální dystonie reprezentují přibližně 11,7 případů na 100 000 obyvatel (ESDE, 1999).

1.2. Klasifikace dystonií

Dystonie je možno dělit podle různých hledisek (Bareš, 2009; Albanese et al., 2011):

A/ podle příčiny

a) *primární torzní dystonie (idiopatické) - čisté primární dystonie*: dystonie je jediným a dominujícím příznakem (kromě třesu); není identifikována žádná exogenní příčina nebo jiné dědičné či degenerativní onemocnění (např. primární generalizované dystonie DYT 1 pozitivní; cervikální dystonie)

b) *dystonie plus syndromy*: dystonie je vedoucím příznakem a je doprovázena další poruchou mimovolní hybnosti. Nejsou známky neurodegenerace. Příkladem je myoklonická dystonie DYT 11.

c) *heredodegenerativní dystonie*: dystonie je jedním z příznaků v rámci heredodegenerativních onemocnění (např. Wilsonova nemoc, metachromatická leukodystrofie, Leighova nemoc, Huntingtonova chorea)

d) *sekundární dystonie*: dystonie je příznakem u jiných neurologických onemocnění jako jsou ložiskové léze mozku, expozice drogám a chemikáliím (např. dystonie v rámci perinatální encefalopatie, parkinsonizmu, postinfekční, posttraumatická, u nádorů, u roztroušené sklerózy; do této skupiny je řazena i psychogenní dystonie)

e) *primární paroxyzmální dystonie*: dystonie se objevuje jen krátkodobě, dle vyvolávajícího faktoru jsou děleny na: paroxyzmální kinezigenní dyskineze, paroxyzmální cvičením navozené dystonie a non-kinezigenní dyskineze

B/ podle věku manifestace dystonie

a) *s časným začátkem*: tyto formy mívají závažnější průběh, s tendencí ke generalizaci, objevují se nejčastěji do 20 let věku, iniciační manifestace nejčastěji na končetinách s následným šířením na trup

b) *s pozdním začátkem*: objevují se po 20. roce života, většinou manifestace v krční oblasti s šířením do oblastí kraniálních a na horní končetinu, s malou tendencí ke generalizaci

C/ podle distribuce

a) *fokální* – postižení jedné svalové skupiny

- ústa - oromandibulární dystonie, křeče hudebníků
- oční víčka - blefarospasmus
- hrtan - dystonická adduktorová dysfonie
- krk - cervikální dystonie
- horní končetina - písářská křeč

b) *segmentové* - postižení dvou a více sousedních oblastí

- kraniální - postižení 2 nebo více svalových skupin hlavy a krku
- axiální - postižení krku a trupu
- brachiální - kombinace postižení jedné nebo obou horních končetin a axiálního typu dystonie
- krurální - kombinace postižení jedné nebo obou dolních končetin a axiálního typu dystonie

c) *generalizované* - kombinace postižení obou dolních končetin (nebo postižení jedné dolní končetiny a trupu) a postižení jakékoliv další části těla (obvykle jedna nebo obě horní končetiny)

d) *multifokální dystonie* - postižení dvou nebo více nesousedních částí těla

e) *hemidystonie* - postižení horní a dolní končetiny na jedné straně těla

1.3. Genetika primárních torzních dystonií

Dystonie jsou nejen klinicky ale i geneticky heterogenní skupinou onemocnění. Během posledních několika desetiletí došlo k identifikaci některých genů participujících na vzniku dystonií a s tím souvisejícímu částečnému objasnění geneze této skupiny chorob.

Nejvíce informací bylo nashromážděno o skupině *primárních torzních dystonií*. Jde o skupiny dystonií se širokým spektrem klinických příznaků, k jejichž manifestaci může dojít od časného dětství až po stáří. Distribuce dystonických příznaků může být od fokální až po generalizovanou. Věk, kdy první projevy této skupiny dystonií vznikají, má bimodální distribuci. *Formy s časným začátkem* jsou vzácné, začínají se manifestovat obvykle kolem 9. roku života a mívají monogenní původ. Relativně frekventní *formy pozdní* se objevují nejčastěji kolem 45. roku, ve většině případů jsou sporadické. Existuje souvislost mezi věkem počátku onemocnění, první postiženou částí těla a klinickou progresí. Časně formy mají tendenci začínat na končetinách a během 5-10 let se šíří do více částí těla. Naopak pozdní formy nejčastěji postihují horní končetinu (písařská křeč), krk (cervikální dystonie), laryngeální svaly (adduktorová dystonie). Na rozdíl od časných forem mají formy pozdní tendenci zůstat lokalizované s fokální nebo segmentovou distribucí. Méně častý klinický fenotyp představují tzv. *formy smíšené* začínající v mladém věku, s tendencí k šíření, ale postižení cervikálních a kraniálních svalů je frekventnější než u forem časných (Ozelius a Bressman, 2011; Klein, 2005).

V současné době je popsáno 20 monogenních forem dystonií, jsou označovány DYT1-20 (tab. 1).

Dosud nejlépe prozkoumaná je dystonie DYT1. Jde o nejčastější a nejzávažnější formu hereditárních dystonií s frekvencí výskytu 1:160 000 (1:9000 u aškenazských Židů). Typický začátek je kolem 13. roku života s iniciální manifestací na končetinách, záhy dochází ke generalizaci. U tohoto onemocnění je pozorována tendence ke kaudo-kraniálnímu šíření, postižení kraniálních svalů je ale málo časté. DYT1 dystonie je děděna autozomálně dominantním způsobem s významně redukovanou penetrancí. V některých případech se může onemocnění manifestovat pouze fokálně, ve formě písákové křeči (Bressman et al., 2000).

Většina případů DYT1 dystonie je způsobena GAG delecí DYT1 genu na 9. chromozomu s následnou ztrátou kyseliny glutamové na karboxylovém konci proteinu zvaného torsin A, který patří do skupiny adenosintrifosfatáz. DYT1 gen je exprimován v různých částech mozku, zejména v substantii nigra, což by mohlo svědčit pro účast poruch dopaminergní transmise na vzniku tohoto onemocnění. Torsin A je za normálních okolností nalézán převážně v endoplazmatickém retikulu, mutovaná forma proteinu se nachází zejména v obalech jádra. Předpokládá se, že mutace torsinu A vede k poruše recyklace synaptických vezikul a zhoršenému uvolňování dopaminu (Breakfield et al., 2008).

Současná úroveň poznání dystonií naznačuje, že genetické faktory se určitou měrou podílejí i na vzniku *pozdních forem* dystonií. Z výsledků dostupných genetických studií je možno vyvozovat, že všechny druhy adultních fokálních dystonií, včetně „task-specific“ typů, jsou pravděpodobně skupinou příbuzných onemocnění sdílející společný etiologický a zřejmě i genetický původ (Defazio, 2007).

Tab. 1. Monogenní formy dystonie. Převzato z: Schmidt A, Klein C. The role of genes in causing dystonia. Eur J Neurol 2010;17:65-70.

Typ	Název	Dědičnost	Genový lokus	Gen	Protein	Funkce proteinu	Klinická manifestace
DYT-1 (TOR1A)	Primární dystonie s časným začátkem	AD	9q	TOR1A/ DYT1	torsinA	Proteinové interakce v obalu jádra a endoplazmatickém retikulu	Časný začátek, většinou na končetinách, šíření na další části těla
DYT-2	Autozomálně recesivní primární dystonie	AR	-	-	-	-	Časný začátek, generalizovaná nebo segmentová torzní dystonie
DYT-3	X-vázaná dystonie-parkinsonismus; "Lubag"	X-vázaná	Xq	TAF1/ DYT3	TAF	Transkripční faktor	Segmentová nebo generalizovaná dystonie doprovázená parkinsonismem v 50% případů
DYT-4	"Non-DYT1" primární dystonie	AD	-	-	-	-	Dysfonie s šeptáním
DYT-5a/ DYT 14	DOPA-responzivní dystonie (Segawova nemoc)	AD	14q	GCH1	GTP cyklohydroláza	Enzym syntézy biopterinu	Dystonie doprovázená parkinsonismem, cirkadiánní fluktuace
DYT-5b		AR	11q	TH	tyrosin hydroxyláza	Enzym syntézy DOPA	
DYT-6	Primární dystonie s počátkem v adolescenci	AD	8p	THAP1	THAP1	Transkripční faktor - zinkový prst	Počátek v adolescenci, segmentová

							distribuce
DYT-7	Primární fokální dystonie s počátkem v dospělosti	AD	18p	-	-	-	Cervikální dystonie, písářská křeč, laryngeální dystonie, blefarospasmus manifestující se v dospělosti
DYT-8	Paroxysmální non-kinezigenní dyskineze	AD	2q	PNKD 1/MR1	regulátor myofibrilogenezy 1	-	Ataky dystonie předcházené stresem, únavou, alkoholem, čokoládou
DYT-9	Paroxysmální choreoatetóza se spasticitou	AD	1p	-	-	-	Ataky dystonie, epizodická ataxie, parestézie, diplopie vyvolané cvičením, stresem, čokoládou, spastická paraplegie mezi atakami
DYT-10	Paroxysmální kinezigenní dyskineze	AD	16p-q	-	-	-	Ataky dystonie vyvolané náhlým pohybem
DYT-11	Myoklonus-dystonie	AD	7q	SGCE	epsilon sarkoglykan	Dystrofin-glykoproteinové komplexy	Myoklonie kombinované s dystonií, reagující na alkohol

DYT-12	Dystonie s parkinsonizmem s rychlým nástupem	AD	19q	ATP1A3	α -podjednotka Na ⁺ /K ⁺ ATPázy	Iontový přenašeč	Akutní nebo subakutní nástup dystonie v kombinaci s parkinsonizmem
DYT-13	Multifokální/segmentová dystonie	AD	1p	-	-	-	Časté postižení horních končetin, mírný průběh
DYT-15	Myoklonus-dystonie	AD	18p	-	-	-	Myoklonie kombinované s dystonií
DYT-16	Dystonie s časným začátkem (s parkinsonizmem)	AR	2p	PRKR A	PACT	Protein stresové odpovědi	Postižení dolních končetin v kombinaci s laryngeální dystonií, dysartrií, dysfonií, někdy parkinsonizmem
DYT17	AR primární torzní dystonie	AR	20pq	-	-	-	Raritní, torticollis se šířením na další části těla, dysfonie, dysartrie
DYT-18	Paroxysmální námahou indukovaná dyskineze 2	AD	1p	SLC2A1	GLUT1	Glukózový přenašeč	Epizody dystonie zejména dolních končetin, vázané na fyzickou námahu, trvající 5-30 minut

DYT19	Epizodická kinezigenní dyskineze	AD	16q	-	-	-	Několik minut trvající epizody dystonie vyvolané pohybem
DYT20	Paroxysmální non-kinezigenní dyskineze	AD	2q	-	-	-	Sporadické dyskineze vyvolané delším cvičením, stresem, alkoholem

1.4. Zobrazovací a elektrofyziologické metody ve studiu etiopatogeneze dystonií

Ke studiu procesů související s etiopatogenezí dystonií jsou často využívány zobrazovací a elektrofyziologické metody. Mezi nejpoužívanější metody funkčního mapování mozku patří funkční magnetické rezonance, pozitronové emisní tomografie a magnetoencefalografie. Mezi těmito metodami existují zásadní rozdíly v časové a prostorové rozlišovací schopnosti, čímž je determinováno jejich použití (viz tab. 2).

Nezastupitelnými elektrofyziologickými metodami jsou vyšetření evokovaných potenciálů, nejčastěji somatosenzitivních a motorických, a různé jejich modifikace.

Tab. 2. Parametry metod funkčního mapování mozku

Metoda funkčního mapování	Radiační zátěž	Prostorové rozlišení	Objemová kvantifikace	Temporální rozlišení
MEG	NE	řádu 1 až 10 mm	špatná	10 až 100 ms
PET	ANO	řádu 1 až 10 mm	přijatelná	10 až 100 000s
fMRI	NE	řádu 0,1 až 10 mm	velmi dobrá	0,1 až 1000s

1.4.1. Funkční magnetická rezonance

Přenos informací na synapsích, který je zprostředkován uvolňováním neurotransmiterů a jejich interakcí s receptory, je spojen se spotřebou energie. Maximum energie je spotřebováno postsynaptickou depolarizací, méně pak na generování akčního potenciálu (Attwell a Laughlin, 2001). Jedním z kritických elementů k tvorbě energie je kyslík (O₂), a proto při nárůstu synaptické aktivity se zvyšují nároky na dodávku kyslíku do dané oblasti mozku. K zajištění těchto nároků dochází zvýšením průtoku okysličené krve. Zvýšená neuronální aktivita, která je zprostředkována aktivitou na synapsích, je tedy provázána zvýšeným krevním průtokem (Attwell a Iadecola, 2002). Přísun okysličené krve do oblastí zvýšené neuronální aktivity je větší než spotřeba O₂, množství okysličené krve převyšuje množství krve neokysličené. Tato neuronální aktivitou modulovaná lokální perfúze je řízena na úrovni arteriol, zřejmě za významného ovlivnění oxidem dusnatým (NO) a eikosanoidy (St Lawrence et al., 2003).

Funkční magnetická rezonance využívá k mapování neuronální aktivity tři způsobů. Prvním je detekce zvýšené krevní perfúze v místě zvýšené neuronální aktivity, další možností je monitorace krevního objemu za použití MR kontrastní látky a třetí, nejpoužívanější, metoda detekuje změny poměru okysličené a neokysličené krve v oblasti zvýšené neuronální aktivity. Tento efekt je označován BOLD (blood oxygenation level dependent), metoda pak BOLD fMRI. Pro vlastní funkční zobrazování se u fMRI používají ta vážení snímků, která jsou schopna zaznamenat výše popsané efekty. Respektive se volí snímací sekvence poskytující příslušně vážená obrazová data.

BOLD fMRI dosahuje prostorového rozlišení v řádu několika milimetrů a časového rozlišení v řádu několika sekund. Tato metoda využívá poznatku, že hemoglobin s navázaným kyslíkem (oxyhemoglobin) se chová ve srovnání s mozkovou tkání izomagneticky (diamagneticky) a naopak hemoglobin po odevzdání kyslíku (deoxyhemoglobin) je mírně paramagnetický (Pauling a Coryell, 1936). Cévy obsahující okysličenou krev pak způsobují minimální nebo žádnou lokální deformaci (tj. nehomogenitu) magnetického pole, zatímco cévy a kapiláry obsahující částečně deoxygenovanou krev k této lokální deformaci vedou (Ogawa et al., 1990). Hemodynamická odezva na různé stimuly dosahuje maxima přibližně v době 2 až 9 sekund od začátku stimulu; v této době se zvyšuje v příslušné oblasti mozku se zvýšenou neuronální aktivitou krevní průtok asi o 50-70%, ale utilizace kyslíku se zvýší jen o 5 až 20%. S poklesem extrakce kyslíku souvisejícím s nárůstem lokálního krevního průtoku v aktivní oblasti dochází k prodloužení T_2^* relaxačního času a k relativnímu zvýšení intenzity signálu vzhledem k základnímu stavu (Matthews a Jezzard, 2004).

Nejčastěji používanou zobrazovací sekvencí je echoplanární zobrazení (EPI), které dovoluje sběr dat z celého mozku během několika sekund s prostorovým rozlišením typicky 4x4x4mm.

Vzhledem k faktu, že rozdíl signálu mezi odlišnými, prováděnou úlohou navozenými stavy se pohybuje jen na úrovni maximálně několika procent, jsou během fMRI experimentů rychle sbírány rozsáhlé série snímků v době, kdy subjekt provádí úlohu, která mění mozkovou aktivitu mezi dvěma nebo více takto definovanými stavy. Tato data jsou následně statisticky srovnávána mezi různými stavy (např. t-testem) nebo ještě sofistikovaněji je na časový průběh signálu v každém objemovém elementu (voxelu) zobrazeného mozku aplikován obecný lineární model odvozený z časového průběhu prováděné úlohy. V nejjednodušším případě tento přístup odpovídá korelaci mezi časovým průběhem signálu a empirickým modelem hemodynamické odpovědi při známém časovém průběhu prováděné úlohy.

Vzhledem ke skutečnosti, že BOLD fMRI je schopna určit jen relativní změny intenzity signálu vázané na prováděnou úlohu, je nevhodnějším postupem ke srovnání mozkové aktivace během různých stavů použití tzv. *blokového designu (těž paradigmatu)*. Tento design používá relativně dlouhé periody, během kterých je daný stav (například motorický, kognitivní úkol nebo klidová fáze) udržován. Dalším typem designu fMRI studie je *event-related design (měření evokovaných odpovědí)*, který je zaměřen na jednotlivé oddělené události, kdy měříme odpověď na každou takovou událost. Aby se zabránilo kontaminaci odpovědi na danou událost událostí předcházející, je nutno dodržovat určitou časovou vzdálenost událostí a/nebo randomizovat časové intervaly mezi začátkem událostí. Tím dochází k významnému prodloužení studie a nárůstu množství nasbíraných dat a s tím související náročností jejich zpracování.

Hlavním cílem analýzy fMRI dat je identifikace těch voxelů, ve kterých dochází k signálovým změnám v souvislosti se změnou stavu mozku vyvolaném testovanou úlohou.

Problémy při analýze fMRI dat představuje zejména malá změna signálu kolem 0,5%-5% (vedoucí k potenciálně falešně negativním výsledkům) a velký počet současně zkoumaných voxelů (hrozící potenciálně falešně pozitivními výsledky).

fMRI je potenciálně zatížena řadou různých typů artefaktů, které mohou vznikat pohybem hlavy subjektů, i vlastním pohybem mozku během respiračního a srdečního cyklu, další například souvisejí s použitím rychlých zobrazovacích metod (např. EPI). Pro potlačení artefaktů se během analýzy funkčních dat provádí operace označované souhrnně jako *předzpracování*, které se snaží připravit data co nejlépe ke statistické analýze a vlastní detekci aktivace. Mezi procesy předzpracování řadíme již zmiňovanou *korekci pohybu* hlavy, dále *korekci akvizičních časů* používající k úpravě časových posunů mezi jednotlivými vrstvami interpolaci časového průběhu, dále *prostorovou normalizaci* představující transformaci snímků do standardního stereotaktického prostoru za účelem srovnání výsledků jednotlivých subjektů mezi sebou nebo s anatomickými atlasy. Mezi další používané postupy můžeme zařadit *prostorové vyhlazení*, kdy filtrace vysokých prostorových frekvencí má za cíl potlačit šum v datech, *normalizaci globální intenzity* v každém skenu na předem stanovenou hodnotu a *filtraci časového průběhu* (Matthews a Jezzard, 2004).

Následně je použita řada statistických modelů a testů k identifikaci těch voxelů, ve kterých změna signálu časově koreluje se změnou mezi testovaným a kontrolním stavem. Nejčastěji používané metody korelují časový průběh signálových změn s časovým modelem předpokládané hemodynamické odezvy vyplývající z designu experimentu. Další metodou analýzy fMRI je analýza nezávislých komponent

(Independent Component Analysis, ICA), kdy jsou data rozložena do statisticky nezávislých prostorových map (s příslušným časovým průběhem), které v ideálním případě reprezentují různé artefakty nebo hledané aktivační vzorce (Matthews a Jezzard, 2004).

K analýze fMRI dat jsou využívány různé softwarové balíky, např. FSL, SPM a AFNI.

1.4.2. Pozitronová emisní tomografie

Během vyšetření pozitronovou emisní tomografií (PET) je detekováno záření emitované tkáněmi pacienta poté, co mu bylo aplikováno vhodné radiofarmakum. Princip vyšetření je založen na detekci fotonů. Během rozpadu typu β^+ je emitován pozitron, který anihiluje s blízkým elektronem za vzniku dvou kvant záření gama (fotonů) vzdalujících se od sebe po přímce. Oba fotony jsou registrovány prstencem detektorů umístěných kolem vyšetřovaného subjektu. Lze tak určit dráhu jejich letu. Znalost velkého množství takových trajektorií umožňuje rekonstruovat obraz rozložení aktivity v těle subjektu. K PET vyšetření je používána řada radionuklidů (^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F , aj.). Z těchto radionuklidů je možno syntetizovat škálu molekul vhodných k zobrazování různých biologických pochodů. Nevýhodou metody je radiační zátěž vyšetřovaných subjektů a horší dostupnost vyšetření (Bělohlávek a Kabíčková, 2003).

1.4.3. Magnetoencefalografie

Magnetoencefalografie (MEG) představuje neinvazivní metodu funkčního mapování mozku používanou k měření magnetických polí s intenzitou v řádu několika desítek až tisíců femtotesla generovaných intracelulárními elektrickými proudy mozkových neuronů. Signály detekované MEG jsou odvozeny z iontových proudů vznikajících v dendritech během synaptické transmise, kde tyto elektrické proudy přímo generují na sebe kolmá magnetická pole. MEG tak poskytuje přímou informaci o dynamice spontánní a evokované neuronální aktivity a lokalizuje její zdroje v mozku. K detekci magnetických polí se používají extrémně citlivá zařízení lokalizovaná zevně skalpu, která se nazývají SQUID (superconducting quantum interference device, supravodivé kvantové interferenční zařízení). Tato zařízení využívají principů supravodivosti, vyžadují ke své funkci velmi nízké teploty a bývají umístěny v počtu více než 300 v heliem chlazené helmici, do které je umístěna hlava vyšetřovaného subjektu. Vyšetření probíhají v magneticky odstíněné místnosti, aby se vyloučila interference s externími magnetickými poli (Babiloni et al., 2009).

Data z jednotlivých SQUID jsou následně analyzována náročnými algoritmy za účelem určení přesné lokalizace zdroje elektrické aktivity (Hauk et al., 2011). Ke zjednodušení tohoto problému je často s výhodou využívána kombinace MEG s MRI nebo elektroencefalografií.

MEG dosahuje časového rozlišení v řádu milisekund a prostorového rozlišení v řádu milimetrů (tab. 2), největší nevýhodou této metody je její malá dostupnost limitovaná jen na některá výzkumná centra.

1.4.4. Evokované potenciály

Evokované potenciály jsou bioelektrickým projevem zpracování a odpovědi mozku, případně i dalších struktur nervové soustavy, na zevní stimulus (senzorické evokované potenciály), nebo jsou odpovědí na stimulaci mozkové kůry elektrickými či magnetickými stimuly registrovanou ve svalu (motorické evokované potenciály).

Ke studiu dějů účastnících se patogeneze dystonií jsou dominantně používány *somatosenzitivní evokované potenciály* (SEP) a *motorické evokované potenciály* (MEP), dále jejich různé modifikace.

1.4.4.1. Somatosenzitivní evokované potenciály

Podrážděním senzitivních receptorů nebo vláken dochází na různých etážích podél somatosenzitivní dráhy ke generování potenciálů, které je možno registrovat. V klinické i experimentální praxi je nejčastěji pro svoji robustnost, reprodukovatelnost a kvantifikovatelnost využívána elektrická stimulace. Aferentní informace po elektrické stimulaci je zpracována zejména proprioceptivními vlákny a zadními provazci. Méně často je využívána stimulace proprioreceptorů pohybem, nociceptorů laserem apod. Místem stimulace bývá nejčastěji nervus medianus v oblasti zápěstí a nervus tibialis v oblasti mediálního kotníku.

Vybrané nervy jsou, v případě elektrické stimulace, stimulovány monofázickými pulzy čtvercového průběhu v trvání většinou 100-300 μ s, intenzita stimulace bývá 1,5-násobkem motorického prahu, stimulační frekvence 3-6 Hz. SEP jsou obvykle zaznamenávány standardními EEG elektrodami. Výsledná křivka pak svými vrcholy reprezentuje aktivitu jednotlivých nervových struktur, které se podílejí na vedení

a zpracování daného podnětu. K zajištění konstantní odpovědi je nutno snímané signály zesílit, filtrovat a zprůměrovat. Na křivce jsou pak hodnoceny amplitudy a latence jednotlivých vln (Kaňovský a Dufek, 2000).

Dle stimulovaného nervu se liší možná místa registrace. Při stimulaci n. medianus je to Erbův bod, kde je registrována vlna N9 (periferní komponenta), dále nad jádry zadních provazců vlna N13 (spinální segmentální komponenta). Při stimulaci n. tibialis představuje periferní komponentu vlna N8 snímaná nad fossa poplitea, analogem vlny N13 je vlna N22 snímaná nad trny dolních hrudních obratlů vznikající postsynapticky v zadních rozích míšních v oblasti lumbální intumescence. Pro studium dějů souvisejících s etiopatogenezí dystonií jsou nejvýznamnější komponenty kortikální. Pro n. medianus to je komponenta N20/P23 generovaná v parietálním somatosenzitivním kortexu (zřejmě S1) a frontálně generovaná komponenta P22/N30. Pro n. tibialis je nejlépe detekovatelnou kortikální komponentou P39 (Kaňovský a Dufek, 2000).

Ke studiu inhibičních procesů v somatosenzitivním kortexu může být použito párové paradigma s různými interstimulačními intervaly (ISI), kdy fyziologicky v závislosti na délce ISI dochází k supresi amplitud komponent SEP vyvolaných druhým impulsem (Tamura et al., 2008).

1.4.4.2. Transkraniální magnetická stimulace

K testování funkční integrity motorických drah slouží vyšetření motorických evokovaných potenciálů. Tato metoda je založena na neinvazivní transkraniální stimulaci motorického kortexu přímo elektrickým proudem (transkraniální elektrická stimulace, TES), nebo častěji magnetickým polem indukujícím elektrický proud

intrakraniálně na principu elektromagnetické indukce (transkraniální magnetická stimulace, TMS). Motorická odpověď (MEP) je snímána povrchovými elektrodami z příslušného svalu.

Využití TES je pro bolestivost této metody v současnosti omezeno převážně jen na peroperační monitorování.

K vytvoření silného magnetického pole využívaného při TMS je nutné nabít vysokokapacitního kondenzátoru stimulatoru elektrickým proudem. Tento proud o napětí až 4000V je po spuštění stimulatoru rychle vybit v cívce za vytvoření magnetického pole o intenzitě 1-3T, trvajícím 50-200 milisekund a kolmého ke směru proudu procházejícího cívkou. Pokud je mozková tkáň vystavena působení magnetického pole, dochází v ní k indukci elektrického proudu paralelního k proudu v cívce, ale s opačným směrem. K vlastní stimulaci jsou využívány cívky různých tvarů a velikostí. Čím je plocha cívky větší, tím rozsáhlejší oblast kortexu je stimulována. K dosažení fokálního efektu jsou používány cívky ve tvaru čísla 8. Intenzita stimulace je většinou vyjadřována v procentech maximálního výkonu stimulatoru (Kaňovský a Dufek, 2000).

Mezi základní hodnocené parametry MEP patří *amplituda*, dále *stimulační práh* vyjadřující intenzitu stimulace nutnou ke spolehlivému generování MEP s amplitudou přes 50 μV v 50% z 5-10 stimulací, *latence* odpovědi a *input-output křivky* korelující amplitudu MEP s intenzitou stimulace vyjádřenou v procentech motorického prahu.

K testování lokální excitability okruhů motorického kortexu jsou používány tzv. *párově-pulzní* TMS protokoly. Ty se skládají ze dvou TMS stimulů, kde intenzita stimulů a interstimulační interval určují, zda výsledným efektem bude facilitace či inhibice.

Jedním z parametrů využívaných k posouzení kortikální inhibice zprostředkované kortikálními interneurony, je *krátká intrakortikální inhibice* (short intracortical inhibition, SICI), kterou je možno vyšetřit při párové stimulaci motorického kortexu. Po iniciálním podprahovém stimulu o nízké intenzitě, který je schopen aktivovat kortikální neurony, ale nemá vliv na motoneurony míchy, následuje stimulus nadprahový. Intrakortikální změny navozené iniciálním stimulem pak modulují amplitudu MEP. K inhibici MEP, která je zprostředkována GABA-ergními interneurony (specificky GABA-A receptory (Di Lazzaro et al., 2008)) dochází při použití krátké časové vzdálenosti použitých stimulů mezi 1-5ms. Při použití intervalu mezi stimuly o délce 8-30ms dochází k nárůstu amplitudy MEP, tento jev je nazýván *intrakortikální facilitace* (ICF).

Další protokol, který využívá první nadprahový stimul spárovaný se stimulem prahovým ve vzdálenosti 1-1,5ms, 2,5-3ms a 4,5ms je tzv. *krátko-intervalová intrakortikální facilitace*, vedoucí k facilitaci MEP (Ziemann et al., 2008).

Další z parametrů používaných k hodnocení intrakortikální inhibice a reflektující její jiné aspekty než SICI je možno vyšetřit při nadprahové stimulaci motorického kortexu pomocí TMS v případě, kdy je vyšetřovaný subjekt instruován udržovat tonické napětí svalu, z něhož je snímána EMG aktivita. Po aplikaci TMS pulzu dochází na několik desítek milisekund k potlačení EMG aktivity. Tento interval EMG suprese je označován jako tzv. *perioda útlumu* (silent period, SP). Předpokládá se, že převážná většina doby trvání SP je zprostředkována zejména inhibičními mechanizmy motorického kortexu, spinální inhibice se podílí jen na iniciálních 50-60ms tohoto intervalu (Fuhr et al., 1991). Dostupné informace naznačují, že perioda útlumu je zprostředkována GABA_B receptory (Werhahn et al., 1999).

Dále může být intrakortikální inhibice testována párovými nadprahovými TMS stimuly s intervalem 50-200 ms. Tento test je nazýván *dlohointervalová intrakortikální inhibice* (long-interval intracortical inhibition, LICI), který je také zřejmě zprostředkován GABA_B receptory interneuronů primárního motorického kortexu (Valls-Solé et al., 1992). LICI a SICI představují odlišené fenomény, pro což svědčí fakt, že při nárůstu intenzity stimulace je tendence ke snížení LICI a naopak SICI má tendenci se zvyšovat. (Sanger et al., 2001)

Další významnou skupinou dějů studovanou zejména pomocí elektrofyziologických metod a související s patogenezí dystonií je *kortikální plasticita*.

Kortikální plasticita představuje dynamický proces vyžadující konstantní modifikaci synapsí, který slouží k získávání, konsolidaci a uskladnění informací všeho druhu v CNS. Tyto modifikace synapsí mají charakter molekulárních změn synapsí, jejich morfologické remodelace a tvorbu nových synapsí (Chapleau et al., 2009). Zásadními neuronálními strukturami, na kterých se podstatná část dějů spojených s plasticitou odehrává, představují dendritické trny, struktury se schopností výrazných dynamických změn (Chapleau et al., 2009).

Za základní procesy synaptické plasticity v savčím CNS jsou *dlohodobá potenciace* (long-term potentiation, LTP) a *dlohodobá deprese* (long-term depression, LTD). LTP představuje dlouhotrvající posílení signální transmise mezi dvěma neurony, ke které dochází vlivem synchronní stimulace těchto neuronů při opakované aktivaci jejich synapsí (Cooke a Bliss, 2006; Johansson, 2004). Exaktní mechanismy posílení synaptické transmise nejsou dosud přesně objasněny. Jedním z důvodů je i fakt, že proces LTP je kontrolován řadou mechanismů, které se liší mezi jednotlivými kortikálními oblastmi i živočišnými druhy (Malenka a Bear, 2004). U nejlépe probádaných forem LTP dochází k posílení komunikace mezi buňkami

zejména vlivem zvýšení senzitivity postsynaptické buňky k molekulám neurotransmiterů.

Výzkumy posledních let naznačují, že neuronální aktivita sama o sobě podléhá homeostatické regulaci, jejímž cílem je zajistit stabilitu a zabránit hyper- nebo hypoaktivitě neuronů a jejich okruhů. Tento jev je nazýván *homeostatickou plasticitou* a souvisí se skutečností, že na aktivitě závislé formy plasticity jako je LTP a LDP, které působí jako pozitivní (LTP) a negativní (LDP) zpětná vazba, by bez regulačních mechanismů vedly k funkčně nevhodné hyperaktivitě nebo inaktivitě (Turrigiano a Nelson, 2004). Výsledky studií z posledních období naznačují, že existují mechanismy, které mají za cíl zajistit senzitivitu synapsí v normálních mezích. Tento děj se nazývá *synaptic scaling* a představuje změny, kdy v době snížené synaptické aktivity se senzitivita receptorů v synapsi zvyšuje, při zvýšené aktivitě snižuje (Pozo a Goda, 2010). Procesy, které paralelně participují na zajištění této neuronální homeostázy, vedou k modulaci presynaptického uvolňování neurotransmiterů a kontrole počtu postsynaptických receptorů (Pozo a Goda, 2010). V případě zvýšené aktivity pak v presynaptických neuronech dochází ke snížení pravděpodobnosti uvolnění neurotransmiterů, postsynaptické neurony snižují počet svých receptorů endocytózou a laterální difuzí směrem extrasynapticky. Naopak v případě aktivity snížené presynaptické neurony zvyšují recyklaci vezikul s neurotransmitery, zvyšují jejich počet a pravděpodobnost uvolnění, na neuronech postsynaptických roste počet receptorů laterální difuzí z extrasynaptických částí a exocytózou z intracelulárních zdrojů (Pozo a Goda, 2010). Tyto změny se týkají zejména glutamátergních receptorů typu NMDA, AMPA. Dále je předpokládána významná role gliálních buněk v modifikaci síly synaptického přenosu, je zřejmě zprostředkována sekrecí solubilních mediátorů účinkujících přes povrchové receptory (Pozo a Goda, 2010).

Jednou z technik používaných ke studiu dějů souvisejících s kortikální plasticitou je *párová asociativní stimulace (PAS)*. Paradigmata PAS se skládají z repetitivní elektrické stimulace například nervus medianus o nízké frekvenci kombinované s TMS kontralaterálního motorického kortexu. Tento protokol je schopen indukovat plastické změny excitability v motorickém kortexu. Při použití intervalu mezi stimulací periferního nervu a TMS na úrovni kolem 25ms, je pozorován nárůst kortikospinální excitability (nárůst amplitudy MEP). Tyto změny excitability navozené PAS se podobají změnám při LTP. Naopak při použití intervalu o délce přibližně 10ms dochází ke snížení kortikospinální excitability a změny excitability jsou paralelou k LTD (Classen et al., 2004). Zacílením TMS při obdobném paradigmatu na primární somatosenzitivní kortex je možno studovat plasticitu této kortikální oblasti (Tamura et al., 2009).

K testování mechanismů homeostatické plasticity je možno použít protokoly využívající tDCS (transcranial direct current stimulation, transkraniální stimulace stejnosměrným proudem). TDCS využívá k stimulaci kortexu stejnosměrný proud o nízké intenzitě, který cestou elektrod (anody a katody) umístěných na skalpu indukuje v kortexu elektrické proudy, které dle použitého typu stimulace produkují excitační a inhibiční změny napodobující LTP a LDP. K testování homeostatické plasticity je využívána tDCS aplikovaná na primární motorický kortex s následnou repetitivní TMS (rTMS) o frekvenci 1Hz. Při použití stimulace excitační anodovou tDCS dochází u zdravých jedinců k posílení inhibičního efektu následné 1Hz rTMS. Použití katodové tDCS vede naopak k facilitaci efektu 1Hz rTMS (Quartarone et al., 2005)

1.5. Patofyziologie idiopatických fokálních dystonií a její obraz v elektrofyziologických a zobrazovacích metodách

V posledních desetiletích přinesly různé zobrazovací, elektrofyziologické a behaviorální studie velké množství poznatků o patofyziologii idiopatických fokálních dystonií. Velkou překážkou interpretace těchto dat je dosud ne zcela zodpovězená otázka, zda různé typy fokálních dystonií sdílejí identické patofyziologické mechanismy (Breakefield et al., 2008). Předpoklad společných, zřejmě geneticky podmíněných, mechanismů etiopatogeneze této skupiny chorob podporují nálezy řady abnormit týkajících se kortikální excitability, inhibice, plasticity či senzitivně-motorické integrace, které byly identicky detekovány u pacientů trpících různými formami fokální dystonie (Defazio et al., 2008)(obr. 1). Dalším podpůrným argumentem pro tento předpoklad jsou pozorování několika forem fokální dystonie současně se vyskytující u jednoho pacienta a dále skutečnost, že mezi jednotlivými členy rodin postižených fokální dystonií manifestující se v dospělosti se mohou vyskytovat různé formy tohoto onemocnění (Lin a Hallett, 2009).

Zajímavým je také pozorování, že elektrofyziologické a zobrazovací abnormity byly nalezeny jak při testování postižených, tak nepostižených částí těla, ale i u klinicky zdravých příbuzných pacientů trpících adultní formou fokální dystonie (Defazio et al., 2008).

Na fokální dystonie je pak možno, podobně jako jiná onemocnění, nahlížet jako na výsledek genetických vlivů a jejich následné modifikace různými interními a externími vlivy (Hallett, 2011).

V následujících kapitolách budou shrnuty poznatky o abnormitách nalézáných u fokálních dystonií a zřejmě participujících na jejich etiopatogenezi. Nejvíce

poznatků bylo nashromážděno o fokálních dystoniích ruky zřejmě z důvodu relativně snadné a standardizované vyšetřitelnosti horní končetiny elektrofyziologickými a funkčně-zobrazovacími metodami.

1.5.1. Nedostatečná inhibice

Řada studií naznačuje, že společným a fundamentálním znakem jednotlivých forem fokálních, ale i jiných dystonií je nedostatečná inhibice kontroly pohybu na různých etážích CNS. Nedostatečná inhibice je výsledkem porušené rovnováhy excitačních a inhibičních okruhů nervového systému. Právě udržování rovnováhy těchto excitačních a inhibičních dějů je obecně základním předpokladem pro správnou funkci nervového systému (Hallett, 2011).

Jednou z forem inhibice je *inhibice reciproční*, jejíž úlohou je kontrola funkce svalů kolem jednoho kloubu, kdy při aktivaci motoneuronů agonistů dochází k inhibici motoneuronů antagonistů. Porušená reciproční inhibice je pravděpodobně příčinou kokontraktí antagonistů při provádění volního pohybu s následnými dystonickými posturami u pacientů trpících například písářskou křečí. Porušená reciproční inhibice byla nalezena nejen u fokální dystonie ruky (Nakashima et al., 1989), i u generalizovaných dystonií (Tisch et al., 2006). Je předpokládána supraspinální lokalizace těchto abnormit (Lin a Hallett, 2009).

Různé studie naznačují, že k hladkému a preciznímu provedení pohybu je nutná jak aktivace požadovaných svalů, tak simultánní inhibice svalů okolních, neúčastnících se daného specifického pohybu (Mink, 1996). Tento typ inhibice se nazývá *inhibicí laterální*. Laterální inhibice je dobře demonstrovatelná pomocí TMS metod. Jejím korelátem je snížení amplitudy MEP snímaných nad svaly neparticipujícími na daném

specifickém pohybu, obzvláště pokud je TMS pulz aplikován několik desítek milisekund po začátku daného pohybu (Sohn a Hallett, 2004a). Ačkoliv přesný mechanismus laterální inhibice není dosud přesně znám, předpokládá se, že je kontrolována supraspinálně (Hallett, 2011). Abnormity laterální inhibice byly nalezeny při vyšetření svalů horní končetiny u pacientů trpících fokální dystonií ruky (Beck et al., 2009; Sohna a Hallett, 2004b).

Jednu ze známek porušené inhibice u pacientů s fokální dystonií ruky představuje nález abnormního zkrácení periody útlumu značící poruchu intrakortikální inhibice v oblasti primárního motorického kortexu (Kimberley et al., 2009). Tinazzi a spolupracovníci zjistili závislost zkrácení SP na typu prováděného pohybu u FDR, což může svědčit pro jistou specifičnost této abnormality (Tinazzi et al, 2005).

Insuficientní kortikální inhibice vyjádřená abnormitou SICI u fokální dystonie ruky byla potvrzena například prací Stinear a Byblowa (Stinear a Byblow, 2004). Naopak porušená intrakortikální facilitace nebyla detekována. Zajímavým poznatkem je zjištění, že abnormalita SICI je detekovatelná i nad hemisférou ipsilaterální k dystonií postižené horní končetině (Ridding et al., 1995), což může potvrzovat význam porušené inhibice jako predispozice vzniku dystonie.

Další poruchy kortikální inhibice u dystonií vyjádřené abnormitou LICI prokázala studie na skupině pacientů s písářskou křečí (Espay et al., 2006).

Dalším zajímavým pozorováním v souvislosti s abnormní inhibicí u dystonií je skutečnost, že známý inhibiční efekt TMS stimulace cerebella na excitabilitu motorického kortexu pozorovaný u zdravých jedinců je oslaben u pacientů s fokálními dystoniemi (Brighina et al., 2009).

Je nutno zdůraznit, že ačkoliv zmiňované nálezy TMS dokumentují insuficientní inhibici u fokálních dystonií, není přesný klinický korelát těchto poruch objasněn. Dále

je třeba připomenout, že tyto změny nejsou zcela specifické pro dystonie a bývají nalézány i u jiných onemocnění CNS (Hallett, 2011).

Některé experimentální terapeutické postupy využívaly TMS k ovlivnění poruch inhibice. Ve studii s použitím inhibiční repetitivní TMS premotorického kortexu bylo pozorováno zlepšení psaní u pacientů s písarskou křečí (Murase et al., 2005). Další kortikální oblastí, po jejímž ovlivnění repetitivní TMS bylo pozorováno zmírnění příznaků dystonie, je primární somatosenzitivní kortex (Havránková et al., 2010, Schneider et al., 2010).

1.5.2. Poruchy somatosenzitivního systému

Stimulem ke studiu somatosenzitivních abnormit byla studie Bylové a spolupracovníků, kteří na primátím modelu fokální dystonie indukované repetitivním pohybem ruky prokázali zvětšení a překryv kortikální somatosenzitivní reprezentace této části těla (Byl et al., 1996).

Řada klinických pozorování, behaviorálních, neurovizuálních a neurofyziologických studií u pacientů trpících primárními dystoniemi přinesla důkazy o poruše somatosenzitivních funkcí. Některé z těchto abnormit mají zřejmě významnou souvislost v etiopatogenezi dystonií (Tinazzi et al., 2003).

Jedním z příkladů možné role somatosenzitivního systému v patogenezi dystonií je sensorický trik (geste antagoniste), kdy pacienti trpící cervikální dystonií jsou schopni dotykem na určité části těla (zejména na obličeji) zmírnit dystonické příznaky. Předpokládá se, že tento fenomén je zprostředkován parietálním kortexem (Neumann et al., 2000).

Schopnost správně vnímat a odlišit sekvence taktilních stimulů v průběhu času je jednou ze základních vlastností somatosenzitivního systému. Je nezbytná pro kinestézii, grafestézii, stereognózi a vibrační cití. Jednou z metod používaných k testování této vlastnosti je stanovení *časového diskriminačního prahu* (*temporal discrimination threshold, TDT*), který je definován jako časový interval, ve kterém jsou dva stimuly ještě vnímány jako časově oddělené. Je prokázáno, že tato schopnost je závislá na interakci kortikálních a subkortikálních oblastí zahrnujících somatosenzitivní kortex, presuplementární motorický kortex, přední cingulum a bazální ganglia (Lacrum et al., 1991).

Řada studií prokázala abnormní taktilní TDT u různých druhů generalizovaných a fokálních dystonií zahrnujících cervikální dystonii, fokální dystonii ruky a blefarospasmus. Tyto abnormity jsou nalézány i na částech těla nepostižených dystonií (Scontrini et al, 2009) a také u příbuzných pacientů trpících dystonií (O'Dwyer et al., 2005).

Dalším parametrem užívaným k testování funkce somatosenzitivního systému je *prostorový diskriminační práh* (*spatial discrimination threshold, SDT*). Jeho určení spočívá například ve změření nejkratší vzdálenosti mezi dvěma taktilními stimuly aplikovanými na distální článek prstů, které jsou ještě vnímány jako samostatné. Tato úloha je také vázaná na koordinaci různých kortikálních a subkortikálních oblastí, včetně bazálních ganglií (Pastor et al., 2004).

Zvýšení SDT bylo nalezeno na postižených i nepostižených končetinách pacientů trpících fokální dystonií ruky, cervikální dystonií i blefarospasmem (Molloy et al., 2003), což nasvědčuje skutečnosti, že poruchy zpracování somatosenzitivních informací u dystonií mají globální charakter. V souladu s tímto předpokládaným globálním charakterem somatosenzitivní dysfunkce je i výsledek studie, která

prokázala úpravu porušeného SDT na horní končetině vlivem terapie botulotoxinem u pacientů trpících cervikální dystonií (Walsh a Hutchinson, 2007). Tento efekt terapie je vysvětlován redukcí propioceptivní aferentace do somatosenzitivního kortexu.

Kromě abnormit ve zpracování taktilní somatosenzitivní informace byly u pacientů s dystonií nalezeny i poruchy propiocepce. U pacientů s fokální dystonií byl například nalezen zvýšený práh vnímání směru pasivního pohybu prstů (Putzki et al., 2006). I u klinicky nepostížených příbuzných pacientů trpících fokálními dystoniemi byly nalezeny propioceptivní dysfunkce vyjádřené deficitem percepce iluzí pohybu navozeného vibracemi (Frima et al., 2008).

Pomocí elektrofyziologických studií byly poruchy zpracování somatosenzitivní informace u pacientů s dystonií demonstrovány například na abnormalitách amplitud SEP (Mazzini et al., 1994; Kaňovský et al., 1997).

Je možno předpokládat, že dokumentované abnormity SDT a TDT u pacientů s dystoniemi mohou být klinickým korelátem porušené kortikální reprezentace jednotlivých částí těla v primárním somatosenzitivním kortexu a v subkortikálních strukturách (globus pallidus, thalamus)(Tinazzi et al., 2009), jak potvrdily výsledky některých funkčně-zobrazovacích studií, viz níže.

Role somatosenzitivních kortexů vyššího řádu pro genezi dystonií nebyla dosud objasněna.

Skutečná úloha poruch somatosenzitivního systému v etiopatogenezi dystonií zůstává nejasná. Podle jedné z hypotéz tyto poruchy jsou pouze epifenomémem dysfunkce okruhů bazálních ganglií. Tomu by nasvědčovala skutečnost, že poruchy somatosenzitivní percepce, propiocepce, přesnosti prostorového taktilního vnímání jsou nalézány i u jiných onemocnění, jejichž etiopatogeneze se účastní dysfunkce bazálních ganglií, například u Parkinsonovy nemoci (Tinazzi et al., 2009).

Jiná hypotéza předpokládá, že tyto abnormality souvisejí s primární predispozicí k rozvoji dystonického fenotypu, který se rozvine vlivem dalších zevních faktorů, jako jsou repetitivní pohyby nebo zevní traumata. Tato hypotéza je pak podporována dokumentovanými poruchami neuroplasticity u dystonií (Tinazzi et al., 2009).

1.5.3. Poruchy senzitivně-motorické integrace

Kromě čistě motorických a čistě senzitivních abnormalit byly u pacientů s dystoniemi nalezeny i poruchy senzitivně-motorické integrace. Klinickým příkladem ovlivnění motorického systému systémem senzitivním je již výše zmiňovaný *senzitivní trik* (geste antagoniste).

Mezi elektrofyziologické koreláty vztahu somatosenzitivního a motorického systému u zdravých jedinců je možno zařadit zvýšení amplitud MEP a redukci SICI vlivem vibrační stimulace svalu, z něhož je MEP snímán. Tento efekt nebyl detekován u pacientů trpících fokální dystonií ruky (Rosenkranz et al., 2005).

Dalším parametrem potvrzujícím integraci senzitivně-motorických informací je snížení SICI vlivem kožní somatosenzitivní aferentace pozorované u zdravých dobrovolníků. Tento vliv je minimalizován u pacientů trpících fokální dystonií (McDonnell et al., 2007).

1.5.4. Poruchy neuroplasticity

Řada důkazů z animálních i humánních studií naznačují, že abnormality neuroplasticity jsou jedním z dalších klíčových faktorů v patofyziologii dystonií (Rothwell a Huang, 2003; Peterson et al., 2007; Rosenkranz et al., 2010). Informace

o porušené plasticitě mozku u dystonií vycházejí z pozorování změněných elektrofyziologických reflexů a poruch organizace mozkového kortexu (Peterson et al., 2007). Poruchy synaptické plasticity byly popsány jak u dědičných forem dystonií (Edwards et al., 2006), tak i u fokálních idiopatických dystonií. Zajímavým pozorováním je skutečnost, že u fokálních dystonií jsou tyto abnormality nalézány i v okruzích kontrolujících nepostižené části těla (Quartarone et al., 2008).

Některé z topografických a elektrofyziologických abnormit jsou detekovatelné i v bazálních gangliích a thalamu. Proto je možno předpokládat, že změny plasticity postihují rozsáhlé okruhy kortiko-striato-pallido-thalamo-kortikální a cerebello-thalamo-kortikální (Quartarone et al., 2009a).

Někteří autoři (Quartarone et al., 2009b; Torres-Russotto a Perlmutter, 2008) v nedávné době postulovali, že dvěma klíčovými faktory pro etiopatogenezi, přinejmenším některých druhů dystonií, jsou jednak *environmentální vlivy* jako například repetitivní trénink určitých pohybů společně s *alterovanými mechanismy kortikální plasticity*. Tato porušená plasticita, která na rozdíl od fyziologické plasticity adaptivní vede k abnormní senzitivně-motorické reorganizaci, je nazývána *plasticitou maladaptivní*.

1.5.4.1. Poruchy kortikální plasticity

Jedna ze současných hypotéz předpokládá, že k rozvoji maladaptivní plasticity detekované minimálně u té části fokálních dystonií, které jsou „task-specific“, je nutná opakovaná, synchronní senzitivní aferentace vázaná na repetitivně prováděnou motorickou úlohu (Quartarone a Pisani, 2011). Prvním z důkazů o roli porušené

plasticity kortexu v etiopatogenezi dystonií je výše popsané pozorování Bylové a spolupracovníků, kteří „přetrénováním“ repetitivního pohybu navodili u primátů abnormní remodelaci somatosenzitivního kortexu spolu s motorickými projevy podobnými těm u fokální dystonie ruky.

Obdobně významnou roli mají excesivní repetitivní pohyby například při vzniku písářského třesu nebo dystonií hudebníků (Altenmüller a Jabusch, 2010). Některá pozorování také svědčí pro možnou souvislost předchozích traumat krční páteře jako zdroje abnormní somatosenzitivní aferentace s následným rozvojem cervikální dystonie (Jankovic, 2001).

Důkazy o porušené asociativní plasticitě u pacientů s primární dystonií přinesly studie využívající různé TMS protokoly. V těchto experimentech byla nalezena abnormně zvýšená excitabilita somatosenzitivního a motorického kortexu (Weise et al., 2006).

Základními typy abnormalit nalezenými při použití PAS protokolů u pacientů s FDR byla jednak facilitace asociativní plasticity, tak ztráta její prostorové specifity (Quartarone a Pisani, 2011; Weise et al., 2006). Ztráta prostorové specifity může být považována za jeden z důkazů porušené laterální inhibice u dystonií. Excesivní asociativní plasticita také není omezena na okruhy klinicky postižené dystonií, ale je nalézána napříč celým senzitivně-motorickým systémem u pacientů s dystonií a je považována za endofenotypický rys dystonií (Quartarone et al., 2008).

Jiným TMS paradigmatem používaným k indukci kortikální plasticity je tzv. theta burst stimulace (TBS) skládající se z 3 pulzů o frekvenci 50Hz, opakovaných 5x za sekundu (Huang et al., 2005). Tento protokol je schopen indukovat dlouhotrvající změny excitability kortexu, pravděpodobně prostřednictvím

mechanizmů podobných LTP a LDP (Huang et al., 2008). Zajímavá pozorování přinesla studie testující vliv inhibičního TBS protokolu aplikovaného na motorický kortex na následnou kortikospinální excitabilitu u nosičů mutace genu DYT 1 s manifestací a bez manifestace generalizované primární dystonie. Odpovědi na tento typ stimulace byly u nosičů mutace s manifestní dystonií prolongované ve srovnání se zdravými dobrovolníky, kdežto u nosičů bez projevů dystonie nebyl žádný efekt TBS na excitabilitu motorického kortexu pozorován. Tyto výsledky naznačují, že individuální sklon k indukci plastických změn může ovlivňovat vznik symptomů dystonie u geneticky citlivých jedinců (Edwards et al., 2006).

Jak již bylo zmíněno v sekci o homeostatické plasticitě, LTP regulovaná pozitivní zpětnou vazbou by mohla potenciálně vést k destabilizujícímu a nekontrolovanému nárůstu synaptické aktivity. Proto dle teorie popsané Bienenstockem a spolupracovníky existují mechanismy, které zajišťují, že míra LTP je nepřímo závislá na úrovni aktivity postsynaptického neuronu (Bienenstock et al., 1982). Pro LDP platí vztah opačný.

Quartarone a spolupracovníci ve studii testující tento fenomén u pacientů s FDR demonstrovali, že vlivem předchozí excitace primárního motorického kortexu pomocí tDCS nedochází k nárůstu inhibičního efektu následné repetitivní TMS o frekvenci 1Hz, který byl prokázán u zdravých dobrovolníků. Tento výsledek svědčí pro skutečnost, že u pacientů s dystonií existuje porucha ochranných mechanismů homeostatického plasticity (Quartarone et al., 2005).

Tato a další pozorování naznačují, že základem excesivní neuroplasticity u pacientů trpících dystonií by mohla být jednak deficientní regulace synaptické aktivity ve smyslu její nedostatečné suprese, tak i nedostatečné inhibice (Quartarone a Pisani, 2011).

Quartarone a Pisani postulovali, že u pacientů s predispozicí k dystonii, reprezentované pravděpodobně latentní poruchou neuroplasticity, dochází vlivem insuficientní regulace synaptické aktivity během repetitivního provádění náročného pohybu k abnormní asociaci mezi senzitivní aferencí a motorickou eferencí, která zřejmě vede k dediferenciaci reprezentace dané části těla v motorickém a senzitivním kortexu. Za normální situace během motorického učení pravděpodobně přesná regulace synaptické aktivace redukuje riziko vzniku takových nežádoucích vzorců pohybu (Quartarone a Pisani, 2011).

1.5.4.2. Poruchy plasticity bazálních ganglií

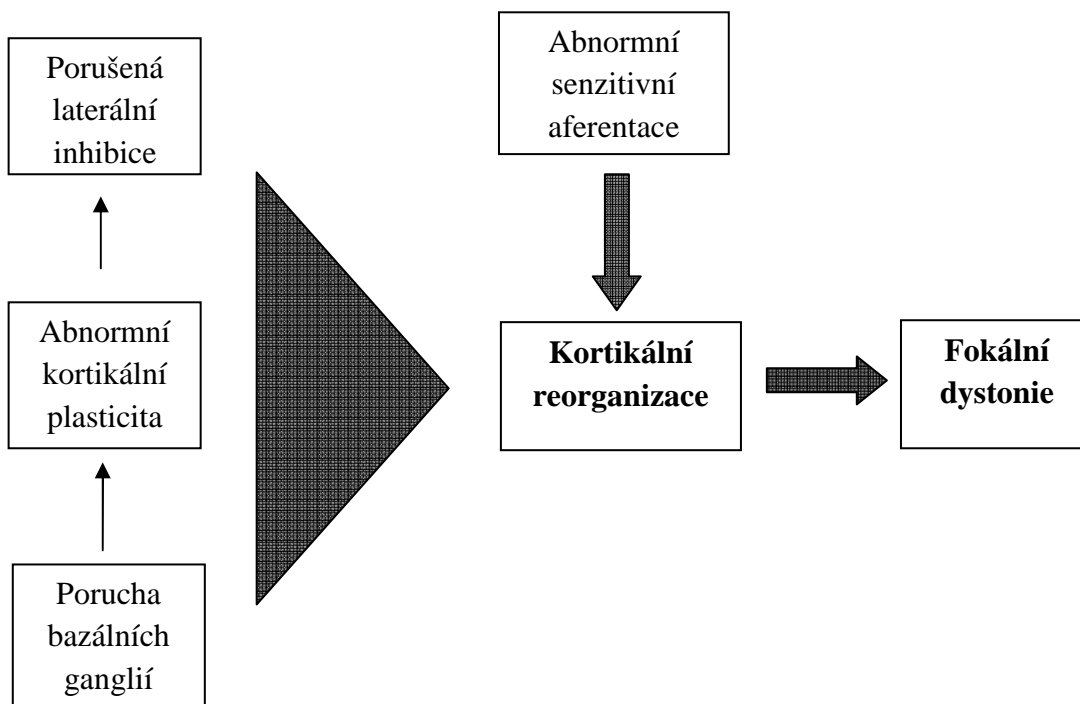
Existuje řada pozorování svědčících také pro roli porušené funkce bazálních ganglií (BG) na vzniku dystonií. Můžeme mezi ně zahrnout například výsledky lezionálních a zobrazovacích studií, dále skutečnost, že hlavní eferentní struktura BG, globus pallidus internus (GPi), představuje nejčastější cíl hluboké mozkové stimulace při léčbě dystonie. BG jsou také významnou strukturou participující na procedurálním a senzitivně-motorickém učení. Senzitivně-motorická integrace a učení jsou u pacientů s dystonií, jak bylo zmíněno výše, abnormní a závislé na neurální plasticitě (Peterson et al., 2010).

I přes metodologickou náročnost studia plasticity BG řada nepřímých důkazů nasvědčuje významu abnormní plasticity striata v etiopatogeneze dystonií (Peterson et al., 2010). Jedním z důležitých pozorování je nález abnormního vzorce pálení s nadměrnou synchronizací při snímání neuronální aktivity implantovanými elektrodami v oblasti GPi u pacientů s mutací genu DYT1 (Vitek et al., 1998). Tato abnormní oscilační aktivita GPi je zřejmě projevem aberantní plasticity okruhů BG.

Plauzibilním se pak jeví předpoklad, že abnormní plasticita kortikální souvisí s abnormní synchronizací v sítích BG (Vitek, 2002). Předpokládá se, že v narušené plasticitě bazálních ganglií hrají zřejmě významnou úlohu poruchy dopaminergního a acetylcholinergního systému (Lovinger et al., 2003). Kromě poruch synaptické plasticity v BG, je možné, že se těchto poruch mohou účastnit i další formy plasticity, jako tvorba nových synapsí a dokonce neurogeneze (Luzzati et al., 2007).

Některé současné hypotézy předpokládají, že striatum svým umístěním v okruzích zahrnujících BG, thalamus a kortex může mít schopnost zprostředkovat interakce mezi řadou neuromodulačních vlivů a senzitivně-motorickou aktivací spojenou s repetitivními pohyby (Peterson et al., 2010).

Podpůrným argumentem role BG v patogenezi dystonií a souvislosti abnormní funkce BG s plasticitou kortikální přinesla nedávná studie demonstrující, že efekt DBS u pacientů s dystonií vede ke korekci snížené GABA zprostředkované intrakortikální inhibice vyjádřené SICI a k poklesu LTP vyjádřené parametry PAS k hodnotám nalezeným u zdravých kontrol (Ruge et al., 2011).



Obr. 1. Jeden z možných modelů patogeneze fokálních dystonií.
Převzato a upraveno z: Cassidy A. Pathophysiology of idiopathic focal dystonia. ACNR 2010;10:14-18.

1.5.5. Nález metody funkčního mapování u idiopatických fokálních dystonií

Použití metod funkčního mapování ke studiu dystonií přineslo řadu dalších informací přispívajících k objasnění etiopatogeneze této skupiny onemocnění.

Tyto metody například přinesly důkaz o dediferenciaci primárního somatosenzitivního kortexu (S1) u pacientů s FDR, kterou na základě elektrofyziologických metod poprvé dokumentovala již zmiňovaná studie na primátím modelu (Byl et al., 1996). Příkladem je jedna z fMRI studií, kde za použití vibro-taktilní stimulace 2. a 5. prstu ruky postižené fokální dystonií byla demonstrována redukce separace reprezentace jednotlivých prstů v S1, tendence

k převrácení reprezentace těchto prstů v sekundárním somatosenzitivním kortexu (S2) a v zadním parietálním kortexu (PPC) a signifikantní hypoaktivace těchto oblastí ve srovnání se zdravými dobrovolníky (Butterworth et al., 2003). Abnormní reprezentace prstů v somatosenzitivním kortexu s redukcí jejich separace a překryvem u pacientů s písarskou křečí byla potvrzena i v další fMRI studii (Nelson et al., 2009).

Obdobné nálezy zmenšené separace kortikálních reprezentací v S1 byly pozorovány v MEG studii při použití elektrické stimulace prstů (Meunier et al., 2001). V další MEG studii bylo prokázáno, že závažnost postižení dystonií koreluje s mírou této dezorganizace (McKenzie et al., 2003). Zobrazovací studie také potvrdily, že dediferenciace S1 se týká nejen hemisféry kontralaterální, ale i ipsilaterální (Meunier et al., 2001).

V jiné fMRI studii testující úlohu se zaměřením na prostorovou rozlišovací schopnost byla u pacientů s FDR nalezena zvýšená amplituda BOLD odpovědi v BG a thalamu ve srovnání se zdravými kontrolami, což je v souladu s předpokládanou poruchou senzitivně-motorického učení a poruch kortiko-striato-pallido-thalamo-kortikálních sítí u dystonií (Peller et al., 2006).

Ve fMRI studiích testujících motorický systém u FDR byla nalezena vyšší amplituda BOLD signálu v BG ve srovnání se zdravými kontrolami, tato abnormalita byla detekována při provádění pohybů provokujících dystonii (Preibisch et al., 2001) i pohybů bez tohoto atributu (Obermann et al., 2008). Další fMRI experimenty studující dystonii neprovokující pohyb ruky u pacientů s FDR dokumentovaly hypoaktivaci v primárním motorickém kortexu ve srovnání se zdravými kontrolami (Oga et al., 2002). V PET studii zkoumající kortiko-subkortikální aktivaci během psaní u pacientů s písarskou křečí byla nalezena hypoaktivace v premotorickém kortexu (Ibanez et al., 1999). Jiná PET studie na skupině pacientů s písarskou křečí

demonstrovala zvýšenou aktivaci v S1 při testování obdobné úlohy (Lerner et al., 2004).

Z dalších zajímavých pozorování ze zobrazovacích studií je možno zmínit například MR spektroskopicky zjištěné signifikantní snížení inhibičního mediátoru GABA v kontralaterálním senzitivně-motorickém kortexu a BG s nesignifikantními poklesy tohoto mediátoru ve stejných strukturách ipsilaterálně k dystonií postižené končetině u pacientů s FDR. (Levy a Hallett, 2002).

1.5.6. Metodologické poznámky k zobrazování neuroplasticity

Ve srovnání s elektrofyziologickými testy a z nich odvozenými indikátory neuroplasticity je průkaz neuroplastických změn z funkčně-zobrazovacích dat obtížnější.

Procesy spojené s plasticitou mozku, demonstrovány minimálně na zvířecích modelech, souvisí s rozsáhlými změnami na molekulární úrovni (genová transkripce, exprese receptorů), na buněčné úrovni (synaptická denzita, vlastnosti receptivních polí), dále na úrovni změn organizace kortikálních map. Poněvadž fMRI nebo PET poskytují jen nepřímé hodnocení synaptické aktivity, mohou být těmito metodami zobrazeny pouze ty (testovanou úlohou navozené) změny, které vedou k ovlivnění lokální synaptické aktivity na kortikální a subkortikální úrovni (Poldrack, 2000).

Změny provázející adaptivní kortikální plasticitu ve funkčně-zobrazovacích metodách mají nejčastěji charakter lokálně zvýšené nebo snížené aktivity, další možnost představuje funkční reorganizace reprezentovaná kombinací snížené a zvýšené aktivity v různých oblastech mozku, tj. prostorovou redistribucí aktivačního

vzorce. Pojem *zvýšená aktivace* může značit expanzi kortikální reprezentace nebo nárůst intenzity aktivace. Opačné atributy má *snížená aktivace* (Poldrack, 2000).

S ohledem na zdůrazňovanou roli inhibičních dějů v procesech fyziologické, ale i abnormní plasticity mozku, je nutno připomenout, že funkčně zobrazovací metody jako fMRI a PET zobrazují spíše úroveň sumární synaptické aktivity, než úroveň skutečné aktivity neuronální (Poldrack, 2000). Obojí synaptická aktivita, excitační i inhibiční, tak v důsledku vede ke zvýšené aktivaci v obraze funkčně-zobrazovacích metod a je považována za efekt glutamátu na buňky glie (Magistretti et al., 1999).

Souhrnně je možno říci, že vzhledem k neúplně popsaným komplexním biofyzikálním a fyziologickým vztahům mezi plasticitou mozku a zobrazovacími daty je interpretace funkčně-zobrazovacích nálezů ve vztahu k jednotlivým neurobiologickým mechanismům neuroplasticity v současnosti obtížná (Poldrack, 2000).

1.6. Léčba dystonií

V průběhu posledních desetiletí došlo k výraznému pokroku v léčbě dystonií a přehodnocení postupů starších. Efekt dosud relativně často používané terapie benzodiazepiny, anticholinergiky či antiepileptiky nebyl studii potvrzen (Albanese et al., 2011). Dominantní postavení v terapii fokálních dystonií v současnosti získala intramuskulární aplikace botulotoxinu, v některých případech, zejména u cervikální dystonie, je využívána i hluboká mozková stimulace. Informace o těchto postupech i dalších metodách používaných v managementu dystonií jsou shrnuty v následujících kapitolách.

1.6.1. Botulotoxin

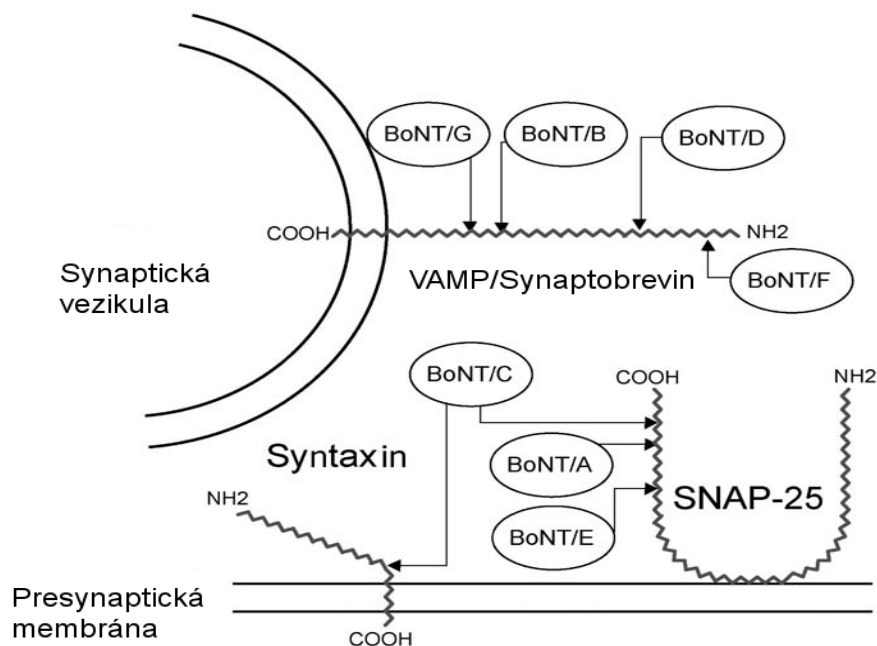
První zmínky o botulotoxinu pocházejí od Němce Justina Kernerera, který tento toxin identifikoval v roce 1820 jako příčinu série alimentárních nákaz vyvolaných nedokonale tepelně zpracovaným masem. V roce 1897 Emile van Ermengen identifikoval *Clostridium botulinum* jako zdroj botulotoxinu (Erbguth, 2004). V 70. letech 20. století došlo k zahájení klinického používání botulotoxinu v léčbě oftalmologických a neurologických onemocnění.

Botulotoxin je považován za nejtoxičtější známou molekulu, která funguje jako metaloproteináza. Je známo 7 sérotypů označovaných A, B, C, D, E, F a G s podobnou podjednotkovou strukturou a velikostí molekul. Botulotoxinové molekuly jsou proteiny s molekulovou hmotností kolem 150 kilodaltonů. Jsou produkovány jako samostatné polypeptidové řetězce, které nejsou samy o sobě toxické. Během sekrece z buněk bakterií dochází vlivem proteolytických enzymů k jejich aktivaci a vzniku dvouřetězcových molekul skládajících se z lehkých a těžkých řetězců spojených disulfidovými můstky. Lehké řetězce obsahují atomy zinku.

Botulotoxin interferuje s kalcium indukovanou exocytózou acetylcholinu na všech cholinergních synapsích - nervosvalové ploténce, postganglionárních parasympatických zakončeních a gangliích vegetativního systému. Jednotlivé sérotypy botulotoxinu se odlišují svojí účinností, trváním účinku a afinitou k cílovým strukturám presynaptické membrány (Kaňovský, 2001).

Pro vazbu molekuly toxinu na terminální část axonu má zásadní úlohu těžký řetězec, který se váže na povrchové proteiny axonu. Po následné internalizaci do buňky cestou endocytózy lehké řetězce botulotoxinu rozštěpí endocytické vezikuly a dojde k uvolnění toxinu do cytoplazmy.

Vlastní toxická aktivita je zprostředkována již pouze lehkým řetězcem. Za fyziologických podmínek akční potenciál, který dosáhne presynaptického zakončení nervového vlákna, způsobí depolarizací influx kalciových iontů do nitra presynaptické části nervosvalové ploténky. Kalciové ionty následně stimulují exocytózu vezikul obsahujících acetylcholin do synaptické štěrbiny. Molekuly botulotoxinu selektivně štěpí membránové proteiny, které jsou nezbytné k procesu fúze synaptických vezikul obsahujících acetylcholin se zevní vrstvou axonální membrány. Tyto membránové proteiny jsou označovány jako SNAP-25 (synaptosomal associated protein) a syntaxin, které jsou vázány na vnitřní stranu buněčné membrány a VAMP (vesicle associated protein)/synaptobrevin, který je připojen k synaptické vezikule. Jednotlivé sérotypy botulotoxinu vykazují selektivní proteázovou aktivitou vůči určitým proteinům tohoto systému (obr. 2). Botulotoxiny A, C, E štěpí SNAP-25, botulotoxiny B, D, F, G VAMP/synaptobrevin, botulotoxin C dále štěpí navíc i syntaxin. Výsledným efektem této proteázové aktivity je narušení systému zajišťujícího transport a splynutí vezikul acetylcholinu s membránou presynaptického zakončení axonu. Tím je znemožněna exocytóza acetylcholinu s následnou blokadou přenosu na nervosvalové ploténce rezultující ve svalovou paralýzu (Kaňovský, 2001). Vazba botulotoxinu na presynaptickou část nervosvalové junkce je ireverzibilní. K obnovení funkce nervosvalové ploténky ale dochází vlivem kolaterálního pučení terminálních axonů (tzv. axonal sprouting), které je pozorováno již 48 hodin po intoxikaci. Jde o tvorbu nových výběžků axonu „obcházejících“ zablokovanou nervosvalovou ploténku a vytvářejících nová spojení se svalem. K obnově plné svalové síly dochází přibližně po 3 měsících od aplikace botulotoxinu (Brashear, 2001).



Obr. 2. Cílové molekuly jednotlivých typů botulotoxinu. Místa štěpení jednotlivých molekul vyznačena šipkou. Převzato a upraveno z: Shi YL, Wang ZF. Cure of experimental botulism and antibotulismic effect of toosendanin. *Acta Pharmacol Sin* 2004;25:839-848.

V případě sérotypů A a B byl klinickými studiemi prokázán jejich vhodný terapeutický profil pro léčbu dystonií. V současné době jsou nejčastěji používány tyto přípravky s botulotoxinem typu A: abobotulinumtoxinA - Dysport, vyráběný firmou Ipsen, Ltd; onabotulinumtoxinA - Botox, vyráběný firmou Allergan, Inc.; incobotulinumtoxinA - Xeomin A, vyráběný firmou Merz GmbH. Přípravek s botulotoxinem typu B je: rimabotulinumtoxinB - Myobloc, produkováný firmou Elan Pharmaceuticals, Inc.

Účinné množství botulotoxinu je udáváno v jednotkách stanovených jednotlivými výrobci, proto nejsou jednotky jednotlivých preparátů přesně srovnatelné (Kaňovský et al., 2011).

Aplikace je prováděna do postižených svalů po jejich detekci polymyografickým vyšetřením, vhodná je EMG asistence při výběru místa aplikace. Množství jednotek aplikovaného botulotoxinu je ovlivněno řadou faktorů, jako je závažnost a doba trvání onemocnění, množství postižených svalů, předchozí odpovědi na léčbu, další medikací užívanou pacientem, zkušeností aplikujícího lékaře aj.

Důležitým klinickým problémem je tvorba protilátek proti botulotoxinu typu A, které zamezují jeho účinku na presynaptickou část nervosvalového zakončení. Zajímavým pozorováním je ale skutečnost, že u některých pacientů s pozitivitou těchto protilátek přetrvává dobrý klinický efekt botulotoxinu (Kaňovský, 2001). Rezistenci na léčbu vyvolanou protilátkami je možno obejít aplikací botulotoxinu typu B, (u kterého je ale také známa imunogenicita) nebo přípravků s botulotoxinem typu A bez obsahu kompletujících proteinů (Kaňovský et al., 2011).

Mezi závažnější a častější vzdálené nežádoucí účinky botulotoxinu patří dysfagie a dušnost při aplikaci do oblasti krku a hlavy. Případná intravaskulární aplikace by mohla vést ke generalizované slabosti. Botulotoxin by neměl být aplikován pacientům s chorobami nervosvalového přenosu, s onemocněními motoneuronů, dále těhotným a kojícím.

Podle recentních doporučení (Simpson et al., 2008) jsou intramuskulární injekce botulotoxinu považovány za metodu volby u cervikální dystonie a za vhodné se jejich použití považuje u blefarospasmu, fokální dystonie horní končetiny, laryngeální dystonie, menší účinnost byla nalezena u fokální dystonie dolních končetin.

Kromě dobře prozkoumaného periferního účinku botulotoxinu existují ale i různá behaviorální (Walsh a Hutchinson, 2007; Pelosin et al., 2009) a elektrofyzilogická pozorování (Kaňovský et al., 1998; Thickbroom et al., 2003; Kojovic et al., 2011), která naznačují efekty tohoto toxinu na úrovni CNS. Předpokládá se, že tyto účinky jsou zprostředkovány modulací proprioceptivní aferentace (Rosales a Dressler, 2010; Kaňovský a Rosales, 2011).

1.6.2. Hluboká mozková stimulace

Dlouhodobá elektrická stimulace posteroventrální části globus pallidus internus je v současné době považována za efektivní terapii různých typů dystonií (Krauss et al., 2004). Její indikace je vhodná u primárních generalizovaných nebo segmentálních forem dystonie, cervikální dystonie, u polékových dystonií, kde konzervativní terapie botulotoxinem eventuálně jinými medikamenty nevede k dostatečnému zlepšení. Použití hluboké mozkové stimulace (deep brain stimulation, DBS) u jiných forem dystonií je studováno.

Mechanismus účinku DBS není přesně znám, předpokládá se ovlivnění procesů inhibice a kortikální plasticity (Ruge et al., 2011).

1.6.3. Ostatní neurochirurgické metody

Mezi další, před zavedením DBS preferované, metody užívané v terapii cervikální dystonie patřily selektivní periferní denervace a myotomie.

1.6.4. Fyzioterapie a rehabilitace

V současné době narůstá počet studií, které naznačují, že některé druhy fyzikální terapie a rehabilitační procedury mohou mít významnou roli v léčbě dystonií (Candia et al., 2005). Na základě předpokládaných abnormalit ve zpracování somatosenzitivní aferentace u fokálních dystonií bylo vyvinuto několik neurorehabilitačních postupů, které se zaměřují na ovlivnění somatosenzitivního systému. Příkladem těchto postupů může být například použití transkutánní elektrické stimulace u pacientů s písářskou křečí (Tinazzi et al., 2005b), přechodná imobilizace postižené horní končetiny, somatosenzitivní a motorické „přetrénování“ dystonií postižené části těla (McKenzie et al., 2009; Byl et al., 2009) nebo integrovaný přístup s použitím aplikace botulotoxinu a rehabilitace u cervikální dystonie (Tassorelli et al., 2006).

2 Původní práce

2.1. Senzitivně-motorické okruhy u cervikální dystonie a jejich ovlivnění terapií botulotoxinem: fMRI studie

Publikováno:

Opavský R, Hlušík 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. **IF₂₀₁₀=2,167**. Viz příloha č.1.

2.1.1. Soubor a metodika

Bylo vyšetřeno celkem 7 pacientů trpících cervikální dystonií (1 muž, 6 žen; věk $53,1 \pm 8,2$ roku, věkové rozmezí 36-58 let), sledovaných v Centru pro extrapyramidová onemocnění Neurologické kliniky FN Olomouc. Všichni pacienti trpěli cervikální dystonií manifestující se rotační torticollis (3 pacienti s levostrannou torticollis, 4 pacienti s pravostrannou torticollis), všichni dobře odpovídali na terapii botulotoxinem typu A. Klinická a demografická data jsou shrnuta v tabulce č. 3.

Skupina 9 kontrolních subjektů (2 muži a 7 žen; věk $55,2 \pm 6,0$ let; rozmezí 28-63 let), bez anamnézy neurologického či psychiatrického onemocnění, odpovídala věkem a pohlavím skupině vyšetřovaných pacientů.

Žádný z vyšetřovaných subjektů neužíval chronickou medikaci, kromě botulotoxinu typu A.

Všechny vyšetřované subjekty byly praváci (pacienti $93,6 \pm 4,1$; kontroly $91,2 \pm 5,7$; vyjádřeno v Edinburgh Handedness Inventory skóre), morfologické MR zobrazení mozku bylo u všech subjektů bylo normální.

Všechny vyšetřované osoby byly seznámeny s obsahem studie a vyšetřovacími metodami a podepsaly informovaný souhlas s účastí ve studii. Protokol studie byl v souladu s Helsinskou deklarací z r. 1975 (5. revize z roku 2000, upřesnění z roku 2002 a 2004) a byl schválen Etickou komisí FN Olomouc.

2.1.1.1. Behaviorální testování

Závažnost cervikální dystonie byla hodnocena dvakrát v průběhu studie pomocí Tsui skóre (Tsui et al., 1986). První vyšetření bylo v týdnu nultém, kdy pacienti byli zařazeni do studie a léčeni BoNT-A, druhé vyšetření v týdnu čtvrtém, vždy v den fMRI vyšetření.

2.1.1.2. Polymyografické a EMG vyšetření

Za účelem stanovení svalového vzorce dystonie bylo prováděno polymyografické vyšetření aktivity krčních svalů EMG přístrojem Keypoint (Dantec Dynamics, Bristol, Velká Británie). Během vyšetření pacienti seděli v klidu, v pohodlné pozici. Svalová aktivita byla simultánně zaznamenávána ve 4 paralelně registrujících kanálech. Všechny páry krčních svalů přístupné k EMG registraci byly postupně vyšetřeny. Záznamy byly prováděny tak, že všechny svalové páry byly postupně spojeny navzájem, čímž se ozřejmil jejich vzájemný vztah. Postupně byly vyšetřeny tyto svaly: mm. sternocleidomastoideus, splenius capitis a cervicis, trapezius, levator scapulae, semispinales capitis a cervicis, scalenus medius a submentální svalový komplex: m. geniohyoideus a mylohyoideus.

K registraci svalové aktivity byly použity koncentrické bipolární jehlové elektrody. Signál byl filtrován v rozmezí 50-2000Hz. Aktivita m. sternocleidomastoideus byla vyšetřována elektrodami umístěnými ve dvou třetinách vzdálenosti mezi klavikulou a processus mastoideus. Aktivita trapézového svalu byla snímána elektrodou umístěnou 2cm laterálně od úhlu tvořeného mediální a laterální částí svalu. Aktivita zbývajících svalů byla registrována z bříšek těchto svalů. Pozice elektrod byla kontrolována během maximální volní kontrakce svalů před a po každém vyšetření.

Vyšetření bylo prováděno následujícím způsobem: v dystonické pozici hlavy a krku; na počátku dystonického pohybu poté, co byla hlava pasivně navrácena do střední pozice; během aktivní rotace doprava a doleva; během aktivní retroflexe a anteroflexe. Bylo provedeno minimálně 5 záznamů během každého z těchto manévřů a reprezentativní záznam byl uložen do paměti přístroje. U svalů s mimovolní aktivitou byla prováděna IPA (interference pattern analysis) a T/AA (turns/amplitude analysis). Hodnocení záznamů bylo prováděno EMG specialistou, který neparticipoval na dalších vyšetřeních. Jako dystonické byly určeny ty svaly, které splňovaly Fuglsang-Fredriksenova kritéria (Oestergaard et al., 1994).

2.1.1.3. Léčba

Všichni pacienti byli léčeni botulotoxinem typu A (Botox; Allergan, Inc, Irvine, USA), který byl aplikován v týdnu nultém do cervikálních svalů na základě předchozího polymyografického vyšetření, vždy po fMRI vyšetření. Aplikovaný BoNT-A měl koncentraci 25U/ml.

2.1.1.4. Úloha testovaná ve fMRI

Během fMRI vyšetření prováděly subjekty se zavřenýma očima náročný pohyb prstů ruky, kdy palec se musel postupně krátce dotknout dvakrát ukazováčku, jedenkrát prostředníku, třikrát prsteníku a dvakrát malíku, následně byl pohyb prováděn v opačném směru. Tato úloha, poprvé popsána Rolandem a spolupracovníky, byla využita jednak pro její známou schopnost aktivovat primární i vyšší senzitivně-motorické oblasti, ale i významnou účast propioceptivní aferentace při provádění takového typu pohybu (Roland et al., 1980).

Před vlastním fMRI vyšetřením měly subjekty přibližně 10 minut na nácvik této pohybové sekvence. U pacientů byla vždy testována horní končetina ipsilaterální k deviaci hlavy, a to za účelem testovat hemisféru, ve které je s největší pravděpodobností lokalizována kortikální a subkortikální reprezentace dystonických svalů (Mazzini a Schieppati, 1992; Odergren a Rimpiläinen, 1996).

Během MRI vyšetření účastníci studie leželi na zádech a byli instruováni být v klidu a neklást odpor dystonické rotaci hlavy. Přednahráté hlasové instrukce pro iniciaci a ukončení aktivního pohybu prstů byly prezentovány MR-kompatibilními sluchátky pomocí softwaru E-Prime (Psychology Software Tools, Pittsburgh, USA). V blokovém paradigmatu alternoval aktivní pohyb prstů (7,5 sekundy) s klidovým intervalem (7,5 sekundy) po celkovou dobu trvání 4 minut. U každého subjektu byly vyšetřeny dva takovéto čtyřminutové běhy, ve kterých byla testována identická horní končetina. Provádění motorické úlohy bylo vizuálně monitorováno.

U všech pacientů trpících CD bylo první fMRI vyšetření (v týdnu nultém) naplánováno na období minimálně 4 měsíce od předchozí aplikace BoNT-A, kdy je již předpokládána absence efektu botulotoxinu (Brashear, 2001). Ve stejný den, po fMRI

vyšetření, byl BoNT-A aplikován do postižených svalů. Druhé fMRI vyšetření následovalo po 4 týdnech, v době předpokládaného maximálního klinického efektu botulotoxinu (Brashear, 2001).

Ve skupině kontrol bylo provedeno jedno vyšetření, vždy byla testována dominantní pravá horní končetina.

2.1.1.5. Akvizice dat

MR data byla získána na 1,5 T přístroji (Symphony; Siemens, Erlangen, Německo) s použitím standardních hlavových cívek. MR zobrazovací protokol zahrnoval 30 axiálních řezů o tloušťce 5mm, včetně morfologických T1-vážených obrazů pro anatomickou referenci funkčních dat, dále FLAIR sekvence (fluid attenuated inversion recovery) k vizualizaci mozkových lézí, funkční T₂*-vážené BOLD snímky získané během provádění úlohy a v klidu a dále 3D anatomické skeny s vysokým rozlišením (MPRAGE, magnetization-prepared rapid acquisition gradient echo). BOLD obrazy byly pořízeny EPI sekvencí s TR/TE =2500/40 ms, FOV=220 mm, s rozlišením 3,4 mm x 3,4 mm x 5,0 mm. V každém čtyřminutovém funkčním běhu bylo pořízeno 96 objemů, celkem 192 objemů z celého vyšetření. Hlava vyšetřovaných subjektů byla během vyšetření imobilizována polštářem, aby byl zajištěn komfort a minimalizace pohybů hlavy.

2.1.1.6. Analýza dat

Před vlastní fMRI analýzou byla zobrazovací data tří pacientů, u nichž byla testována levá horní končetina, převrácena v levo-pravém směru, aby byla umožněna

skupinová analýza dat (Johansen-Berg et al., 2002, Ward et al., 2003). Zpracování fMRI dat bylo provedeno pomocí nástroje FEAT (fMRI Expert Analysis Tool) verze 5.98, který je součástí balíku FSL (FMRIB je Software Library; <http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl>) (Smith et al., 2004). Součástí analýzy byla korekce pohybu pomocí MCFLIRT (Jenkinson et al., 2002), prostorové vyhlazení Gaussovým filtrem (FWHM 8 mm), normalizace intenzity a odfiltrování nízkých frekvencí (sigma = 15,0 s). Statistické zpracování bylo provedeno pomocí vylepšeného lineárního modelu FMRIB (FILM) s korekcí autokorelací signálu (Woolrich et al., 2001). Funkční data byla normalizována do standardního prostoru MNI nástrojem FLIRT (Jenkinson a Smith, 2001; Jenkinson et al., 2002).

Skupinová analýza byla provedena metodou FLAME, stupeň 1+2 (FMRIB Local Analysis of Mixed Effects) (Beckmann et al., 2003; Woolrich et al., 2004; Woolrich, 2008). Jako výstup analýzy byly vygenerovány prahované statistické Z-mapy s korigovanou hladinou signifikance $P = 0,05$ (Worsley, 2001).

Pro srovnání mezi skupinami (pacienti s CD vs. kontroly) byl použit t-test pro dva výběry. Pro srovnání v rámci skupiny (pre-BoNT-A vs. post-BoNT-A efekt u pacientů) byl použit párový t-test.

Prostorové koordináty jsou referovány v MNI (Montreal Neurological Institute) formátu.

2.1.2. Výsledky

2.1.2.1. Behaviorální a klinické

Provádění úlohy, které bylo vizuálně monitorováno, bylo správné u všech subjektů. Trvání jednoho cyklu testovaného pohybu prstů se signifikantně nelišilo mezi jednotlivými skupinami vyšetřovaných subjektů (průměrné hodnoty: kontroly 7,1 s; pacienti před aplikací BoNT-A 7,3s; pacienti po aplikaci BoNT-A 7,1s; $p > 0,05$, ANOVA).

Všem pacientům byla aplikace BoNT-A prováděna do dystonických svalů identifikovaných polymyografickým vyšetřením. Průměrná celková aplikovaná dávka BoNT-A byla $107,0 \pm 18,9$ U. Průměrná dávka pro jeden krční sval byla 50,0 U.

Byl prokázán signifikantní klinický efekt léčby BoNT-A vyjádřený poklesem Tsui skóre (průměrný pokles Tsui skóre byl 2,8; párový t-test, $p < 0,05$). Průměrné Tsui skóre před BoNT-A terapií bylo $10,8 \pm 1,25$, po BoNT-A léčbě bylo průměrné Tsui skóre $8,0 \pm 1,2$.

2.1.2.2. Zobrazovací výsledky

Průměrné skupinové aktivace

Kontrolní skupina

U skupiny kontrol aktivoval náročný pohyb prstů rozsáhlou sítí mozkových oblastí zahrnující: kontralaterální primární motorický a somatosenzitivní kortex, bilaterální premotorický kortex, suplementární motorickou oblast (SMA) bilaterálně (dominantně kontralaterálně), bilaterální sekundární somatosenzitivní kortex (S2),

bilaterální inzulární kortex, bilaterální horní parietální kortex, pravý dolní parietální kortex, cerebellum bilaterálně, thalamus bilaterálně, globus pallidus bilaterálně a nucleus caudatus vlevo (obr. 3A).

Pacienti před BoNT-A léčbou

U pacientů před BoNT-A léčbou pohyb prstů aktivoval podobnou, ale méně extenzivní oblast zahrnující obdobné oblasti senzitivně-motorické sítě (podobně jako u kontrolní skupiny) vyjma bilaterálního thalamu, bilaterálního pallida a levého nucleus caudatus. Bilaterální SMA aktivace byla lateralizována výrazněji ipsilaterálně (obr. 3B).

Pacienti po BoNT-A léčbě

Aktivační mapa u pacientů po BoNT-A léčbě byla ještě více redukována než před léčbou. Zahrnovala stejné oblasti jako aktivace před léčbou kromě pravého S2 a levého horního parietálního kortexu. Bilaterální aktivace SMA byla lateralizována více kontralaterálně (obr. 3C).

Meziskupinová srovnání

Pacienti před BoNT-A léčbou vs. kontroly

Před BoNT-A léčbou byla u pacientů nalezena zvýšená aktivace v parietálním operkulu kontralaterálně testované končetině (MNI koordináty: -42, -18, 22)

ve srovnání s kontrolami. Žádný signifikantní rozdíl nebyl nalezen v případě kontrastu *kontroly > pacienti před BoNT-A léčbou* (obr. 4A a tab. 4).

Pacienti po BoNT-A léčbě vs. kontroly

Aktivační mapa u pacientů po léčbě prokázala signifikantní redukci v globus pallidus internus (GPI) bilaterálně, výrazněji vyjádřenou ipsilaterálně (MNI koordináty: 16, 0, 4; -18, -2, 0)(obr. 4C a tab. 4). Žádný signifikantní rozdíl nebyl nalezen v případě kontrastu *pacienti po léčbě BoNT-A > kontroly*.

Srovnání v rámci skupiny pacientů

Pacienti před léčbou ve srovnání se stavem po léčbě BoNT-A

Po léčbě BoNT-A byl detekován signifikantní pokles aktivity v oblasti reprezentace ruky v pravé SMA a v oblasti pravého zadního premotorického kortexu (PMd)(MNI koordináty: 26, -10, 70; 0, 0, 64)(obr. 4B, tab. 4). Žádný signifikantní rozdíl nebyl nalezen v kontrastu *pacienti po léčbě > pacienti před léčbou BoNT-A*.

Během MRI vyšetření nebyly nalezeny žádné významné pohybové artefakty.

2.1.3. Diskuze

Tato studie přinesla tři hlavní výsledky. Prvním je prezentovaná celková redukce rozsahu kortikální aktivity vyvolané pohybem ruky spolu s fokálním zvýšením magnitudy BOLD signálu v levém (kontralaterálním) S2 u pacientů s CD před léčbou

ve srovnání s kontrolami. Druhým je pozorovaná redukce aktivace v SMA a PMd u CD pacientů po BoNT-A terapii dystonických svalů. Třetím výsledkem je nález atenuace aktivace bazálních ganglií na aktivační mapě vyvolané pohybem ruky u pacientů s CD po léčbě botulotoxinem ve srovnání s kontrolami.

Jsme si vědomi metodologických limitací daných skutečností, že není možno přímo pomocí fMRI studovat kortikální a subkortikální reprezentaci dystonických svalů krku, což by bylo zatíženo závažnými pohybovými artefakty. Na druhé straně nejméně dvě linie argumentů podporují použití ruky jako vhodného modelu k testování senzitivně-motorických funkcí u cervikální dystonie. Je to jednak blízkost kortikálních reprezentací krku a ruky u zdravých subjektů (Benecke et al., 1988; Thompson et al., 1997) a jejich možné zvětšení a překryv u pacientů s CD (Walsh a Hutchinson, 2007). Dále to je skutečnost, že tento model byl již opakovaně použit v elektrofyziologických, zobrazovacích a behaviorálních studiích, které dokumentovaly různé abnormality i efekt BoNT-A u CD (Mazzini et al., 1994; Kaňovský et al., 1998; Tamburin et al., 2002; Walsh a Hutchinson, 2007; De Vries et al., 2008, Pelosin et al., 2009, Kojovic et al., 2011).

Senzitivně-motorické aktivace detekovaná u našich zdravých kontrolních subjektů je v souladu s recentními fMRI studii testujícími sekvenční pohyb prstů ruky (Solodkin et al., 2004).

Ve srovnání se zdravými kontrolami byl nalezený rozsah kortikální a subkortikální aktivace u pacientů s CD difuzně redukován. Tento výsledek je v souladu s nálezy jiné funkčně zobrazovací studie testující pohyb ruky u pacientů s CD a mohl by být vysvětlen vyšší prostorovou interindividuální variabilitou rekrutovaných kompenzačních okruhů vedoucí k výsledné nižší průměrné skupinové aktivaci (De Vries et al., 2008). Příčinou této variability by mohla být porucha

senzitivně-motorické integrace (Siggelkow et al., 2002) v okruzích kortex-bazální ganglia-thalamus-kortex (Tinazzi et al., 2009; Wu et al., 2009). Podobná hypoaktivace senzitivně-motorických oblastí byla také detekována ve studiích testujících dystonii neprovokující pohyby ruky u pacientů s FDR (Islam et al., 2009; Wu et al., 2009). Tento nález byl konzistentně nalezen při testování postižené i nepostižené končetiny.

Alternativně by mohl redukovaný rozsah aktivace souviset s generalizovaným kinematickým deficitem pozorovaným u CD (Pelosin et al., 2009).

Srovnání pacienti před BoNT-A léčbou > kontroly detekovalo u pacientů s CD kortikální hyperaktivaci v parietálním operkulu kontralaterálně k testované ruce. Abnormální aktivace v této oblasti byla také popisována v předchozích zobrazovacích studiích u pacientů s fokální dystonií, které testovaly různé senzitivně-motorické úlohy prováděné postiženými i nepostiženými částmi těla (např. De Vries et al., 2008).

Parietální operkulum obsahuje humánní S2, o kterém se předpokládá, že hraje významnou úlohu v somatosenzitivních procesech vyššího řádu. Také se spekuluje, že tato kortikální oblast participuje na integraci informací z obou polovin těla, zrakově-prostorové pozornosti, učení a paměti. Dále je S2 zřejmě zapojen v motorických procesech a jejich integraci, poněvadž je aktivní nejen během pasivního a aktivního pohybu prstů ruky, ale i během představy pohybu (Kakigi et al., 1997).

Tato data společně naznačují, že excesivní aktivace sekundárního somatosenzitivního kortexu detekovaná v naší studii může reprezentovat aberantní zpracování senzitivně-motorických informací, které je považováno za klíčový faktor rozvoje fokálních dystonií (Abbruzzese a Berardelli, 2003). Naše pozorování je také podpořeno recentní prací Obermanna a spolupracovníků, kteří demonstrovali desinhibici v oblasti S2, v primárním somatosenzitivním kortexu a v dalších kortikálních oblastech u pacientů s CD při testování úlohy s čistě kinestetickou

somatosenzitivní stimulací (Obermann et al., 2010). Vzhledem k významné závislosti testovaného náročného pohybu prstů ruky na proprioceptivní aferenci a známým funkcím S2 by v naší studii detekovaná abnormní aktivace této oblasti mohla reprezentovat poruchu senzitivně-motorické integrace. Je možno také spekulovat, že nadměrná aktivace v S2 by mohla být zobrazovacím korelátem deficientní kortikální inhibice demonstrované recentními neurofyziologickými studiemi (např. Quartarone et al., 2009a).

Abnormální kortikální aktivace detekovaná během provádění pohybu dystonií nepostiženou částí těla také potvrzuje předchozí elektrofyziologická a behaviorální pozorování, že senzitivně-motorické abnormality dystonického mozku se vyskytují i mimo reprezentaci klinicky postižených částí těla (Kaňovský et al., 1998; Pelosin et al., 2009, Kojovic et al., 2011).

Efekt léčby BoNT-A

Průměrná skupinová aktivační mapa pacientů po BoNT-A léčbě zahrnovala stejné klíčové elementy okruhů řídicích pohyb jako u kontrol i pacientů před léčbou, ale aktivace byla ještě více prostorově redukována. Je možno se domnívat, že tato hypoaktivace je způsobena více vyjádřenou individuální variabilitou okruhů účastnících se ameliorace dystonie vlivem terapie.

V naší skupině pacientů byla vlivem účinné BoNT-A terapie pozorována signifikantní redukce testovanou úlohou navozené aktivace v oblasti ipsilaterální SMA a PMd. U pacientů byl také zaznamenán trend ke změně lateralizace aktivace SMA z převážně ipsilaterální do kontralaterální vlivem BoNT-A terapie. U kontrol byla aktivace SMA převážně kontralaterální.

Od rozpoznání SMA jako samostatné motorické oblasti zůstává její role ne zcela objasněna. Všeobecně se předpokládá, že aktivace SMA úzce souvisí s generováním a kontrolou pohybu - SMA participuje na kontrole stoje, interním generování pohybu, bimanuální koordinaci a časováním pohybu (Tanji, 1996). Na primátím modelu dystonie byla demonstrována hyperexcitabilita SMA společně s abnormálním nárůstem proprioceptivní aferentace do SMA, dále rozšíření senzitivních receptivních polí a nesoulad mezi senzitivní aferentací a motorickou eferentací v této kortikální oblasti (Cuny et al., 2008). Tato pozorování mohou naznačovat, že abnormní somatosenzitivní aferentace přicházející do neuronů SMA se může spolupodílet na rozvoji dystonie.

Podobně jako SMA je i dorzální premotorický kortex částí motorického kortexu, který se dle současných poznatků podílí na plánování, selekci a exekuci pohybu (Chouinard a Paus, 2006), stejně jako na senzitivně-motorické integraci u zdravých jedinců (Dresel et al., 2006). U pacientů s generalizovanou i fokálními dystoniemi detekovaly PET studie testující pohyb ruky ve srovnání se zdravými jedinci hyperaktivitu PMd a hypoaktivitu v primárním motorickém kortexu indukovanou pohybem (Ceballos-Baumann et al., 1995). Na základě těchto pozorování několik studií úspěšně využilo inhibiční efekt repetitivní TMS (rTMS) aplikované na PMd ke zmírnění symptomů fokální dystonie (Murase et al., 2005). Nález snížené aktivity v PMd ipsilaterálně k testované končetině v naší studii by mohl být považován za efekt analogní přechodné inhibice indukované rTMS, v našem případě navozené terapií BoNT-A.

Třetí nejvýznamnější výsledek naší studie představuje nález snížené aktivity bazálních ganglií u pacientů po léčbě BoNT-A ve srovnání s kontrolami.

Řada dalších dostupných informací naznačuje, že bazální ganglia mají klíčovou roli v etiopatogenezi dystonií (Mink, 2003). Za plauzibilní je považována hypotéza předpokládající účast abnormní synchronizace neuronálních okruhů bazálních ganglií při vzniku abnormní senzitivně-motorické plasticity u pacientů s dystonií (Vitek, 2002; Hallett, 2011). Animální modely naznačují, že tyto poruchy synchronizace zřejmě spočívají v porušené homeostáze kortiko-striálních synapsí (Quartarone a Pisani, 2011).

Předpokládá se, že jednou z mnoha fyziologických úloh BG, zejména striata, je také kontrola eferentace z BG do thalamu a zpět do motorického kortexu. Na základě tohoto poznatku byla BG přiřčena role filtru senzitivních informací, které jsou dále přenášeny do motorického systému (Murase et al., 2000). Za dominantní struktury vykonávající tuto funkci jsou považovány cholinergní interneurony, které představují pouhých 2% striálních neuronů (Quartarone a Pisani, 2011).

Zvýšená bilaterální aktivace BG a thalamu u skupiny pacientů s CD byla demonstrována i v fMRI studii Obermannem a spolupracovníky při testování jednoduššího non-dytonického pohybu. Tato abnormně zvýšená aktivace byla, v souladu s výše zmiňovanými hypotézami, interpretována jako kompenzatorní mechanismus vůči neefektivní kompresi vícečetných senzitivních a motorických informací před jejich přesunem k dalšímu kortikálnímu zpracování (Obermann et al., 2008).

Význam a vícečetné funkce bazálních ganglií by mohly zastřešovat jednotlivé elementy předpokládané etiopatogeneze dystonií: poruchy senzitivně-motorické integrace, sníženou inhibici a aberantní plasticitu. Takový model předpokládá, že porucha funkce BG indukuje abnormitu inhibičních motorických okruhů, dále navozuje chybné zpracování senzitivních zpětnovazebních informací a zvyšuje

plasticitu kortikálních a subkortikálních struktur vedoucí k maladaptivní reorganizaci těchto oblastí s následnou manifestací dystonie (Quartarone a Pisani, 2011).

Dalším podpůrným argumentem pro roli BG v patogeneze dystonií je fakt, že globus pallidus internus slouží jako cíl DBS v terapii cervikální dystonie a dalších typů primárních dystonií. Ačkoliv mechanismus účinku DBS není přesně znám, recentní elektrofyziologická data naznačují ovlivnění insuficientní inhibice a abnormní kortikální plasticity (Ruge et al., 2011).

Léčbou navozená hypoaktivace GPi, více vyjádřená na fyziologicky méně relevantní ipsilaterální straně, která byla demonstrována v naší studii, by pak mohla korespondovat s funkční normalizací, pravděpodobně zprostředkovanou adaptivní plasticitou neuronálních okruhů zahrnujících bazální ganglia.

Přestože je klinický efekt botulotoxinu z převážné části determinován vzniklou svalovou slabostí v místě jeho aplikace, existují i další pozorování jeho pozitivních účinků, která podporují v naší studii demonstrovaný efekt léčby BoNT-A na úrovni CNS. Mezi ně můžeme například zařadit redukci intrakortikální inhibice navozené terapií u dystonií (Gilio et al., 2000), normalizaci abnormní kortikální motorické reprezentace ruky u cervikální dystonie po léčbě BoNT-A (Thickbroom et al., 2003), dále redukci abnormně zvýšené plasticity neuronů okruhu blink reflexu u pacientů s blefarospasmem (Quartarone et al., 2006). Dalším potvrzením centrálních efektů BoNT-A je například TMS studie Kima a spolupracovníků, kteří prokázali 3 měsíce trvající posílení intrakortikální inhibice a redukci intrakortikální facilitace u zdravých dobrovolníků po aplikaci botulotoxinu do svalů horní končetiny (Kim et al., 2006). V této studii bylo nalezeno, že poměr amplitud MEP/CMAP (compound muscle action potential) byl zvýšen 4-12 týdnů po aplikaci BoNT-A. V případě, že by centrální efekt neexistoval, tak by vlivem blokády neuromuskulární junkce mělo docházet k poklesu

amplitud MEP i CMAP, poměr MEP/CMAP by měl zůstat stacionární. Naopak detekovaný nárůst poměru MEP/CMAP naznačuje větší nábor sestupných kortikospinálních vláken nebo proporce spinálních motoneuronů vlivem TMS. Alespoň částečně je tento vliv vysvětlován změnou Ia aferentace ze svalových vřetének navozený terapií BoNT-A (Rosales a Dressler, 2010; Kaňovský a Rosales, 2011).

Sumarizace dostupných dat o účincích BoNT-A naznačuje, že tento toxin účinně ovlivňuje dystonii zřejmě několika mechanismy. Kromě přímého oslabení svalů, do kterých je aplikován, je možno předpokládat, že BoNT-A ovlivňuje proprioceptivní aferentaci participující na výběru vhodných motorických programů v bazálních gangliích (Rosales a Dressler, 2010; Kaňovský a Rosales, 2011), ve kterých byla u pacientů s fokální dystonií TMS studiemi naznačena porucha laterální inhibice výběru těchto programů (Sohn a Hallett, 2004b). Jde v podstatě o jakousi modifikaci „senzitivního triku“. Dalším možným modem působení je modulace plasticity okruhu CNS (Rosales a Dressler, 2010).

Redukované aktivace v SMA, PMd a GPi po účinné terapii CD nalezené v naší studii mohou naznačovat amelioraci abnormních procesů v těchto strukturách s možnou korekcí defektní senzitivně-motorické integrace. Skutečnost, že tyto změny byly nalezeny při testování motorické úlohy prováděné klinicky normální končetinou, dále podporuje předchozí pozorování vzdálených efektů BoNT-A u CD (Kaňovský et al., 1998; Walsh a Hutchinson, 2007; Pelosin et al., 2009; Kojovic et al., 2011).

Tab. 3. Demografická a klinická data pacientů.

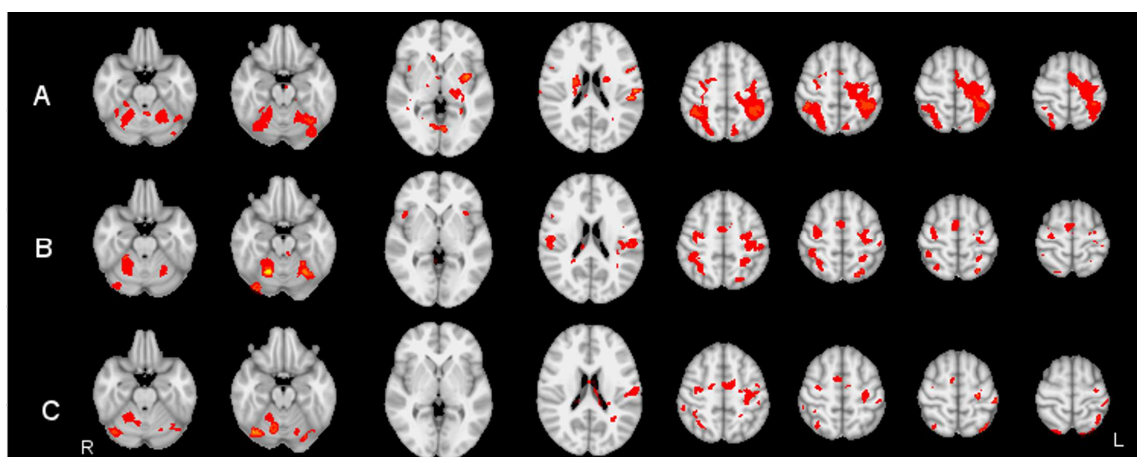
Pacient č.	Pohlaví M/Ž	Věk při vyšetření (roky)	Věk při manifestaci dystonie)	Typ dystonie	Injikované svaly	Tsui skóre před léčbou BoNT-A	Tsui skóre po léčbě BoNT-A
1	F	58	53	Torticollis doleva	SCM vpravo SPL vlevo TRP vpravo	11	8
2	F	58	42	Torticollis doprava	SCM vlevo TRP vlevo SPL vpravo	10	7
3	M	36	28	Torticollis doprava	SCM vlevo SPL vpravo	12	9
4	F	60	44	Torticollis doleva	SCM vpravo SPL vlevo TRP vpravo	11	8
5	F	56	45	Torticollis doprava	SCM vlevo SPL vpravo	13	10
6	F	58	34	Torticollis doprava	SCM vlevo SPL vpravo	10	8
7	F	46	42	Torticollis doleva	SPL vlevo SCM vpravo	9	6

SPL = m. splenius capitis; TRP = m. trapezoideus; SCM = m. sternocleidomastoideus.

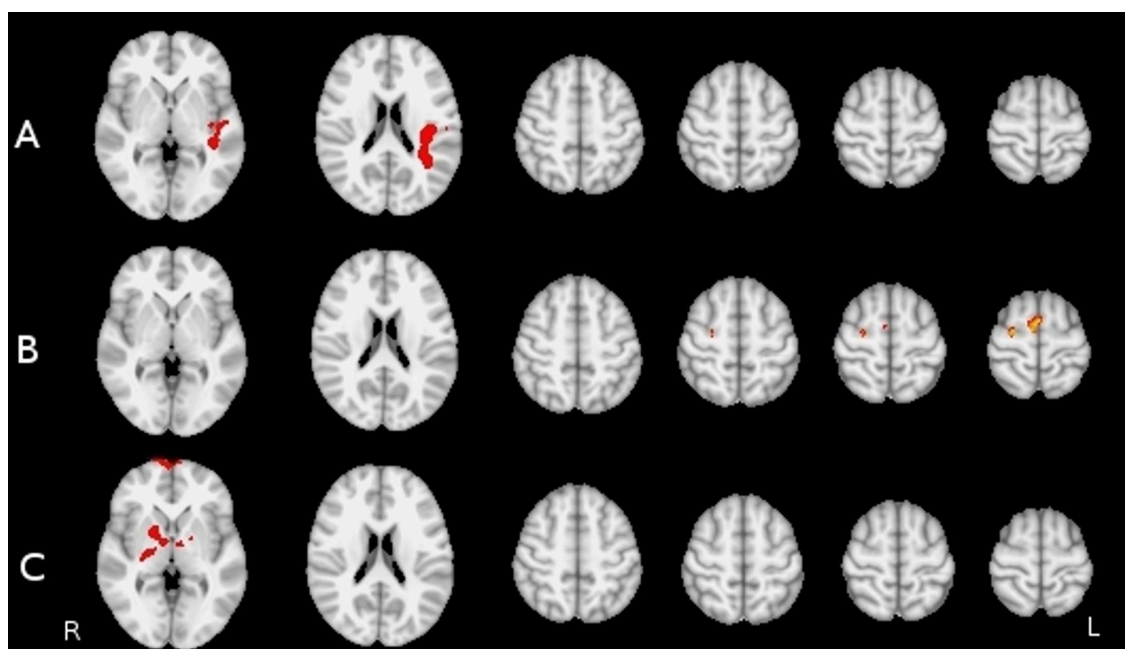
Tab. 4. Lokální maxima diferenciální aktivace: inter- a intraskupinové kontrasty.

	MNI			Z-skóre
	x	y	z	
Kontrast: Pacienti před BoNT-A léčbou > Kontroly				
Sekundární somatosenzitivní kortex vlevo	-42	-18	22	3,8
Kontrast: Pacienti před BoNT-A léčbou > pacienti po BoNT-A léčbě				
Dorzální premotorický kortex vpravo	26	-10	70	5,2
Suplementární motorický kortex vpravo	0	0	64	5,1
Kontrast: Kontroly > Pacienti po BoNT-A léčbě				
Globus pallidus vpravo	16	0	4	4,5
Globus pallidus vlevo	-18	-2	0	4,3

MNI, Montreal Neurological Institute.



Obr. 3. Průměrná skupinová aktivace při provádění náročného pohybu prstů. Kontrolní skupina (A), pacienti s CD před léčbou BoNT-A (B), pacienti s CD po léčbě BoNT-A (C).



Obr. 4. Nadměrná aktivace v oblasti kontralaterálního S2 u pacientů s CD před léčbou ve srovnání s kontrolami (A). Redukce aktivace v ipsilaterální SMA a PMd vlivem léčby BoNT-A u pacientů s CD (B). Snížená aktivace bilaterálně v oblasti globus pallidus u pacientů s CD po léčbě BoNT-A ve srovnání s kontrolami (C).

2.2. Abnormní somatosenzitivní kortikální aktivace u cervikální dystonie a její modulace botulotoxinem: fMRI studie

Publikováno:

Opavský R, Hlušík P, Otruba P, Kaňovský P. Somatosensory cortical activation in cervical dystonia and its modulation with botulinum toxin: An fMRI study. *Int J Neurosci* 2012;122:45-52. **IF₂₀₁₀=0,818**. Viz příloha č. 2.

2.2.1. Soubor a metodika

Bylo vyšetřeno celkem 7 pacientů trpících cervikální dystonií (1 muž, 6 žen; věk $53,1 \pm 8,2$ roku, věkové rozmezí 36-58 let), sledovaných v Centru pro extrapyramidová onemocnění Neurologické kliniky FN Olomouc. Všichni pacienti trpěli cervikální dystonií manifestující se rotační torticollis (3 pacienti levostrannou, 4 pacienti pravostrannou), všichni dobře odpovídali na terapii botulotoxinem typu A. Klinická a demografická data jsou shrnuta v tabulce č. 5.

Skupina 9 kontrolních subjektů (2 muži a 7 žen; věk $55,2 \pm 6,0$ let; rozmezí 28-63 let), bez anamnézy neurologického či psychiatrického onemocnění, odpovídala věkem a pohlavím skupině vyšetřovaných pacientů.

Žádný z vyšetřovaných subjektů nežíval chronickou medikaci, kromě botulotoxinu typu A.

Všechny vyšetřované subjekty byly praváci (pacienti $93,6 \pm 4,1$; kontroly $91,2 \pm 5,7$; vyjádřeno v Edinburgh Handedness Inventory skóre), morfologické MR zobrazení mozku bylo u všech subjektů bylo normální.

Všechny vyšetřované osoby byly seznámeny s obsahem studie a vyšetřovacími metodami a podepsaly informovaný souhlas s účastí ve studii. Protokol studie byl v souladu s Helsinskou deklarací z r. 1975 (5. revize z roku 2000, upřesnění z roku 2002 a 2004) a byl schválen Etickou komisí FN Olomouc.

2.2.1.1. Behaviorální testování

Závažnost cervikální dystonie byla dvakrát v průběhu studie hodnocena pomocí Tsui skóre (Taji et al., 1986). První vyšetření bylo v týdnu nultém, kdy pacienti byli zařazeni do studie a léčeni BoNT-A, druhé vyšetření v týdnu čtvrtém, vždy v den fMRI vyšetření.

2.2.1.2. Léčba

Všichni pacienti byli léčeni botulotoxinem typu A (Botox; Allergan, Inc, Irvine, USA), který byl aplikován v týdnu nultém, po fMRI vyšetření, do cervikálních svalů na základě předchozího polymyografického vyšetření. Aplikovaný BoNT-A měl koncentraci 25U/ml.

Detaily EMG a polymyografického vyšetření jsou uvedeny u předchozí studie.

2.2.1.3. Úloha testovaná ve fMRI

Během fMRI vyšetření byl stimulován nervus medianus v oblasti zápěstí pomocí na zakázku vyrobeného MR kompatibilního elektrického stimulátoru (Alien, Praha, Česká republika). Elektrickým stimulem byl opakovaný puls trvající 300 μ s se čtvercovým průběhem vlny, který byl aplikován pomocí AgCl elektrod. Intenzita stimulačního proudu byla na úrovni motorického prahu. Tato stimulační intenzita byla stanovena v MR přístroji krátce před fMRI vyšetřením, aplikované intenzity stimulačního proudu kolísaly mezi subjekty v rozmezí 4,0-9,0mA (průměrná hodnota byla 6,1mA, SD=1,6mA; tab. 5). Použitá frekvence stimulace byla 4Hz. Tato frekvence vedla k nejrobustnější aktivaci v našich předběžných experimentech, stejně jako v další studii (Ferretti et al., 2007).

U pacientů byla vždy testována horní končetina ipsilaterální k deviaci hlavy, a to za účelem testovat hemisféru, ve které je s největší pravděpodobností lokalizována kortikální a subkortikální reprezentace dystonických svalů (Mazzini a Schieppati, 1992; Odergren a Rimpiläinen, 1996). U kontrol byla testována pravá horní končetina.

Během MRI vyšetření účastníci studie leželi na zádech a byli instruováni být v klidu a neklást odpor dystonické rotaci hlavy. V blokovém paradigmatu alternovala stimulace nervus medianus (7,5 sekundy) s klidovým intervalem (7,5 sekundy) po celkovou dobu trvání 4 minut. U každého subjektu byly vyšetřeny 2 čtyřminutové cykly stimulace horní končetiny, ve kterých byla testována identická horní končetina.

U všech pacientů trpících CD bylo první fMRI vyšetření (v týdnu nultém) naplánováno na období minimálně 4 měsíce od předchozí aplikace BoNT-A, kdy je již předpokládána absence efektu botulotoxinu (Brashear, 2001). Ve stejný den, po fMRI vyšetření, byl BoNT-A aplikován do postižených svalů. Druhé fMRI vyšetření

následovalo po 4 týdnech, v době předpokládaného maximálního klinického efektu botulotoxinu (Brashear, 2001).

Ve skupině kontrol bylo provedeno jedno vyšetření, vždy byla testována dominantní pravá horní končetina.

2.2.1.4. Akvizice dat

MR data byla získána na 1,5 T přístroji (Symphony; Siemens, Erlangen, Německo) s použitím standardních hlavových cívek. MR zobrazovací protokol zahrnoval 30 axiálních řezů o tloušťce 5mm, včetně morfologických T1-vážených obrazů pro anatomickou referenci funkčních dat, dále FLAIR sekvence k vizualizaci mozkových lézí, funkční T₂*-vážené BOLD snímky získané v průběhu stimulace nervus medianus a v klidu a dále 3D anatomické skeny s vysokým rozlišením (MPRAGE, magnetization-prepared rapid acquisition gradient echo). BOLD obrazy byly pořízeny EPI sekvencí s TR/TE =2500/40 ms, FOV=220 mm, s rozlišením 3,4 mm x 3,4 mm x 5,0 mm. V každém čtyřminutovém funkčním běhu bylo pořízeno 96 objemů, celkem 192 objemů z vyšetření. Hlava vyšetřovaných subjektů byla během vyšetření imobilizována polštářem, aby byl zajištěn komfort a minimalizace pohybů hlavy.

2.2.1.5. Analýza dat

Před vlastní fMRI analýzou byla zobrazovací data tří pacientů, u nichž byla testována levá horní končetina, převrácena v levo-pravém směru, aby byla umožněna skupinová analýza dat (Johansen-Berg et al., 2002, Ward et al., 2003). Zpracování

fMRI dat bylo provedeno pomocí nástroje FEAT (fMRI Expert Analysis Tool) verze 5.98, který je součástí balíku FSL (FMRIB je Software Library; <http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl>)(Smith et al., 2004). Součástí analýzy byla korekce pohybu pomocí MCFLIRT (Jenkinson et al., 2002), prostorové vyhlazení Gaussovým filtrem (FWHM 8 mm), normalizace intenzity a odfiltrování nízkých frekvencí ($\sigma = 15,0$ s). Statistické zpracování bylo provedeno pomocí vylepšeného lineárního modelu FMRIB (FILM) s korekcí autokorelací signálu (Woolrich et al., 2001). Funkční data byla normalizována do standardního prostoru MNI nástrojem FLIRT (Jenkinson a Smith, 2001; Jenkinson et al., 2002).

Skupinová analýza byla provedena metodou FLAME, stupeň 1+2 (FMRIB Local Analysis of Mixed Effects) (Beckmann et al., 2003; Woolrich et al., 2004; Woolrich, 2008). Jako výstup analýzy byly vygenerovány prahované statistické Z-mapy s korigovanou hladinou signifikance $P = 0,05$ (Worsley, 2001).

Pro srovnání mezi skupinami (pacienti s CD vs. kontroly) byl použit t-test pro dva výběry. Pro srovnání v rámci skupiny (pre-BoNT-A vs. post-BoNT-A efekt u pacientů) byl použit párový t-test.

Prostorové koordináty jsou reportovány v MNI (Montreal Neurological Institute) formátu.

2.2.2. Výsledky

2.2.2.1. Behaviorální a klinické

Všem pacientům byla aplikace BoNT-A prováděna do dystonických svalů identifikovaných polymyografickým vyšetřením. Průměrná celková aplikovaná dávka BoNT-A byla $107,0 \pm 18,9$ U. Průměrná dávka pro jeden krční sval byla 50,0 U.

Byl prokázán signifikantní klinický efekt léčby BoNT-A vyjádřený poklesem Tsui skóre (průměrný pokles Tsui skóre byl 2,8; párový t-test, $p < 0,05$). Průměrné Tsui skóre před BoNT-A terapií bylo $10,8 \pm 1,25$, po BoNT-A léčbě bylo průměrné Tsui skóre $8,0 \pm 1,2$.

Intenzity proudu použité k elektrické stimulaci nervus medianus se signifikantně nelišily mezi skupinami testovaných subjektů (ANOVA, $p > 0,05$). Průměrná hodnota u kontrol byla 5,4mA (SD=1,2), u pacientů před terapií BoNT-A 6,4mA (SD=1,5), u pacientů po terapii BoNT-A 6,7mA (SD=1,7).

2.2.2.2. Zobrazovací výsledky

Průměrné skupinové aktivace

Kontrolní skupina

U kontrol aktivovala elektrická stimulace nervus medianus kontralaterální primární somatosenzitivní kortex (MNI koordináty: -44, -32, 60), kontralaterální sekundární somatosenzitivní kortex (MNI koordináty: -50, -24, 18) a kontralaterální inzulu (MNI koordináty: -40, 4, -10) (obr. 5, tab. 6).

Pacienti před BoNT-A léčbou

U pacientů před BoNT-A léčbou byla průměrná skupinová aktivace indukovaná elektrickou stimulací nervus medianus detekována jen v kontralaterálním primárním somatosenzitivním kortexu (MNI koordináty: 48, -34, 58) (obr. 5, tab. 6).

Pacienti po léčbě BoNT-A

Aktivační mapa u pacientů po léčbě BoNT-A byla podobná mapě nalezené u kontrolní skupiny. Zahrnovala kontralaterální primární somatosenzitivní kortex (MNI koordináty: -42, -30, 60), kontralaterální sekundární somatosenzitivní kortex (MNI koordináty: -48, -26, 20), kontralaterální inzulu (MNI koordináty: -40, 0, -10) a navíc dolní parietální lalok kontralaterálně (MNI koordináty: -60, -36, 34) (obr. 5, tab. 6).

Meziskupinová srovnání

Před BoNT-A terapií skupina pacientů vykazovala signifikantně nižší aktivaci v kontralaterálním sekundárním somatosenzitivním kortexu (MNI koordináty: -50, -22, 16) a v kontralaterální inzule (MNI koordináty: -40, 0, 0) ve srovnání s kontrolami (obr. 6, tab. 6). Žádný signifikantní rozdíl nebyl nalezen při srovnání pacientů po BoNT-A léčbě s kontrolami.

Srovnání v rámci skupiny pacientů

U skupiny pacientů byl po BoNT-A terapii detekován signifikantní nárůst aktivity v kontralaterálním sekundárním somatosenzitivním kortexu (MNI koordináty: -48, -14, 16), v kontralaterální inzule (MNI koordináty: -42, 6, -8) a v kontralaterálním dolním parietálním laloku (MNI koordináty: -58, -38, 34) (obr. 6, tab. 6). Žádný signifikantní rozdíl nebyl nalezen při testování opačného kontrastu, tedy zda aktivace u pacientů před BoNT-A léčbou je vyšší než u pacientů po BoNT-A léčbě.

Během vyšetření nebyly zaznamenány významnější pohybové artefakty.

2.2.3. Diskuze

Výsledky této funkčně-zobrazovací studie prokázaly oslabení somatosenzitivní aktivity u pacientů s CD ve srovnání se zdravými dobrovolníky, stejně jako skutečnost, že tyto změny se nacházejí mimo okruhy CNS kontrolující dystonií postiženou část těla. Pacienti trpící CD vykazovali před léčbou při elektrické stimulaci nervus medianus v oblasti zápěstí deficientní aktivaci v kontralaterálním sekundárním somatosenzitivním kortexu a inzule, následná terapie BoNT-A vedla k obnovení BOLD aktivity v těchto kortikálních oblastech. Zvýšená aktivace po léčbě byla dále nalezena v kontralaterálním lobulus parietalis inferior (IPL).

Somatosenzitivní oblasti aktivované elektrickou stimulací nervus medianus u skupiny subjektů naší kontrolní skupiny obsahovala identické struktury, jaké byly popsány v recentních fMRI studiích používajících stejný způsob stimulace: kontralaterální primární a sekundární somatosenzitivní kortex a kontralaterální inzulu (Backes et al, 2000; Feretti et al., 2007; Manganotti et al., 2009). Většina

zobrazovacích studií (Ferreti et al., 2007; Mangannoti et al., 2009), které při analýze dat testovaly aktivaci v předem definovaných oblastech mozku (tzv. region-of-interest approach), navíc detekovala nekonzistentně mezi subjekty také malou aktivaci v ipsilaterálním S2 a ipsilaterální inzule. V naší studii použitý postup analýzy testující celý mozek (tzv. whole brain approach) má do určité míry nižší statistickou sílu, ale na druhé straně dovoluje detekci potenciálního efektu léčby mimo předem definovaný soubor somatosenzitivních oblastí. Tato relativně nižší statistická síla by mohla vést ke skutečnosti, že v našich průměrných skupinových datech nebyla detekována aktivita v ipsilaterálním S2 a inzule. K tomuto nálezu by mohla do určité míry také přispět anatomická variabilita mezi subjekty.

Přesná funkce S2 a inzuly při zpracování somatosenzitivních informací u lidí nebyla dosud přesně objasněna. Bylo prokázáno, že S2 hraje roli ve zpracování propioceptivních informací (Alary et al., 2002), senzitivním učení a kontrole náročných pohybů vyžadujících senzitivní zpětnou vazbu (Huttunen et al., 1996). Předchozí humánní studie také dokumentovaly roli S2 v exekuci pohybu (Forss et al., 1998; Inoue et al., 1998; Wasaka et al., 2005), což naznačuje možnou účast S2 na senzitivně-motorické integraci. Mezi další diskutované role S2 patří funkce vyššího řádu ve zpracování somatosenzitivních informací jako např. integrace informací z obou polovin těla, pozornost, učení a paměť (Chen et al., 2008).

Funkční diference a podobnost mezi S2 a S1 není také dosud přesně objasněna. Řada zobrazovacích a elektrofyziologických studií zaměřených na tuto problematiku nebyla schopna přinést jasný závěr. Zda tyto dvě somatosenzitivní kortikální oblasti zpracovávají informace paralelním nebo sériovým způsobem zůstává taktéž otevřenou otázkou (Hari a Forss, 1999).

Funkční MRI studie Butterwortha a spolupracovníků testující vibro-taktilní stimulaci ukazováku a malíku u pacientů trpících fokální dystonií ruky detekovala dezorganizovanou kortikální aktivaci v S1 společně s hypoaktivací S2 a zadního parietálního kortexu ve srovnání se zdravými kontrolami (Butterworth et al., 2003). Ačkoliv naše studie nebyla zaměřena na testování somatotopiky v S1, dokumentovali jsme obdobnou redukci aktivace v S2 a léčbou BoNT-A navozený nárůst aktivace v S2 a zadním parietálním kortexu při použití elektrické stimulace.

Role inzuly, reprezentující řadu různých funkcí, ve zpracování somatosenzitivních informací je ještě méně jasná. Kromě její dobře známé účasti na zpracování bolestivých informací byla zobrazovacími studii dokumentována participace inzuly i na centrálním zpracování stimulů nebolestivých (Backes et al., 2000; Francis et al., 2000; Ferreti et al., 2007). Vícečetná pozorování naznačují, že inzulární kortex funguje jako integrátor různých konvergujících senzitivních informací (Nagai et al., 2007). Tato struktura se také účastní při obnově motorických funkcí po cévní mozkové příhodě (Weiller et al., 2003) a může také participovat na senzitivně-motorické integraci. Přesná úloha inzuly na vzniku dystonií není jasná, ale její abnormní aktivace byla detekována v fMRI experimentech studujících senzitivně-motorickou aktivaci u fokální dystonie ruky (Hu et al., 2006), i u cervikální dystonie (De Vries et al., 2008).

Z výše uvedených dat je těžké rozhodnout, zda v naší studii pozorovaná hypoaktivace S2 a inzuly má původ v těchto kortikálních oblastech (Ali et al., 2006), nebo proximálněji např. v porušené S1 či v dalších strukturách jako je thalamus (Butterworth et al., 2003), které nebyly aktivovány v našich výsledcích.

Elektrická stimulace nervus medianus na úrovni motorického prahu rezultuje v kutánní a propioceptivní aferentaci. Studie Backese a spolupracovníků

demonstrovala, že S2 oproti S1 je více aktivována stimulačními intenzitami elektrického proudu pod úrovní motorického prahu, tj. kožní aferencí. V této studii bylo také prokázáno, že S2 aktivace nesouvisí přímo s intenzitami stimulačního proudu, což může svědčit pro fakt, že okruhy participující na zpracování různých modalit periferní somatosenzitivní aferentace mohou být do určité míry nezávislé (Backes et al., 2000).

Ve světle těchto informací může pozorovaná redukováná aktivace S2 u našich CD pacientů ve srovnání se zdravými kontrolami značit buď poruchu samotného zpracování kožní aferentní informace (McDonnell et al., 2007), anebo poruchu simultánního zpracování proprioceptivní a kožní aferentní informace.

Nenalezení rozdílů mezi pacienty po BoNT-A léčbě a kontrolami může naznačovat normalizaci zpracování somatosenzitivní informace u pacientů s CD vlivem léčby BoNT-A.

Efekt BoNT-A léčby

Po účinné terapii BoNT-A byla v kontralaterálním S2, inzule a IPL pacientů s CD detekována signifikantní BOLD odpověď značící nárůst kortikální aktivity v daných oblastech. Tyto pozorované efekty v S2 a inzule korespondují s vymizením skupinových rozdílů mezi kontrolami a pacienty vlivem léčby v těchto strukturách.

Pro demonstrováný efekt terapie BoNT-A v IPL je podporou pozorování z recentní studie Aliho a spolupracovníků. V PET studii u pacientů trpících laryngeální dystonií dokumentovali při testování řečové úlohy léčbou navozený nárůst

regionálního cerebrálního krevního průtoku v heteromodálních somatosenzitivních oblastech včetně IPL, které byly před léčbou hypoaktivní (Ali et al., 2006).

IPL je považován za senzitivní kortikální oblast vyššího řádu, která také participuje na senzitivně-motorické integraci (Yokochi et al., 2003; Fogassi a Lupino, 2005) a přípravě pohybu (Dijkerman a de Haan, 2007). Aktivace této oblasti po nebolestivé somatosenzitivní stimulaci byla popsána u lidí (Dijkerman a de Haan, 2007) i u primátů (Yokochi et al., 2003). Různá pozorování nasvědčují blízkému vztahu mezi IPL a S2. Jsou to například významné, na animálních modelech demonstrované, oboustranné dráhy spojující tyto kortikální oblasti (Dijkerman a de Haan, 2007; Disbrow et al., 2003) nebo pozorovaná obdobná semiologie záchvatů vycházejících z obou těchto kortikálních oblastí u pacientů trpících parciální epilepsií (Yamamoto et al., 2003).

S léčbou související nárůst aktivace v S2, IPL a inzule, pozorovaný v naší studii, může reflektovat schopnost BoNT-A indukovat reorganizaci a normalizaci procesů zpracování somatosenzitivních informací na kortikální úrovni. Tento efekt by mohl být zprostředkován alterací senzitivní zpětné vazby Ia vláknů indukované bloádou neuro-muskulární junkce γ -motoneuronů (Abbruzzese a Berardelli, 2006; Rosales a Dressler, 2010). Pozorovaná léčbou navozená změna somatosenzitivní kortikální aktivace indukovaná stimulací horní končetiny také podporuje poznatek, že BoNT-A může vykazovat efekt i mimo okruhy kontrolující léčené svaly. Jedna z hypotéz předpokládá, že tyto efekty by mohly být také facilitovány interakcemi rozšířených a překrývajících se dezorganizovaných senzitivních kortikálních reprezentací léčených krčních svalů a horní končetiny (Walsh a Hutchinson, 2007).

Je možno předpokládat, že pozorovaný nárůst kortikální aktivace v S2, inzule a IPL navozená léčbou BoNT-A by mohl alespoň částečně reprezentovat modulaci

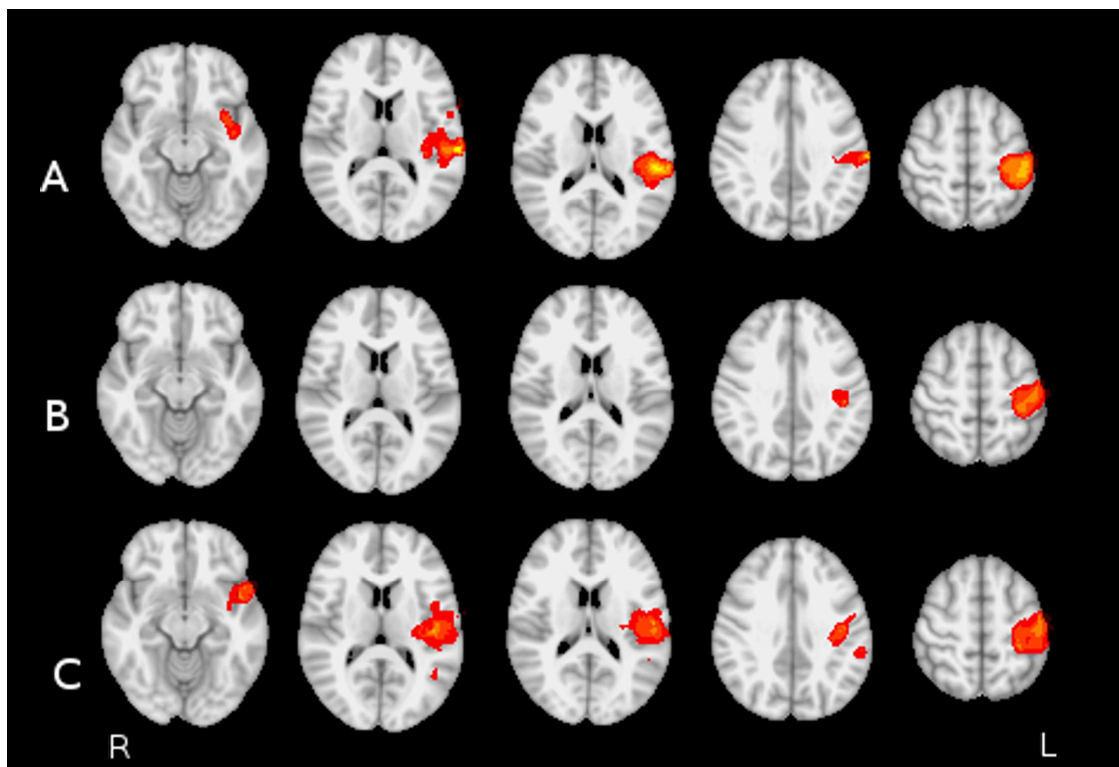
somatosenzitivních procesů vyjádřenou korekcí prostorového diskriminačního prahu nebo redukcí asociativní plasticity u pacientů trpících CD, jak bylo pozorováno v recentních studiích (Walsh a Hutchinson, 2007; Kojovic et al., 2011).

Tab. 5. Demografická a klinická data pacientů, parametry elektrické stimulace n. medianus.

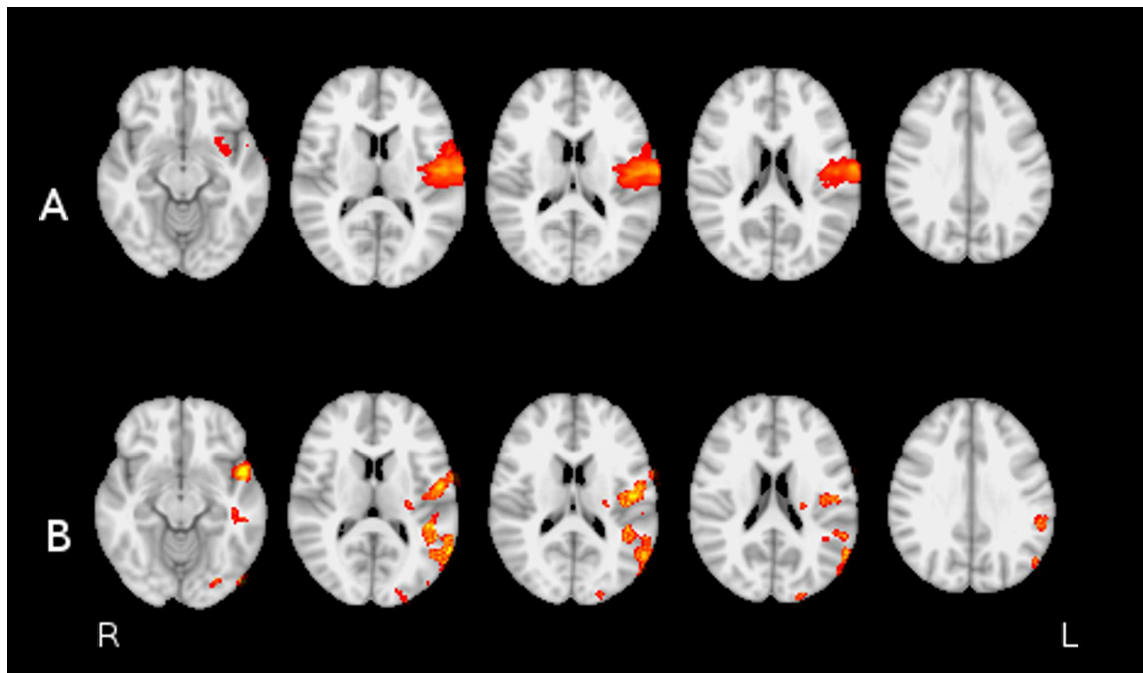
Pacient č.	Pohlaví M/Ž	Věk při vyšetření (roky)	Věk při manifestaci dystonie)	Typ dystonie	Injikované svaly	Tsui skóre před léčbou BoNT-A	Tsui skóre po léčbě BoNT-A	Stimulační intenzity před léčbou BoNT-A (mA)	Stimulační intenzity po léčbě BoNT-A (mA)
1	F	58	53	Torticollis doleva	SCM vpravo TRP vpravo SPL vlevo	11	8	4,0	4,0
2	F	58	42	Torticollis doprava	SCM vlevo TRP vlevo SPL vpravo	10	7	9,0	9,0
3	M	36	28	Torticollis doprava	SCM vlevo SPL vpravo	12	9	6,0	6,0
4	F	60	44	Torticollis doleva	SCM vpravo TRP vpravo SPL vlevo	11	8	5,5	5,5
5	F	56	45	Torticollis doprava	SCM vlevo SPL vpravo	13	10	5,5	6
6	F	58	34	Torticollis doprava	SCM vlevo SPL vpravo	10	8	7,5	7,5
7	F	46	42	Torticollis doleva	SCM vpravo SPL vlevo	9	6	7,0	9,0

Tab. 6. Průměrné skupinové aktivace a lokální maxima diferenciální aktivace (inter- a intraskupinové kontrasty) během elektrické stimulace n. medianus.

	MNI			Z-skóre
	x	y	z	
Kontroly:				
S1	-44	-32	60	7.9
S2	-50	-24	18	7.1
Inzula	-40	4	-10	4.7
Pacienti před léčbou BoNT-A:				
S1	-48	-34	58	7.8
Pacienti po léčbě BoNT-A:				
S1	-42	-30	60	7.5
S2	-48	-26	20	6.4
Inzula	-40	0	-10	4.6
IPL	-60	-36	34	5.9
Kontrast: Pacienti před léčbou BoNT-A < Kontroly:				
S2	-50	-22	16	7.1
Inzula	-40	0	0	4.1
Kontrast: Pacienti po léčbě BoNT-A > Pacienti před léčbou BoNT-A:				
S2	-48	-14	16	5.4
Inzula	-42	6	-8	6.2
IPL	-58	-38	34	6.1



Obr. 5. Průměrná skupinová aktivace během elektrické stimulace nervus medianus. Kontrolní skupina (A), pacienti s CD před léčbou BoNT-A (B), pacienti s CD po léčbě BoNT-A (C).



Obr. 6. Redukovaná aktivace v kontralaterálním S2 a inzule u pacientů s CD před léčbou BoNT-A (A). Nárůst aktivace v kontralaterálním S2, IPL a inzulárním kortexu následkem BoNT-A léčby u pacientů s CD (B).

3 Závěr

Cílem dizertace bylo pomocí BOLD metody fMRI porovnat senzitivní a motorickou cerebrální aktivaci v okruzích reprezentujících nepostiženou část těla u pacientů s cervikální dystonií a zdravých dobrovolníků. Dalším cílem bylo posouzení změn BOLD aktivace indukovaných léčbou botulotoxinem typu A u pacientů.

Obě prezentované práce, jak první testující náročný pohyb prstů ruky významně závislý na proprioceptivní aferentaci, tak druhá studie s elektrickou somatosenzitivní stimulací, přinesly zobrazovací důkazy, že abnormality senzitivní a motorické aktivace u cervikální dystonie, ale i efekt terapie, je možno detekovat i mimo cerebrální okruhy, které přímo řídí dystonií postiženou část těla.

Aktivace nalezená u pacientů s CD v obou testovaných úlohách byla výrazně redukována ve srovnání se zdravými dobrovolníky. Tento nález by mohl být vysvětlen například vyšší prostorovou interindividuální variabilitou okruhů aktivovaných danou úlohou, která vede k výsledně nižší průměrné skupinové aktivaci.

V případě testované motorické úlohy bylo nalezeno fokální zvýšení magnitudy BOLD signálu v kontralaterálním S2 u pacientů s CD před léčbou ve srovnání s kontrolami. Tento nález může představovat zobrazovací korelát nedostatečné inhibice v S2, která by vzhledem k předpokládaným funkcím této kortikální oblasti mohla přispívat k poruše senzitivně-motorické integrace, což je považováno za jeden z důležitých faktorů patogeneze dystonií.

Centrálním efektem léčby pomocí BoNT-A u pacientů s CD v úloze testující elektrickou stimulaci nervus medianus bylo přiblížení jejich somatosenzitivní kortikální aktivace nálezu u zdravých dobrovolníků. V případě složité motorické úlohy byl efekt terapie vyjádřen při intraskupinovém srovnání poklesem aktivace v SMA

i v PMd a dále sníženou aktivací v oblasti bazálních gangliích oboustranně ve srovnání se zdravými kontrolami. Tyto kortikální a subkortikální oblasti se dle současných představ významnou měrou podílejí na patogenezi dystonií a slouží jako cílové struktury pro různé modalities terapie, jako jsou DBS a repetitivní TMS. Proto je možno předpokládat, že botulotoxin má schopnost, zřejmě prostřednictvím modulace proprioceptivní aferentace, indukovat následné adaptivně-plastické změny v těchto oblastech a do určité míry tak napodobit účinek zmiňovaných terapeutických postupů.

Výsledky našich prací prokazují, že klinický benefit terapie BoNT-A u pacientů trpících fokální dystonií je zřejmě zprostředkován nejen periferními, ale i centrálními mechanismy, a to i v okruzích CNS, které přímo nereprezentují postiženou část těla. Citace našich výsledků společně s diskuzí širších souvislostí patogeneze a léčby fokálních dystonií jsou také obsaženy v recentní přehledné práci (Kaňovský a Rosales, 2011).

V oblasti patogeneze fokálních dystonií zůstává dosud řada nezodpovězených otázek. Mezi ně je možno zahrnout v literatuře popisovaná klinická pozorování dynamických změn svalového vzorce dystonie, které se objevují v průběhu terapie u části pacientů trpících CD a dlouhodobě léčených botulotoxinem (Maia et al., 2010). Tyto změny byly již dříve charakterizovány i elektrofyziologicky a mají pravděpodobně původ v abnormitách motorických programů řídících polohu hlavy (Gelb et al., 1991; Erdal et al., 1999). Mohly by také participovat na změně odpovědi na léčbu botulotoxinem u některých nemocných. Vzhledem k těmto skutečnostem, bychom v našich budoucích experimentech rádi ověřili, zda dlouhodobé změny svalového vzorce dystonie mají také fMRI korelát v senzitivně-motorických okruzích mozku.

4 Souhrn

Etiopatogeneze idiopatických fokálních dystonií není dosud do detailů objasněna. Poznatky z elektrofyziologických, zobrazovacích a behaviorálních studií i klinická pozorování naznačují významnou roli nedostatečné inhibice, dysfunkcí somatosenzitivního systému, poruch senzitivně-motorické integrace a neuroplasticity v okruzích kortex-bazální ganglia-thalamus-kortex. Nejúčinnější terapeutickou modalitu fokálních dystonií představuje v současné době intramuskulární aplikace botulotoxinu (BoNT-A). Kromě dobře známého periferního efektu naznačují některá pozorování i možné centrální účinky tohoto neurotoxinu. Cílem dizertační práce bylo pomocí pomocí BOLD metody funkční magnetické rezonance (fMRI) porovnat senzitivní a motorickou cerebrální aktivaci v okruzích reprezentujících nepostiženou část těla u pacientů s fokální dystonií a zdravých dobrovolníků. Dalším cílem bylo posouzení BOLD změn indukovaných léčbou botulotoxinem typu A u pacientů. Vzhledem ke skutečnosti, že většina informací o patogenezi fokálních dystonií pochází z prací studujících fokální dystonii ruky a data o cervikální dystonii (CD), nejčastějším typu fokálních dystonií, jsou relativně sporadická, rozhodli jsme se studovat tuto klinickou jednotku.

V první studii byla testována motorická úloha, při které byl prováděn náročný pohyb prstů ruky, významně závislý na propioceptivní aferentaci. Pomocí fMRI bylo vyšetřeno 7 pacientů trpících rotační torticollis a 9 zdravých dobrovolníků, vyšetření pacientů bylo opakováno 4 týdny po aplikaci BoNT-A. Tato studie přinesla tři hlavní výsledky. Prvním z nich je nález celkové redukce rozsahu kortikální aktivace vyvolané pohybem ruky spolu s fokálním zvýšením magnitudy BOLD signálu v kontralaterálním sekundárním somatosenzitivním kortexu (S2) u pacientů s CD

před léčbou ve srovnání s kontrolami. Druhým je pozorovaná redukce aktivace v suplementární motorické oblasti (SMA) a dorzálním premotorickém kortexu (PMd) u pacientů s CD po BoNT-A terapii dystonických svalů. Třetím výsledkem je nález snížené aktivace bazálních ganglií na aktivační mapě vyvolané pohybem ruky u pacientů s CD po léčbě botulotoxinem ve srovnání s kontrolami.

V druhé části prezentované práce byla testována somatosenzitivní elektrická stimulace nervus medianus v oblasti zápěstí. V této studii bylo vyšetřeno stejný soubor subjektů, vyšetření pacientů bylo opakováno 4 týdny po aplikaci BoNT-A. Výsledky této funkčně-zobrazovací studie prokázaly oslabení somatosenzitivní aktivace u pacientů s CD ve srovnání se zdravými dobrovolníky. Pacienti trpící CD před léčbou vykazovali po elektrické stimulaci deficientní aktivaci v kontralaterálním S2 a inzule, následná terapie BoNT-A vedla k obnovení BOLD aktivity v těchto kortikálních oblastech spolu se zvýšením aktivace v kontralaterálním dolním lobulus parietalis inferior.

Tyto výsledky představují funkčně-zobrazovací důkaz, že abnormality senzitivně-motorické aktivace se vyskytují i mimo okruhy kontrolující postiženou část těla u CD. Dále tyto studie extendují elektrofyziologická pozorování, že efekty BoNT-A mají korelát i na úrovni CNS a tyto účinky nejsou omezeny na kortikální a subkortikální reprezentaci léčených svalů.

5 Summary

The etiopathogenesis of idiopathic focal dystonias has not been fully elucidated yet. Data from electrophysiological, imaging and behavioral studies as well as clinical observations suggest the importance of insufficient inhibition, disorders of somatosensory system, abnormalities of sensorimotor integration and neuroplasticity within the circuits cortex-basal ganglia-thalamus-cortex. Botulinum toxin type A (BoNT-A) is currently considered to be one of the most effective therapeutic options in the management of focal dystonias. Besides its well-known peripheral effect, several observations also suggest BoNT-A effects at the central nervous system level. The presented thesis had two aims, first to compare sensorimotor network activation beyond the representations of the affected body part using blood oxygenation level dependent (BOLD) functional magnetic resonance imaging (fMRI) in focal dystonia patients and controls, and second, to determine BOLD activation changes induced by BoNT-A therapy in the patients. Considering the fact that the majority of information on pathogenesis of focal dystonias originated from studies on patients with focal hand dystonia, whereas the data about cervical dystonia (CD), the most frequent type of focal dystonia, are relatively limited, we chose to study this clinical entity.

In the first study, a skilled motor task performed with fingers of the unaffected hand was tested. This type of movement was employed for its engagement of proprioceptive afferentation. Seven patients suffering from rotational torticollis and nine healthy controls were examined; the examination was repeated 4 weeks after BoNT-A application into dystonic neck muscles. This experiment brought three main

findings. First, we report reduced overall extent of hand movement-related cortical activation but greater focal BOLD signal change in the contralateral secondary somatosensory cortex (S2) in CD patients compared to controls. Secondly, we have observed reduction of supplementary motor area (SMA) and dorsal premotor cortex (PMd) activations in CD patients following BoNT-A treatment of dystonic muscles. Thirdly, the post-treatment motor activation maps of CD patients show significantly weaker basal ganglia activation compared to controls.

In the second part of the presented work, electrical median nerve stimulation at the wrist was employed. The same group of subjects as in the first study was examined, the examination was repeated 4 weeks after BoNT-A application to dystonic neck muscles. The findings of this imaging study revealed attenuated somatosensory processing in CD patients compared to healthy subjects. CD patients before treatment showed deficient activation in the contralateral S2 and insula following electrical median nerve stimulation and subsequent BoNT-A therapy restored BOLD activity in these cortical areas and increased activation in the contralateral inferior parietal lobule.

These results provide imaging evidence that abnormalities in sensorimotor activation extend beyond circuits controlling the affected body parts in cervical dystonia. The study also supports observations that BoNT-A effect has a correlate at central nervous system level, and such effect may not be limited to cortical and subcortical representations of the treated muscles.

6 **Literatura**

1. Abbruzzese G, Berardelli A. Sensorimotor integration in movement disorders. *Mov Disord* 2003;3:231-40.
2. Abbruzzese G, Berardelli A. Neurophysiological effects of botulinum toxin type A. *Neurotox Res* 2006;9:109-14.
3. Alary F, Simões C, Jousmäki V, Forss N, Hari R. Cortical activation associated with passive movements of the human index finger: an MEG study. *Neuroimage* 2002;15:691-6.
4. Albanese A, Asmus F, Bhatia KP, Elia AE, Elibol B, Filippini G, Gasser T, Krauss JK, Nardocci N, Newton A, Valls-Solé J. EFNS guidelines on diagnosis and treatment of primary dystonias. *Eur J Neurol*. 2011;1:5-18.
5. Ali SO, Thomassen M, Schulz GM, et al. Alterations in CNS activity induced by botulinum toxin treatment in spasmodic dysphonia: an H215O PET study. *J Speech Lang Hear Res* 2006;49:1127-46
6. Altenmüller E, Jabusch HC. Focal dystonia in musicians: phenomenology, pathophysiology and triggering factors. *Eur J Neurol* 2010;17:31-6.
7. Attwell D, Laughlin SB. An energy budget for signaling in the grey matter of the brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 2001;21:1133-45.
8. Attwell D, Iadecola C. The neural basis of functional brain imaging signals. *Trends Neurosci* 2002;25:621-5.

9. Babiloni C, Pizzella V, Gratta CD, Ferretti A, Romani GL. Fundamentals of electroencephalography, magnetoencephalography, and functional magnetic resonance imaging. *Int Rev Neurobiol.* 2009;86:67-80.
10. Backes WH, Mess WH, van Kranen-Mastenbroek V, Reulen JP. Somatosensory cortex responses to median nerve stimulation: fMRI effects of current amplitude and selective attention. *Clin Neurophysiol* 2000;111:1738-44.
11. Bareš M. Léčba dystonií. *Neurol prax* 2009; 10:341-4.
12. Beck S, Schubert M, Richardson SP, Hallett M. Surround inhibition depends on the force exerted and is abnormal in focal hand dystonia. *J Appl Physiol* 2009;107:1513-8.
13. Beckmann CF, Jenkinson M, Smith SM. General multilevel linear modeling for group analysis in FMRI. *Neuroimage* 2003;20:1052-63.
14. Bělohávek O, Kabíčková E, Pozitronová emisní tomografie v diagnostice dětských nádorů. *Klinická onkologie* 2003; Suppl 16, 97-9.
15. Benecke R, Meyer BU, Schönle P, Conrad B. Transcranial magnetic stimulation of the human brain: responses in muscles supplied by cranial nerves. *Exp Brain Res* 1988;3:623-32.
16. Bienenstock EL, Cooper LN, Munro PW. Theory for the development of neuron selectivity: orientation specificity and binocular interaction in visual cortex. *J Neurosci* 1982;2:32-48.
17. Brashear A. The botulinum toxins in the treatment of cervical dystonia. *Semin Neurol* 2001;1:85-90.
18. Breakefield XO, Blood AJ, Li Y, Hallett M, Hanson PI, Standaert DG. The pathophysiological basis of dystonias. *Nat Rev Neurosci* 2008; 9: 222-34.

19. Bressman SB, Sabatti C, Raymond D, de Leon D, Klein C, Kramer PL, Brin MF, Fahn S, Breakefield X, Ozelius LJ, Risch NJ. The DYT1 phenotype and guidelines for diagnostic testing. *Neurology* 2000; 54: 1746-52.
20. Brighina F, Romano M, Giglia G, Saia V, Puma A, Giglia F, Fierro B. Effects of cerebellar TMS on motor cortex of patients with focal dystonia: a preliminary report. *Exp Brain Res* 2009;192:651-6.
21. Butterworth S, Francis S, Kelly E, McGlone F, Bowtell R, Sawle GV. Abnormal cortical sensory activation in dystonia: an fMRI study. *Mov Disord* 2003;18:673-82.
22. Byl NN, Merzenich MM, Jenkins WM. A primate genesis model of focal dystonia and repetitive strain injury: I. Learning-induced dedifferentiation of the representation of the hand in the primary somatosensory cortex in adult monkeys. *Neurology* 1996; 47:508-20.
23. Byl NN, Archer ES, McKenzie A. Focal hand dystonia: effectiveness of a home program of fitness and learning-based sensorimotor and memory training. *J Hand Ther* 2009;22:183-97.
24. Candia V, Rosset-Llobet J, Elbert T, Pascual-Leone A. Changing the brain through therapy for musicians' hand dystonia. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1060:335-42.
25. Ceballos-Baumann AO, Passingham RE, Warner T, Playford ED, Marsden CD, Brooks DJ. Overactive prefrontal and underactive motor cortical areas in idiopathic dystonia. *Ann Neurol* 1995;3:363-72.
26. Classen J, Wolters A, Stefan K, Wycislo M, Sandbrink F, Schmidt A, Kunesch E. Paired associative stimulation. *Suppl Clin Neurophysiol* 2004;57:563-9.
27. Cooke SF, Bliss TV. Plasticity in the human central nervous system. *Brain* 2006; 129:1659-73.

28. Cuny E, Ghorayeb I, Guehl D, Escola L, Bioulac B, Burbaud P. Sensory motor mismatch within the supplementary motor area in the dystonic monkey. *Neurobiol Dis* 2008;2:151-61.
29. Defazio G, Berardelli A, Hallett M. Do primary adult-onset focal dystonias share aetiological factors? *Brain* 2007; 130:1183-93.
30. De Vries PM, Johnson KA, de Jong BM, Gieteling EW, Bohning DE, George MS, Leenders KL. Changed patterns of cerebral activation related to clinically normal hand movement in cervical dystonia. *Clin Neurol Neurosurg* 2008;12:120-8.
31. Disbrow E, Litinas E, Recanzone GH, Padberg J, Krubitzer L. Cortical connections of the second somatosensory area and the parietal ventral area in macaque monkeys. *J Compar Neurol* 2003;462:382-99.
32. Dijkerman HC, de Haan EH. Somatosensory processes subserving perception and action. *Behav Brain Sci* 2007;30:189-201.
33. Di Lazzaro V, Ziemann U, Lemon RN. State of the art: Physiology of transcranial motor cortex stimulation. *Brain Stimul* 2008;1:345-62.
34. Dresel C, Haslinger B, Castrop F, Wohlschlaeger AM, Ceballos-Baumann AO. Silent event-related fMRI reveals deficient motor and enhanced somatosensory activation in orofacial dystonia. *Brain* 2006;1:36-46.
35. Edwards MJ, Huang YZ, Mir P, Rothwell JC, Bhatia KP. Abnormalities in motor cortical plasticity differentiate manifesting and nonmanifesting DYT1 carriers. *Mov. Disord* 2006;21:2181-6.
36. Epidemiologic Study of Dystonia in Europe (ESDE) Collaborative Group. Sex-related influences on the frequency and age of onset of primary dystonia. *Neurology* 1999;53:1871-3.

37. Erbguth FJ. Historical notes on botulism, *Clostridium botulinum*, botulinum toxin, and the idea of the therapeutic use of the toxin. *Mov Disord* 2004;19: S2-S6.
38. Erdal J, Ostergaard L, Fuglsang-Frederiksen A, Werdelin L, Dalager T, Sjö O, Regeur L. Long-term botulinum toxin treatment of cervical dystonia-EMG changes in injected and noninjected muscles. *Clin Neurophysiol* 1999;110:1650-4.
39. Espay AJ, Morgante F, Purzner J, Gunraj CA, Lang AE, Chen R. Cortical and spinal abnormalities in psychogenic dystonia. *Ann Neurol* 2006 59, 825-34.
40. Ferretti A, Babiloni C, Arienzo D, Del Gratta C, Rossini PM, Tartaro A, Romani GL. Cortical brain responses during passive nonpainful median nerve stimulation at low frequencies (0.5-4 Hz): an fMRI study. *Hum Brain Mapp* 2007;28:645-53.
41. Fogassi L, Luppino G. Motor functions of the parietal lobe. *Curr Opin Neurobiol* 2005;15:626-31.
42. Forss N, Jousmäki V. Sensorimotor integration in human primary and secondary somatosensory cortices. *Brain Res* 1998;781:259-67.
43. Francis ST, Kelly EF, Bowtell R, et al. fMRI of the responses to vibratory stimulation of digit tips. *Neuroimage* 2000;11:188-202.
44. Frima N, Nasir J, Grünewald RA. Abnormal vibration-induced illusion of movement in idiopathic focal dystonia: an endophenotypic marker? *Mov Disord* 2008;23:373-7.
45. Fuhr P, Agostino R, Hallett M. Spinal motor neuron excitability during the silent period after cortical stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1991;81:257-62.

46. 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.
47. Gilio F, Curra 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;48:20-26.
48. Hallett M. Neurophysiology of dystonia: The role of inhibition. *Neurobiol Dis* 2011;42:177-84.
49. Hari R, Forss N. Magnetoencephalography in the study of human somatosensory cortical processing. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1999;354:1145-54.
50. Hariz MI. Changes in forearm reciprocal inhibition following pallidal stimulation for dystonia. *Neurology* 2006;66:1091-3.
51. Hauk O, Wakeman D, Henson R. Comparison of noise-normalized minimum norm estimates for MEG analysis using multiple resolution metrics. *Neuroimage* 2011;54:1966-74.
52. Havránková P, Jech R, Walker ND, Operto G, Tauchmanová J, Vymazal J, Dušek P, Hromčík M, Růžička E. Repetitive TMS of the somatosensory cortex improves writer's cramp and enhances cortical activity. *Neuro Endocrinol Lett* 2010;31:73-86.
53. Hu XY, Wang L, Liu H, et al. Functional magnetic resonance imaging study of writer's cramp. *Chin Med J (Engl)* 2006;119:1263-71.
54. Huang YZ, Edwards MJ, Rounis E, Bhatia KP, Rothwell JC. Theta burst stimulation of the human motor cortex. *Neuron* 2005;45:201-6.

55. Huang YZ, Rothwell JC, Edwards MJ, Chen RS. Effect of physiological activity on an NMDA-dependent form of cortical plasticity in human. *Cereb Cortex* 2008;18:563-570.
56. Huttunen J, Wikström H, Korvenoja A, et al. Significance of the second somatosensory cortex in sensorimotor integration: enhancement of sensory responses during finger movements. *Neuroreport* 1996;7:1009-12.
57. Chapleau CA, Larimore JL, Theibert A, Pozzo-Miller L. Modulation of dendritic spine development and plasticity by BDNF and vesicular trafficking: fundamental roles in neurodevelopmental disorders associated with mental retardation and autism. *J Neurodev Disord.* 2009;1:185-96.
58. Chen TL, Babiloni C, Ferretti A, et al. Human secondary somatosensory cortex is involved in the processing of somatosensory rare stimuli: an fMRI study. *Neuroimage* 2008;40:1765-71.
59. Chouinard PA, Paus T. The primary motor and premotor areas of the human cerebral cortex. *Neuroscientist* 2006;2:143-52.
60. Ibanez V, Sadato N, Karp B, Deiber MP, Hallett M. Deficient activation of the motor cortical network in patients with writer's cramp. *Neurology* 1999;53:96-105.
61. Inoue K, Yamashita T, Harada T, et al. Role of human S2 cortices in sensorimotor integration. *Brain Res* 1998;781:259-67.
62. Islam T, Kupsch A, Bruhn H, Scheurig C, Schmidt S, Hoffmann KT. Decreased bilateral cortical representation patterns in writer's cramp: a functional magnetic resonance imaging study at 3.0 T. *Neurol Sci* 2009;30:219-26.
63. Jankovic J. Can peripheral trauma induce dystonia and other movement disorders? Yes! *Mov Disord* 2001;16:7-12.

64. Jenkinson M, Smith S. A global optimisation method for robust affine registration of brain images. *Med Image Anal* 2001;5:143-56.
65. 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.
66. 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.
67. Johansson BB. Brain plasticity in health and disease. *Keio J Med* 2004;53:231-46.
68. Kakigi R, Shimojo M, Hoshiyama M, Koyama S, Watanabe S, Naka D, Suzuki H, Nakamura A. Effects of movement and movement imagery on somatosensory evoked magnetic fields following posterior tibial nerve stimulation. *Brain Res Cogn Brain Res* 1997;3:241-53.
69. Kaňovský P, Streitová H, Dufek J, Rektor I. Lateralization of the P22/N30 component of somatosensory evoked potentials of the median nerve in patients with cervical dystonia. *Mov Disord* 1997;12:553-60.
70. Kaňovský P, Streitová 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;1:108-17.
71. Kaňovský P, Dufek J (Eds.): *Evokované potenciály v klinické praxi*. Brno: IDV PZ 2000.
72. Kaňovský P. Botulotoxin a jeho role v léčbě neurologických onemocnění. *Neurol. praxi* 2001;1:42-46.

73. Kaňovský P. Dystonia: a disorder of motor programming or motor execution? *Mov Disord.* 2002;17:1143-7.
74. Kaňovský P, Bareš M, Streitová H, Klajblová 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;250:42-50.
75. Kaňovský P. Cervikální dystonie. *Cesk Slov Neurol N* 2007;70:358-70.
76. Kaňovský P, Slawek J, Denes Z, Platz T, Comes G, Grafe S, Pulte I. Efficacy and safety of treatment with incobotulinum toxin A (botulinum neurotoxin type A free from complexing proteins; NT 201) in post-stroke upper limb spasticity. *J Rehabil Med* 2011;43:486-92.
77. Kaňovský P, Rosales RL. Debunking the pathophysiological puzzle of dystonia - with special reference to botulinum toxin therapy. *Parkinsonism Relat Disord* 2011;17:S11-4.
78. Kim DY, Oh BM, Paik NJ. Central effect of botulinum toxin type A in humans. *Int J Neurosci* 2006;116:667-80.
79. Kimberley TJ, Borich MR, Prochaska KD, Mundfrom SL, Perkins AE, Poepping JM. Establishing the definition and inter-rater reliability of cortical silent period calculation in subjects with focal hand dystonia and healthy controls. *Neurosci Lett* 2009; 464:84-7.
80. Klein C. Movement disorders: classifications. *J Inherit Metab Dis* 2005; 28: 425-39.
81. Kojovic M, Caronni A, Bologna M, Rothwell JC, Bhatia KP, Edwards MJ. Botulinum toxin injections reduce associative plasticity in patients with primary dystonia. *Mov Disord* 2011;26:1282-9.

82. Krauss JK, Yianni J, Loher TJ, Aziz TZ. Deep brain stimulation for dystonia. *J Clin Neurophysiol* 2004;21:18-30.
83. Kumar R, Dagher A, Hutchison WD, Lang AE, Lozano AM. Globus pallidus deep brain stimulation for generalized dystonia: clinical and PET investigation. *Neurology* 1999;53:871-4.
84. Lacruz F, Artieda J, Pastor MA, Obeso JA. The anatomical basis of somaesthetic temporal discrimination in humans. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1991;54:1077-81.
85. Lerner A, Shill H, Hanakawa T, Bushara K, Goldfine A, Hallett M. Regional cerebral blood flow correlates of the severity of writer's cramp symptoms. *Neuroimage* 2004;21:904-13.
86. Levy LM, Hallett M. Impaired Brain GABA in Focal Dystonia. *Ann Neurol* 2002; 5:93-101.
87. Lin PT, Hallett M. The pathophysiology of focal hand dystonia. *J Hand Ther* 2009;22:109-13.
88. Lovinger DM, Partridge JG, Tang KC. Plastic control of striatal glutamatergic transmission by ensemble actions of several neurotransmitters and targets for drugs of abuse. *Ann NY Acad Sci* 2003;1003:226-40.
89. Luzzati F, De Marchis S, Fasolo A, Peretto P. Adult neurogenesis and local neuronal progenitors in the striatum. *Neurodegenerative Diseases* 2007;4:322-7.
90. Magistretti PJ, Pellerin L. Cellular mechanisms of brain energy metabolism and their relevance to functional brain imaging. *Philos Trans R Soc London B* 1999;354:1155-63.
91. Malenka R, Bear M. LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 2004; 44: 5-21.

92. Maia FM, Kanashiro AK, Chien HF, Gonçalves LR, Barbosa ER. Clinical changes of cervical dystonia pattern in long-term botulinum toxin treated patients. *Parkinsonism Relat Disord* 2010;16:8-11.
93. Manganotti P, Formaggio E, Storti SF, et al. Steady-state activation in somatosensory cortex after changes in stimulus rate during median nerve stimulation. *Magn Reson Imaging* 2009;27:1175-86.
94. Matthews PM, Jezzard P. Functional magnetic resonance imaging. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004;75:6-12.
95. Mazzini L, Schiepatti M. Activation of the neck muscles from the ipsi- or contralateral hemisphere during voluntary head movements in humans: a reaction-time study. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1992;85:183-9.
96. Mazzini L, Zaccala M, Balzarini C. Abnormalities of somatosensory evoked potentials in spasmodic torticollis. *Mov Disord* 1994;9:426-30.
97. McDonnell MN, Thompson PD, Ridding MC. The effect of cutaneous input on intracortical inhibition in focal task-specific dystonia. *Mov. Disord* 2007;22:1286–92.
98. McKenzie AL, Nagarajan SS, Roberts TP, Merzenich MM, Byl NN. Somatosensory representation of the digits in clinical performance in patients with focal hand dystonia. *Am J Phys Med Rehabil* 2003;82:737-49.
99. McKenzie AL, Goldman S, Barrango C, Shrimme M, Wong T, Byl N. Differences in physical characteristics and response to rehabilitation for patients with hand dystonia: musicians' cramp compared to writers' cramp. *J Hand Ther* 2009;22:172-81.
100. Meunier S, Garnero L, Ducorps A, Mazières L, Lehericy S, du Montcel ST, Renault B, Vidailhet M. Human brain mapping in dystonia reveals both endophenotypic traits and adaptive reorganization. *Ann. Neurol* 2001;50:521-7.

101. Mink JW. The basal ganglia: focused selection and inhibition of competing motor programs. *Prog. Neurobiol* 1996;50:381-425.
102. Mink JW. The Basal Ganglia and involuntary movements: impaired inhibition of competing motor patterns. *Arch Neurol* 2003;60:1365-8.
103. Molloy FM, Carr TD, Zeuner KE, Dambrosia JM, Hallett M. Abnormalities of spatial discrimination in focal and generalized dystonia. *Brain* 2003;126:2175-82.
104. Murase N, Kaji R, Shimazu H, Katayama-Hirota M, Ikeda A, Kohara N, Kimura J, Shibasaki H, Rothwell JC. Abnormal premovement gating of somatosensory input in writer's cramp. *Brain*. 2000;123:1813-29.
105. Murase N, Rothwell JC, Kaji R, Urushihara R, Nakamura K, Murayama N, Igasaki T, Sakata-Igasaki M, Mima T, Ikeda A, Shibasaki H. Subthreshold low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation over the premotor cortex modulates writer's cramp. *Brain* 2005;128:104–15.
106. Nagai M, Kishi K, Kato S. Insular cortex and neuropsychiatric disorders: a review of recent literature. *Eur Psychiatry* 2007;22:387-94.
107. Nakashima K, Rothwell JC, Day BL, Thompson PD, Shannon K, Marsden CD. Reciprocal inhibition between forearm muscles in patients with writer's cramp and other occupational cramps, symptomatic hemidystonia and hemiparesis due to stroke. *Brain* 1989;113:681-97.
108. Naumann M, Magyar-Lehmann S, Reiners K, Erbguth F, Leenders KL. Sensory tricks in cervical dystonia: perceptual dysbalance of parietal cortex modulates frontal motor programming. *Ann Neurol* 2000; 47:322-8.
109. Nelson AJ, Blake DT, Chen R. Digit-specific aberrations in the primary somatosensory cortex in writer's cramp. *Ann Neurol* 2009;66:146-54.

110. Obermann M, Yaldizli O, de Greiff A, Konczak J, Lachenmayer ML, Tumczak F, Buhl AR, Putzki N, Vollmer-Haase J, Gizewski ER, Diener HC, Maschke M. Increased basal-ganglia activation performing a non-dystonia-related task in focal dystonia. *Eur J Neurol* 2008;8:831-8.
111. Obermann M, Vollrath C, de Greiff A, Gizewski ER, Diener HC, Hallett M, Maschke M. Sensory disinhibition on passive movement in cervical dystonia. *Mov Disord.* 2010;25:2627-33.
112. Odergren T, Rimpiläinen I. Activation and suppression of the sternocleidomastoid muscle induced by transcranial magnetic stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1996;101:175-80.
113. O'Dwyer JP, O'Riordan S, Saunders-Pullman R, Bressman SB, Molloy F, Lynch T, Hutchinson M. Sensory abnormalities in unaffected relatives in familial adult-onset dystonia. *Neurology* 2005;65:938–40.
114. Oestergaard L, Fuglsang-Fredriksen A, Werdelin L, Sji O, Winkel H. Quantitative EMG in botulinum toxin treatment of cervical dystonia: a double-blind, placebo controlled study. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1994;93:434-439.
115. Oga T, Honda M, Toma K, Murase N, Okada T, Hanakawa T, Sawamoto N, Nagamine T, Konishi J, Fukuyama H, Kaji R, Shibasaki H. Abnormal cortical mechanisms of voluntary muscle relaxation in patients with writer's cramp: an fMRI study. *Brain* 2002;125:895-903.
116. Ogawa S, Lee TM, Kay AR, Tank DW. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:9868-72.
117. Ozelius LJ, Bressman SB. Genetic and clinical features of primary torsion dystonia. *Neurobiol Dis* 2011;42:1 27-35.

118. Pastor MA, Day BL, Macaluso E, Friston KJ, Frackowiak RS. The functional neuroanatomy of temporal discrimination. *J Neurosci* 2004;24:2585–2591.
119. Pauling L, Coryell C. The magnetic properties and structure of hemoglobin, oxyhemoglobin and carbon monoxyhemoglobin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1936;22:210–16.
120. Peller M, Zeuner KE, Munchau A, Quartarone A, Weiss M, Knutzen A, Hallett M, Deuschl G, Siebner HR. The basal ganglia are hyperactive during the discrimination of tactile stimuli in writer's cramp. *Brain* 2006;129:2697-708.
121. Pelosin E, Bove M, Marinelli L, Abbruzzese G, Ghilardi MF. Cervical dystonia affects aimed movements of nondystonic segments. *Mov Disord* 2009;13:1955-61.
122. Peterson DA, Sejnowski TJ, Poizner H. Convergent evidence for abnormal striatal synaptic plasticity in dystonia. *Neurobiol Dis* 2010;37: 558-73.
123. Poldrack RA. Imaging brain plasticity: conceptual and methodological issues - a theoretical review. *Neuroimage* 2000;12:1-13.
124. Pozo K, Goda Y. Unraveling mechanisms of homeostatic synaptic plasticity. *Neuron* 2010;66:337-51.
125. Preibisch C, Berg D, Hofmann E, Solymosi L, Naumann M. Cerebral activation patterns in patients with writer's cramp: a functional magnetic resonance imaging study. *J Neurol* 2001;248:10-17.
126. Putzki N, Stude P, Konczak J, Graf K, Diener HC, Maschke M. Kinesthesia is impaired in focal dystonia. *Mov Disord* 2006;21,754-60.
127. Quartarone A, Bagnato S, Rizzo V, Siebner HR, Dattola V, Scalfari A, Morgante F, Battaglia F, Romano M, Girlanda P. Abnormal associative plasticity of the human motor cortex in writer's cramp. *Brain* 2003;12: 2586-96.

128. Quartarone A, Rizzo V, Bagnato S, Morgante F, Sant'Angelo A, Romano M, Crupi D, Girlanda P, Rothwell JC, Siebner HR. Homeostatic-like plasticity of the primary motor hand area is impaired in focal hand dystonia. *Brain* 2005;128, 1943-50.
129. Quartarone A, Sant'Angelo A, Battaglia F, Bagnato S, Rizzo V, Morgante F, Rothwell JC, Siebner HR, Girlanda P. Enhanced longterm potentiation-like plasticity of the trigeminal blink reflex circuit in blepharospasm. *J Neurosci*. 2006;26:716-21.
130. Quartarone A, Morgante F, Sant'angelo A, Rizzo V, Bagnato S, Terranova C, Siebner HR, Berardelli A, Girlanda P. Abnormal plasticity of sensorimotor circuits extends beyond the affected body part in focal dystonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008; 79, 985-90.
131. Quartarone A, Classen J, Morgante F, Rosenkranz K, Hallett M. Consensus paper: Use of transcranial magnetic stimulation to probe motor cortex plasticity in dystonia and levodopa-induced dyskinesia. *Brain Stimulation* 2009a;2:108-17.
132. Quartarone A, Rizzo V, Terranova C, Morgante F, Schneider S, Ibrahim N, Girlanda P, Bhatia KP, Rothwell JC. Abnormal sensorimotor plasticity in organic but not in psychogenic dystonia. *Brain* 2009b;132:2871-7.
133. Quartarone A, Pisani A. Abnormal plasticity in dystonia: Disruption of synaptic homeostasis. *Neurobiol Dis* 2011;42:162-70.
134. Ridding MC, Sheean G, Rothwell JC, Inzelberg R, Kujirai T. Changes in the balance between motor cortical excitation and inhibition in focal, task specific dystonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1995;59:493-8.
135. 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;1:118-36.

136. Rosales RL, Dressler D. On muscle spindles, dystonia and botulinum toxin. *Eur J Neurol* 2010;17:S71-80.
137. Rosenkranz K, Williamon A, Butler K, Cordivari C, Lees AJ, Rothwell JC. Pathophysiological differences between musician's dystonia and writer's cramp. *Brain* 2005;125:918-31.
138. Rosenkranz K, Williamon A, Rothwell JC. Motorcortical excitability and synaptic plasticity is enhanced in professional musicians. *J. Neurosci* 2007;27:5200-6.
139. Rothwell JC, Huang YZ. Systems-level studies of movement disorders in dystonia and Parkinson's disease. *Curr Opin Neurobiol* 2003; 13:691-5.
140. Ruge D, Tisch S, Hariz MI, Zrinzo L, Bhatia KP, Quinn NP, Jahanshahi M, Limousin P, Rothwell JC. Deep brain stimulation effects in dystonia: Time course of electrophysiological changes in early treatment. *Mov Disord* 2011, 26:1913-21.
141. Sanger TD, Garg RR, Chen R. Interactions between two different inhibitory systems in the human motor cortex. *J Physiol* 2001;530:307-17.
142. Schneider SA, Pleger B, Draganski B, Cordivari C, Rothwell JC, Bhatia KP, Dolan RJ. Modulatory effects of 5Hz rTMS over the primary somatosensory cortex in focal dystonia-an fMRI-TMS study. *Mov Disord* 2010;25:76-83.
143. Scontrini A., Conte A, Defazio G, Fiorio M, Fabbrini G, Suppa A, Tinazzi M, Berardelli A. Somatosensory temporal discrimination in patients with primary focal dystonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009;80:1315-19.
144. Siggelkow S, Kossev A, Moll C, Däuper J, Dengler R, Rollnik JD. Impaired sensorimotor integration in cervical dystonia: a study using transcranial magnetic stimulation and muscle vibration. *J Clin Neurophysiol* 2002;3:232-9.

145. Simpson DM, Blitzer A, Brashear A, Comella C, Dubinsky R, Hallett M, Jankovic J, Karp B, Ludlow CL, Miyasaki JM, Naumann M. Assessment: Botulinum neurotoxin for the treatment of movement disorders (an evidence-based review): report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2008;70:1699-706.
146. Smith SM, Jenkinson M, Woolrich MW, Beckmann CF, Behrens TE, Johansen-Berg H, Bannister PR, De Luca M, Drobnjak I, Flitney DE, Niazy RK, Saunders J, Vickers J, Zhang Y, De Stefano N, Brady JM, Matthews PM. Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *Neuroimage* 2004;23:S208-19.
147. Sohn YH, Hallett M. Surround inhibition in human motor system. *Exp Brain Res* 2004a;158:397-404.
148. Sohn YH, Hallett M. Disturbed surround inhibition in focal hand dystonia. *Ann Neurol* 2004b;56:595-9.
149. Solodkin A, Hluštík P, Chen EE, Small SL. Modulation in network activation during motor execution and motor imagery. *Cereb Cortex* 2004;14:1246-55.
150. Stinear CM, Byblow WD. Elevated threshold for intracortical inhibition in focal hand dystonia. *Mov Disord* 2004;19:1312-17.
151. St Lawrence KS, Ye FQ, Lewis BK, Frank JA, McLaughlin AC. Measuring the effects of indomethacin on changes in cerebral oxidative metabolism and cerebral blood flow during sensorimotor activation. *Magn Reson Med* 2003;50:99-106.
152. Tamura Y, Matsushashi M, Lin P, Ou B, Vorbach S, Kakigi R, Hallett M. Impaired intracortical inhibition in the primary somatosensory cortex in focal hand dystonia. *Mov Disord* 2008;23:558-65.

153. Tamura Y, Ueki Y, Lin P, Vorbach S, Mima T, Kakigi R, Hallett M. Disordered plasticity in the primary somatosensory cortex in focal hand dystonia. *Brain* 2009;132:749-55.
154. Tamburin S, Manganotti P, Marzi CA, Fiaschi A, Zanette G. Abnormal somatotopic arrangement of sensorimotor interactions in dystonic patients. *Brain* 2002;125: 2719-30
155. Tanji J. New concepts of the supplementary motor area. *Curr Opin Neurobiol* 1996;6:782-7.
156. Tassorelli C, Mancini F, Balloni L, Pacchetti C, Sandrini G, Nappi G, Martignoni E. Botulinum toxin and neuromotor rehabilitation: An integrated approach to idiopathic cervical dystonia. *Mov Disord* 2006;21:2240-3.
157. Thickbroom GW, Byrnes ML, Stell R, Mastaglia FL. Reversible reorganisation of the motor cortical representation of the hand in cervical dystonia. *Mov Disord*. 2003;18:395-402.
158. Tinazzi M, Rosso T, Fiaschi A. Role of the somatosensory system in primary dystonia. *Mov Disord* 2003;18:605-22.
159. Tinazzi M, Farina S, Edwards M, Moretto G, Restivo D, Fiaschi A, Berardelli A. Task-specific impairment of motor cortical excitation and inhibition in patients with writer's cramp. *Neurosci Lett* 2005a;378:55-8.
160. Tinazzi M, Farina S, Bhatia K, Fiaschi A, Moretto G, Bertolasi L, Zarattini S, Smania N. TENS for the treatment of writer's cramp dystonia: a randomized, placebo-controlled study. *Neurology* 2005b;64:1946-8.
161. Tinazzi M, Fiorio M, Fiaschi A, Rothwell JC, Bhatia KP. Sensory functions in dystonia: insights from behavioral studies. *Mov Disord* 2009;24:1427-36.

162. Tisch S, Limousin P, Rothwell JC, Asselman P, Zrinzo L, Jahanshahi M, Bhatia KP, Hariz MI. Changes in forearm reciprocal inhibition following pallidal stimulation for dystonia. *Neurology* 2006;66:1091-3.
163. Torres-Russotto D, Perlmutter JS. Task-specific dystonias a review. *Ann N Y Acad Sci* 2008;1142:179-99.
164. Tsui JK, Eisen A, Stoessl AJ, Calne S, Calne DB. Double-blind study of botulinum toxin in spasmodic torticollis. *Lancet* 1986;8501:245-7.
165. Thompson ML, Thickbroom GW, Mastaglia FL. Corticomotor representation of the sternocleidomastoid muscle. *Brain* 1997;2:245-55.
166. Turrigiano GG, Nelson SB. Homeostatic plasticity in the developing nervous system. *Nat Rev Neurosci* 2004;5:97-107.
167. Valls-Solé J, Pascual-Leone A, Wassermann EM, Hallett M. Human motor evoked responses to paired transcranial magnetic stimuli. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1992;85:355-64.
168. Vitek JL, Zhang J, Evatt M, Mewes K, DeLong MR, Hashimoto T. GPi pallidotomy for dystonia: clinical outcome and neuronal activity. *Adv. Neurol* 1998;78:211-9.
169. Vitek JL. Pathophysiology of dystonia: a neuronal model. *Mov Disord* 2002;17:S49-S62.
170. Walsh R, Hutchinson M. Molding the sensory cortex: spatial acuity improves after botulinum toxin for cervical dystonia. *Mov Disord* 2007;22:2443-6.
171. Ward NS, Brown MM, Thompson AJ, Frackowiak RS. Neural correlates of outcome after stroke: a cross-sectional fMRI study. *Brain* 2003;126:1430-48.

172. Wasaka T, Nakata H, Akatsuka K, Kida T, Inui K, Kakigi R. Differential modulation in human primary and secondary somatosensory cortices during the preparatory period of self-initiated finger movement. *Eur J Neurosci* 2005;22:1239-47.
173. 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.
174. Weise D, Schramm A, Stefan K, Wolters A, Reiners K, Naumann M, Classen J. The two sides of associative plasticity in writer's cramp. *Brain* 2006;129:2709-21.
175. Werhahn KJ, Kunesch E, Noachtar S, Benecke R, Classen J. Differential effects on motorcortical inhibition induced by blockade of GABA uptake in humans. *J Physiol* 1999;517: 591-7.
176. Woolrich MW, Ripley BD, Brady M, Smith SM. Temporal autocorrelation in univariate linear modeling of FMRI data. *Neuroimage* 2001;6:1370-86.
177. 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.
178. Woolrich M. Robust group analysis using outlier inference. *Neuroimage* 2008;41:286-301.
179. Worsley KJ. Statistical analysis of activation images. Ch 14, in *Functional MRI: An Introduction to Methods*, eds. Jezzard P, Matthews PM and Smith SM. OUP, 2001.
180. Wu CC, Fairhall SL, McNair NA, Hamm JP, Kirk IJ, Cunnington R, Anderson T, Lim VK. Impaired sensorimotor integration in focal hand dystonia patients in the absence of symptoms. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2010;81:659-65.

181. Yamamoto J, Ikeda A, Matsubishi M, Satow T, Takayama M, Ohara S, Matsumoto R, Mikuni N, Takahashi J, Miyamoto S, Taki W, Hashimoto N, Shibasaki H. Seizures arising from the inferior parietal lobule can show ictal semiology of the second sensory seizure (S2 seizure). *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003;74:367-9.
182. Yokochi H, Tanaka M, Kumashiro M, Iriki A. Inferior parietal somatosensory neurons coding face-hand coordination in Japanese macaques. *Somatosens Mot Res* 2003;20:115-25.
183. Ziemann U, Hallett M, Cohen LG. Mechanisms of deafferentation-induced plasticity in human motor cortex. *J Neurosci* 1998;18:7000-7.
184. Ziemann U, Paulus W, Nitsche MA, Pascual-Leone A, Byblow WD, Berardelli A, Siebner HR, Classen J, Cohen LG, Rothwell JC. Consensus: Motor cortex plasticity protocols. *Brain Stimul* 2008;1:164-82.

7 Publikace

7.1. Práce související s dizertační prací

7.1.1. Původní vědecké publikace uveřejněné in extenso v recenzovaných časopisech s IF

Opavský R, Hlušík P, Otruba P, Kaňovský P. Somatosensory Cortical Activation in Cervical Dystonia and Its Modulation With Botulinum Toxin: An fMRI Study. Int J Neurosci 2012; 122:45-52. **IF₂₀₀₉=0,884**

Opavský R, Hlušík 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. **IF₂₀₁₀=2,167**

7.1.2. Přehledné vědecké práce uveřejněné v ostatních recenzovaných vědeckých časopisech

Opavský R, Hlušík P, Kaňovský P. Cortical plasticity and its implications for focal hand dystonia. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub 2006;150:223-6.

7.1.3. Publikovaná abstrakta

Nevrlý M, Hlušík P, Otruba P, **Opavský R**, Kaňovský P. Centrální efekt botulotoxinu u pacientů s cervikální dystonií. Studie funkční MR. Cesk Slov Neurol N 2011;74:S85

Hluštík P, **Opavský R**, Veverka T, Nevrlý M, Farníková K, Otruba P, Kaňovský P. Léčbou indukovaná změna kortikální aktivace - fMR průkaz centrálního efektu botulotoxinu. *Cesk Slov Neurol N* 2011;74:S110.

Kaňovský P, **Opavský R**, Hluštík P. From the change of muscular pattern to the change of cortical activation - evidence of the central mechanism of idiopathic dystonia. *Cesk Slov Neurol N* 2010;73:S106.

Hluštík P, **Opavský R**, Otruba P, Herzig R, Kaňovský P. (2010). Sensorimotor cortical changes after botulinum toxin therapy for cervical dystonia: A functional MRI study. *Neurology* 2010;74:S152.

Opavský R, Hluštík P, Kaňovský P. Sensorimotor cortical processing changes following botulinum toxin therapy in cervical dystonia: evidence from functional MRI. *European Journal of Neurology* 2009;16:S183.

Nevrlý M, **Opavský R**, Otruba P, Vranová H, Hluštík P, Kaňovský P. Somatosensory Cortex Activation Changes after Botulinum Toxin Type A Injections in Post-Stroke Spasticity. *Neurology* 2009;72:S110.

Nevrlý M, **Opavský R**, Otruba P, Vranová H, Hluštík P, Kaňovský P. Post stroke spasticity: Somatosensory cortex activation changes after botulinum toxin type A injections. *Movement Disorders* 2009;23:S454.

Opavský R, Otruba P, Hluštík P, Herzig R, Kaňovský P. The effect of botulinum toxin type A therapy on cortical somatosensory evoked potentials in patients with upper limb spasticity. *J Neurol* 2007;254:S121-2.

Opavský R, Otruba P, Hluštík P, Kaňovský P. Centrální efekt botulotoxinu typu A u pacientů se spasticitou horní končetiny reprezentovaný změnou somatosensorických evokovaných potenciálů. *Neurologie pro praxi* 2007 (Supplementum B);8:13.

7.1.4. Přednášky

Opavský R. Centrální účinky terapie botulotoxinem typu A u pacientů s cerebrální

plasticitou - pilotní studie. Konference vědeckých prací studentů DSP na LF UP v Olomouci. Zář 2007.

Opavský R. Poruchy senzomotorické integrace u cervikální dystonie a jejich ovlivnění

terapií botulotoxinem typu A – fMRI studie. Přednáškové odpoledne postgraduálních studentů Neurologické kliniky LF UP Olomouc. Prosinec 2007

Opavský R, Hluštík P., Otruba P., Kaňovský P. Sensorimotor cortical processing changes following botulinum toxin therapy in cervical dystonia: Evidence from functional MRI.

Mezinárodní workshop funkční magnetické rezonance v Olomouci. Březen 2011.

Opavský R, Hluštík P., Otruba P., Kaňovský P. Somatosensory cortical activation in cervical dystonia its modulation with botulinum toxin: fMRI study. Mezinárodní workshop funkční magnetické rezonance v Olomouci. Březen 2011.

7.2. Ostatní publikace

7.2.1. Původní vědecké publikace uveřejněné in extenso v recenzovaných časopisech s IF

Oliver R, **Opavský R**, Vysloužil M, Greenwood R, Rothwell JC. The role of the cerebellum in 'real' and 'imaginary' line bisection explored with 1-Hz repetitive transcranial magnetic stimulation. Eur J Neurosci. 2011;33:1724-32. **IF₂₀₁₁=3,765**

Opavský R, Otruba P, Vysloužil M, Král M, Hluštík P, Kaňovský P. Spasticita horní končetiny – modulace terapií botulotoxinem typu A a odraz v kortikální somatosenzitivní aktivaci. Cesk Slov Neurol N 2011;74: 54-9. **IF₂₀₁₀=0,393**

Sládková V, Mareš J, Luběnová B, Obereignerů K, **Opavský R**, Kaňovský P. Léky navozený systémový lupus erythematoses při terapii interferonem beta-1b-kazuistika. Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie 2008;71:487-9. **IF₂₀₀₈=0,319**

Mareš J, Herzig R, Urbánek K, Sládková V, **Opavský R**, Hlušík P, Kollárová K, Podivínský J, Sklenářová J, Bekárek V, Schneiderka P, Zapletalová J, Kaňovský P. Korelace mezi indexem IgG a oligoklonálními pásy při CSF vyšetření u pacientů s roztroušenou sklerózou. Cesk Slov Neurol N 2007;70:392-4. **IF₂₀₀₇=0,037**

7.2.2. Původní vědecké publikace in extenso uveřejněné v ostatních recenzovaných vědeckých časopisech

Ditrichová D, Kolářová H, **Opavský R**: Cytotoxicita a fototoxicita ftalocyaninů (experimentální práce). Čs Derm 1999;74:206-8.

7.2.3. Přehledné vědecké práce uveřejněné v ostatních recenzovaných vědeckých časopisech

Opavský R. Postherpetická neuralgie a její léčba. Dermatol. praxi 2009;3:34–6.

Opavský R, Herzig R., Kaňovský P. Herpetické infekce centrální nervové soustavy. Neurol. pro Praxi 2008;9:87-90.

7.2.4. Publikovaná abstrakta

Bártková A, **Opavský R**, Šantavá A. CADASIL: migraine with aura, stroke like episodes and Reynaud's phenomenon in the clinical picture. European Journal of Neurology 2010;17: S610.

Mareš J, Herzig R, Urbánek K, Sládková V, **Opavský R**, Luběnová B, Kaňovský P. Intrathecal synthesis measured by the immunoglobulin G index and oligoclonal bands in patients with multiple sclerosis. A correlation study. *Multiple Sclerosis* 2009;S2:82.

Sládková V, Mareš J, Luběnová B, Kollárová K, **Opavský R**, Kaňovský P. Likvorové markery neurodegenerace u nemocných s roztroušenou mozkomíšní sklerózou. *Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie* 2008;71:S71.

Král M, Školoudík D, **Opavský R**, Šaňák D, Vlachová I, Herzig R. Systemic thrombolysis and sonothrombolysis in management of ischemic stroke occurred during an attack of migraine: a case report. *European Journal of Neurology* 2008;15:S257.

Školoudík D, Král M, **Opavský R**, Šaňák D, Vlachová I, Herzig R, Kaňovský P. Sonotrombolýza ischemického migrenózního infarktu – kazuistika. *Neurologia* 2007;2:S39.

Král M, Herzig R, Olivier P, Šaňák D, Bachleda P, Utíkal P, Buřval S, Školoudík D, Vlachová I, Bártková A, **Opavský R**, Hlušík P, Kaňovský P, Michel P. Ischaemic stroke due to acute internal carotid artery occlusion: comparison of 1-year clinical outcome in patients treated by emergent carotid disobliteration versus intravenous trombolysis. *J Neurol* 2007; 254:S32.

Opavský R, Školoudík D, Král M, Kaňovský P. Systemic rt-PA and sonothrombolysis in management of stroke associated with migraine – case report. *Cephalalgia* 2007; 6:744.

Opavský R: Recidivující myelitida jako projev systémového onemocnění pojiva – kazuistika. *Neurol pre prax* 2006;7:S36.

Opavský R, Herzig R, Kaňovský P: Recurrent transverse myelitis - symptom of the smouldering systemic lupus erythematosus. *J Neurol* 2006;253:S119-20.

Bártková A, **Opavský R**, Hutýra M, Šaňák D, Vlachová I, Křupka B, Herzig R, Sovová E, Kaňovský P: Heart impairment in the antiphospholipid syndrome and stroke. *J Neurol* 2006; 253:S138-9.



Sensorimotor network in cervical dystonia and the effect of botulinum toxin treatment: A functional MRI study

Robert Opavský*, Petr Hlušík, Pavel Otruba, Petr Kaňovský

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

ARTICLE INFO

Article history:

Received 23 January 2011
Received in revised form 18 March 2011
Accepted 24 March 2011
Available online 13 April 2011

Keywords:

Cervical dystonia
Functional MRI
Sensorimotor cortex
Basal ganglia
Botulinum toxin
Sensorimotor integration

ABSTRACT

Background: The evidence suggests that the origin of primary dystonia is at least partly associated with widespread dysfunction of the basal ganglia and cortico–striato–thalamo–cortical circuits. The aim of the study was to assess the sensorimotor activation pattern outside the circuits controlling the affected body part in cervical dystonia, as well as to determine task-related activation changes induced by botulinum toxin type A (BoNT-A) treatment.

Methods: Seven patients suffering from cervical dystonia and nine healthy controls were examined with functional MRI during skilled hand motor task; the examination was repeated 4 weeks after BoNT-A application to dystonic neck muscles.

Results: Functional MRI data demonstrated overall reduced extent of hand movement-related cortical activation but greater magnitude of blood oxygenation level dependent signal change in the contralateral secondary somatosensory cortex in patients compared to controls. Effective BoNT-A treatment led to reduced activation of the ipsilateral supplementary motor area and dorsal premotor cortex in patients. The patients' post-treatment sensorimotor maps showed significantly smaller basal ganglia activation compared to controls.

Conclusions: These results provide imaging evidence that abnormalities in sensorimotor activation extend beyond circuits controlling the affected body parts in cervical dystonia. The study also supports observations that BoNT-A effect has a correlate at central nervous system level, and such effect may not be limited to cortical and subcortical representations of the treated muscles.

© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Cervical dystonia (CD) is the most common form of focal dystonia characterized by involuntary sustained contractions of the neck muscles resulting in abnormal rotation or tilt of the head into specific directions [1]. The pathophysiology of CD and other focal dystonias has not been fully elucidated so far.

Results from neurophysiological and morphological studies suggest a significant contribution of the basal ganglia and thalamus in the development of focal dystonias [2]. Recently, it has become clear that the role of the basal ganglia extends beyond motor control into cognitive and sensory functions as well as in sensorimotor integration [3].

Converging data from both functional imaging and electrophysiological experiments in dystonic patients also suggest functional abnormalities in premotor and primary sensorimotor cortical areas together with aberrant sensorimotor integration, which is considered to be a crucial factor for the development of focal dystonia [3–5]. However, the published studies differ in terms of observed hypo- and hyperactivation in these cortical areas. Differences among task conditions, including

testing of dystonia-affected and unaffected body parts can partly explain this variance. It is also a matter of debate whether different types of primary dystonias share identical pathophysiological traits [6].

This evidence together indicates that primary dystonia is associated with sensorimotor dysfunction in the basal ganglia and cortico–striato–thalamo–cortical motor circuits [2,3] and several studies suggested that these abnormalities extend beyond the sensorimotor circuits controlling manifestly affected body parts [7–9].

Botulinum toxin type A (BoNT-A) is currently considered to be one of the most effective therapeutic options in the management of focal dystonias [10]. Clinical effect of BoNT-A on dystonia is assumed to be mediated by dynamic changes at multiple levels of the sensorimotor system, from the neuromuscular junction [11] up to the cerebral cortex, as documented by previous behavioral and electrophysiological studies [7,8].

To compare sensorimotor network beyond representation of affected body part in CD patients and normal controls and the possible cortical changes induced by BoNT-A treatment, we employed functional MRI (fMRI) and a skilled motor task performed with the unaffected hand.

2. Subjects and methods

Seven cervical dystonia patients (1 male and 6 females; aged 53.1 ± 8.2 years, range 36–58 years) were recruited from the Movement Disorders Center at the Department of Neurology, University Hospital,

* Corresponding author at: Dept. of Neurology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University and University Hospital, I.P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc, Czech Republic. Tel.: +420 588443401; fax: +420 585428201.
E-mail address: robert.opavsky@centrum.cz (R. Opavský).

Olomouc, Czech Republic. All suffered from cervical dystonia manifesting with rotational torticollis (3 left-sided and 4 right-sided) and were good responders to BoNT-A. Demographic and clinical characteristics of patient group are given in Table 1.

Nine healthy controls (2 males and 7 females, aged 55.2 ± 6 years, range 28–63 years) without history of neurological or psychiatric disease were recruited from the community to be sex- and age-matched to the patients. All patients and controls were right handed (Edinburgh Handedness Inventory, patients 93.6 ± 4.1 and controls 91.2 ± 5.7), and conventional brain MRI was normal in all subjects.

All patients and controls were well acquainted with the study contents and examination methods and provided written informed consent prior to enrollment. The study was conducted according to the Declaration of Helsinki 1975 (5th revision 2000, clarifications 2002 and 2004) and approved by the local ethics committee of our hospital.

2.1. Behavioral assessment

The severity of cervical dystonia was determined using the Tsui score [12] at two timepoints: week 0, when patients were screened, enrolled and treated with BoNT-A and at week 5, always on the day of the fMRI session.

2.2. Treatment

All patients were treated with botulinum toxin type A (Botox; Allergan, Inc, Irvine, CA, USA), which was injected at week 0 following the fMRI session into cervical muscles, based on the previous polymyographic examination. BoNT-A was used at a concentration of 25 U/ml.

The details of the polymyographic examination and BoNT-A application have been described in our previous work [8].

2.3. Functional MRI tasks

During the fMRI examination, subjects performed a skilled finger movement with their eyes closed: the thumb must in succession briefly touch the index finger twice, the middle finger once, the ring finger three times and the little finger twice, then the movement order is reversed. This task, originally employed by Roland et al., was used for its engagement of proprioception and a proven capacity to activate both primary and higher sensorimotor cortical areas [13]. Prior to the functional brain imaging session, the subjects practiced the task for approximately 10 min.

The tested extremity in all cervical dystonia patients was ipsilateral to the direction of the head deviation, in order to test hemisphere containing the primary sensorimotor cortical representations of the dystonic muscles.

During MR imaging, participants were lying supine and instructed to keep still and not to offer any resistance to dystonic head rotation. Pre-recorded voice instructions to initiate and terminate active finger movement, were presented using E-Prime software (Psychology Software Tools, Pittsburgh, PA, U.S.A.) and provided in MR-compatible headphones. In a block paradigm, active finger movements (7.5 s) alternated with rest

(7.5 s) for a total of 4 min. Each participant had 2 such runs with the same hand. Task performance was visually monitored.

In all cervical dystonia patients, the first fMRI session (at week 0) was scheduled at least 4 months after previous BoNT-A treatment. At this time, the absence of BoNT-A effect is expected [14]. The same day, after the fMRI session, BoNT-A was locally administered. The second fMRI examination followed after 4 weeks, when the maximal clinical effect is expected [14].

In a group of controls, a single fMRI examination was carried out, always testing the dominant right hand.

2.4. 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 repetition time/echo time = 2500/40 ms, field of view = 220 mm to provide 3.4-mm × 3.4-mm × 5.0-mm resolution. In total, 96 images were acquired per each 4-minute functional run, giving 192 images per session. Subject's head was immobilized with cushions.

2.5. Analysis

Prior to fMRI analysis, the imaging data of 3 patients with tested left hand were flipped in the left–right direction to allow group analysis [15]. fMRI data pre-processing and analysis were carried out using FSL, the FMRIB's software library ([16]; <http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl>). fMRI data analysis was performed with FEAT (FMRIB Expert Analysis Tool), version 5.91. The following pre-statistics processing was applied: motion correction using FMRIB's MCFLIRT; slice-timing correction using Fourier space time-series phase-shifting; nonbrain removal using FMRIB's BET; spatial smoothing using a Gaussian kernel of 8-mm full width at half-maximum; grand-mean intensity normalization by a single multiplicative factor; and high-pass temporal filtering (Gaussian weighted least-squares straight-line fitting, with sigma = 15.0 s). Time-series statistical analysis was carried out using FMRIB's FILM with local autocorrelation correction. Registration to high-resolution structural and/or standard space images was carried out using FMRIB's FLIRT.

Higher-level analysis was carried out using FMRIB's local analysis of mixed effects (FLAME) stage 1 + 2. Z (Gaussianized T/F) statistic images were thresholded using clusters determined by Z > 2.8 and a (corrected) cluster significance threshold of P = 0.05. For between-group contrasts (CD patients vs. controls), a two-sample t-test was used. For within-group contrasts (pre-BoNT-A vs. post-BoNT-A effect in patients), a paired t-test was employed.

Table 1
Demographic and clinical characteristics.

Patient nr.	Sex (M/F)	Age at exam (years)	Age at dystonia onset (years)	Type of dystonia	Injected muscles	Tsui score (1st examination)	Tsui score (2nd examination)
1	F	58	53	Torticollis left	SPL left, TRP right	11	8
2	F	58	42	Torticollis right	SCM left, TRP left, SPL right	10	7
3	M	36	28	Torticollis right	SPL right, SCM left	12	9
4	F	60	44	Torticollis left	SPL left, TRP right	11	8
5	F	56	45	Torticollis right	SPL right SCM left	13	10
6	F	58	34	Torticollis right	SCM left, SPL right	10	8
7	F	46	42	Torticollis left	SPL left, SCM right	9	6

SPL = splenius capitis muscle; TRP = trapezoid muscle; SCM = sternocleidomastoid muscle.

Registration of each subject's BOLD MRI data to standard space images (MNI152) was carried out using FLIRT and the results visually checked for alignment accuracy.

Spatial coordinates are reported in the Montreal Neurological Institute (MNI) format.

3. Results

3.1. Behavioral and clinical

The performance of task was correct in all subjects. Duration of one cycle of skilled finger movement assessed during fMRI sessions did not significantly differ among subject groups (mean values: controls 7.1 s, pre-BoNT-A patients 7.3 s, and post-BoNT-A patients 7.1 s, $P > 0.05$, ANOVA).

All patients were injected into the muscles identified by polymyography; the mean total dose of BoNT-A was 107.0 (SD=18.9) U, the mean dose for one cervical muscle was 50.0 U.

Significant clinical effect of BoNT-A evidenced by the decrease of Tsui score (mean Tsui score change 2.8, paired *t*-test, $p < 0.05$) was observed. The mean Tsui score before BoNT-A treatment was 10.9 (SD=1.25), and the mean Tsui score after treatment was 8.0 (SD=1.20).

3.2. Imaging

3.2.1. Group mean activation

3.2.1.1. Control group. In the controls, skilled finger movement activated an extensive network of brain areas including the following: contralateral primary motor and somatosensory cortex, bilateral premotor cortex, bilateral supplementary motor area (SMA) (predominantly contralaterally), bilateral secondary somatosensory cortex (SII), bilateral insular cortex, bilateral superior parietal cortex, right inferior parietal cortex, bilateral cerebellum, bilateral thalamus, bilateral pallidum and left caudate (Fig. 1A).

3.2.1.2. Patients pre-BoNT-A treatment. In patients before BoNT-A treatment, skilled finger movement activated a similar, but less extensive network involving similar areas of the sensorimotor network (as in control group), except for bilateral thalamus, bilateral pallidum and left caudate. The bilateral SMA activation was lateralized more ipsilaterally, (Fig. 1B).

3.2.1.3. Patients post-BoNT-A treatment. The activation map of patients after BoNT-A therapy was even more reduced than before BoNT-A therapy. It comprised the same areas except for right SII and left superior parietal cortex. The bilateral activation of SMA was lateralized more contralaterally (Fig. 1C).

3.2.2. Between-group comparisons

3.2.2.1. Patients pre-BoNT-A vs. controls. Before BoNT-A, patients showed overactivity in the contralateral parietal operculum (MNI coordinates $-42, -18, 22$) compared to controls. No significant difference was detected in controls > pre-BoNT-A contrast (Fig. 2A and Table 2).

3.2.2.2. Patients post-BoNT-A vs. controls. Post-treatment activation map showed significant reduction in globus pallidum internum (GPI) bilaterally, more expressed ipsilaterally (MNI coordinates $16, 0, 4; -18, -2, 0$) (Fig. 2C and Table 2). There was no significant difference in the post-BoNT-A > controls contrast.

3.2.3. Within-group comparison

3.2.3.1. Patients pre-BoNT-A vs. post-BoNT-A treatment. Significant decrease of activation after BoNT-A treatment was detected within the hand representation area in the right SMA and dorsal premotor cortex (PMd) (MNI coordinates $26, -10, 70; 0, 0, 64$) (Fig. 2B and Table 2). No significant difference was found in post-BoNT-A > pre-BoNT-A contrast.

No major movement artifacts were observed during fMRI examinations.

4. Discussion

The presented study brought three main findings: first, we report reduced overall extent of hand movement-related cortical activation but greater focal magnitude BOLD signal change in the left (contralateral) SII in CD patients compared to controls. Secondly, we have observed reduction of SMA and PMd activations in CD patients following BoNT treatment of dystonic muscles. Thirdly, the post-treatment motor maps of CD patients show significantly weaker basal ganglia activation compared to controls.

We are aware of the methodological limitation presented by the inability to directly investigate cortical and subcortical representation of the neck muscles involved in cervical dystonia using fMRI, as this would cause severe head movement artifacts. Nevertheless, at least two lines of

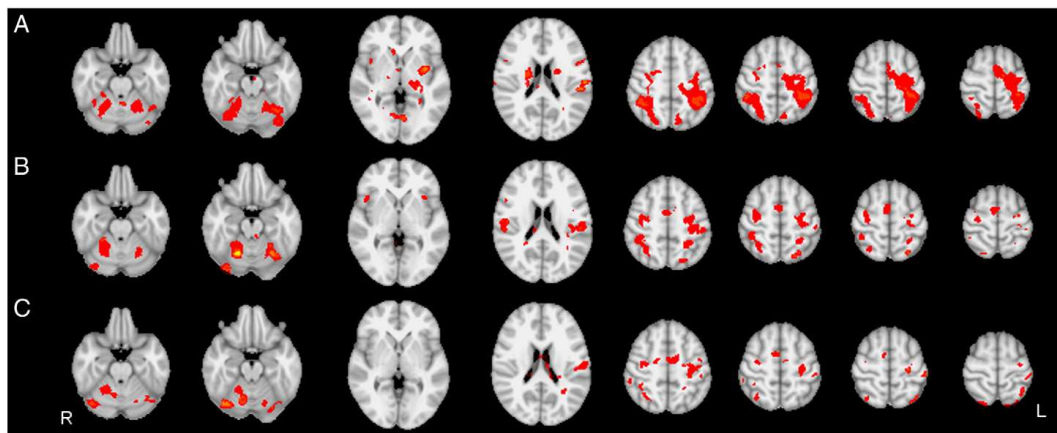


Fig. 1. Group mean activation during skilled finger movement in controls (A), CD patients before BoNT-A treatment (B) and after BoNT-A treatment (C).

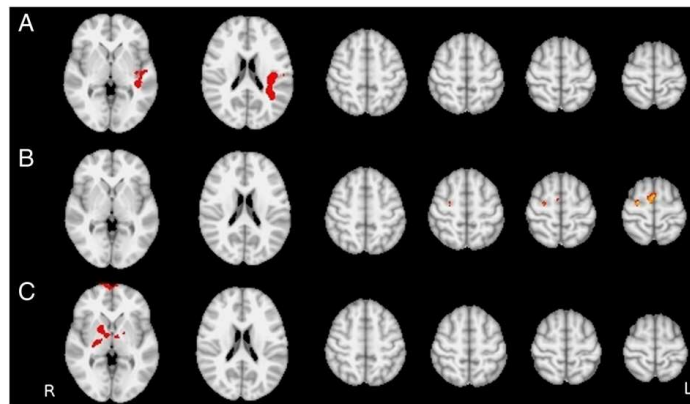


Fig. 2. Overactivity of contralateral SII in pre-BoNT-A patients compared to controls (A). Reduction of activation in ipsilateral SMA and PMd following BoNT-A treatment in patients (B). Decreased activation in bilateral globus pallidum in post-BoNT-A patients compared to controls (C).

arguments support the use of the hand as a probe into sensorimotor function in cervical dystonia. First, cortical representations of neck and hand muscles are in close proximity to each other in normal subjects [17,18] and may be enlarged and overlap in patients with CD [7]. Second, this model has been repeatedly used in electrophysiological studies which documented cortical and subcortical abnormalities, as well as the effect of BoNT in CD [8,19,20].

Previous electrophysiological and imaging evidence suggests disorders of both motor and sensory cortical processing in cervical dystonia, perhaps at the level of sensorimotor integration [21]. Abnormal cortical excitability [22] and activation [23] have been observed when contrasting CD patients and normal controls. Several behavioral studies also documented diffuse cortical abnormality extending beyond the clinically affected body part in CD [7,9]. This observation further supports the use of hand movement as the active task in our study.

Sensorimotor network activation in our age-matched healthy controls is in agreement with recent fMR imaging studies of sequential finger movement [24].

In contrast to healthy controls, the extent of cortical activation in CD patients showed diffuse reduction. This finding agrees with results of another functional imaging study on cervical dystonia patients and could be explained by higher inter-individual variability in the spatial pattern of recruited compensatory circuits resulting in a low group mean activation [23]. Alternatively, the reduced activation extent may relate to the reported generalized kinematic deficits [9].

The pre-BoNT>controls contrast revealed significant cortical hyperactivity in the parietal opercular cortex in CD patients, contralaterally to the tested hand. Abnormal activation in this area was reported in previous

dystonia imaging studies testing sensorimotor tasks with both the affected and unaffected body parts [23].

The parietal operculum contains the human SII, which is presumed to play a role in higher-order functions in somatosensory processing, but is also believed to perform integration of information from the two sides of the body, and participate in visuospatial attention, learning and memory. Furthermore, SII appears significantly involved in motor processing and integration as it is active not only during passive and active finger movements but also during movement imagery [25].

Taken together, these data suggest that the documented excessive activity in non-primary somatosensory cortex may represent aberrant sensorimotor processing, which is considered to be a key factor for the development of focal dystonias [26]. This idea is supported by the latest work of Obermann et al., who demonstrated disinhibition in SII, primary somatosensory and other cortical areas following pure kinesthetic somatosensory stimulation [27]. We can speculate that the overactivation of SII could also be an imaging correlate of deficient cortical inhibition detected recently in neurophysiological studies [28]. The abnormal cortical activation detected during skilled motor task performed with non-dystonic body part confirms previous electrophysiological observations that sensorimotor abnormalities in the dystonic brain extend beyond directly clinically affected sensorimotor representations [8,9].

4.1. BoNT-A treatment effect

The mean group activation map following BoNT-A therapy comprised the same key elements of movement-related circuits as in controls and patients before treatment, but the activation was even more spatially reduced. We may speculate that such hypoactivation is caused by more pronounced individual variability of circuits involved in amelioration of dystonia following therapy.

In our patient group, a significant reduction of task-related activation within the ipsilateral SMA and dorsal premotor cortex was observed following successful BoNT-A treatment. There was also a trend in SMA activation in patients to change lateralization from predominantly ipsilateral to contralateral after BoNT-A, whereas the activation of controls was predominantly contralateral.

Since the definition of SMA as a separate motor area, its function remains incompletely characterized. In general, activation in the SMA is considered to be tightly associated with movement generation and control: posture regulation, internal generation of movement, bimanual coordination and movement sequencing [29]. In dystonia, primate models demonstrated SMA hyperexcitability, as well as abnormal increase of

Table 2
Local maxima of differential activation: between- and within-group contrasts.

	MNI			Z-score
	x	y	z	
Contrast: patients pre-BTX>controls				
Left secondary somatosensory cortex	−42	−18	22	3.8
Contrast: patients pre-BTX>post-BTX				
Right dorsal premotor cortex	26	−10	70	5.2
Right supplementary motor cortex	0	0	64	5.1
Contrast:controls>patients post-BTX				
Right pallidum	16	0	4	4.5
Left pallidum	−18	−2	0	4.3

MNI = Montreal Neurological Institute.

proprioceptive inputs to SMA together with wider sensory receptive fields and a mismatch between sensory inputs and motor outputs [30]. These observations may suggest that abnormal sensory inputs coming to SMA neurons participate in the development of dystonia.

Like SMA, the dorsal premotor cortex (PMd) is a part of motor cortex generally considered to be relevant to the planning, selection and execution of motor actions [31] as well as to sensorimotor integration in normals [6]. In generalized and focal dystonia patients, PET studies have reported hyperactive PMd and hypoactive M1 during movement compared to normals [32]. Based on these observations, a few studies successfully employed inhibitory effect of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) over PMd to alleviate symptoms of focal dystonia [33]. The decreased activation of PMd ipsilateral to the tested hand observed in our study following successful therapy could be considered an effect analogous to the transient inhibition induced by rTMS, but here induced by BoNT-A.

Our third major result involves lower basal ganglia activation in BoNT-A-treated patients compared to controls. In cervical dystonia, the study of Obermann et al. [34] demonstrated increased bilateral activation of the basal ganglia and thalamus during non-dystonia associated task. This abnormal activation in the basal ganglia could represent a compensatory mechanism of the ineffective compression of multiple motor and sensory inputs before their transition for further cortical processing. Internal pallidum serves as a target for effective modulation of cervical dystonia and other forms of primary dystonias using deep brain stimulation, with not exactly characterized mode of action. The post-treatment hypoactivation of GPI, more expressed in physiologically less relevant ipsilateral side, which was demonstrated in the study thus may correspond to functional "normalization" presumably mediated by recruitment of neuronal circuits comprising the BG.

Reduced SMA, PMd and GPI activations detected in our small study following successful treatment of CD may suggest amelioration of abnormal processes in these structures with subsequent correction of defective sensorimotor integration. The fact that these changes were detected during a skilled motor task performed with a clinically normal limb may further endorse observations of remote effects of BoNT-A [7,8]. The study reinforces the role of abnormal somatosensory processing in the development of cervical dystonia, as well as the fact that these abnormalities extend beyond the circuits directly controlling affected body part.

From the data above we may suggest that the clinical benefit of BoNT-A in focal dystonia patients is mediated not only by its peripheral effects but also by the central ones.

Acknowledgement

This study was supported by the grant No. NS9920-4/1998 from the Internal Grant Agency, Ministry of Health, Czech Republic.

References

- [1] Stacy M. Idiopathic cervical dystonia: an overview. *Neurology* 2000;12(Suppl 5):S2-8.
- [2] Peterson DA, Sejnowski TJ, Poizner H. Convergent evidence for abnormal striatal synaptic plasticity in dystonia. *Neurobiol Dis* 2010;3:558-73.
- [3] Tinazzi M, Florio M, Fiaschi A, Rothwell JC, Bhatta KP. Sensory functions in dystonia: insights from behavioral studies. *Mov Disord* 2009;10:1427-36.
- [4] Tinazzi M, Squintani G, Berardelli A. Does neurophysiological testing provide the information we need to improve the clinical management of primary dystonia? *Clin Neurophysiol* 2009;8:1424-32.
- [5] Hinkley LB, Webster RL, Byl NN, Nagarajan SS. Neuroimaging characteristics of patients with focal hand dystonia. *J Hand Ther* 2009;2:125-34.
- [6] Dresel C, Haslinger B, Castrop F, Wohlschlaeger AM, Ceballos-Baumann AO. Silent event-related fMRI reveals deficient motor and enhanced somatosensory activation in orofacial dystonia. *Brain* 2006;1:36-46.
- [7] Walsh R, Hutchinson M. Molding the sensory cortex: spatial acuity improves after botulinum toxin treatment for cervical dystonia. *Mov Disord* 2007;16:2443-6.
- [8] Kaňovský P, Streitová H, Dufek J, Znojil V, Daniel P, Rektor I. Change in lateralization of the F22/N30 cortical component of median nerve somatosensory evoked potentials in patients with cervical dystonia after successful treatment with botulinum toxin A. *Mov Disord* 1998;1:108-17.
- [9] Pelosin E, Bove M, Marinelli L, Abbruzzese G, Ghilardi MF. Cervical dystonia affects aimed movements of nondystonic segments. *Mov Disord* 2009;13:1955-61.
- [10] Jankovic J. Treatment of cervical dystonia with botulinum toxin. *Mov Disord* 2004 (Suppl 8):S109-15.
- [11] Abbruzzese G, Berardelli A. Neurophysiological effects of botulinum toxin type A. *Neurotox Res* 2006;9:109-14.
- [12] Tsui JK, Eisen A, Stoessl AJ, Calne S, Calne DB. Double-blind study of botulinum toxin in spasmodic torticollis. *Lancet* 1986;8501:245-247.
- [13] 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;1:118-36.
- [14] Brashear A. The botulinum toxins in the treatment of cervical dystonia. *Semin Neurol* 2001;1:85-90.
- [15] 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.
- [16] Smith SM, Jenkinson M, Woolrich MW, Beckmann CF, Behrens TE, Johansen-Berg H, et al. Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *Neuroimage* 2004;23(Suppl 1):S208-19.
- [17] Benecke R, Meyer BU, Schönle P, Conrad B. Transcranial magnetic stimulation of the human brain: responses in muscles supplied by cranial nerves. *Exp Brain Res* 1988;3:623-32.
- [18] Thompson ML, Thickbroom GW, Mastaglia FL. Corticomotor representation of the sternocleidomastoid muscle. *Brain* 1997;2:245-55.
- [19] Mazzini L, Zaccala M, Balzarini C. Abnormalities of somatosensory evoked potentials in spasmodic torticollis. *Mov Disord* 1994;9:426-30.
- [20] Tamburin S, Manganotti P, Marzi CA, Fiaschi A, Zanette G. Abnormal somatotopic arrangement of sensorimotor interactions in dystonic patients. *Brain* 2002;12:2719-30.
- [21] Siggelkow S, Kossev A, Moll C, Däuper J, Dengler R, Rolnik JD. Impaired sensorimotor integration in cervical dystonia: a study using transcranial magnetic stimulation and muscle vibration. *J Clin Neurophysiol* 2002;3:232-9.
- [22] Quartarone A, Bagnato S, Rizzo V, Siebner HR, Dattola V, Scalfari A, et al. Abnormal associative plasticity of the human motor cortex in writer's cramp. *Brain* 2003;12:2586-96.
- [23] De Vries PM, Johnson KA, de Jong BM, Gieteling EW, Bohning DE, George MS, et al. Changed patterns of cerebral activation related to clinically normal hand movement in cervical dystonia. *Clin Neurol Neurosurg* 2008;12:120-8.
- [24] Solodkin A, Hlustik P, Chen EE, Small SL. Modulation in network activation during motor execution and motor imagery. *Cereb Cortex* 2004;14:1246-55.
- [25] Kalkigi R, Shimajo M, Hoshiyama M, Koyama S, Watanabe S, Naka D, et al. Effects of movement and movement imagery on somatosensory evoked magnetic fields following posterior tibial nerve stimulation. *Brain Res Cogn Brain Res* 1997;3:241-53.
- [26] Abbruzzese G, Berardelli A. Sensorimotor integration in movement disorders. *Mov Disord* 2003;3:231-40.
- [27] Obermann M, Vollrath C, de Greiff A, Gizewski ER, Diener HC, Hallett M, et al. Sensory disinhibition on passive movement in cervical dystonia. *Mov Disord* 2010;25:2627-33.
- [28] Quartarone A, Rizzo V, Terranova C, Morgante F, Schneider S, Ibrahim N, et al. Abnormal sensorimotor plasticity in organic but not in psychogenic dystonia. *Brain* 2009;10:2871-7.
- [29] Tanji J. New concepts of the supplementary motor area. *Curr Opin Neurobiol* 1996;6:782-7.
- [30] Cuny E, Chorayeb I, Guehl D, Escola I, Bioulac B, Burbaud P. Sensory motor mismatch within the supplementary motor area in the dystonic monkey. *Neurobiol Dis* 2008;2:151-61.
- [31] Chouinard PA, Paus T. The primary motor and premotor areas of the human cerebral cortex. *Neuroscientist* 2006;2:143-52.
- [32] Ceballos-Baumann AO, Passingham RE, Warner T, Playford ED, Marsden CD, Brooks DJ. Overactive prefrontal and underactive motor cortical areas in idiopathic dystonia. *Ann Neurol* 1995;3:363-72.
- [33] Murase N, Rothwell JC, Kaji R, Urushihara R, Nakamura K, Murayama N, et al. Subthreshold low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation over the premotor cortex modulates writer's cramp. *Brain* 2005;1:104-15.
- [34] Obermann M, Yaldizli O, de Greiff A, Konczak J, Lachenmayer ML, Tumczak F, et al. Increased basal-ganglia activation performing a non-dystonia-related task in focal dystonia. *Eur J Neurol* 2008;8:831-8.

Somatosensory Cortical Activation in Cervical Dystonia and Its Modulation With Botulinum Toxin: An fMRI Study

Robert Opavský,* Petr Hlušík, Pavel Otruba, and Petr Kaňovský

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

ABSTRACT

Converging data on focal dystonias suggest a widespread disorder of somatosensory processing. The aims of our study were, first, to assess somatosensory activation patterns in cervical dystonia (CD) beyond the representation of the affected body parts and, second, to search for task-related activation changes induced by botulinum toxin type-A (BoNT-A) therapy. Functional magnetic resonance imaging (fMRI) during electrical median nerve stimulation was employed in seven CD patients and nine controls; the examination was repeated 4 weeks after BoNT-A application to dystonic neck muscles. The pretreatment activation map of patients showed activation in the contralateral primary somatosensory cortex, but missing activation in the secondary somatosensory cortex and insula, in contrast to controls and patients after treatment. Clinically significant effect of BoNT-A therapy was associated with a significant increase of BOLD response in the contralateral secondary somatosensory, insular, and inferior parietal cortices. The posttreatment somatosensory maps of patients did not significantly differ from controls. This study has brought evidence of widespread disruption of somatosensory processing in CD and its modification with BoNT-A therapy.

KEYWORDS: inferior parietal lobule, insula, median nerve stimulation, primary somatosensory cortex, secondary somatosensory cortex

INTRODUCTION

The exact pathophysiology of focal dystonias has not been fully clarified yet. Although the major manifestation of dystonia is in the motor domain, many lines of evidence also suggest abnormalities in somatosensory processing. A sensory trick (*geste antagonistique*), leading to transient alleviation of dystonic symptoms via sensory stimulation and probably mediated by parietal cortex, documents the importance of somatosensory processing in the pathophysiology underlying the clinical manifestation [1]. From a neurophysiological perspective, abnormal somatosensory evoked potentials (SEP) amplitudes [2, 3], or increased temporal tactile discrimination threshold [4] detected in various types of

dystonia provide evidence of disordered somatosensory processing. The other line of data came from neuroimaging studies, which showed aberrant and disorganized primary somatosensory representation of fingers in writer's cramp [5, 6], as well as increased activation of primary somatosensory cortex (S1) during movement [7, 8]. It has been hypothesized that these abnormalities reflect deficient subcortical and intracortical inhibition and abnormal sensorimotor integration and reorganization [8]. The role of nonprimary somatosensory cortical areas in the development of dystonia is even less well characterized. It is also not clear whether the observed somatosensory abnormalities have any pathogenetic significance at all; instead, they may represent a predisposing factor or just an epiphenomenon of dystonia [9].

Considering the fact that the majority of neuroimaging information describing somatosensory abnormalities came from studies on patients with focal hand dystonia, whereas the data about cervical dystonia (CD), the most frequent type of focal dystonia, are relatively limited, we chose to study CD using functional magnetic resonance imaging (fMRI) blood oxygenation level-dependent (BOLD) functional

Received 10 May 2011.

This study was supported by a grant (NS9920-4/1998) from the Internal Grant Agency of the Ministry of Health of Czech Republic.
 Address correspondence to Robert Opavský, M.D., Department of Neurology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University and University Hospital, I. P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc, Czech Republic. E-mail: robert.opavsky@centrum.cz

magnetic resonance imaging to explore somatosensory cortical activation following electrical median nerve stimulation. The aims of the study were, first, to assess activation differences between patients and healthy controls and, second, to determine BOLD changes induced by BoNT-A therapy in CD.

SUBJECTS AND METHODS

CD patients were recruited from the Movement Disorders Center at the Department of Neurology, University Hospital, Olomouc, Czech Republic. Control subjects were recruited to be sex matched and age matched to the patients.

All patients and controls were well acquainted with the contents of the study and with the methods of examinations, and provided written informed consent prior to enrollment. The study was conducted according to the Declaration of Helsinki 1975 (5th revision 2000, clarifications 2002 and 2004) and approved by the local ethics committee of University Hospital Olomouc.

The patient group consisted of seven subjects (one male and six females; aged 53.1 ± 8.2 years, range 36–58 years) suffering from CD manifesting with rotational torticollis. All patients were good responders to BoNT-A. Three patients suffered from the left-sided torticollis and four patients suffered from the right-sided torticollis. Demographic and clinical characteristics of patient group are given in Table 1. Normal values were obtained by acquiring data from the control group of nine (two males and seven females, aged 55.2 ± 6 , range 28–63). All patients and controls were right-handed (Edinburgh Handedness Inventory, patients $+93.6 \pm 4.1$, controls $+91.2 \pm 5.7$), and conventional brain MRI was completely normal in all subjects.

All patients underwent a thorough neurological and laboratory examination before entering the study; no subject had a medical history or signs of other neurological and systemic disease, except for CD.

Behavioral Assessment

The severity of CD was determined using the Tsui score [10] at two timepoints: week 0, when patients were screened, enrolled, and treated with BoNT-A and at week 4, always on the day of the fMRI session.

Treatment

All patients were treated with botulinum toxin type A (Botox; Allergan, Inc, Irvine, CA, USA), which was injected into cervical muscles, based on the previous polymyographic examination.

The details of the polymyographic examination and BoNT-A administration have been described in our previous work [2]. BoNT-A was used at a concentration of 25 U/ml.

Tasks

During fMRI scanning, the median nerve was stimulated above its course on the wrist using custom-built MRI-compatible electrical stimulator (Alien, Praha, Czech Republic). The electric stimulus was a repeated rectangular pulse of 300 μ s duration delivered via nonmagnetic AgCl electrodes. The stimulation current was set at a level of motor threshold. The current intensity was assessed inside the scanner just before the fMRI session and the intensities varied across subjects in the range of 3.3–9.0 mA (mean value 6.1 mA, $SD = 1.6$; Table 1). The employed stimulation frequency was 4 Hz. This frequency yielded the most robust fMRI activation in our preliminary experiments, as well as in another study [11].

Tested extremities in all CD patients were ipsilateral to the direction of the head deviation. In controls, the dominant right upper extremity was used.

During MR imaging, participants were studied in a supine position. Patients were instructed not to offer any resistance to dystonic head rotation, to keep their eyes closed, and to pay attention to the stimulated upper extremity. Stimulation timing was provided by E-Prime software (Psychology Software Tools, Pittsburgh, PA, USA). In a block paradigm, median stimulation (7.5 s) alternated with rest (7.5 s), for a total of 4 min. Each participant had two experimental runs with the same hand. The first fMRI session (at week 0) in all CD patients was scheduled at least four months after previous BoNT-A treatment. At this time, the absence of BoNT-A effect is expected [12, 13]. The same day, after the fMRI session, BoNT-A was locally administered. The second fMRI examination followed after four weeks, when the maximal clinical effect is expected [12]. In a group of controls, one fMRI examination was carried out.

Data Acquisition

MRI data were acquired on 1.5-Tesla scanners (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, functional T_2^* -weighted BOLD images during task performance and rest, and fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) images to visualize brain lesions. Additionally, we acquired a high-resolution three-dimensional anatomical scan [magnetization-prepared rapid acquisition

TABLE 1 Demographic, clinical, and stimulation characteristics of patients

Patient Nr.	Sex M/F	Age at exam (years)	Age at dystonia onset (years)	Type of dystonia	Injected muscles	Tsui score pre-BoNT	Tsui score post-BoNT	Pre-BoNT stimulation current intensities (mA)	Post-BoNT stimulation current intensities (mA)
1	F	58	53	Torticollis left	SCM right SPL left	11	8	4.0	4.0
2	F	58	42	Torticollis right	TRP right SCM left TRP left	10	7	9.0	9.0
3	M	36	28	Torticollis right	SPL right SCM left	12	9	6.0	6.0
4	F	60	44	Torticollis left	SCM right SPL left	11	8	5.5	5.5
5	F	56	45	Torticollis right	TRP right SPL right SCM left	13	10	5.5	6
6	F	58	34	Torticollis right	SCM left SPL right	10	8	7.5	7.5
7	F	46	42	Torticollis left	SPL left SCM right	9	6	7.0	9.0

SPL = splenius capitis muscle; TRP = trapezoid muscle; SCM = sternocleidomastoid muscle.

gradient echo (MPRAGE)]. BOLD images were acquired with gradient 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, 96 images were acquired per each 4-min functional run, for a total of 192 images per session. 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 three patients with tested left hand were flipped in the left-right direction to allow group analysis [14]. fMRI data preprocessing and analysis were carried out using FSL, the FMRIB's software library (<http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl>) [15]. fMRI data analysis was performed with FEAT (fMRI Expert Analysis Tool), version 5.91. The following prestatistics processing was applied: motion correction using FMRIB's MCFLIRT; slice-timing correction using Fourier space time-series phase-shifting; nonbrain removal using FMRIB's BET; spatial smoothing using a Gaussian kernel of 8-mm full width at half-maximum; grand-mean intensity normalization by a single multiplicative factor; and high-pass temporal filtering (Gaussian-weighted least-squares straight-line fitting, with sigma = 15.0 s). Time-series statistical analysis was carried out using FMRIB's FILM with local autocorrelation correction. Registration to high-resolution structural and/or standard space images was carried out using FMRIB's FLIRT.

Higher-level analysis was carried out using FMRIB's local analysis of mixed effects (FLAME) stage 1 + 2. *Z* (Gaussianized *T/F*) statistic images were thresholded using clusters determined by $Z > 2.1$ and a (corrected) cluster significance threshold of $p = .05$. For between-group contrasts (CD patients vs. controls), a two-sample *t*-test was used. For within-group contrasts (pre-BoNT-A vs. post-BoNT-A effect in patients), a paired *t*-test was employed.

Spatial coordinates are reported in the Montreal Neurological Institute (MNI) format.

RESULTS

Behavioral and Clinical

All patients were injected (with BoNT-A) into the muscles identified by polymyography; the mean total dose of BoNT-A was 107.0 U ($SD = 18.9$), the mean dose for one cervical muscle was 50.0 U.

Significant clinical effect of BoNT-A evidenced by the decrease of Tsui score assessed before each fMRI session (mean Tsui score change 2.8, paired *t*-test, $p < .05$) was observed. The mean Tsui score before BoNT-A treatment was 10.8 ($SD = 1.25$), the mean Tsui score after treatment was 8.0 ($SD = 1.2$).

During electrical median nerve stimulation, the employed current intensities did not significantly differ among subject groups (ANOVA, $p > .05$), the mean values: controls 5.4 mA ($SD = 1.2$), pre-BoNT-A patients 6.4 mA ($SD = 1.5$), post-BoNT-A patients 6.7 mA ($SD = 1.7$).

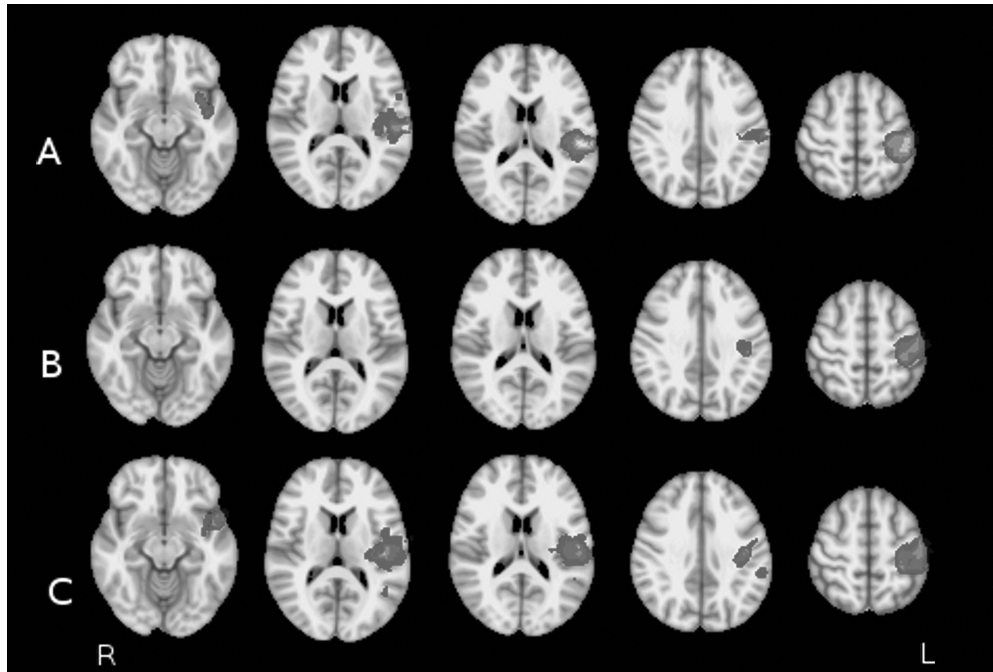


FIGURE 1. Group mean activation during electrical median nerve stimulation in (A) controls, (B) CD patients before BoNT-A treatment, and (C) CD patients after BoNT-A treatment.

Imaging

Group Mean Activation

Control Group. In the controls, electrical median stimulation activated contralateral primary somatosensory cortex (MNI coordinates: $-44, -32, 60$), contralateral secondary somatosensory cortex (MNI coordinates: $-50, -24, 18$), and contralateral insula (MNI coordinates: $-40, 4, -10$; Figure 1; Table 2).

Patients Pre-BoNT-A Treatment. In patients before BoNT-A treatment, group mean activation induced by electrical median nerve stimulation was observed only in contralateral primary somatosensory cortex (MNI coordinates: $-48, -34, 58$; Figure 1; Table 2).

Patients Post-BoNT-A Treatment. The activation map of patients following BoNT-A treatment was similar to controls and comprised contralateral primary somatosensory cortex (MNI coordinates: $-42, -30, 60$), contralateral secondary somatosensory cortex (MNI coordinates: $-48, -26, 20$), contralateral insula (MNI coordinates: $-40, 0, -10$) along with inferior parietal

TABLE 2 Group-mean activation and local maxima of differential activation (between- and within-group contrasts) during electrical median nerve stimulation

	MNI			Z-score
	x	y	z	
Controls				
S1	-44	-32	60	7.9
S2	-50	-24	18	7.1
insula	-40	4	-10	4.7
Pre-BoNT patients				
S1	-48	-34	58	7.8
Post-BoNT patients				
S1	-42	-30	60	7.5
S2	-48	-26	20	6.4
Insula	-40	0	-10	4.6
IPL	-60	-36	34	5.9
Contrast pre-BoNT patients < controls				
S2	-50	-22	16	7.1
Insula	-40	0	0	4.1
Contrast post-BoNT patients > pre-BoNT patients				
S2	-48	-14	16	5.4
Insula	-42	6	-8	6.2
IPL	-58	-38	34	6.1

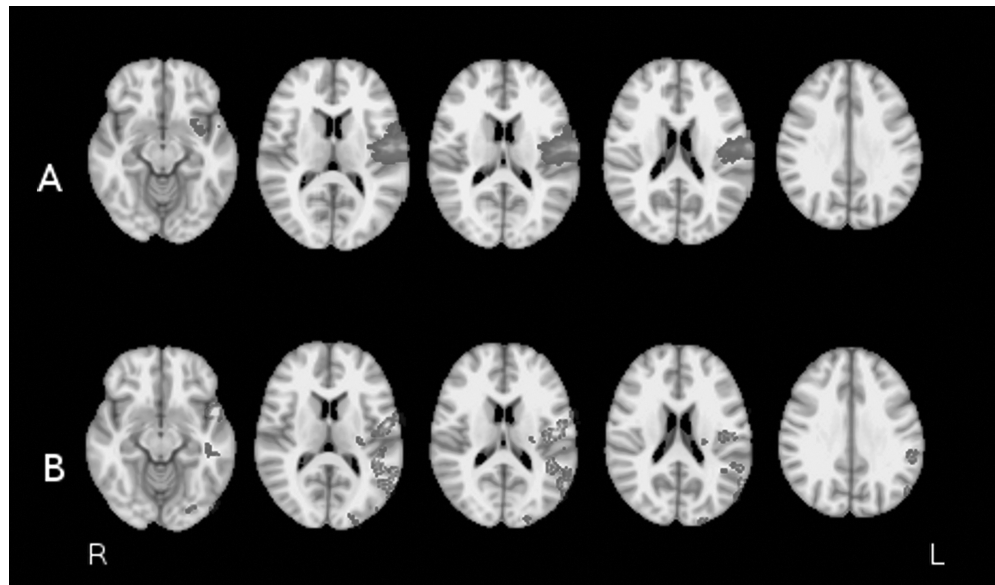


FIGURE 2. Between- and within-group comparisons. (A) Reduced activity of contralateral S2 and insula in pre-BoNT-A patients compared to controls. (B) Increase of activation in contralateral S2, IPL, and insular cortex following BoNT-A treatment in patients.

lobule (IPL; MNI coordinates: $-60, -36, 34$; Figure 1; Table 2).

Between-Group Comparisons

Before BoNT-A treatment, patients showed significantly weaker activation in the contralateral secondary somatosensory cortex (MNI coordinates: $-50, -22, 16$) and contralateral insula (MNI coordinates: $-40, 0, 0$) compared to controls (Figure 2; Table 2). No difference was found in the patients post-BoNT-A versus controls contrast.

Within-Group Comparisons

In patients, a significant increase of activation following BoNT-A treatment was detected in the contralateral secondary somatosensory cortex (MNI coordinates: $-48, -14, 16$), contralateral insula (MNI coordinates: $-42, 6, -8$), and IPL (MNI coordinates: $-58, -38, 34$; Figure 2; Table 2). No significant difference was found in pre-BoNT-A > post-BoNT-A contrast.

No major movement artifacts were observed during fMRI examinations.

DISCUSSION

The findings of our imaging study reveal attenuated somatosensory processing in CD patients compared to healthy individuals and these changes extend beyond the circuits controlling the affected body part. Cervical dystonia patients before treatment showed deficient activation in the contralateral secondary somatosensory cortex and insula following electrical median nerve stimulation at the wrist and subsequent BoNT-A therapy restored BOLD activity in these cortical areas. Increased activation was further observed in the contralateral IPL.

Somatosensory network activated by median stimulation in our control group comprised identical structures as described in recent fMRI studies: contralateral primary and secondary somatosensory cortex and insula [11,16,17]. Most of the imaging studies [11,17] using region-of-interest analysis approach additionally demonstrated minor activation of ipsilateral S2 and insula, inconsistent across subjects. The employed whole brain analysis approach provides somewhat lower power, but permits detection of potential treatment effects beyond predefined set of somatosensory areas. This lower power could lead to the fact that our group mean data did not detect ipsilateral activity in these

areas. Anatomical variability across subjects may have contributed as well.

The exact function of S2 and insula in somatosensory processing in humans has not been fully clarified yet. It has been documented that S2 plays a role in proprioceptive processing [18], sensory learning, and control of skilled movements demanding sensory feedback [19]. Previous human studies also documented involvement of S2 in motor execution [20–22] suggesting possible participation of S2 in sensorimotor integration. Other debated roles of S2 include higher-order functions like integration of information from the two body halves, attention, learning, and memory [23].

Functional differences and similarities between S2 and S1 are not well understood either. Several imaging and electrophysiological studies focusing on this issue were not able to provide a clear conclusion; the question whether these somatosensory cortical areas process data in a parallel or serial manner remains open as well [24].

An fMRI study of Butterworth *et al.* [5] using vibrotactile stimulation of index and little finger in focal hand dystonia detected disorganized cortical activation in S1, plus hypoactivation of S2 and posterior parietal cortex compared to normal controls. While our study did not address somatotopy in S1, we documented a similar reduction in S2 and treatment-related increases in S2 and posterior parietal cortex using electrical stimulation.

The role of the insula, representing many functions [25], in somatosensory processing is even less characterized. Besides its involvement in pain processing, imaging studies demonstrated contribution of insula to somatosensory processing of nonpainful stimuli [12, 16, 26]. Multiple data suggest that insular cortex works as an integrator of various converging sensory inputs [25]. This structure becomes involved during motor recovery after stroke [27] and may also take part in sensorimotor integration. The role of insula in the development of dystonia is not clear, but abnormal activation of insular cortex was detected in fMRI experiments studying sensorimotor activation in focal hand dystonia [28], as well as in CD [29].

The S2 and insular activation abnormality detected in cortical representation of body part not directly affected with dystonia provides imaging evidence that the disruption of somatosensory system is widespread in CD [30,31].

From the fMRI data alone, it is not easy to decide, whether the observed S2/insula hypoactivation originates in these areas [32] or perhaps further upstream, e.g., in disordered S1 or other structures, such as thalamus, not activated in our data [5].

Electrical median nerve stimulation at motor threshold results in both cutaneous and proprioceptive afferentation. A recent study of Backes *et al.* [16]

demonstrated that S2, in contrast to S1, is more activated by stimulation intensities below the motor threshold, i.e., by cutaneous afferentation. They have shown that S2 activation is not directly related to stimulation current intensities, which may signify that the pathways involved in the processing of different modalities of peripheral somatosensory inputs might be independent to some extent.

In the light of these data, the observed reduced activation of S2 in our CD patients compared to healthy controls could signify either an abnormality of cutaneous afferentation processing alone [33], or impaired simultaneous processing of proprioceptive and cutaneous afferent information.

Finding no difference between the post-BoNT-A patients and controls may suggest normalization of the somatosensory processing.

BoNT-A Effect

Following effective treatment with BoNT-A, significant BOLD response was detected in the contralateral S2, insula, and IPL, an evidence of increased cortical activation. The effects in S2 and insula correspond to the disappearance of group difference between controls and patients after treatment within these structures. Regarding IPL, support for the observation that the central effect of BoNT-A on sensorimotor processes in focal dystonias also includes the IPL comes from a recent study of Ali *et al.* In a positron emission tomography (PET) imaging study of patients suffering from laryngeal dystonia, they have documented post-treatment speech-related increase of regional cerebral blood flow in heteromodal sensory areas including the IPL, which were hypoactive before treatment [32].

IPL is regarded as a site for higher-order processing of sensory information, sensorimotor integration [34, 35], and movement preparation [36]. Activation of this area has been reported in studies on both monkeys [34] and humans [37] following innocuous somatosensory stimulation. There are several pieces of evidence suggesting close relationship between IPL and S2, e.g., strong bidirectional projections between these two cortical areas documented in animal studies [36, 38] or observation of similar semiology of seizures arising from these regions in patients with partial seizures [39].

The finding of treatment-related increase of activation in S2, IPL, and insula may reflect BoNT-A capability to induce reorganization and normalization of function at the cortical level. This effect is probably mediated via alteration of Ia sensory feedback induced by blockage of the neuromuscular junction of γ -motor neurons [40, 41]. The observed treatment-related change in somatosensory cortical activation induced by upper extremity stimulation also supports the finding

that BoNT-A may exert effects beyond the circuits controlling the treated muscles. It has been hypothesized that these effects could be mediated by enlargement and overlaps of disorganized sensory cortical representations of the treated neck muscles and upper extremity [42].

We can hypothesize that the observed BoNT-A-induced increase of cortical activation in S2, insula, and IPL may at least partly represent a neuroimaging correlate of higher-order somatosensory processing modulation expressed by correction of spatial discrimination threshold in CD patients reported in a study of Walsh and Hutchinson [42].

CONCLUSIONS

In summary, the present study provides imaging evidence that both somatosensory abnormalities (in comparison to controls) and the effect of BoNT-A treatment may be demonstrated in somatosensory representations of the clinically unaffected body part.

Declaration of interest: The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

REFERENCES

1. Naumann M, Magyar-Lehmann S, Reiners K, Erbguth F, Leenders KL. Sensory tricks in cervical dystonia: perceptual dysbalance of parietal cortex modulates frontal motor programming. *Ann Neurol*. 2000;47:322–8.
2. Kaňovský P, Bares M, Streitová H, Klajblová 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;250:42–50.
3. Mazzini L, Zaccala M, Balzarini C. Abnormalities of somatosensory evoked potentials in spasmodic torticollis. *Mov Disord*. 1994;9:426–30.
4. Tinazzi M, Fiorio M, Bertolasi L, Aglioti SM. Timing of tactile and visuo-tactile events is impaired in patients with cervical dystonia. *J Neurol*. 2004;251:85–90.
5. Butterworth S, Francis S, Kelly E, McGlone F, Bowtell R, Sawle GV. Abnormal cortical sensory activation in dystonia: an fMRI study. *Mov Disord*. 2003;18:673–82.
6. Nelson AJ, Blake DT, Chen R. Digit-specific aberrations in the primary somatosensory cortex in Writer's cramp. *Ann Neurol*. 2009;66:146–54.
7. Pujol J, Roset-Llobet J, Rosinés-Cubells D, Deus J, Narberhaus B, Valle-Solé J, Capdevila A, Pascual-Leone A. Brain cortical activation during guitar-induced hand dystonia studied by functional MRI. *Neuroimage*. 2000;12:257–67.
8. Haslinger B, Altenmüller E, Castrop F, Zimmer C, Dresel C. Sensorimotor overactivity as a pathophysiological trait of embouchure dystonia. *Neurology*. 2010;74:1790–7.
9. Tinazzi M, Fiorio M, Fiaschi A, Rothwell JC, Bhatia KP. Sensory functions in dystonia: insights from behavioral studies. *Mov Disord*. 2009;24:1427–36.
10. Tsui JK, Eisen A, Stoessl AJ, Calne S, Calne DB. Double-blind study of botulinum toxin in spasmodic torticollis. *Lancet*. 1986;2:245–7.
11. Ferretti A, Babiloni C, Arienzo D, Del Gratta C, Rossini PM, Tartaro A, Romani GL. Cortical brain responses during passive nonpainful median nerve stimulation at low frequencies (0.5–4 Hz): an fMRI study. *Hum Brain Mapp*. 2007;28:645–53.
12. Brashear A. The botulinum toxins in the treatment of cervical dystonia. *Semin Neurol*. 2001;21:85–90.
13. Ward AB, Aguilar M, De Beyl Z, Gedin S, Kaňovský P, Molteni F, Wissel J, Yakovlev A. Use of botulinum toxin type A in management of adult spasticity—a European consensus statement. *J Rehabil Med*. 2003 Mar;35(2):98–9.
14. 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.
15. Smith SM, Jenkinson M, Woolrich MW, Beckmann CF, Behrens TE, Johansen-Berg H, Bannister PR, De Luca M, Drobnjak I, Flitney DE, Niazky RK, Saunders J, Vickers J, Zhang Y, De Stefano N, Brady JM, Matthews PM. Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *Neuroimage*. 2004;23 Suppl 1:S208–19.
16. Backes WH, Mess WH, van Kranen-Mastenbroek V, Reulen JP. Somatosensory cortex responses to median nerve stimulation: fMRI effects of current amplitude and selective attention. *Clin Neurophysiol*. 2000;111:1738–44.
17. Manganotti P, Formaggio E, Storti SF, Avesani M, Acler M, Sala F, Magon S, Zoccatelli G, Pizzini F, Alessandrini F, Fiaschi A, Beltramello A. Steady-state activation in somatosensory cortex after changes in stimulus rate during median nerve stimulation. *Magn Reson Imaging*. 2009;27:1175–86.
18. Alary F, Simões C, Jousmäki V, Fors N, Hari R. Cortical activation associated with passive movements of the human index finger: an MEG study. *Neuroimage*. 2002;15:691–6.
19. Huttunen J, Wikström H, Korvenoja A, Seppäläinen AM, Aronen H, Ilmoniemi RJ. Significance of the second somatosensory cortex in sensorimotor integration: enhancement of sensory responses during finger movements. *Neuroreport*. 1996;7:1009–12.
20. Fors N, Jousmäki V. Sensorimotor integration in human primary and secondary somatosensory cortices. *Brain Res*. 1998;781:259–67.
21. Inoue K, Yamashita T, Harada T, Nakamura S. Role of human S2 cortices in sensorimotor integration. *Brain Res*. 1998;781:259–67.
22. Wasaka T, Nakata H, Akatsuka K, Kida T, Inui K, Kakigi R. Differential modulation in human primary and secondary somatosensory cortices during the preparatory period of self-initiated finger movement. *Eur J Neurosci*. 2005;22:1239–47.
23. Chen TL, Babiloni C, Ferretti A, Ferrucci MG, Romani GL, Rossini PM, Tartaro A, Del Gratta C. Human secondary somatosensory cortex is involved in the processing of somatosensory rare stimuli: an fMRI study. *Neuroimage*. 2008;40:1765–71.
24. Hari R, Fors N. Magnetoencephalography in the study of human somatosensory cortical processing. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 1999;354:1145–54.
25. Nagai M, Kiishi K, Kato S. Insular cortex and neuropsychiatric disorders: a review of recent literature. *Eur Psychiatr*. 2007;22:387–94.
26. Francis ST, Kelly EF, Bowtell R, Dunseath WJ, Folger SE, McGlone F. fMRI of the responses to vibratory stimulation of digit tips. *Neuroimage*. 2000;11:188–202.
27. 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;33:181–89.
28. Hu XY, Wang L, Liu H, Zhang SZ. Functional magnetic resonance imaging study of writer's cramp. *Chin Med J (Engl).* 2006;119:1263–71.
 29. de Vries PM, Johnson KA, de Jong BM, Gieteling EW, Bohning DE, George MS, Leenders KL. Changed patterns of cerebral activation related to clinically normal hand movement in cervical dystonia. *Clin Neurol Neurosurg.* 2008;110:120–8.
 30. Quartarone A, Morgante F, Sant'angelo A, Rizzo V, Bagnato S, Terranova C, Siebner HR, Berardelli A, Girlanda P. Abnormal plasticity of sensorimotor circuits extends beyond the affected body part in focal dystonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatr.* 2008;9:985–90.
 31. Pelosin E, Bove M, Marinelli L, Abbruzzese G, Ghilardi MF. Cervical dystonia affects aimed movements of nondystonic segments. *Mov Disord.* 2009;13:1955–61.
 32. Ali SO, Thomassen M, Schulz GM, Hosey LA, Varga M, Ludlow CL, Braun AR. Alterations in CNS activity induced by botulinum toxin treatment in spasmodic dysphonia: an H2150 PET study. *J Speech Lang Hear Res.* 2006;49:1127–46.
 33. McDonnell MN, Thompson PD, Ridding MC. The effect of cutaneous input on intracortical inhibition in focal task-specific dystonia. *Mov Disord.* 200;22:1286–92.
 34. Yokochi H, Tanaka M, Kumashiro M, Iriki A. Inferior parietal somatosensory neurons coding face-hand coordination in Japanese macaques. *Somatosens Mot Res.* 2003;20:115–25.
 35. Fogassi L, Luppino G. Motor functions of the parietal lobe. *Curr Opin Neurobiol.* 2005;15:626–31.
 36. Dijkerman HC, de Haan EH. Somatosensory processes subserving perception and action. *Behav Brain Sci.* 2007;30:189–201.
 37. Ruben J, Schwiemann J, Deuchert M, Meyer R, Krause T, Curio G, Villringer K, Kurth R, Villringer A. Somatotopic organization of human secondary somatosensory cortex. *Cereb Cortex.* 2001;11:463–73.
 38. Disbrow E, Litinas E, Recanzone GH, Padberg J, Krubitzer L. Cortical connections of the second somatosensory area and the parietal ventral area in macaque monkeys. *J Comp Neurol.* 2003;462:382–99.
 39. Yamamoto J, Ikeda A, Matsubashi M, Satow T, Takayama M, Ohara S, Matsumoto R, Mikuni N, Takahashi J, Miyamoto S, Taki W, Hashimoto N, Shibasaki H. Seizures arising from the inferior parietal lobule can show ictal semiology of the second sensory seizure (S2 seizure). *J Neurol Neurosurg Psychiatr.* 2003;74:367–69.
 40. Abbruzzese G, Berardelli A. Neurophysiological effects of botulinum toxin type A. *Neurotox Res.* 2006;9:109–14.
 41. Rosales RL, Dressler D. On muscle spindles, dystonia and botulinum toxin. *Eur J Neurol.* 2010;17 Suppl 1:71–80.
 42. Walsh R, Hutchinson M. Molding the sensory cortex: spatial acuity improves after botulinum toxin treatment for cervical dystonia. *Mov Disord.* 2007;22:2443–6.

CORTICAL PLASTICITY AND ITS IMPLICATIONS FOR FOCAL HAND DYSTONIA

Robert Opavsky*, Petr Hlustik, Petr Kanovsky

Department of Neurology, Palacky University, University Hospital, I.P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc, Czech Republic
e-mail: robo74@centrum.cz

Received: October 10, 2006; Accepted: November 20, 2006

Key words: Focal hand dystonia/Cortical plasticity/Sensorimotor integration/Botulinum toxin

Background: The exact origin of focal dystonias has not been elucidated so far. Aberrant plasticity of the brain cortex is suspected to be a crucial factor in the development of this group of movement disorders. The aim of this article is to summarize recent findings on the etiopathogenesis of focal hand dystonias with a focus on the role of abnormal cortical plasticity.

Methods And Results: A search of the literature mainly from 1995 to 2005 was done using the PubMed and Ovid search engines. English-language articles were identified using the following keywords: focal hand dystonia or writer's cramp and cortical plasticity, sensorimotor, imaging. Additional references were found through bibliography reviews of relevant articles. The data from neurophysiological and imaging studies, as well as clinical observation, in focal hand dystonia suggest multiple failures at different levels of the somatosensory and motor systems, particularly in the brain cortex. This disorders lead to attenuation of inhibitory and fortification of excitatory processes.

Conclusions: The emerging theory presumes that a maladaptive plasticity of brain cortex with abnormal sensorimotor intergration can evolve in predisposed individuals. Consequent methods of management of focal hand dystonias are outlined.

INTRODUCTION

Over the past several decades, there has been enormous progress in our understanding of the structure and function of the cerebral cortex. One of the most significant discoveries is the knowledge that the adult mammalian brain cortex is not a rigid structure, but is dynamically reorganized throughout life by experience, learning and central or peripheral insults. This phenomenon is known as cortical plasticity¹.

The pioneer of the term cortical plasticity at the beginning of the 20th century was the Italian psychiatrist Ernesto Lugano. Basic studies in the field were initiated by Donald Hebb, who showed that in rats neuronal cortical synapses are strengthened and remodeled by experience².

Cortical plasticity can be subdivided into two types: adaptive and maladaptive. Adaptive plasticity results in the enhancement of special skills with practice and learning. It allows the brain to compensate for lost functionality due to brain injury of various etiologies (e.g. stroke), damaged motor efferentation (e.g. peripheral nerve lesions) or changes in sensory input (amputation, local anaesthesia). In contrast, excessive plasticity leading to neurological diseases such as mesial temporal sclerosis or focal hand dystonia is maladaptive³.

Several mechanisms have been implicated to underlie plasticity of the nervous system at the cellular level: growth of new neurons (neurogenesis), axonal sprouting with new synapse formation, unmasking or potentiation of existing but normally ineffective neural connections.

Whereas the first mentioned mechanism represents in an adult mammalian brain a rather debated exception limited to the hippocampal dentate gyrus and olfactory bulb⁴, de-novo growth of axonal branches and synapses have been described several weeks after lesioning CNS afferents⁵ and modification of existing synapses takes place within several minute after the insult⁶. In the following text, we will first discuss the last mentioned mechanism, modification of existing synapses, which seems to dominate the adult mammalian CNS.

The basic processes of synaptic plasticity in the mammalian central nervous system are known as long-term potentiation (LTP) and long-term depression (LTD). LTP is defined as a long-term enhancement of synaptic strength resulting from repeated activation of synapses. LTD refers to the opposite phenomenon, a decline in synaptic strength. These processes are highly complicated and not fully elucidated to date - the majority of cellular structures take part in them. A crucial role in the regulation of LTP involves the activation of α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate (AMPA) and especially N-methyl-D-aspartate (NMDA) type of glutamate receptor followed by Ca^{2+} ion entry into post-synaptic neurons⁷. Depending on the duration, strength, and site of Ca^{2+} action, phosphatase calcineurin modulates ion channels, neurotransmitter receptors, cytoskeletal proteins, transcription factors and neurotrophins. In this way, calcineurin initiates both short- and long-term changes in neuronal activity leading to modification of neural plasticity⁷. Compared to the effects exhibited by the NMDA receptor, the gamma-aminobutyric acid (GABA)

receptor exhibits the opposite phenomenon. Nitric oxide (NO) also plays a role in these processes⁹.

Dendritic spines are considered to be a key structure in neuronal plasticity. They are covered with a large number of excitatory receptors, particularly glutamate NMDA receptors. Numerous electron-microscopy studies have shown the ability of the spines to change number and shape dynamically after exogenous stimulation⁹.

Components of the spines play distinct roles in processes of plasticity. The volume of the spine head is important for the regulation of synaptic transmission, possibly through variation of functional glutamate receptor expression. By contrast, the spine neck can, within minutes, influence synaptic signaling through the control of Ca²⁺ influx into dendrites and in this way directly control communication between the spine and dendrite. As a result, this structure is considered to play a decisive role in the induction of synaptic plasticity¹⁰.

Synaptic plasticity of the LTP-type was first described in the hippocampus¹¹ but under specific experimental conditions has also been observed in the neocortex¹².

Another important mechanism involved in brain plasticity is neurogenesis. Its significance is highest in the postnatal period, but recently it was demonstrated in the adult human brain, too. The source of neurogenesis is allegedly neural stem cells located especially in the hippocampus and in the subventricular zone. However, the existence of neurogenesis outside of a limited area of archicortex remains disputed⁴.

There is increasing evidence that glial cells, in particular astrocytes, also play an essential role in brain plasticity. This is accomplished through the regulation of the synaptic environment and maintenance of appropriate levels of neurotransmitters and neurotrophins¹⁴.

Focal hand dystonia

As mentioned above, focal hand dystonias are a significant example of disease with presumed involvement of maladaptive cortical plasticity in their pathogenesis. Dystonia is a disorder characterized by persistent involuntary muscle contractions causing sustained twisting movements and abnormal postures of the affected body parts. Excessive co-contractions of agonist and antagonist muscles, difficulty in activating the appropriate muscles and overflow of muscular activity into extraneous muscles can all occur in dystonia. Focal hand dystonias include writer's cramp, typist's cramp, pianist's cramp and others. These occupational, disabling diseases are usually triggered by the long-term repetition of quickly alternating, highly skilled movements. Therefore these types of dystonias are known as task-specific.

The exact pathophysiology of dystonias is unknown, though it is widely held that dysfunction of the corticostriatal-thalamocortical motor circuits plays a major role^{3,15}. A fundamental finding in the field of cortical plasticity in focal hand dystonias came from primates. Monkeys performed a repetitive digital grasp task while weak vibratory stimuli were delivered to the hand. After several weeks of repetitive practice, their motor performance deteriorated.

Subsequent examination of the somatosensory cortex revealed an alteration in the cortical representation of the hand with fusion of individual finger boundaries¹⁶. Similar observations were made in the human models.

Neurophysiological and imaging methods

In the study of cortical plasticity, imaging and neurophysiological methods can be used. Imaging methods differ in temporal and spatial resolution. Positron emission tomography (PET) displays brain activity with a temporal resolution of minutes and spatial resolution of 1 cm³. Temporal and spatial resolution of functional magnetic resonance imaging (fMRI) is in the order of seconds and cubic millimeters, respectively. Electroencephalography and magnetoencephalography excel with a temporal resolution of milliseconds, but their spatial resolution is lower. One of the most frequently used neurophysiological methods is transcranial magnetic stimulation (TMS). A suitable modification of TMS, known as paired associative stimulation, involves repetitive peripheral nerve stimulation paired with supra-threshold TMS over the homologous primary motor cortex. The increased cortical excitability is expressed as growth of motor evoked potentials (MEP) amplitude. This amplitude probably corresponds to the processes associated with LTP. Among the parameters likely associated with cortical inhibition are cortical silent period (CSP), short-latency intracortical inhibition (SICI), and interstimulus interval (ISI). Different parameters of somatosensory evoked potentials (SEP) serve for the study of analogous processes in the somatosensory system^{15,17}.

With the help of PAS, significantly higher excitability of the motor cortex with a decreased specificity of individual finger representations was detected in patients with writer's cramp. The observation of only minimally prolonged CSP in patients compared to healthy volunteers is important evidence of attenuation of intracortical inhibitory processes in motor cortex¹⁷.

Although the primary manifestation of task-specific hand dystonia is a motor abnormality, there is growing evidence showing a role of the disorder in dysfunctions localized to different levels of the somatosensory system. It has been known for a long time that a change of hand posture or tactile and proprioceptive stimulation of specific sites within the affected region (*geste antagoniste*) can alleviate dystonic symptoms¹⁸. Patients suffering from dystonia often describe ill-defined feelings of discomfort, pain, and kinaesthetic sensations before the clinical manifestations of the disease¹⁹. Many neurophysiological studies have demonstrated failures of temporo-spatial somatosensory discrimination²⁰. Other studies have confirmed disorders of inhibitory functions at spinal, brain stem, and cortical levels of the somatosensory system, particularly in relation to proprioceptive afferentation²¹. Fusion in the cortical sensory representation of dystonic hand fingers has been observed²². Another interesting study has demonstrated abnormal cortical finger representations from the non-dystonic hand²³. Bilateral alteration of sensory processing has also been found in

asymptomatic first-degree relatives of patients with focal dystonia²⁴.

Findings from neurophysiological methods are congruous with information obtained from imaging methods. An fMRI study of patients with writer's cramp during writing demonstrated more significant activation of contralateral thalamus, ipsilateral cerebellar hemisphere, and in particular contralateral primary sensorimotor cortex extending to the premotor association area, in comparison with healthy subjects. This finding supports a hypothesis of extensive motor cortex activation via the thalamus in writer's cramp patients²⁵. Another fMRI study demonstrated overlapping and even inversion of particular finger representation in the S1 area of task-specific hand dystonia patients²⁶. Similar findings were also found in a study using MEG²⁷. Significantly decreased levels of GABA in the contralateral sensorimotor cortex and nucleus lenticularis, with insignificant decreases ipsilaterally, have been detected by MR spectroscopy²⁸. Voxel-based morphometry study also verified the increased volume of gray matter bilaterally in S1 and decreased volume in M1 areas in patients with writer's cramp²⁹. Finally, a study employing PET with O¹⁵H₂O has demonstrated increased metabolic activity in the primary somatosensory cortex in patients with focal hand dystonia³⁰.

Sensorimotor integration

It is generally accepted that the somatosensory system is the main determinant of motor system function. The gamma system comprised of gamma motoneurons, muscle spindles, and their Ia proprioceptive afferentation to the somatosensory cortex, plays this principal role in movement. Every motor performance is a result of interaction between the gamma and alpha system. Any disorder in this interaction results in abnormal movement³¹.

Information from the studies mentioned above confirms the hypothesis that fortified excitatory and attenuated inhibitory processes at different levels of the somatosensory system are a characteristic feature for task-specific hand dystonias. Ia afferentation and GABA transmission participate significantly in these disorders. Other components of the motor system that are likely to participate in the pathogenesis of focal dystonias are the basal ganglia and the thalamus. It is likely that the basal ganglia are responsible for the initiation of automatic and highly trained movement routines in relation to sensory inputs. The fundamental structure for interaction between the motor and sensory systems could be the reticular nucleus of the thalamus with an inhibitory effect on somatosensory transmission¹⁵.

In summary, these results suggest that focal hand dystonias develop as a result of disorder in sensorimotor integration. The emerging theory presumes that repetitive sensory stimulation evolving during repetitive skilled movements can, in predisposed individuals, lead to a maladaptive plasticity of the sensorimotor cortex. Consequently, the insufficient inhibition of afferent sensory information results in aberrant movement.

Therapeutic implications

Therapeutic implications for focal dystonias can be extracted from the above hypotheses. Procedures using manipulation of the sensory, particularly proprioceptive, afferentation seem to be promising. One of the effective methods could be immobilization of the affected hand and fingers combined with rehabilitation. This procedure causes a decrease in proprioceptive afferentation as well as motor efferentation, possibly resulting in clinical improvement for the patient. The presumed mechanism is suppression of the maladaptive plasticity with a corresponding decrease in the extent of the excitable motor cortex³² or decrease of MEP amplitude in TMS³³.

Intramuscular application of botulinum toxin type A into affected muscles is another therapeutic approach. Botulinum toxin blocks neuromuscular transmission in extrafusal muscle fibers as well as intrafusal ones. The afferentation from muscle spindles is subsequently decreased. Neurophysiological studies after the therapy have demonstrated transient normalization of hand cortical motor map following injection³⁴. Further studies using neurophysiological methods have verified normalization of inhibitory and excitatory cortical functions in patients with focal dystonia³⁵.

CONCLUSIONS

The mammalian brain cortex has been continuously modified by the complicated processes of cortical plasticity. But its abnormal increase can lead to pathological conditions such as focal hand dystonia. Although the exact etiopathogenesis of this group of diseases has not been fully elucidated, several findings have already allowed us to alleviate symptoms.

Presumably, future progress in the understanding of processes participating in cortical plasticity will lead to the development of more effective therapy for these and other neurological disorders.

REFERENCES

1. Nudo RJ. Retuning the misfiring brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003; 100:7425-7427.
2. Hebb DO. *The Organization of Behavior: A Neuropsychological Theory*. New York: John Wiley and Sons; 1949.
3. Johansson BB. Brain plasticity in health and disease. *Keio J Med* 2004; 53:231-246.
4. Rakic P. Neurogenesis in adult primate neocortex: an evaluation of the evidence. *Nature Reviews Neuroscience* 2002; 3:65-71.
5. Darian-Smith C, Gilbert CD. Axonal sprouting accompanies functional reorganization in adult cat striate cortex. *Nature* 1994; 6473:737-40.
6. Calford MB, Tweedale R. Immediate and chronic changes in response of somatosensory cortex in adult flying-fox after digit amputation. *Nature* 1988; 6163:446-8.
7. Stanton PK, Schanne FA. Hippocampal long-term potentiation increases mitochondrial calcium pump activity in rat. *Brain Res* 1986; 382:185-188.
8. Kara P, Friedlander MJ. Dynamic modulation of cerebral cortex synaptic function by nitric oxide. *Prog Brain Res* 1998; 118:183-198.

9. Trachtenberg JT, Chen BE, Knott GW, Feng G, Sanes JR, Welker E, Svoboda K. Long-term *in vivo* imaging of experience-dependent synaptic plasticity in adult cortex. *Nature* 2002; 420:788-794.
10. Segal K. Dendritic spines and long-term plasticity. *Nature Rev Neurosci* 2005; 6:277-284.
11. Bliss TV, Lomo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 1973; 232:331-56.
12. Baranyi A, Feher O. Synaptic facilitation requires paired activation of convergent pathways in the neocortex. *Nature* 1981; 5808:413-5.
13. Gage FH. Mammalian neural stem cells. *Science* 2000; 287:1433-1438.
14. Chvatal A, Sykova E. Glial influence on neuronal signaling. *Prog Brain Res* 2000; 125:199-216.
15. Tinazzi M, Rosso T, Fiaschi A. Role of the Somatosensory System in Primary Dystonia. *Mov Disord* 2003; 6:605-622.
16. Byl NN, Marzenich MM, Jenkins WM. A primate genesis model of focal dystonia and repetitive strain injury: I. Learning-induced dedifferentiation of the representation of the hand in the primary somatosensory cortex in adult monkeys. *Neurology* 1996; 47:508-520.
17. Quartarone A, Bagnato S, Rizzo V, Siebner HR, Dattola V, Scalfari A, Morgante F, Battaglia F, Romano M, Girolanda P. Abnormal associative plasticity of the human motor cortex in writer's cramp. *Brain* 2003; 126:2586-2596.
18. Leis AA, Dimitrijevic MR, Delapasse JS, Sharkey PC. Modification of cervical dystonia by selective sensory stimulation. *J Neurol Sci* 1992; 110:79-89.
19. Defazio G, Baradelli A, Abbruzzese G et al. Possible risk factors for primary adult onset dystonia: a case control investigation by the Italian Movement Disorders Study Group. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998; 64:25-32.
20. Sanger TD, Tarsy D, Pasqual-Leone A. Abnormalities of spatial and temporal sensory discrimination in writer's cramp. *Mov Disord* 2001; 16:94-99.
21. Tinazzi M, Priori A, Bertolasi L, Frasson E, Mauguere F, Fiaschi A. Abnormal central integration of a dual somatosensory input in dystonia. Evidence of sensory overflow. *Brain* 2000; 123:142-50.
22. Elbert T, Candia V, Altenmuller E, Rau H, Sterr A, Rockstroh B et al. Alteration of digital representations in somatosensory cortex in focal hand dystonia. *Neuroreport* 1998; 9:3571-3575
23. Maunier S, Garnero L, Ducorps A, Mazieres L, Lehericy S et al. Human Brain Mapping in Dystonia Reveals Both Endophenotypic Traits and Adaptive Reorganization. *Ann Neurol* 2001; 50:521-527.
24. Rome SM, Grünewald RA. Perception of vibration-induced illusory movement in first-degree relatives of patients with dystonia. *Mov Disord* 2000; 15(Suppl 3):140.
25. Preibisch C, Berg D, Hofmann E, Solymosi L, Neumann M. Cerebral activation patterns in patients with writer's cramp: functional magnetic resonance imaging study. *J Neurol* 2001; 248:10-17.
26. Butterworth S, Francis S, Kelly E, McGlone F, Bowtell R, Sawle GV. Abnormal Cortical Sensory Activation in Dystonia: An fMRI Study. *Mov Disord* 2003; 6:673-682.
27. Braun C, Schweizer R, Heinz U, Wiech K, Birbaumer N, Topka H. Task-specific plasticity of somatosensory cortex in patients with writer's cramp. *NeuroImage* 2003; 20:1329-1338.
28. Levy LM, Hallett M. Impaired Brain GABA in Focal Dystonia. *Ann Neurol* 2002; 5:93-101.
29. Garraux G, Bauer A, Hanakawa T, Wu T, Kansaku K, Hallett M. Changes in Brain Anatomy in Focal Hand Dystonia. *Ann Neurol* 2004; 55:736-739.
30. Lerner A, Shill H, Hanakawa T, Bushara K, Goldfine A, Hallett M. Regional cerebral blood flow correlates of the severity of writers' cramp symptoms. *NeuroImage* 2004; 21:904-913.
31. Kaňovský P. Dystonia: A Disorder of Motor Programming or Motor Execution? 2002; *Mov Disord* 6:1143-1147.
32. Liepert J, Tegenthoff M, Malin JP. Changes of cortical motor area size during immobilization. *Electroencephalography & Clinical Neurophysiology* 1995; 6:382-6.
33. Facchini S, Romani M, Tinazzi M, Aglioti SM. Time-related changes of excitability of the human motor system contingent upon immobilisation of the ring and the little fingers. *Clinical Neurophysiology* 2002; 113:367-375.
34. Byrnes ML, Thickbroom GW, Wilson SA, Sacco P, Shipman JM, Stell R, Mastaglia FL. The corticomotor representation of upper limb muscles in writer's cramp and changes following botulinum toxin injection. *Brain* 1998; 121:977-988.
35. Kaňovský P, Bareš M, Strelitová 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.

