

**Univerzita Karlova v Praze**

**1. lékařská fakulta**

Studijní program: Biomedicína

Studijní obor: Neurovědy



**MUDr. Petra Havránková**

**Neuromodulace v léčbě vybraných dystonických syndromů**  
**Neuromodulation in treatment of selected dystonic syndromes**

Dizertační práce

**Školitel: Doc. MUDr. Robert Jech, PhD.**

Praha, 2011

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem dizertační práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 3. 5. 2011

Petra Havránková

Identifikační záznam:

HAVRÁNKOVÁ, Petra. *Neuromodulace v léčbě vybraných dystonických syndromů. [Neuromodulation in treatment of selected dystonic syndromes]*. Praha, 2011. Počet stran 154. Dizertační práce (PhD.). Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Neurologická klinika. Školitel: Doc. MUDr. Robert Jech, PhD.

## **Poděkování**

Na prvním místě bych chtěla velmi poděkovat za odborné vedení, rady a veškerou pomoc během celého postgraduálního studia svému školiteli Doc. MUDr. Robertovi Jechovi, PhD. Jeho nadání i nadšení pro vědeckou činnost je skutečně výjimečné.

Dále bych chtěla poděkovat vedoucímu svého pracoviště Prof. MUDr. Evženovi Růžičkovi, DrSc. za výborné pracovní podmínky pro mé postgraduální studium. Též patří mé díky Prof. MUDr. Soně Nevšímalové, DrSc, která mne přivedla k postgraduálnímu studiu neurověd. Za velmi cenné připomínky k dizertační práci moc děkuji Prof. MUDr. Josefu Vymazalovi, DSc a Doc. MUDr. Janu Rothovi, CSc.

Last but not least děkuji za trpělivost, podporu a též cenné připomínky k vypracování dizertační práce svému manželovi Štěpánovi.

## Abstrakt

Dystonie je definována jako mimovolní kontrakce svalů působící abnormální pohyby nebo postavení různých částí těla (*modifikováno dle (Fahn, 1987)*). Písařská křeč je nejčastějším zástupcem tzv. task – specific fokálních dystonií.

V první studii jsme hodnotili, zda se u pacientů s písařskou křečí (GF) liší vzorec kortikální aktivace při provádění pohybů, které mohou dystonii indukovat (komplexní pohyby) a pohybů, které ke křeči obvykle nevedou (jednoduché pohyby). U komplexních pohybů jsme navíc studovali význam obsahu psaného projevu a význam přítomnosti či absence vizuální zpětné vazby. Ačkoliv komplexní pohyb během fMR vyšetření nevedl u GF pacientů ke vzniku dystonické křeče, byla u nich na rozdíl od jednoduchého pohybu zaznamenána abnormálně snížená kortikální aktivita. Nezáleželo přitom ani na charakteru písemného projevu ani na přítomnosti vizuální zpětné vazby. Naše výsledky tak podporují teorii o dualistickém chování sensorimotorického systému u GF.

Cílem druhé studie bylo ovlivnit příznaky písařské křeče pomocí repetitivní transkraniální magnetické stimulace cílené na kontralaterální primání somatosensorickou kůru (SI rTMS). Jednalo se o placebem kontrolovanou, jednoduše zaslepenou studii. Prokázali jsme, že SI rTMS vede k dlouhodobému zlepšení psaní u pacientů s písařskou křečí. Naopak po aplikaci placebo rTMS nedošlo k významnému zlepšení u žádného z pacientů. Kromě klinického efektu na psaní byly po aplikaci reálné rTMS patrné i změny aktivace rozsáhlých korových oblastí v obraze fMR, hlavně v průběhu aktivních pohybů postižené končetiny. Tyto změny jsou patrně výsledkem reorganizace mozkové kůry vlivem rTMS.

Ve třetí a čtvrté studii jsme se pokusili ovlivnit klinické příznaky vzácných dystonických syndromů pomocí hluboké mozkové stimulace (DBS) globus pallidus pars interna (GPi). V prvním případě se jednalo o pacienta s fenotypem syndromu dystonie - hluchota, u kterého byla DBS indikována po vyčerpání farmakologické terapie pro těžkou cervikální dystonii. Dystonie u pacienta způsobovala závažné polykací a dýchací obtíže. Po implantaci elektrod došlo k výraznému zlepšení stavu - poklesu skóre Burke – Fahn – Marsdenovy škály dystonie (BFMDS) o 75%. V druhém případě se jednalo o pacienta s novou mutací THAP 1 genu DYT 6 dystonie. U pacienta došlo k rozvoji status dystonicus, rezistentnímu na veškerou léčbu. Po implantaci elektrod došlo opět k dramatickému zlepšení stavu – pokles BFMDS o 85%.

## Summary

Dystonia is a neurological syndrome characterized by the involuntary contraction of opposing muscles, causing twisting movements or abnormal postures (modified by Fahn, 1987). Writer's cramp is the most common form of task-specific focal dystonia.

In the first study, patients with writer's cramp were evaluated for differences in cortical activation during movements likely to induce cramps (complex movements) and movements which rarely lead to dystonia (simple movements). Although complex patient movements during fMRI were never associated with dystonic cramps, they exhibited abnormally decreased cortical activity. This was not observed in simple movements and was unrelated to the character of handwriting or the presence/absence of visual feedback. Our results support the theory of dualistic sensorimotor system behavior in writer's cramp.

As the somatosensory system is believed to be affected in focal dystonia, we focused on modulation of the primary somatosensory cortex (SI) induced by repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in the second study, in order to improve writer's cramp. In conclusion, 1 Hz rTMS of the SI cortex can improve manifestations of writer's cramp while increasing cortical activity in both hemispheres. Handwriting as well as subjective assessment improved in most patients, and lasted for two to three weeks. The beneficial effects of rTMS paralleled the functional reorganization in the SI cortex and connected areas, reflecting the impact of the somatosensory system on active motion control.

In the third study we presented a case involving deep brain stimulation (DBS) of the globus pallidus interna (GPI) and its positive clinical effects in a 30 year old male with dystonia-deafness phenotype, with severe cervical dystonia and swallowing and breathing difficulties. GPI-DBS resulted in dramatic improvement of dystonia documented by a 75% m

DYT6 is an early-onset dystonia caused by variable mutations of the gene encoding the thanatos-associated protein (THAP1). In the fourth study we described a novel mutation of the THAP1 gene in two siblings (male and female) with rapid generalization to life threatening status dystonicus in the male. In contrast to the seven previously reported patients, we observed excellent response to bilateral Gpi-DBS determined by an 85% decrease in BFMDS.

# Obsah

## A. Obecná část

1. Úvod	
1.1. Extrapyramidová onemocnění a jejich formy	10
1.2. Dystonie a jejich formy	10
1.3. Fokální dystonie	10
1.4. Task – specific fokální dystonie (TSFD)	11
1.5. Písařská křeč	12
1.5.1. Úvod	12
1.5.2. Prevalence písařské křeče	12
1.5.3. Klinický obraz písařské křeče	13
1.5.4. Typy písařské křeče	13
1.5.5. Genetické podklady písařské křeče	14
1.5.6. Patofyziologické mechanismy písařské křeče	14
1.5.7. Shrnutí možných mechanismů rozvoje písařské křeče	19
1.5.8. Léčba písařské křeče	20
1.6. Funkční magnetická rezonance	22
1.6.1. Technické aspekty funkční magnetické rezonance	22
1.6.2. Předzpracování snímků a statistická analýza dat fMR	25
1.6.3. Využití fMR v klinickém výzkumu a praxi	26
1.7. Neuromodulační metody v léčbě dystonií	26
1.8. Hluboká mozková stimulace v léčbě dystonií	26
1.8.1. Patofyziologické poznámky	26
1.8.2. Zkušenosti s DBS v léčbě dystonií	28
1.8.3. Indikační kritéria	29
1.8.4. Technické aspekty a vlastní provedení DBS	29
1.9. Repetitivní transkraniální magnetická stimulace (rTMS)	30
1.9.1. Technické aspekty transkraniální magnetické stimulace	30
1.9.2. Metodika a vlastní provedení rTMS	35
1.9.3. Využití rTMS ve výzkumu a klinické praxi	37
2. Cíle práce a hypotézy	39

## **B. Výzkumná část**

3. Studie č. 1. Komplexní a jednoduché pohyby u pacientů s písářskou křečí - studie s funkční magnetickou rezonancí	40
3.1. Úvod	40
3.2. Pacienti a metoda	44
3.3. Výsledky	48
3.4. Diskuse	53
3.5. Závěr	57
4. Studie č. 2. Repetitivní transkraniální magnetické stimulace primární somatosensorické kůry v léčbě pacientů s písářskou křečí	58
4.1. Úvod	58
4.2. Pacienti a metoda	60
4.3. Výsledky	66
4.4. Diskuse	75
4.5. Závěr	80
5. Studie č. 3. Efekt hluboké mozkové mozkové stimulace u pacienta s fenotypem syndromu dystonie – hluchota	81
5.1. Úvod	81
5.2. Popis kazuistiky	82
5.3. Diskuse	85
6. Studie č. 4 DYT 6 – nová mutace THAP1 genu s výborným efektem Hluboké mozkové stimulace	87
7. Závěry	89
8. Seznam zkratk použitých v textu	91
9. Seznam publikací autorky	93
10. Publikace in extenso	95
11. Použitá literatura	143



## **A. Obecná část**

### **1. Úvod**

Oblast neurověd i klinické neurologie prodělala za několik posledních desetiletí prudký rozvoj a v současnosti víme o etiopatogenezi neurologických onemocnění mnohonásobně více než naši předchůdci. Nové poznatky o příčinách a mechanismech vzniku jednotlivých onemocnění vedly v mnoha případech i k novým možnostem léčby. Nicméně stále existují onemocnění, jejichž etiopatogeneze není zcela objasněna a často i jejich léčba není uspokojivá pro pacienty ani pro lékaře. Mezi tato onemocnění se řadí i dystonie, které jsem si vybrala za téma své práce.

Na následujících stránkách se pokusím přispět svými výsledky k dalšímu porozumění patofyziologických mechanismů dystonií a hlavně pak k novým možnostem jejich léčby.

#### **1.1. Extrapyramidová onemocnění a jejich formy**

Dystonie řadíme mezi tzv. extrapyramidová onemocnění, což je z dnešního hlediska již nepřesný historický název, který vyjadřoval, že tyto poruchy vznikají při postižení centrálního nervového systému mimo pyramidovou dráhu. Dnes víme, že tato onemocnění jsou způsobena poškozením bazálních ganglií, některých kmenových jader, jejich spojů a navazujících drah. (Růžička et al., 2000)

Onemocnění extrapyramidového systému klinicky rozdělujeme na dvě základní skupiny. Na syndromy tzv. hypokinetické, projevující se neschopností či zpomalením pohybů a ztuhlostí, kam patří především Parkinsonova nemoc a ostatní parkinsonské syndromy. A na syndromy tzv. hyperkinetické, které jsou naopak charakterizovány abnormálními pohyby. Sem řadíme třes, choreu, balismus, dystonie, myoklonus a tiky.

#### **1.2. Dystonie a jejich formy**

Dystonie je definována jako mimovolní kontrakce svalů či svalových skupin podle relativně neměnného motorického vzorce působící abnormální pohyby nebo postavení různých částí těla (*modifikováno dle (Fahn, 1987)*). Elektrofyzilogicky se jedná o tzv. ko –

kontrakce svalů t.j. nefyziologické současné stahy agonistických i antagonistických svalů, které pozorujeme při EMG vyšetření.

Dystonie můžeme dělit podle řady kritérií – podle věku počátku, výskytu, etiologie anebo podle distribuce dystonických obtíží. V této práci se budu nadále držet dělení dle distribuce, podle kterého rozdělujeme dystonie na generalizované, segmentální, multifokální a fokální.

### **1.3. Fokální dystonie**

Fokální dystonie jsou podskupinou dystonií vázaných pouze na určité skupiny svalů. Podle jejich lokalizace rozlišujeme fokální dystonie v oblasti obličeje – dystonie periorbitálních svalů tzv. blefarospasmus, dystonie periorální, orofaciální a oromandibulární. V oblasti šíje vzniká nejčastější forma fokální dystonie tzv. cervikální dystonie neboli torticollis spastica. V oblasti hlasivek se může vyskytnout relativně vzácná laryngeální dystonie. Na končetinách vznikají fokální dystonie převážně akrální, a to jak na horních tak i na dolních končetinách. Zvláštní podskupinou končetinových fokálních dystonií jsou tzv. task specific fokální dystonie, o kterých bude pojednáno dále.

### **1.4. Task – specific fokální dystonie (TSFD)**

TSFD jsou charakterizovány vazbou dystonických projevů na určitou specifickou činnost (Rosenbaum and Jankovic, 1988). Předpokladem pro rozvoj této dystonie je nadměrná zátěž určitých svalových skupin v rámci specifické repetitivní činnosti. Z této definice vyplývá i jejich distribuce, drtivá většina TSFD je vázána na akrální svaly horní končetiny, zbytek je pak vázán na periorální svaly a výjimečně i na akrální svaly dolní končetiny. Nejčastější a nejdéle známá forma TSFD je písářská křeč (grafospasmus). Ale do této skupiny řadíme i klinicky rozmanité křeče hudebníků, které se mohou objevit při hře na jakýkoliv hudební nástroj. Při hře na klávesové a strunné nástroje jsou vázány na drobné svaly ruky či svaly předloktí, při hře na dechové nástroje postihují periorální svaly a zhoršují nebo znemožňují nátisk.

V každé době se objevuje řada nových forem TSFD, které souvisí s vědeckým a technickým rozvojem lidstva. V minulosti to byla např. křeč při psaní na psacím stroji či křeč telegrafistů, dnes jsou to především křeče při práci s počítačovou myší, křeč při psaní na

klávesnici, ale také křeče zámečnicků, techniků atd. Patofyziologické mechanismy i metody léčby jsou až na drobné odchylky (Rosenkranz et al., 2005) prakticky shodné s patofyziologií a terapií písářské křeče.

## **1.5. Písářská křeč**

### **1.5.1. Úvod**

Písářská křeč (grafospasmus) (GF) je nejčastějším zástupcem task – specific fokálních dystonií. První popis tohoto onemocnění je znám z r. 1836, kdy německý lékař J. H. Kopp popsal velice věrně klinické obtíže 50letého pacienta, profesionálního písaře (Goetz et al., 2001). O několik desítek let později popsal Duchenne křeč v oblasti ruky jako funkční stah svalů (Duchenne, 1861), o 17 let později se domníval Gowers (Gowers, 1888), že se jedná o neurotickou záležitost. Mnoho desetiletí přetrvávaly pochybnosti o organickém původu písářské křeče, až v r. 1982 se objevila klíčová práce, která potvrdila její organický původ. (Sheehy and Marsden, 1982)

Onemocnění se vyvine nejčastěji bez jasné vyvolávající příčiny, i když byly popsány případy rozvoje GF v časové souvislosti s úrazem ruky, periferních nervů, kraniocerebrálním poraněním, nebo dlouhodobou bolestí ruky. (Cohen and Hallett, 1988; Jankovic, 2001; Katz and Williams, 1990) Recentní rozsáhlá studie s více než 100 pacienty však většinu těchto rizikových faktorů jako vyvolávající moment písářské křeče nepotvrdila. (Roze et al., 2009) Riziko rozvoje písářské křeče se zvyšovalo pouze s celkovým časem stráveným při psaní, dále při náhlém počátku velké psací zátěže a po kraniocerebrálním traumatu s bezvědomím. Samotný rozvoj onemocnění se zdá být důsledkem působení rizikových faktorů a určité predispozice pacienta včetně genetických vlivů. (Dhaenens et al., 2005; Ritz et al., 2009)

### **1.5.2. Prevalence písářské křeče**

Prevalence je udávána v dostupné literatuře rozdílně od 7/100 000 obyvatel (Kaňovský, 1999) po 2.7/1 000 000 (Tsui and Calne, 1995). Ale vzhledem k tomu, že písářská křeč je spíše poddiagnostikována, může být prevalence ještě vyšší.

### 1.5.3. Klinický obraz písářské křeče

Diagnóza písářské křeče je postavena především na klinických projevech. Počátek onemocnění je nenápadný, prvním příznakem může být pocit snadné unavitelnosti ruky při psaní. Poté si začíná pacient všimnout změny postavení ruky při psaní, jejího stáčení a křeče v předloktí či prstech. Tyto obtíže postupně vedou ke klasickému klinickému obrazu grafospasmu - k abnormálnímu postavení ruky, které se objeví krátce po začátku psaní. Psací náčiní je drženo velmi silně, zápěstí může být taženo ulnárně a vzhůru, někdy navíc dochází ke kompenzační elevaci lokte. Pacienti při snaze o psaní mohou pero v ruce držet jako dýku nebo psát jen perem o velkém průměru násadky, protože se snaží změnit způsob uchopení pera a postavení ruky při psaní a oddálit tím spouštěcí mechanismus dystonické křeče. Dále mohou být přítomny nepříjemné pocity v oblasti zápěstí a prstů. Někdy pacienti cítí při psaní i poměrně výraznou bolest. Někteří pacienti řeší svůj problém tak, že se naučí psát druhostrannou končetinou, ale až u 25% těchto pacientů se vyvine písářská křeč i na původně nepostižené straně. (Sheehy and Marsden, 1982)

### 1.5.4. Typy písářské křeče

Písářská křeč se obvykle dělí podle klinických projevů na dvě základní formy – simplexní a dystonickou (Tsui and Calne, 1995). U simplexní formy je dystonická křeč vázána skutečně pouze na psaní, u dystonické formy se obtíže v různé míře vyskytují i při jiném využití jemné motoriky – např. při holení, nanášení make – up, manipulaci s příborem, šití apod. Asi u třetiny pacientů se nejprve rozvine forma simplexní a s postupem času onemocnění přechází do formy dystonické. V některých případech se po letech dystonické formy grafospasmu může vyvinout i klasická fokální dystonie horní končetiny, která již není přítomna jen při specifických činnostech (není task – specific).

Dále je možné písářskou křeč dělit dle etiopatogeneze na formu primární a sekundární. Příkladem sekundární formy písářské křeče je její vznik jako první příznak Parkinsonovy choroby u pacientů mladších 40 let (Katchen and Duvoisin, 1986). Z literatury je znám vznik TSFD při ischemii v oblasti sulcus postcentralis kontralaterálně k postižené straně (Burguera et al., 2001) nebo vznik fokální dystonie (v tomto případě ne task – specific) při ischemii v ipsilaterální mozečkové hemisféře. (Alarcon et al., 2001)

### **1.5.5. Genetické podklady písářské křeče**

Písářská křeč nepatří mezi onemocnění, která by byla dědičná ve smyslu mendelovské dědičnosti. Nicméně v literatuře se stále více objevují zmínky o familiárním výskytu písářské křeče, zvláště u pacientů s časným počátkem onemocnění (do 20 let věku). Byla popsána mutace DYT 1 genu (jinak způsobující idiopatickou torzní generalizovanou dystonii), která byla asociována s písářskou křečí. (Gasser et al., 1996; Gasser et al., 1998; Ritz et al., 2009; van den Bos et al., 2004) V další práci však podobné asociace prokázány nebyly (Kamm et al., 2000). Souhrnně lze říci, že po dědičném původu písářské křeče je vhodné pátrat u pacientů s rodinným výskytem této diagnózy, či jiné formy dystonie a dále u pacientů s časným počátkem obtíží.

### **1.5.6. Patofyziologické mechanismy vzniku písářské křeče**

Přesný mechanismus vzniku písářské křeče není dosud objasněn, podle studií z posledních let se předpokládá, že se jedná o velmi komplexní proces, který zahrnuje postižení somatosensorického a motorického systému včetně jejich integrace.

#### *Somatosensorický systém a patogeneze písářské křeče*

Změny byly u pacientů s písářskou křečí prokázány ve struktuře a denzitě šedé hmoty primární somatosensorické kůry (SI), kdy v první publikované studii na toto téma bylo patrné při morfometrickém měření oboustranné zesílení šedé hmoty v oblasti SI (Garraux et al., 2004), v novější studii pak naopak našli snížení denzity šedé hmoty jen kontralaterálně k postižení končetině (Delmaire et al., 2007). Tyto nálezy je nutné dát do kontextu s níže uvedenými funkčními změnami somatosensorických okruhů.

V rovině neurochemické byla prokázána nižší hladina kyseliny gama-aminomáselné (GABA), která má obecně inhibiční efekt. Snížení hladiny GABA bylo pozorováno v kontralaterální somatosensorické, ale i motorické kůře a též v ncl. lentiformis u pacientů s písářskou křečí (Cimatti et al., 2007; Levy and Hallett, 2002). Pokles jeho hladiny a změny GABA receptorů jsou nyní dávány do souvislosti s poruchou intrakortikální inhibice.

Při elektrofyziologických studiích byly patrné změny somatosensorických evokovaných potenciálů (SSEP), především zvýšení amplitudy precentrální komponenty N30

(Reilly et al., 1992), ale v jiné studii pak žádný signifikantní rozdíl u pacientů pozorován nebyl. (Murase et al., 2000) Zajímavé jsou i výsledky studie, která hodnotila SSEP před a v průběhu pasivního a aktivního pohybu končetiny, kdy u pacientů s grafospasmem nebyla přítomna běžná atenuace amplitudy N30. (Abbruzzese et al., 2001)

V oblasti primární somatosensorické kůry byly dále pozorovány změny receptivních polí pro oblast jednotlivých prstů. (Bara-Jimenez et al., 1998; Braun et al., 2003; Elbert et al., 1998; Meunier et al., 2001) Jednalo se především o překrývání a rozšiřování jednotlivých polí, tedy o určitou dezorganizaci v jejich uspořádání. Tyto změny byly prokázány též na zvířecích modelech task – specific fokálních dystonií založených na dlouhodobém opakování jednoduchých pohybů končetinou. (Blake et al., 2002; Byl et al., 1997) To logicky vede k myšlence, že TSFD jsou výsledkem poruchy integrace sensorických vstupů a motorického výstupu (sensorimotorické integrace) při dlouhodobém motorickém učení, které zde vede až k „přeučení“ specifické činnosti (Candia et al., 2003; Elbert et al., 1998; Floyer-Lea and Matthews, 2005). Tyto nálezy jsou podpořeny i dalšími abnormitami, jako porušenou časovou (Bara-Jimenez et al., 2000a; Fiorio et al., 2003; Sanger et al., 2001), prostorovou (Sanger et al., 2001) a somatognostickou (Fiorio et al., 2006) diskriminací postižené ruky.

Výsledky funkčně zobrazovacích studií u pacientů s písářskou křečí, všímající si změn aktivace v somatosensorické kůře při různých úlohách s postiženou končetinou, mají nejednoznačné výsledky. Ty jsou patrně dány odlišnou skladbou pacientů, volbou metody (funkční magnetická rezonance versus pozitronová emisní tomografie), ale hlavně rozdílnými úlohami. Změny v aktivaci somatosensorických oblastí byly pozorovány, jak při úlohách vyvolávajících dystonickou křeč – např. psaní nebo kreslení, tak i při úlohách tuto křeč nevyvolávajících. V somatosensorické kůře byla patrna aktivita jak vyšší, (Lerner et al., 2004; Odergren et al., 1998; Peller et al., 2006) tak i nižší (Butterworth et al., 2003; Ceballos-Baumann et al., 1995; Ibanez et al., 1999; Oga et al., 2002) oproti zdravým kontrolám.

Konečně pro účast somatosensorického systému v etiopatogenezi fokálních dystonií svědčí i již dlouho známý tzv. geste antagoniste (GA), který poprvé popsal patrně Schwalbe v r. 1908 ve své práci o dystoniích. Geste antagoniste je výraz, který do češtiny běžně nepřekládáme, jedná se o určitý sensorický trik, který cílený jako dotyk či tlak na část těla většinou nedaleko té postižené, vede k dočasnému zmírnění projevů dystonie. GA pozorujeme nejen u písářské křeče, ale i u jiných forem fokálních dystonií např. u cervikální dystonie či blefarospasmu. Geste antagoniste byl dříve považován pouze za psychologický manévr, ale bylo prokázáno, že modifikuje EMG nález (Muller et al., 2001). Jeho podstata není dosud

zcela jasná, ale je možné, že redukuje poruchu zapojení suplementární motorické arey (SMA) a primární sensorimotorické kůry (SM) u pacientů s dystonií (Abbruzzese et al., 2001).

Všechny tyto poznatky o abnormitách v somatosensorickém systému pak byly využity při hledání nových terapeutických metod a zpětně byly tyto poznatky potvrzeny úspěšností somatosensorického tréninku (Peller et al., 2006; Zeuner et al., 2002), perkutánní elektrické stimulace nervů (TENS) (Tinazzi et al., 2005), či cíleného chlazení (Pohl et al., 2002) postižené končetiny v léčbě písářské křeče.

### *Motorický systém a patogeneze písářské křeče*

Účast motorického systému a jeho změn v patogenezi písářské křeče je nepochybná už z jeho klinických projevů (viditelným projevem je dystonická křeč svalů, abnormální ko – kontrakce agonistů a antagonistů).

V motorickém systému je postiženo patrně především programování pohybů (Byrnes et al., 1998; Ceballos-Baumann et al., 1997). Vlastnímu provedení cíleného naučeného pohybu předchází spuštění motorického programu, který je předtím vybrán z motorické paměti. Substrát motorické paměti není dosud zcela určen, ale mohla by jím být premotorická kůra. Motorický program je aktualizován a upraven v motorickém okruhu bazálních ganglií – přímé a nepřímé dráze, kde se na něm podílí hlavně putamen. Vlastní pohyb je pak iniciován z primární motorické kůry a je kontrolován zpětnovazebnými somatosensorickými mechanismy. (Kaňovský, 1999)

Motorických programů určených pro stereotypní pohyby má každý jedinec vytvořenou celou řadu a je pravděpodobné, že se stejně vytváří a fungují i tzv. subrutiny – jakési specifické podprogramy pro časté specializované pohyby např. pro psaní. Dystonická kontrakce může být výsledkem chybného zařazení subrutiny do aktuálního motorického programu, pro to svědčí i porucha vrátkování předcházejícího pohybu. (Murase et al., 2000) Dalším problémem, který se projevuje u pacientů při provedení specifického pohybu, je porucha inhibice přidružených pohybů (tzv. surround inhibition). (Peller et al., 2006) U zdravého jedince jsou při jednoduchém pohybu např. prsty jedné ruky zároveň inhibovány prsty druhostranné končetiny (Sohn et al., 2003), ale i ostatní svaly stejnostranné končetiny. U pacientů s písářskou křečí dochází k poruše této inhibice, jak ukazují práce s magnetickou

stimulací (Stinear and Byblow, 2004), a též se častěji vyskytují zrcadlové pohyby druhostranné končetiny. (Sitburana and Jankovic, 2008; Sitburana et al., 2009)

Ve funkčně zobrazovacích studiích byly popsány změny aktivace oproti zdravým kontrolám, a to jak při úlohách vyvolávajících, tak i nevyvolávajících dystonickou křeč. Opět však tyto práce přinášejí rozporuplné výsledky, jak v aktivaci primární motorické kůry, kdy byla pozorována vyšší i nižší aktivita (Ceballos-Baumann et al., 1995; Ceballos-Baumann et al., 1997; Ibanez et al., 1999; Islam et al., 2009; Newton et al., 2005; Odergren et al., 1998; Oga et al., 2002), tak ale i v aktivaci premotorické kůry (PM) (Ceballos-Baumann et al., 1995; Ibanez et al., 1999; Odergren et al., 1998) a SMA. (Ceballos-Baumann et al., 1995; Islam et al., 2009; Oga et al., 2002)

O funkčních změnách v oblasti primární motorické kůry u fokálních dystonií se však můžeme dozvědět více i z prací využívajících transkraniální magnetickou stimulaci (TMS). Buď při aplikaci jednotlivých stimulů, která je v současnosti prakticky technicky totožná s motorickými evokovanými potenciály (MEP), tak především při párové stimulaci (pTMS). Při MEP byly prokázány změny amplitudy z postižené končetiny, které prudce stoupaly s intenzitou stimulu (Bareš et al., 2003), a dále byly pozorovány změny kortikální reprezentace svalů postižených dystonií spolu s výrazným zkrácením kortikální periody útlumu (SP - silent period). SP je dle posledních výzkumů mediována pomocí GABA – B receptorů (Werhahn et al., 1999).

Studie s pTMS prokázaly snížení intrakortikální inhibice mozkové kůry (Beck et al., 2008; Filipovic et al., 1997; Lerner et al., 2004; Ridding et al., 1995). To je nyní považováno za jeden z klíčových nálezů elektrofyziologických studií písárecké křeče ale i jiných fokálních dystonií (Peller et al., 2006). pTMS je realizována pomocí dvou po sobě jdoucích stimulů s pevně daným interstimulačním intervalem (ISI), ke krátkodobé intrakortikální inhibici u zdravých jedinců pak vedou intervaly menší než 5 ms, ISI mezi 8 a 30 ms pak naopak vedou k facilitaci.

Všechny výše uvedené změny se týkají korových oblastí, ale odchylky od normy byly pozorovány i v jiných etážích motorického systému.

V oblasti periferního nervového systému byla za možný vyvolávající moment považována traumata periferních nervů, nicméně současné práce ukazují, že tato souvislost není jasná. Práce Jankovice postuluje podmínky, za kterých je možné uvažovat o traumatem



indukovaných dystoniích (Jankovic, 2001) a nejnovější práce zpracovávající velký soubor pacientů dokonce periferní trauma nepovažuje za rizikový faktor vůbec (Roze et al., 2009).

Na úrovni míšni se jedná především o redukci reciproční inhibice H reflexu (korelát ko – kontrakce svalů), s tím že byla pozorována časově omezená úprava po aplikaci botulotoxinu (Abbruzzese et al., 2001; Nakashima et al., 1989; Panizza et al., 1989).

Stále je však zvažován podíl mozečku na patogenezi fokálních dystonií. Když pomineme kazuistická pozorování pacientů s lézí mozečku s následným rozvojem dystonie (Alarcon et al., 2001), tak morfometricky byly prokázány oboustranné strukturální změny šedé hmoty u pacientů s písářskou křečí (Delmaire et al., 2007). Dále ve funkčně zobrazovacích studiích byly pozorovány změny BOLD signálu, opět s ne zcela konzistentními výsledky. (Hu et al., 2006; Peller et al., 2006; Preibisch et al., 2001)

V řadě funkčně zobrazovacích studií byly prokázány změny aktivace v bazálních gangliích a thalamu, někdy i oboustranně. Je zajímavé, že změny aktivace byly prokázány nejen při motorických úlohách (Ceballos-Baumann et al., 1997; Ibanez et al., 1999; Lerner et al., 2004; Odergren et al., 1998; Oga et al., 2002), ale i při úlohách sensorických, tedy přesněji při úlohách s taktilní diskriminací postižené končetiny (Peller et al., 2006). Zvýšená aktivita nebyla vázána pouze na putamen, zapojeném v motorickém okruhu bazálních gangliích, ale též byla patrná i v ncl. caudatus. Je tedy možné, že bazální ganglia představují jakýsi filtr sensorických informací, při jejich hyperaktivitě je tento filtr porušen, a vše se odráží v atypickém motorickém projevu (dystonické křeči). S tímto by mohla být v souladu i práce, která popisuje poruchu somatotopiky v putamen kontralaterálně k postižené končetině. Další práce, která podporuje teorii o komplexnějším významu změn v bazálních gangliích, popisuje přetrvávání neuronální aktivity v bazálních gangliích i po ukončení motorické úlohy u pacientů. (Blood et al., 2004)

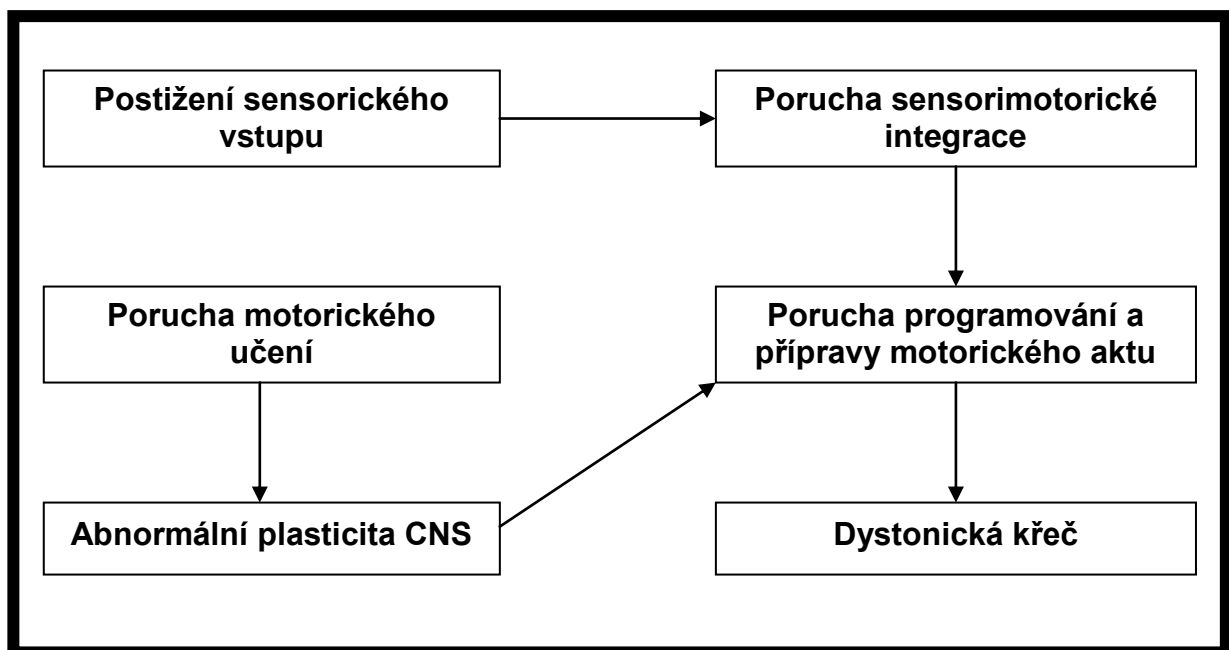
### 1.5.7. Shrnutí možných mechanismů rozvoje písářské křeče

Na předchozích stránkách byly encyklopedicky shrnuty různé poznatky změn motorického a sensorického systému u písářské křeče. Ale její rozvoj je příliš komplexní proces, aby bylo ho možné vysvětlit jedním mechanismem. Je to spíše výsledek mnoha vnějších i vnitřních faktorů, které vedou k níže uvedeným abnormitám.

Na prvním místě jsem uvedla četné změny v oblasti somatosensorické kůry a přilehlých struktur, které byly prokázány. Jak ale tyto změny mohou ovlivňovat výsledný motorický proces, který je jasně při písářské křeči narušen? Jedině díky sensorimotorickým spojmům a jejich vzájemné integraci, jejíž porucha byla skutečně u písářské křeče prokázána (Abbruzzese et al., 2001).

Dalším důležitým bodem je nutnost opakování specifické činnosti (psaní), aby se písářská křeč vůbec rozvinula. Jakou roli hraje tato skutečnost v patogenezi? Při nácviu jakékoliv nové činnosti se v rámci motorického učení uplatňuje plasticita mozku. Zdá se, že v případě rozvoje dystonie se jedná o plasticitu nadměrnou a maladaptivní t.j. patologickou (Quartarone et al., 2008; Quartarone et al., 2005), která vede k přeučení činnosti, které ústí k dezorganizaci sensorických i motorických homunkulů. A nakonec je vytvořen chybný motorický program. Tyto úvahy shrnuje Obrázek č. 1.

**Obrázek č. 1.** Shrnutí možných patofyziologických mechanismů písářské křeče



### 1.5.8. Léčba písářské křeče

Možnosti ovlivnění písářské křeče jsou rozmanité, ale ne vždy úspěšné. První možností je farmakologická léčba, druhou ostatní nefarmakologické postupy.

#### *Farmakologické strategie léčby písářské křeče*

Jako u jiných typů dystonií byla i zde zvláště v minulosti zkoušena anticholinergika (např. biperiden, trihexyphenydil, procyklidin) ve vysokých dávkách, které však přinášely svým uživatelům spíše četné nežádoucí účinky než pozitivní terapeutický efekt. Proto bylo od této léčby upuštěno. Skupinou preparátů, které v některých případech mají symptomatický efekt, jsou GABA agonisté - např. baklofen či clonazepam, ale časté nežádoucí účinky limitují jejich využití.

Jedinou farmakologickou, i když invazivní léčbou, která má svůj nezastupitelný význam, a je v současné době metodou I. volby léčby písářské křeče, je lokální aplikace botulotoxinu do postižených svalů (Cohen et al., 1989). Efekt botulotoxinu není však jen lokální, jak se původně předpokládalo, ale je patrný i na centrální úrovni. Např. Byrnes prokázal po aplikaci botulotoxinu změny somatotopiky primární motorické kůry (Byrnes et al., 1998). Úspěšnost léčby botulotoxinem u pacientů s písářskou křečí je však nižší než u jiných typů fokálních dystonií (cervikální dystonie, blefarospasmus). Dystonická křeč je zde vázána pouze na určitou činnost a mimo tuto činnost je funkce postižených svalů zcela normální, zatímco botulotoxin tyto svaly ovlivní (oslabí) nepřetržitě v období svého efektu. Nejčastějším steskem pacientů s písářskou křečí léčeným botulotoxinem proto bývá slabost injektovaných svalů či nedostatečný účinek při nižší dávce.

#### *Nefarmakologické strategie léčby písářské křeče*

Vzhledem k nižší účinnosti a nežádoucím účinkům botulotoxinu v léčbě písářské křeče jsou stále hledány nové metody léčby.

V posledních letech byly v návaznosti na změny sensorimotorického systému u pacientů s písářskou křečí experimentálně zkoušeny metody sensorického či motorického tréninku. V rámci sensorického tréninku bylo úspěšné učení Braillova písma (Zeuner et al., 2002; Zeuner and Hallett, 2003), kdy po výcviku pacienti pozorovali jednak zlepšení

porušeného diskriminačního cití, ale též zlepšení motorických funkcí. Další možností byl „motorický trénink“ a „motorický blok“. Motorický trénink zahrnoval cvičení každého prstu zvlášť (Zeuner et al., 2005), motorický blok znamenal imobilizaci postižené končetiny na 4 – 6 týdnů, oboje s dobrým efektem na psaní. Efektivním se též zdá být kombinace imobilizace, následované motorickým tréninkem (Zeuner et al., 2008) anebo kombinace sensorického a motorického tréninku (Byl et al., 2009; McKenzie et al., 2009). Obecně však tyto techniky jsou úspěšné spíše u pacientů se simplexní, tedy ne příliš pokročilou formou onemocnění. Dalším problémem je jejich časová náročnost a délka efektu nepřesahující několik týdnů.

Pozitivní efekt na písmo pacientů měla též perkutánní somatosensorická elektrická stimulace postižené končetiny (TENS). (Tinazzi et al., 2005)

Dále to jsou možnosti chirurgické intervence, kdy u pacientů s těžkou formou onemocnění se objevují první pozitivní zmínky o využití hluboké mozkové stimulace (DBS) jako léčby písářské křeče (Fukaya et al., 2007; Cho et al., 2009), která je jinak úspěšně využívána především u generalizované dystonie či těžkých forem cervikální dystonie. (Albanese et al., 2006; Lee et al., 2007)

Jako nová experimentální možnost ovlivnění písářské křeče se objevila v posledním desetiletí repetitivní transkraniální magnetická stimulace (rTMS). rTMS poměrně arbitrárně dělíme na nízko a vysokofrekvenční rTMS. Nízkofrekvenční rTMS (1 Hz a méně) má hypoteticky inhibiční účinky na přilehlou tkáň (Chen et al., 1997a), zatímco vysokofrekvenční (více než 1 Hz) má hypoteticky excitační účinky na přilehlou tkáň. Vzhledem k tomu, že u písářské křeče byla opakovaně pozorována porucha intrakortikální inhibice, byla zkoušena hlavně nízkofrekvenční rTMS. 1 Hz rTMS cílená na kontralaterální primární motorickou kůru vedla u 50% pacientů ke zmírnění projevů písářské křeče (Siebner et al., 1999). rTMS cílená na oblast premotorické kůry nebyla provázána jednoznačnými pozitivními terapeutickými výsledky, v první práci pozitivní efekt přítomen nebyl (Siebner et al., 2003), v druhé a třetí ano. (Borich et al., 2009; Murase et al., 2005) V posledních dobách vypadá terapeuticky nadějně i nové paradigma rTMS tzv. theta burst stimulace, která by měla zkrátit vlastní dobu stimulace, ale zachovat nebo i zvýšit její účinnost. (Huang, 2010; Huang et al., 2010; McAllister et al., 2009)

## **1.6. Funkční magnetická rezonance (fMR)**

Funkční magnetická rezonance byla poprvé představena na počátku devadesátých let minulého století (Ogawa et al., 1990). Jejím prostřednictvím jsme schopni zachytit aktivitu vybrané mozkové oblasti v průběhu různých typů úloh (např. motorických, sensorických nebo kognitivních). Funkční zobrazování pomocí MRI v širším smyslu zahrnuje kromě nejčastěji využívané tzv. BOLD (blood oxygenation level dependence) techniky i tzv. zobrazování vážené k difuzi protonu (diffusion-weighted paging) a případně i zobrazení perfuze (perfusion paging). V užším smyslu je ale pojem fMR používán pro metodu BOLD efektu.

Na rozdíl od další metody funkčního zobrazení mozku pozitronové emisní tomografie (PET) je fMR BOLD levnější a není potřeba aplikace radiofarmaka či jiné kontrastní látky.

### **1.6.1. Technické aspekty funkční magnetické rezonance**

Podstatou BOLD funkční magnetické rezonance je zachycení změn poměru oxy – a deoxyhemoglobinu v sledované tkáni při určité úloze. Tyto změny můžeme detekovat díky tomu, že oxy – a deoxyhemoglobin mají odlišné magnetické vlastnosti (Ogawa et al., 1990). Oxyhemoglobin je podobně jako většina tkání v lidském těle diamagnetický, tedy nemá zvláštní magnetické vlastnosti. Ale deoxyhemoglobin je díky čtyřem nepárovým elektronům železa paramagnetický, a tím mění vlastnosti vnějšího magnetického pole svým vlastním polem. V místech vyššího výskytu deoxyhemoglobinu je magnetické pole o něco silnější, což vede k nehomogenitě v místě přítomného deoxyhemoglobinu a v jeho blízkém okolí. Důsledkem je rychlejší rozfázování tzv. precesního pohybu jednotlivých protonů, který vykonávají v tzv. Larmorově frekvenci, která závisí právě na velikosti lokálního magnetického pole. To se projeví zkrácením tzv. T2\* relaxačního času.

V části mozkové kůry, která je právě aktivována dochází ke zvýšení neuronální aktivity, což vede ke zvýšení lokálního metabolismu a zvýšené spotřebě kyslíku, který je nutné získat z oxyhemoglobinu. V této chvíli bychom tedy pozorovali iniciální pokles BOLD signálu (tzv. initial dip - tuto fázi však většinou běžné přístroje nezachytí). V další fázi se již uplatní zvýšený přítok krve do tkáně tj. zvýšená perfúze a tento stav pozorujeme jako vlastní odpověď - zvýšení BOLD signálu, při které zdánlivě paradoxně dochází ke zvýšení obsahu oxyhemoglobinu díky výše popsané zvýšené lokální perfúzi. Tato reakce vrcholí za několik sekund od počátku a po ní následuje již jen pokles signálu. Zdrojem nehomogenity jsou tedy molekuly deoxyhemoglobinu v erytrocytech.

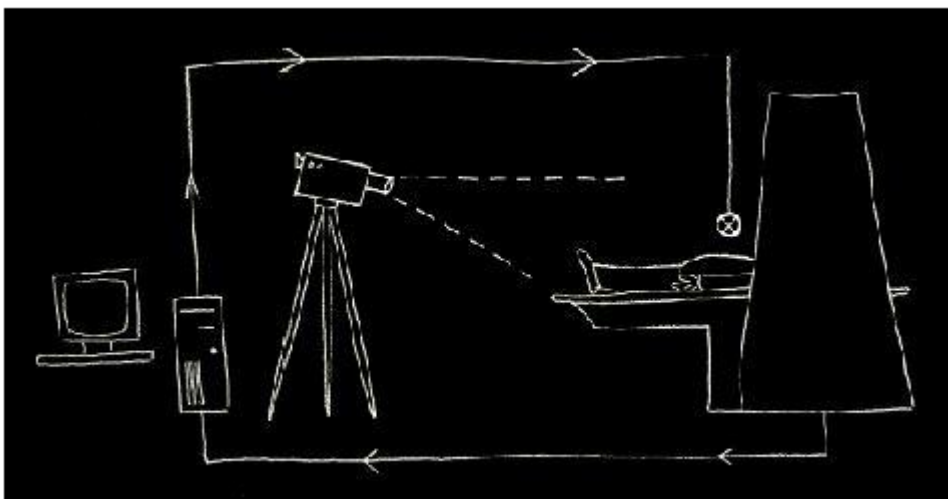
Při provedení fMR rozlišujeme dva druhy designů úlohy – blokový a tzv. event – related (na událost vázaný design). Při blokovém designu střídáme v pravidelných intervalech období klidu a období, kdy pacient provádí opakovaně zadanou úlohu dle specifického paradigmatu (hromadíme provedení úlohy do bloku). Opakování úlohy je nutné vzhledem k malé procentuální změně signálu, též je nutností statistické zpracování této změny. Statistické zpracování je nutné i u přístrojů se silou pole 3 Tesla, které do klinického zobrazování stále více pronikají. Výhodou blokového designu je jeho jednoduché provedení a snadná analýza. Nevýhodou je nemožnost zachycení jednotlivé hemodynamické odpovědi a spontánního provedení úlohy pacientem.

Event – related design je naopak zaměřený na jednotlivé události, kdy se snažíme zachytit odpověď každé z nich. Zde se střídá krátké období většinou spontánního vykonávání úlohy s delším obdobím klidu, abychom mohli sledovat celou hemodynamickou odezvu při aktivaci tkáně.

Úskalím této metody je pak synchronizace pacientovy aktivity se signálem magnetické rezonance, abychom byli schopni přesně určit, kdy pacient svou úlohu začal a jak dlouho trvala. Tyto informace jsou nezbytné pro další analýzu.

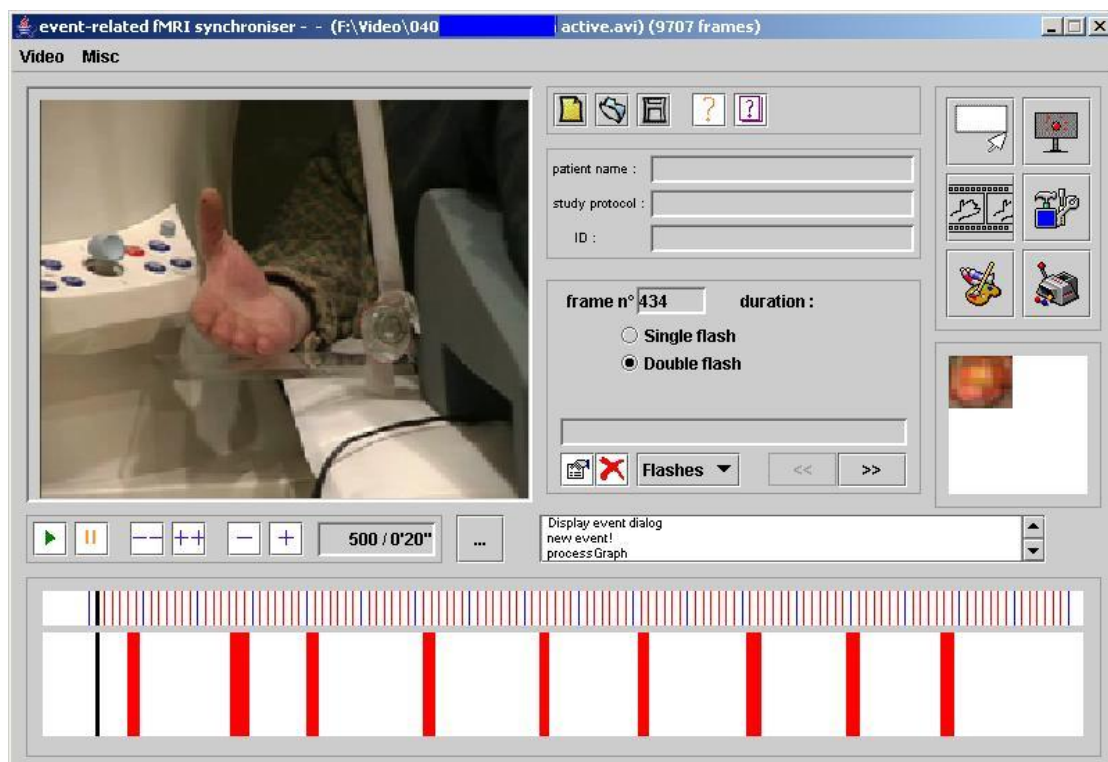
Pro náš výzkum jsme proto využili novou metodu synchronizace motorické úlohy (v našem případě aktivního či pasivního pohybu pravé ruky) a MR signálu (tzv. metoda video – fMR monitorování) (Obrázek č. 2).

**Obrázek č. 2.** Schéma provedení metody tzv. video – fMR monitorování



Podstatou je umístění LED diody spojené s MR přístrojem (synchronizované s jejím signálem) vedle vyšetřované končetiny pacienta a celé vyšetření fMR bylo natáčeno digitální kamerou. Tento postup nám jednak dovolil kontrolu vlastního provedení motorické úlohy, takže jsme mohli vyloučit pohyby prováděné nesprávným způsobem. Dále nám umožnil díky speciálně vytvořenému software (fMR synchro software, Operto 2004) automaticky analyzovat záblesky diody a tyto záblesky synchronizovat s počátky a trváním jednotlivých pohybů pacienta s přesností cca 40 ms. Začátek a konec každého pohybu byl pak určen vizuálně jedním hodnotitelem pro celou studii s přesností na 1 frame. Design programu je ukázán na Obrázku č. 3.

**Obrázek č. 3.** Design programu fMR synchro (Operto 2004)



Podmínkou pro provedení BOLD fMR je užití tzv. echo – planárních sekvencí (T2\* vážených), které jsou dostatečně rychlé a citlivé na postihnutí požadovaných změn BOLD signálu. Velkou výhodou mají v tom, že za velmi krátkou dobu jsou schopny zachytit celý objem mozku v 32 transverzálních řezech. Velikost voxelu se pohybuje kolem cca 3 x 3 x 3 mm<sup>3</sup>, což je pro většinu experimentů vyhovující.

V průběhu fMR vyšetření jsou snímány i běžné morfologické (T1 a T2 vážené) sekvence, která slouží k přesné anatomické lokalizaci zachycených funkčních změn a k vyloučení dosud nepoznané patologie

### **1.6.2. Předzpracování snímků a statistická analýza dat fMR**

Během fMR vyšetření získáme sadu MR snímků, které zahrnují řadu zachycení celého objemu mozku (scany) v průběhu úlohy. Tyto scany je nutné dále zpracovat, k tomu se nejčastěji používají programy – SPM, FSR a AFNI.

fMR vyšetření je velmi citlivé na pohyby hlavy v průběhu vyšetření. Proto prvním krokem předzpracování snímků je odstranění pohybových artefaktů (tzv. realignment). První MR scan je brán jako referenční, ostatní jsou upraveny pomocí rotace či posunu v prostoru tak, aby se snímky co nejvíce překrývali.

Další nutnou úpravou je časová korekce (slice – time correction). Při rychlém časování stimulů korigujeme časové posuny mezi jednotlivými vrstvami pomocí interpolace časového průběhu.

Po časové korekci přecházíme v experimentálním designu k prostorové normalizaci snímků (normalization). Získané snímky převádíme do jednotného standardizovaného stereotaktického prostoru (Montreal Neurological Institute). Tento krok je nezbytný pro porovnávání snímků mezi jednotlivými pacienty nebo při použití stereotaktických atlasů, protože umožňuje orientaci a srovnání výsledků podle jednotných souřadnic.

Prostorové vyhlazení (smooth) pak zajišťuje potlačení šumu v datech. K tomu se nejčastěji využívá tzv. Gaussův filtr o šíři 10 mm.

Posledním krokem předzpracování je normalizace intenzity BOLD signálu. Jedná se o úpravu intenzity na předem stanovenou hodnotu. Další možností je pak filtrace časového průběhu, kterou dále korigujeme kolísání signálu a šum.

Statistické zpracování fMR dat využívá řadu metod. Většinou volíme tzv. voxel – by – voxel analýzu, kdy porovnáváme chování jednotlivých voxelů s období klidu s období aktivita. Metody, které v těchto případech nejčastěji využíváme, jsou založeny na obecném lineárním modelu.



### **1.6.3. Využití fMR v klinickém výzkumu a praxi**

Funkční magnetická rezonance získala své pevné místo nejen v klinickém výzkumu, ale nyní i v klinické praxi, stále více je preferována oproti tradičním metodám u pacientů před neurochirurgickými výkony, kdy je nutné zjistit vztah patologického ložiska vůči primární motorické kůře či jiné zásadní korové oblasti (Lundquist et al., 1997). Další indikací je určení laterality řečových funkcí před epileptochirurgickými výkony v oblasti temporálního laloku, zde je fMR jistě elegantnější metodou než klasický Wada test (Rutten et al., 2002).

Ve výzkumu je využití fMR velmi široké a není možné zde celé spektrum postihnout. Obecně je možné říci, že funkční rezonanci lze využít všude tam, kde nás zajímá aktivace korových či podkorových oblastí v rámci určité činnosti, která je proveditelná v MR přístroji. Podkorová centra nelze obvykle vyšetřovat pomocí BOLD fMR na přístrojích o síle pole 1.5 Tesla, ale je nutné pole vyšší (3 Tesla). O výsledcích fMR u dystonií bylo pojednáno výše.

## **1.7. Neuromodulační metody v léčbě dystonií**

Neuromodulační metody získávají v posledních letech své místo v léčbě dystonií, jak již bylo zmíněno výše u léčby písářské křeče. V zásadě sem řadíme dvě metody.

Tou první metodou je hluboká mozková stimulace (DBS), která díky elektrodám implantovaným do určité části mozkových jader spojených s neurostimulátorem ovlivňuje cílové struktury pomocí elektrického pole. Druhou metodou je repetitivní transkraniální magnetická stimulace (rTMS), která primárně generuje pole magnetické, ale vlastní ovlivnění nervových buněk se děje díky elektrické stimulaci, jak bude vysvětleno níže.

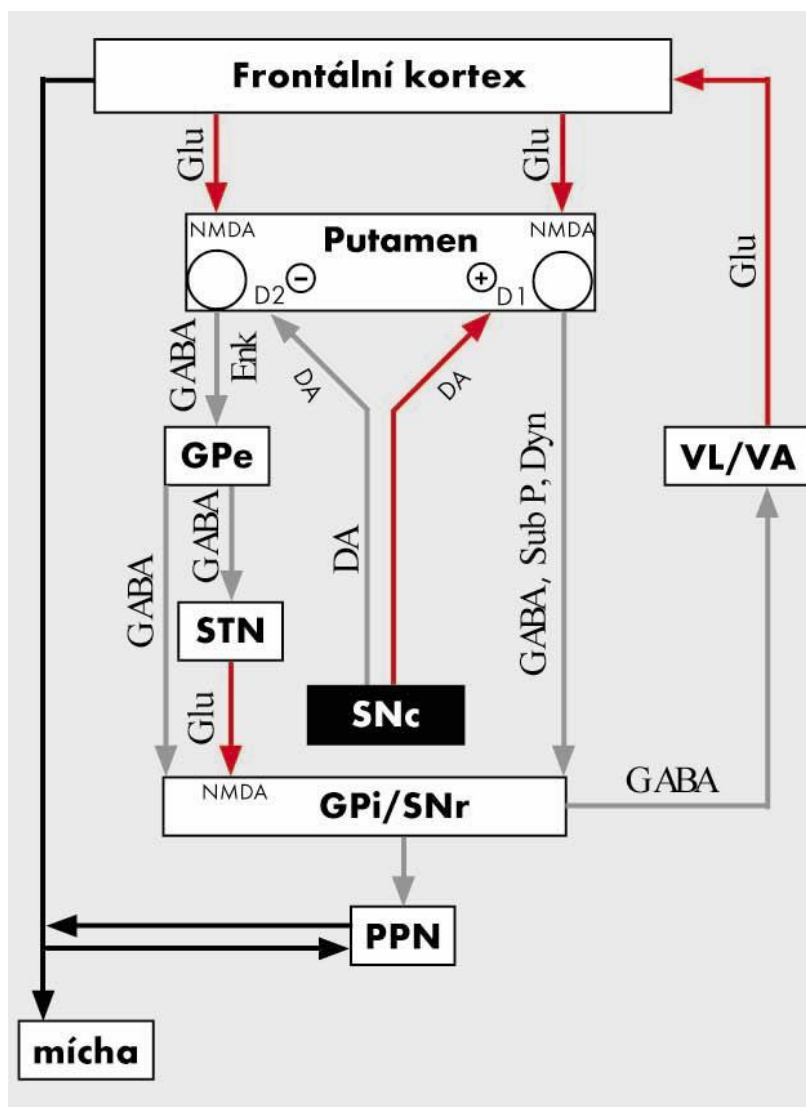
## **1.8. Hluboká mozková stimulace (DBS) v léčbě dystonií**

### **1.8.1. Patofyziologické poznámky**

O patofyziologii dystonií se zaměřením na písářskou křeč již bylo pojednáno. Úloha bazálních ganglií byla též zmíněna, ale zde se dostává do popředí, protože místem zásahu u DBS jsou právě bazální ganglia. V současnosti je preferovaným cílem DBS u dystonií globus pallidum pars interna (GPi), a to jeho posteroventrální část (Coubes et al., 2002). Volba GPi

není náhodná. Bazální ganglia mají velmi bohaté reciproční spoje s kortikálními oblastmi. Pro normální pohybový projev je podstatný intaktní tzv. „motorický okruh“ (Obrázek č. 4). Motorický okruh se skládá z přímé a nepřímé dráhy, jejíž koordinovanou činností je modulován volní pohyb. Při jeho postižení nebo vlivem postižení souvisejících nervových struktur vznikají různá extrapyramidová onemocnění tedy i dystonie.

**Obrázek č. 4.** Motorický okruh bazálních ganglií (dle Růžička et al., 2000)



U dystonie a vůbec všech dyskinetických syndromů dochází k nadměrné aktivitě v obou drahách, kdy zvýšená aktivita pravděpodobně vede k abnormálním pohybům – v případě dystonie ke ko – kontrakcím svalů a rozvoji dystonické křeče (Vitek, 2002). Studie s funkčně zobrazovacími metodami ukázaly sníženou inhibiční schopnost globus pallidus na

jádra thalamu a nadměrnou aktivaci motorických korových oblastí. (Berardelli et al., 1998) Situace však není tak jednoznačná, protože záznamy snímané aktivity pomocí jehlové elektrody z oblasti GPi neukázaly jasně zvýšenou aktivitu, ale spíše aktivitu nepravidelnou a shlukující se série výbojů. (Sanghera et al., 2003; Vitek et al., 1998) Dalším zajímavým nálezem je zvýšená citlivost GPi při sensorické stimulaci a pasivních pohybech (Vitek et al., 1998).

Ani přesný mechanismus účinku DBS není znám. Původní hypotézy předpokládaly, že stimulace vlastně napodobuje lézi, tedy inhibuje aktivitu neuronů v místě stimulace. Ale nyní se uvažuje spíše o tom, že aktivita neuronů v místě zanořené elektrody je sice potlačena, ale výstup stimulovaného jádra naopak může být zvýšen (Anderson et al., 2003; Hashimoto et al., 2003; Jech et al., 2001). Výsledkem je tedy spíše jiná frekvence výbojů, která ovlivňuje činnost okolních struktur.

### **1.8.2. Zkušenosti s DBS v léčbě dystonií**

Po popisu prvního případu úspěšného využití DBS GPi u 8 leté dívky s generalizovanou dystonií (Coubes et al., 1999), následovalo mnoho studií popisující dobrý efekt DBS u pacientů s různými formami dystonie. Pro objektivní sledování efektu DBS u dystonií se nejčastěji využívá Burke – Fahn – Marsdenova škála (BFMDS) (Burke et al., 1985).

U pacientů s generalizovanou dystonií bylo popsáno až 90% zlepšení skóre BFMDS, průměrný efekt je popisován cca okolo 50% zlepšení (Tarsy, 2008). Souhrnem studií s DBS u generalizovaných forem dystonií nebyly dlouho dány faktory, které by svědčily pro lepší efekt DBS (Coubes et al., 2004; Kupsch et al., 2006; Vidailhet et al., 2005). Nezáleží na věku, vstupním BFMDS, DYT1 pozitivitě nebo lokalizaci elektrod v GPi.

U fokálních či segmentálních dystonií je nejvíce zkušeností s pacienty s cervikální dystonií. DBS je zde využívána u pacientů, kteří neprofitují z aplikací botulotoxinu. U těchto pacientů je patrný velmi dobrý efekt stimulace i po dobu 3 let (Krauss et al., 1999; Parkin et al., 2001). Dále dobré výsledky byly patrné i u pacientů s dystonií trupu (Andaluz et al., 2001).

U sekundárních forem dystonií je situace složitější, dobrý efekt byl zaznamenán jen u některých z nich. Dystonie vzniklé po kraniocerebrálních traumatech odpovídají na DBS velmi málo (Tarsy, 2007), naopak tardivní dystonie (Eltahawy et al., 2004; Franzini et al.,

2005) a některé případy PKAN (deficit pantotenát kinázy, dříve Hallervorden – Spatzova choroba) (Castelnau et al., 2005; Umemura et al., 2004) prokazují dobrý efekt DBS. Obecně formy dystonií, které velmi rychle progredují, mají šanci na úspěch nižší.

### **1.8.3. Indikační kritéria**

Indikační kritéria DBS u pacientů s dystonií nejsou jednoznačně stanovena, ale na podkladě dostupných výsledků DBS u jednotlivých typů dystonií byly vytipovány perspektivní skupiny pacientů.

Hlavním předpokladem pro indikaci hluboké mozkové stimulace je selhání konzervativních metod léčby. U pacientů s generalizovanou dystonií je to především farmakologická léčba (anticholinergika, myorelaxancia a benzodiazepiny). U pacientů s fokální či segmentální dystonií jsou to především lokální aplikace botulotoxinu, kde může být léčba neúčinná od počátku, nebo se mohou protilátky objevit v průběhu léčby (Jankovic et al., 2003).

Obecně dobré výsledky můžeme očekávat u pacientů s mobilními formami dystonie, dále u mladých pacientů, a u pacientů s normálním psychomotorickým vývojem. Dalším předpokladem je intaktní cílová oblast v MR obraze.

Jako nejlepší kandidáti DBS byli označováni pacienti s primární generalizovanou dystonií DYT 1 pozitivní a dále pacienti s idiopatickou cervikální dystonií nereagující na botulotoxin (Starr et al., 2004). V posledních letech se však objevila řada případů vzácných dystonických syndromů, u kterých byl také zaznamenán výborný efekt DBS (Havrankova et al., 2009; Jech et al., 2011; Kurtis et al., 2010). Dva z těchto syndromů prezentuji v této práci.

### **1.8.4. Technické aspekty a vlastní provedení DBS**

Pacientovi je po absolvování nezbytného předoperačního vyšetření nasazen stereotaktický rám, s tímto rámem pacient absolvuje MR vyšetření mozku. Pro přesné umístění elektrod je nutné stanovit souřadnice cílového jádra pomocí MR obrazu, polohy rámu a vztažných bodů. Vztažné body jsou anatomicky definovány, jedná se o commissuru anterior a posterior, které jsou v MR obraze dobře viditelné. Při vlastním plánování jsou určeny nejprve souřadnice vztažných bodů a teprve poté jsou vypočítány souřadnice cílového jádra. Cílem je zpravidla posteroventrolaterální sensorimotorická část globus pallidus (Tarsy, 2008).

Ve většině center je DBS u dystonií prováděna v celkové anestézii, kdy u pacienta se stereotaktickým rámem jsou provedeny nejprve návrty kalvy a poté neurochirurgem implantovány tenké elektrody do vypočteného cílového bodu. Správnost polohy se ověřuje i elektrofyziologicky pomocí snímání neuronální aktivity testovacími mikroelektrodami. Definitivní poloha elektrody se ověřuje opět MR obrazem.

Stimulace se může zahájit ihned po implantaci elektrod. Vlastnosti elektrického pole jsou definovány šířkou pulzu, frekvencí, kdy nejvíce využívané jsou hodnoty okolo 210  $\mu$ s a 130 Hz, dále napětím s průměrnými využívanými hodnotami okolo 3,8 V. Studie s DBS u generalizovaných i cervikálních dystonií ukazují, že v prvních šesti až devíti měsících po stimulaci není zpravidla potřeba úprava stimulačních parametrů (Coubes et al., 2004; Krauss, 2002). DBS GPi dle dosavadních výsledků nemá negativní vliv na kognitivní funkce pacientů s dystonií (Halbig et al., 2005; Pillon et al., 2006). Též deprese nepatří mezi nežádoucí účinky DBS GPi. Naopak, u pacienta s tardivní dystonií byl popsán ústup depresivní symptomatiky po DBS (Kosel et al., 2007).

Při náhodném vypnutí nebo vybití stimulátoru dojde v rámci hodin k návratu dystonie, ale toto zhoršení je plně reverzibilní s návratem funkce stimulátoru.

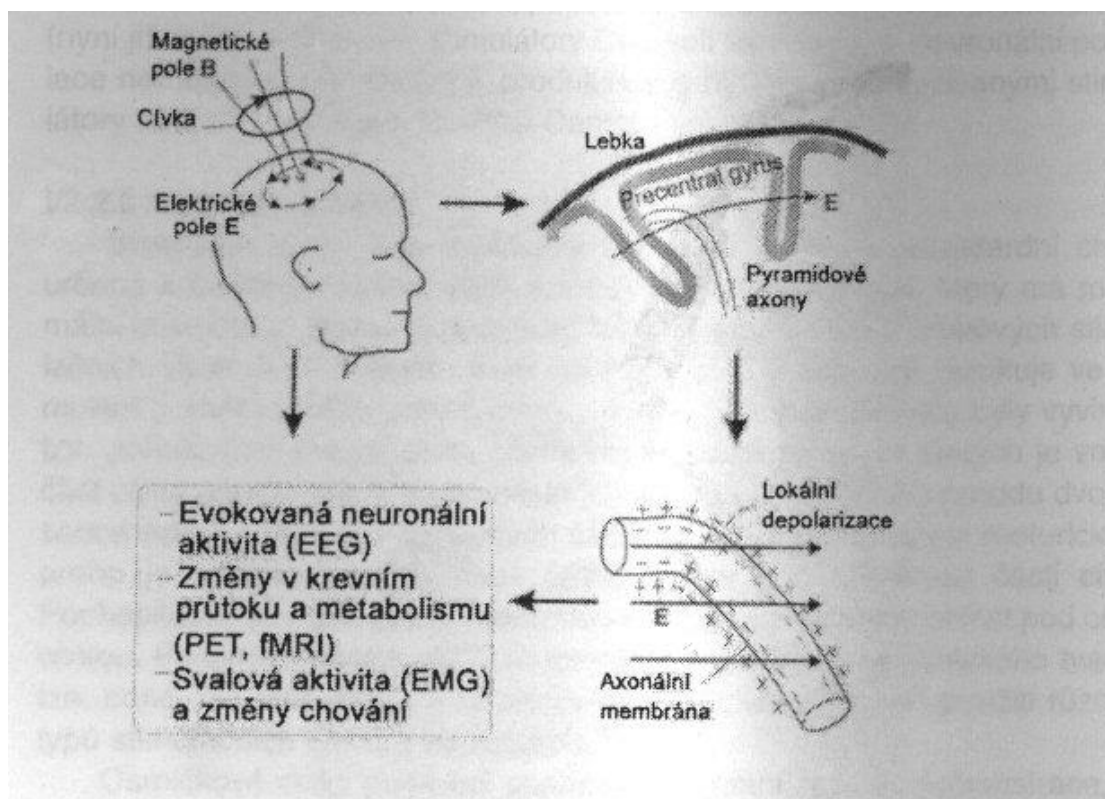
## **1.9. Repetitivní transkraniální magnetická stimulace (rTMS)**

rTMS je variantou provedení transkraniální magnetické stimulace (TMS), která je definována jako pravidelná aplikace magnetických stimulů nad skalp pacienta. (Bareš et al., 2003)

### **1.9.1. Technické aspekty transkraniální magnetické stimulace**

Podstatou TMS je aplikace magnetických stimulů pomocí stimulační cívky nad určité místo mozkové kůry ve snaze o ovlivnění přilehlé nervové tkáně. Na rozdíl od elektrické stimulace, která má limitované použití u bdělých pacientů díky velkému odporu okolních tkání a tím pádem velké bolestivosti, je magnetická stimulace výhodnější pro lepší prostup biologickými tkáněmi včetně lebky. Technickou podstatou magnetické stimulace je vznik magnetického pole v okolí stimulační cívky, které v přilehlé mozkové tkáni indukuje vznik elektrického proudu (Obrázek č. 5). (Jech, 2003)

**Obrázek č. 5.** Princip magnetické stimulace (Kaňovský, 2003)



Magnetické pole cívky snadno proniká nervovou ale i kostní tkání, protože magnetická vodivost těchto tkání je mnohonásobně vyšší než elektrická. Orientace magnetického pole kolem závitů cívky je definována Ampérovým pravidlem pravé ruky. V případě kruhové cívky má tedy pole opačný směr na svém vnějším a vnitřním obvodu. Při náhlé změně intenzity magnetického pole dojde dle zákona elektromagnetické indukce ke vzniku elektrického proudu, který má opačný směr než proud ve stimulační cívce a tento směr je převážně paralelní s rovinou stimulační cívky. Proud prochází pouze po tu dobu, po kterou trvá změna magnetického pole a při dostatečné intenzitě povede k depolarizaci nervových vláken a ke vzniku akčního potenciálu.

Základním vybavením pro provedení magnetické stimulace je řídicí jednotka s magnetickým stimulátorem - silným zdrojem či zdroji schopnými generovat magnetické pulzy (Obrázek č. 6). Základem stimulátoru je velkokapacitní kondenzátor, který je schopen střídavého nabíjení a vybíjení. Jeho výboj je v podstatě pulzem silného elektrického proudu, který v daném okamžiku proteče stimulační cívkou.

Pro párovou či repetitivní stimulaci, kdy je nutné docílit velmi krátkých intervalů mezi jednotlivými pulzy, se musí stimulátor skládat nejméně ze dvou či lépe čtyř paralelních

kondenzátorů. Každý kondenzátor zde pracuje s definovaným časovým zpožděním oproti předchozímu, takže ve chvíli, kdy se jeden kondenzátor vybíjí, jsou další tři v různých fázích nabíjení. S tímto modelem stimulatoru lze pak provádět rTMS o frekvenci 15 Hz.

**Obrázek č. 6.** Řídící jednotka s magnetickým stimulatorem a čtyřmi paralelně zapojenými kondenzátory (Magstim, Whitland UK)



Další součástí soupravy je stimulační cívka. Základní používanou cívku je cívka kruhová, jejíž průměr se pohybuje nejčastěji od 5 do 20 cm a skládá se z 1 – 20 závitů elektricky izolovaného vodiče. Vyšší počet závitů zvyšuje intenzitu magnetického pole, ale snižuje rychlost změny intenzity magnetického pole. S tím souvisí i možné přehřívání

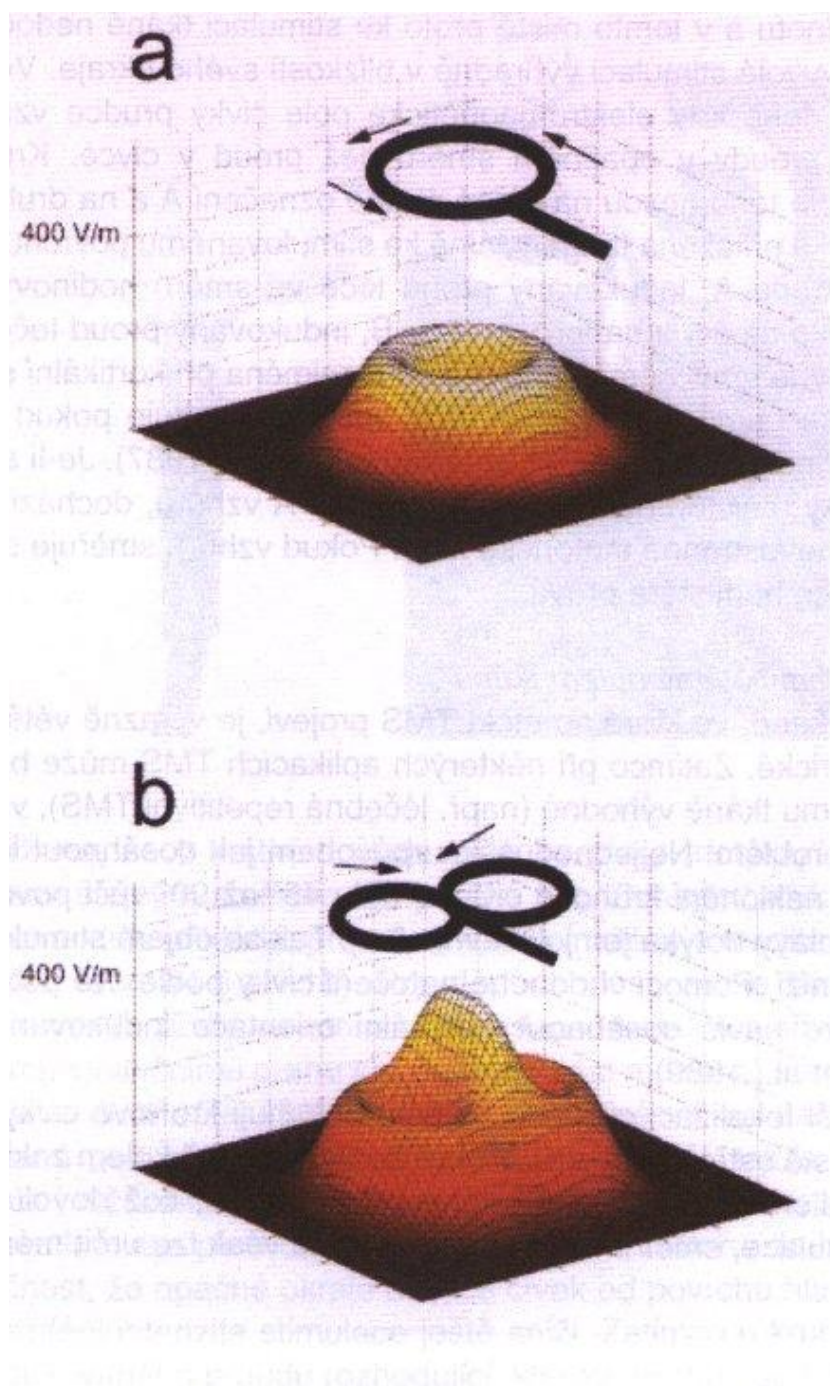
stimulační cívky, které postihuje hlavně malé cívky s vyšším počtem závitů zejména při repetitivní stimulaci. Po dosažení kritické teploty (cca 40 – 50 °C) stimulátor automaticky znemožní další stimulaci. Proto při repetitivní stimulaci je nutné využívat cívky chlazené vzduchem či vodou.

Prostorová distribuce elektromagnetického pole je ovlivněna tvarem a velikostí cívky. V případě kruhové cívky je intenzita elektrického pole největší podél vlastního obvodu cívky (Obrázek č. 7), kde je i dosažen maximální efekt stimulace. Dále záleží na způsobu přiložení cívky ke skalpu. V případě tangenciálního umístění dochází k indukci proudu v rozsáhlém objemu tkáně - kruhovém rovnoběžném s rovinou cívky. Pod středem cívky naopak ke stimulaci nedochází. Směr proudu závisí u kruhové cívky i na straně, která je přiložena nad skalp. Lepšího zacílení stimulovaného objemu tkáně docílíme nakloněním cívky v úhlu 45 až 90° vůči skalpu.

Dalším způsobem, jak dosáhnout přesnějšího zacílení stimulace je využití osmičkových nebo kónických cívek, které jsou tvořeny dvěma menšími vůči sobě opačně navinutými cívkami (Obrázek č. 8) vedle sebe buď v jedné či ve dvou rovinách. V místech, kde se cívky téměř dotýkají, teče proud stejným směrem a toto místo nazýváme „hot – spot“, neboť zde je intenzita elektrického pole nejsilnější. Tímto místem cívku přikládáme nad skalp pacienta. Při nízkých (podprahových) hodnotách stimulace je stimulace mimo hot - spot minimální, ale při zvyšování intenzity se oblast stimulace zvětšuje a je též závislá na excitabilitě nervových buněk.



**Obrázek č. 7.** Závislost intenzity elektrického pole na tvaru stimulační cívky (a – kruhová cívka, b – osmičková cívka) (Jech, 2003)



**Obrázek č. 8.** RTG osmičkové cívký ukazuje způsob navinutí obou cívek.



### **1.9.2. Metodika a vlastní provedení rTMS**

Základními technickými parametry stimulace jsou frekvence, intenzita stimulu, celkový počet stimulu v jednom bloku a počet bloků.

Frekvence je definována jako časová perioda mezi jednotlivými pravidelně se opakujícími stimuly. Podle rozdílného fyziologického účinku na nervovou tkáň rozlišujeme tzv. nízko a vysokofrekvenční rTMS. Za nízkofrekvenční rTMS jsou považovány frekvence stimulu 1 Hz a nižší, přičemž dle dostupných studií tato stimulace má na nervovou tkáň inhibiční efekt, snižuje kortikální excitabilitu (Chen et al., 1997a). Vysokofrekvenční rTMS je naproti tomu stimulace o frekvenci vyšší než 1 Hz, která dle dostupných studií naopak zvyšuje kortikální excitabilitu.

Kromě frekvence stimulace je nutné určit intenzitu stimulu, která je vyjádřena v procentech maximálního výstupu stimulatoru. Požadovanou intenzitu stimulace zpravidla vztahujeme k motorickému prahu pacienta. Prahová stimulace je stimulace hodnotou 100% motorického prahu. Za podprahovou stimulaci považujeme méně než 100% prahu, za

nadprahovou naopak více než 100% prahu. Zde je důležité poznamenat, že nadprahová stimulace je spojena s vyšší bolestivostí stimulace a i většími event. riziky pro pacienta.

Motorický (kortikální) práh je udáván jako síla stimulu, který vyvolá v relaxovaném svalu reprodukovatelnou odpověď o amplitudě mezi 50 a 100 mV v 50% případů z 10 - 20 následujících pokusů (Hufnagel and Elger, 1991). Druhou variantou určení motorického prahu je situace, kdy je sval mírně volně aktivován (většinou cca 30% maximální kontrakce měřené siloměrem) a pak je vyžadována amplituda odpovědi mezi 150 – 300  $\mu$ V. Hodnota prahu není závislá na pohlaví, věku apod. Je závislá pouze na cílovém svalu, je nejnižší pro drobné svaly ruky, nejvyšší pro axiální svaly. Prakticky se nejčastěji na horní končetině stanovuje práh pro m. abductor pollicis brevis či pro první m. interosseus dorsalis.

Dalším parametrem stimulace je celkový počet stimulů v jednom bloku stimulace, který by neměl přesáhnout údaje uváděné v tabulkách bezpečnostních parametrů rTMS dle jednotlivých frekvencí a intenzit. Např. pro prahovou stimulaci a frekvenci 1 Hz je tato hodnota 1800 stimulů v jednom bloku, což odpovídá 30 minutám stimulace.

A posledním parametrem, který musíme stanovit je, zda chceme stimulovat pacienta pouze jednou - v jednom bloku, či těchto bloků bude více a jaký bude mezi nimi časový interval, který je podstatný pro bezpečnost pacienta a liší se při různých frekvencích a intenzitách stimulace (Chen et al., 1997b).

Zde je důležité zmínit i kontraindikace TMS – mezi ty absolutní patří intrakraniální kovové implantáty, kardiostimulátor a implantabilní kardioverter – defibrilátor. Z relativních je nutné zmínit těhotenství, epilepsii a dětský věk. (Bareš, 2003; Rossi et al., 2009).

Po stanovení všech požadovaných parametrů a vyloučení kontraindikací je nutné před zahájením vlastní stimulace navést hot – spot stimulační cívky nad požadovaný cíl. Cílem bývá nejčastěji motorická, frontální nebo sensorická kůra.

Pro přesnou navigaci cívky je užívána tzv. bezrámová stereotaktická navigace (Obrázek č. 9). Jedná se o přístroj, který dokáže navést cívkou nad cíl v reálném čase při vizuální kontrole pohybu cívky vzhledem k hlavě pacienta a jeho MR snímcích mozku. Souprava se skládá z řídicí jednotky obsahující výkonný počítač se speciálním softwarem (Brainsight, Rogue Research, Canada), který je propojen s kamerou umístěnou nad hlavou pacienta. Tato kamera snímá trojice odrazových bodů v předem definovaném postavení, které jsou upevněny na hlavě pacienta, na stimulační cívce a na mobilním ukazovátku. Po načtení MR snímků pacienta do softwaru a označení cíle, přistupujeme k registraci polohy hlavy pacienta pomocí ukazovátko a předem definovaných bodů. Poté software koregistruje polohu

cívky a hlavy pacienta a od této chvíle můžeme navádět cívku nad požadovaný cíl v reálném čase za vizuální kontroly polohy cívky a cíle na monitoru počítače.

**Obrázek č. 9.** Bezrámová stereotaktická navigace (Rogue Researche, Kanada)



### **1.9.3. Využití rTMS ve výzkumu a klinické praxi**

rTMS využíváme buď z diagnostické, nebo terapeutické indikace. Z diagnostické indikace ji využíváme především při určení laterality řečových funkcí (Khedr et al., 2002), výzkumu kognitivních funkcí (Rossi et al., 2004; Sandrini et al., 2003), studiu patofyziologie epilepsie a extrapyramidových onemocnění.

Jako experimentální terapeutickou metodu využíváme rTMS tam, kde předpokládáme změny v excitabilitě mozkové kůry a kde využíváme schopnosti rTMS měnit tuto excitabilitu v závislosti na frekvenci stimulace. rTMS se v současnosti experimentálně využívá v léčbě fokálních dystonií (Murase et al., 2005; Siebner et al., 2003; Siebner et al., 1999), Parkinsonovy nemoci, tikových projevů (Mantovani et al., 2006), bolestí hlavy (Teepker et al., 2009), chronických bolestí (Lefaucheur, 2006; Lefaucheur, 2008; Leo and Latif, 2007),

epilepsie (Cantello et al., 2007), spasticity (Centonze et al., 2007) a tinnitu (Rossi et al., 2007). Z psychiatrických indikací se rTMS nejlépe uplatnila v léčbě depresí, méně u obsedantně kompulzivní poruchy (Mantovani et al., 2006) či schizofrenie (Cordes et al., 2009).

## 2. Cíle práce a hypotézy

### A. **Charakterizovat odlišnosti kortikální aktivity v obraze fMR u pacientů s písářskou křečí při jednoduchých a komplexních motorických úlohách.**

Hypotéza:

I. U pacientů s písářskou křečí je přítomen odlišný vzorec kortikální aktivity při provádění pohybů, které mohou dystonii indukovat (komplexní pohyby) a pohybů, které ke křečí obvykle nevedou (jednoduché pohyby).

### B. **Ovlivnit klinické příznaky písářské křeče pomocí repetitivní transkraniální magnetické stimulace primární somatosensorické kůry (SI rTMS).**

Hypotézy:

II. SI rTMS je schopna pozitivně terapeuticky ovlivnit klinické projevy písářské křeče. Efekt terapie je patrný při subjektivním i objektivním hodnocení písma pacientů a jejich pocitů při psaní.

III. Efekt rTMS je doprovázen změnami aktivity mozkové kůry v obraze fMR.

### C. **Ovlivnit klinické příznaky vzácných dystonických syndromů pomocí hluboké mozkové stimulace (DBS)**

Hypotéza:

IV. DBS je účinnou terapeutickou metodou i u vzácných dystonických syndromů, pokud se jedná o mobilní formy dystonie, vzniklé v dětství a bez kognitivního deficitu. Účinek DBS je patrný při objektivním vyšetření pacienta pomocí Burke Fahn Marsdenovy škály (BFMDS).

## **B. Výzkumná část**

### **3. Studie č. 1. Komplexní a jednoduché pohyby u pacientů s písářskou křečí - studie s funkční magnetickou rezonancí**

#### **Souhrn**

Hodnotili jsme, zda se u pacientů s písářskou křečí (GF) liší vzorec kortikální aktivace při provádění pohybů, které mohou dystonii indukovat (komplexní pohyby) a pohybů, které ke křeči obvykle nevedou (jednoduché pohyby). U komplexních pohybů jsme navíc studovali význam obsahu psaného projevu a význam přítomnosti či absence vizuální zpětné vazby.

Jedenáct pacientů s GF (10F, 1M, průměrný věk  $41,5 \pm (SD)7,2$  let) a 11 věkově vázaných kontrol bylo vyšetřeno pomocí Blood Oxygenation-Level Dependent (BOLD) 1.5 T fMR při vykonávání komplexních a jednoduchých pohybů. Komplexní úloha spočívala v psaní písmene nebo kreslení čáry speciálně upraveným joystickem, jejíž trajektorie byla nebo nebyla průběžně zobrazována. Při jednoduché úloze byla vykonávána spontánně iniciovaná flexe prstů postižené ruky.

Při komplexních pohybech vykazovali pacienti oproti kontrolám snížení BOLD signálu oboustranně v primárním sensorimotorickém kortexu převážně v jeho sensorické části a dále v parietálním asociačním kortexu. V pravé hemisféře bylo snížení BOLD signálu zaznamenáno v sekundární somatosenzorické oblasti a přední inzule, v levé hemisféře pak v premotorickém kortexu ( $p < 0.05$  s Family wise korekcí). Při jednoduchých pohybech nebyly pozorovány při meziskupinovém srovnání žádné významné rozdíly.

Ačkoliv komplexní pohyb během fMR vyšetření nevedl u GF pacientů ke vzniku dystonické křeče, byla u nich na rozdíl od jednoduchého pohybu zaznamenána abnormálně snížená kortikální aktivita. Nezáleželo přitom ani na charakteru písemného projevu ani na přítomnosti vizuální zpětné vazby. Naše výsledky tak podporují teorii o dualistickém chování sensorimotorického systému u GF.

#### **3.1. Úvod**

Písářská křeč (grafospasmus – GF) je nejčastější formou task – specific fokálních dystonií. Je podmíněna mimovolní svalovou kontrakcí agonistů a antagonistů předloktí a ruky, která je obvykle vázána na psaní jako na nejčastější komplexní pohyb (Marsden and Sheehy, 1990). U predisponovaného jedince vzniká na podkladě kombinace rizikových faktorů a nadměrné psací zátěže. (Roze et al., 2009) Patofyziologické mechanismy písářské

křeče zůstávají nejasné. Pravděpodobně se jedná o složitý proces, ve kterém hraje klíčovou úlohu postižení motorického i sensorického systému a jejich vzájemná integrace. (Abbruzzese et al., 2001; Vidailhet et al., 2009)

Písařská křeč souvisí se selektivní poruchou motorického programu pro psaní, které nastává v důsledku poruchy motorického učení. Vykonávání ostatních pohybů bývá postiženo méně nebo vůbec. To podporuje teorii o dualistickém chování motorického systému u task-specific dystonií, při kterém je vykonávání specifického (dystonii-indukujícího) pohybu spojeno s odlišným vzorcem aktivace motorických okruhů než vykonávání pohybů jiných. U písařské křeče byl motorický vzorec kortikální aktivace studován opakovaně pomocí metod funkčního zobrazování – funkční magnetické rezonance (fMR) a pozitronové emisní tomografie (PET) (Tabulka č. 1). Při provádění pohybů, během kterých k písařské křeči nedocházelo, bylo pozorováno snížení aktivity primární sensorimotorické kůry (SM), doplňkové motorické kůry (SMA) (Butterworth et al., 2003; Islam et al., 2009; Oga et al., 2002; Wu et al., 2009) a posteriorní parietální kůry (Butterworth et al., 2003; Wu et al., 2009). Při psaní, které křeč vyvolalo, byla aktivita těchto oblastí naopak zaznamenána jako zvýšená (Hu et al., 2006; Lerner et al., 2004; Obergren et al., 1998). Další práce však dospěly k jiným nálezům (Ceballos-Baumann et al., 1997; Ibanez et al., 1999), což může souviset s odlišným designem úloh nebo technikou funkčního zobrazování. Někteří autoři použili parametrickou analýzu, díky které si u písařské křeče povšimli kvantitativních souvislostí mezi intenzitou dysfunkčních motorických oblastí a mírou vykonaného pohybu, např. s počtem napsaných slov (Ibanez et al., 1999; Obergren et al., 1998) nebo tíží dystonických projevů (Lerner et al., 2004). Pomocí parametrické analýzy fMR lze studovat i další kvantitativní ukazatele, díky kterým lze chápání patofyziologických mechanismů fokálních dystonií dále zpřesnit.

To bylo motivací také naší studie. S použitím dvou motorických úloh s komplexními a jednoduchými pohyby prováděnými skupinou pacientů a zdravých osob jsme se snažili dualistické chování motorického systému u písařské křeče zobrazit. Důležitou podmínkou přitom bylo, aby zvolený komplexní pohyb během fMR dystonickou křeč nevyvolával. Naším cílem nebylo získat fMR ekvivalent dystonické křeče, nýbrž postihnout rozdíly v motorickém vzorci při vykonávání komplexního a jednoduchého pohybu. Jednoduchý pohyb spočíval v jednorázovém sevření a otevření dlaně, pro komplexní pohyb jsme zvolili psaní a kreslení speciálně upraveným joystickem držným jako tužka. Oproti většině předchozích fMR studiím jsme pro obě motorické úlohy použili event-related design, který na rozdíl od epoch-designu přináší výhody správného zohlednění počátku a individuálního trvání každého pohybu. To pro přesné vyjádření jeho ekvivalentu ve fMR ještě stačit nemusí, protože vzorec



motorické kortikální aktivace může být modifikován dalšími faktory. Patří sem např. charakter písemného projevu nebo přítomnost senzorycké zpětné vazby. Kreslení čar totiž na rozdíl od psaní k dystonické křeči vést nemusí (Odergren et al., 1998), podobně jako běžně nejsou známy případy malířů s dystonickou křečí. Psaní je kromě toho závislé také na somatosenzorycké propriocepci a vizuální kontrole. Zatímco somatosenzorycká percepce je u těchto pacientů alterovaná (Bara-Jimenez et al., 2000b; Nelson et al., 2009; Sanger et al., 2001), vizuální zpětná vazba zřejmě není pro klinickou manifestaci písarské křeče rozhodující (Chakarov et al., 2006; Prodoehl et al., 2006). Na druhou stranu je však známo, že pohled na píšící ruku vede u pacientů s písarskou křečí k významným změnám kortikální excitability motorické kůry. (Fiorio et al., 2010)

Provedení komplexního pohybu jsme proto studovali ze dvou hledisek. Prvním byl „obsah písemného projevu“, při kterém subjekt psal předem definované písmeno nebo joystickem jenom volně čmáral. Tím jsme se snažili zjistit, zda motorický vzorec pro psaní, tedy motorickou činnost, která je u pacientů obvykle spojena s dystonickou křečí, se od zdravých osob liší ve srovnání s motorickým vzorcem pro náhodné kreslicí pohyby. Druhým byla přítomnost respektive absence „vizuální zpětné vazby“, kdy subjekt na monitoru viděl nebo neviděl trajektorii kreslené čáry. Do parametrické analýzy fMR jsme na rozdíl od předchozích autorů zahrnuli i další kvantitativní údaje motorického projevu jako byla doba psaní, délka a tortuosita čáry, protože písemný projev pacientů s písarskou křečí vykazuje oproti zdravým osobám některé kinematické rozdíly. (Zittel et al., 2010)

**Tabulka č. 1.** Souhrn funkčně zobrazovacích studií u pacientů s fokální dystonií.

studie	N	typ	zobrazení	úloha	výsledky	křeč
Ceballos–Baumann et al. 1995	6	ID <sup>#</sup>	PET (ED)	pohyb joystickem	↑ PMC, SMA, DLPFC, ant. cingulum ↓ kaud. SMA, post. cingulum, mesialní parietální kůra	A1
Ceballos–Baumann et al. 1997	6	GF	PET (ED)	psaní	↑ SI, PMC, mesialní parietální k., vermis ↓ MI, kaud. SMA, mesialní parietální k., ant. cingulum, mesialní prefrontální k., thalamus	A
Odergren et al. 1998	4	GF	PET (PA)	psaní kreslení	↑ SM*, cerebellum ↓ g. supramarginalis, g. angularis beze změn	A N
Ibáñez et al. 1999	7	GF	PET (ED)	psaní flexe zápěstí + prstů tapping	↓ PMC ↓ SM beze změn	A N N
Pujol et al. 2000	5	KH	fMR (ED)	hra na hudební nástroj	↑ SM ↓ PMC	A
Preibisch et al. 2001	12	GF	fMR (ED)	psaní	↑ cerebellum ↓ g. temporalis sup. + med., g. lingualis.	A?
Oga et al. 2002	8	GF	fMR (ERD)	relaxace pravého zápěstí Kontrakce pravého zápěstí	↓ SM, SMA ↓ SM, SMA	N N
Butterworth et al. 2003	9	GF	fMR (ED)	vibrotakt. stimul. II. prstu vibrotakt. stimul. V. prstu	↓ SII, PPC ↓ SII	N N
Lerner et al. 2004	10	GF	PET (PA)	psaní tapping	↑ SM ↓ SMA beze změn	A A7
Hu et al. 2006	10	GF	fMR (ED)	psaní perem psaní prstem představa psaní	↑ cerebellum ↓ thalamus beze změn beze změn	A A A
Peller et al. 2006	17	GF	fMR (ED)	taktil. stimul. II. prstu.	↑ BG, insula, parietální k., posteriorní vizuální k., frontální operculum	N
Islam et al. 2009	17	GF	fMR (ED)	tapping flexe II. prstu stimulace n. medianus	↓ SM, SMA, SII ↓ SI beze změn	N N N
Wu et al. 2009	11	GF, KH	fMR (ED)	komplexní tapping tapping	↓ PPC, SMA, cerebellum ↓ SM, SMA, cerebellum	N N
Havránková et al. (naše studie)	11	GF	fMR (PA)	komplexní (psaní/kreslení) simplexní (zavírání dlaně)	↓ SM, SI, SII, SMA, PMC, PPC, insula beze změn	N N

N – počet pacientů; typ – typ dystonie: ID – idiopatická dystonie, GF – písářská křeč (grafospasmus), KH – křeč hudebníků; zobrazení – metody funkčního zobrazení: fMR – funkční magnetická rezonance, PET – pozitronová emisní tomografie; design studie: (ED – epoch design, ERD – event related design, PA – parametrická analýza); úloha – typ vykonávané úlohy; výsledky – (↑) hyperaktivace nebo (↓) hypoaktivace uvedených oblastí u pacientů v porovnání s kontrolami (PMC – premotorická kůra, SMA – suplementární motorická oblast, DLPFC – dorsolaterální prefrontální kůra, SM – primární sensorimotorická kůra, SI – primární sensorická kůra, MI – primární motorická kůra, SII – sekundární sensorická kůra, PPC – posteriorní parietální kůra); křeč – dystonická v průběhu úlohy: A - ano, N - ne, Y1,7 – počet pacientů, kteří měli při úloze křeč, Y? – přítomnost křeče při úloze není jasně uvedena; <sup>#</sup> ve studii pouze 1 pacient s písářskou křečí; \*pozitivní korelace s délkou psaní.

### 3.2. Pacienti a metoda

#### *Subjekty a klinické vyšetření*

Do studie bylo zařazeno 11 pacientů s písářskou křečí (průměrný věk  $41,5 \pm (SD)6,9$  let) a 11 zdravých dobrovolníků ( $43,9 \pm 7,8$  let). Všichni vyšetřovaní byli praváci a u všech pacientů dystonie postihla pravou horní končetinu. Do studie byli zařazeni pouze pacienti s rozvojem písářské křeče v dospělosti, u kterých sekundární příčina dystonie nebyla prokázána. Pět pacientů bylo před vstupem do studie léčeno botulotoxinem, přičemž poslední aplikace botulotoxinu proběhla nejméně 4 měsíce před vstupem do studie. Průměrná délka trvání choroby byla  $4,7 \pm 2,7$  let. Demografická data pacientů jsou uvedena v Tabulce č. 2.

Tíže klinických projevů pacientů byla hodnocena objektivně pomocí Burke–Fahn–Marsdenovy škály (BFMDS) (Burke et al., 1985), subjektivně pomocí vizuálních analogových škál zaměřených na funkci ruky a bolest ruky při psaní a dále pomocí testu psaní po dobu 2 minut, které proběhlo u pacientů i u kontrol. Všichni účastníci obdrželi před vstupem do studie podrobné informace, prošli tréninkem pohybových úloh a podepsali informovaný souhlas. Studie byla schválena místní etickou komisí a proběhla souladu s Helsinskou deklarací.

**Tabulka č. 2.** Skupina 11 pacientů s písářskou křečí zařazených do studie

pac.	věk	pohlaví	trvání	typ	botulotoxin	BFMDS	funkce ruky	bolest
1	53	Ž	3	S	ne	3	7.8	3.2
2	30	Ž	9	D	ne	3	5.2	0
3	42	Ž	3	S	ano (4m)	2	4.9	2.7
4	43	Ž	8	D	ano (24m)	4	4.8	9.6
5	39	Ž	4	D	ano (5m)	3	3.0	7.2
6	38	Ž	3	D	ano (12m)	3	2.2	0.6
7	50	Ž	4	S	ne	4	7.8	5.6
8	30	Ž	2	S	ne	3	2.2	4.9
9	42	Ž	10	D	ne	3	2.0	0
10	47	Ž	2	S	ne	3	6.9	0.4
11	42	M	4	S	ne	3	4.6	6.7

M/Ž – muž/žena; trvání – doba trvání písářské křeče (roky); typ – typ písářské křeče: S – simplexní, D – dystonický; botulotoxin – předchozí léčba botulotoxinem – ano (před kolika měsíci), ne; BFMDS – motorická Burke Fahn Marsdenova škála dystonie; vizuální analogová škála funkce ruky při psaní (0 – ruka není schopna psát, 10 – normální psaní); vizuální analogová škála bolesti (0 – žádná bolest, 10 – nejhorší možná bolest)

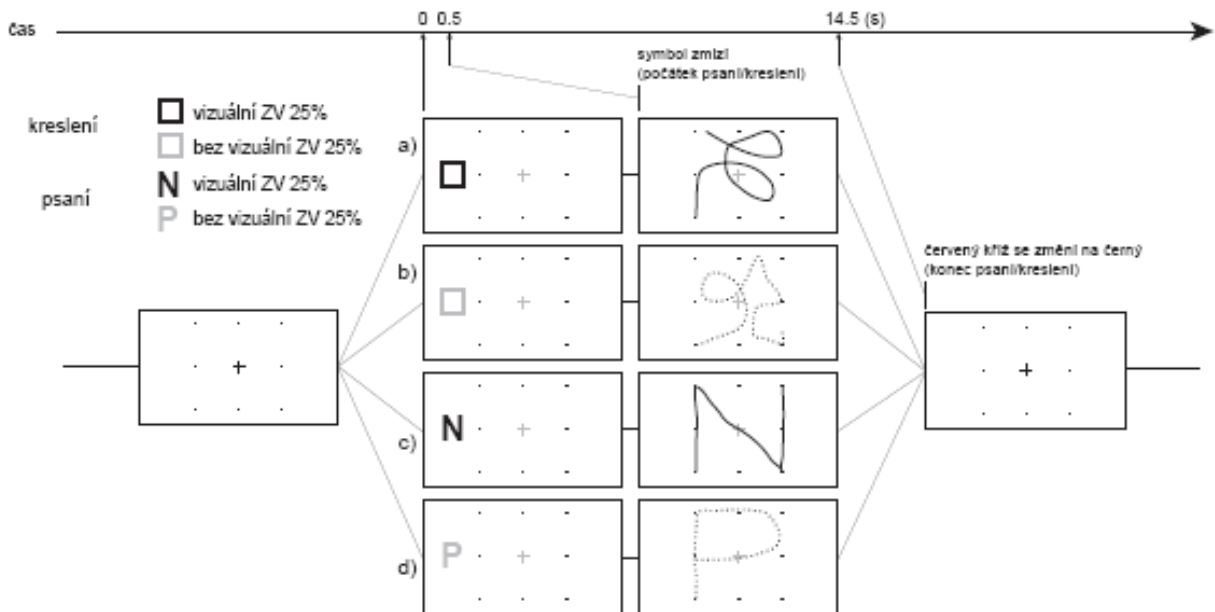
## *Komplexní pohybová úloha*

Vyšetřovaný subjekt ležel na zádech v gantry MR přístroje, přičemž pravou rukou držel ovladač joysticku, který byl pro účel experimentu upraven tak, aby jej bylo možné držet jako tužku. Před sebou viděl obraz pracovní plochy, na kterou měl během úlohy kreslit nebo psát. V polovině případů (=událostí), bylo úkolem subjektu napsat písmeno (B, L, M, N, P, R, U, V nebo Z), ve druhé polovině měl nakreslit náhodný obrazec. Zatímco u 50% událostí byla trajektorie pohybu joystickem na pracovní ploše průběžně vizualizována, u 50% událostí subjekt kreslenou čáru neviděl.

Úloha trvala 11 minut a probíhala následujícím způsobem (Obrázek č. 1). Událost začala zobrazením informativního symbolu v levé části pracovní plochy po dobu 500 ms, který vyjadřoval, co má být joystickem napsáno (zobrazení konkrétního písmene nebo znaku pro náhodné kreslení). Pokud bylo písmeno nebo znak zobrazen ve žluté barvě, byl subjekt informován, že psaná čára bude na obrazovce vykreslována. Zobrazení informativního symbolu v šedé barvě znamenalo, že čára vidět nebude. Zmizení informativního symbolu bylo pokynem k zahájení psaní/kreslení. Pro psaní písmene nebo obrazce byl vymezen časový interval 14 s, po kterém středový fixační kříž změnil barvu z červené na černou. Tím se subjekt dozvěděl, že registrace čáry byla v tomto okamžiku ukončena a že má být joystick vrácen do klidové polohy. Následovala 26 s klidová fáze, během které subjekt vyčkával na další událost.

Během tréninku byl každý subjekt zacvičen, aby psaní písmene či kreslení náhodného obrazce stihl ukončit ještě před vypršením časového limitu a aby psaní i kreslení prováděl přibližně stejnou rychlostí. Pro docílení srovnatelné velikosti písmen a náhodných obrazců, byla pracovní plocha pro psaní a kreslení vymezena bodovým rastrem. Informativní symboly písmen či znaku pro náhodné kreslení spolu s informací o přítomnosti zrakové zpětné vazby byly po sobě řazeny pseudonáhodně takovým způsobem, aby byly všechny kombinace zastoupeny rovným dílem. Z celkového počtu 16 událostí bylo písmeno psáno čtyřikrát za přítomnosti (25%) a čtyřikrát při absenci (25%) zrakové kontroly. Náhodný obrazec byl kreslen rovněž čtyřikrát za přítomnosti (25%) zrakové kontroly a čtyřikrát bez ní (25%). Pro omezení okohybných artefaktů byl subjekt instruován fixovat kříž uprostřed pracovní plochy po celou dobu úlohy. Velikost pracovní plochy umožňovala identifikovat informativní symbol a vnímat trajektorii čáry i během vizuální fixace středového kříže.

**Obrázek č. 1.** Komplexní pohybová úloha zaměřená na psaní/kreslení



Úloha se skládala z událostí, z nichž každá začala zobrazením pracovní plochy s informativním symbolem na levé straně, který obsahoval instrukci, co má být napsáno (písmeno nebo náhodný obrazec) a zároveň informoval přítomnosti/absenci vizuální zpětné vazby. a) b). Kreslení náhodného obrazce (50%) nebo c) d) psaní konkrétního písmene (50%). Při a) c) byla trajektorie psaní/kreslení joystickem průběžně zobrazována (50%)(plná čára), při b) d) nikoliv (50%)(přerušovaná čára). Pro psaní/kreslení byl vymezen časový interval od zmizení informativního symbolu do okamžiku změny barvy středového fixačního kříže.

ZV – zpětná vazba

### *Jednoduchá pohybová úloha*

Během úlohy subjekt prováděl volní, spontánně iniciovaný pohyb prsty pravé ruky, který spočíval v jednorázovém sevření a otevření dlaně. O tom, kdy bude pohyb proveden, rozhodoval výhradně subjekt. Během tréninku byl kladen důraz na správné provedení pohybu (pomalou flexi následovanou pomalou extenzí v metakarpofalangeálních a proximálních interfalangeálních kloubech II.–V. prstu o trvání přibližně 5 s). Během úlohy, která trvala 6 minut, měl subjekt provést přibližně 10 takových pohybů, které však neměl počítat. Oči byly po celou dobu fMR experimentu zavřené, obě horní končetiny byly extendované a spočívaly na polstrovaných opěrkách v semipronované pozici.

## *fMR protokol a statistické zpracování*

Vyšetření magnetickou rezonancí bylo provedeno na 1.5 T přístroji Siemens Symphony (Erlangen, Germany). Pro blood oxygenation-level dependent (BOLD) fMR byla použita gradient echo planární T2\*-vážená sekvence (TR=2900 ms; TE=56 ms; FA=90 st) s akvizicí 31 axiálních řezů, pokrývajících celý mozek a mozeček. Velikost matrice byla 64x64 s in-plane rozlišením 2.6 x 2.6 mm<sup>2</sup>. Tloušťka řezu byla 3 mm s inter-slice gap 1 mm. Během komplexní pohybové úlohy bylo získáno 224 dynamických skenů, během jednoduché pohybové úlohy 128 dynamických skenů. Morfologické zobrazení mozku bylo provedeno pomocí magnetization-prepared rapid gradient echo acquisition (3D MP-RAGE) T1-vážená sekvence (TR = 2140 ms; TE = 3.93 ms; FA = 15st; TI = 1100 ms) se 160 axiálními řezy o tloušťce 1.6 mm.

Během komplexní úlohy byla detekce pohybu prováděna joystickem Trust Predator XK 10 se vzorkovací frekvencí 100 Hz s průběžným ukládáním dat x, y souřadnic kurzoru, které bylo synchronizováno s akvizicí fMR. Při událostech, při kterých byla umožněna zrková kontrola prováděného pohybu, byla aktuální pozice kurzoru a trajektorie kreslené čáry zobrazována on-line na pracovní ploše pomocí zpětné projekce (LCD). Koordinace funkcí MR přístroje, LCD projektoru a joysticku byla řešena pomocí vlastního programu E-seng (J. Wackermann & T. Sieger). Z trajektorií pohybu registrované joystickem byly vypočteny tři kinematické parametry, které charakterizovaly psaní každého písmene či obrazce, a které byly následně použity při statistické analýze. *Doba* psaní/kreslení byla definována počátkem pohybu do okamžiku ustálení kurzoru na konci pohybu. *Délka* trajektorie byla vypočtena jako relativní kumulativní vzdálenost mezi všemi okamžitými stavy kurzoru definované dobou psaní/kreslení. Pro stanovení tortuosity byla nejprve trajektorie čáry aproximována lomenou čarou sestávající se z N vektorů délky A/10 (kde A = délka hrany čtvercové plochy, v níž se pohyboval kurzor joysticku). *Tortuositá* trajektorie byla následně definována jako poměr součtu úhlů mezi po sobě jdoucími vektory lomené čáry a úhlu 90 stupňů.

$$k(X) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^{N-1} \theta_i$$

Během jednoduché úlohy byl pohyb ruky detekován digitální videokamerou (Canon MV20i) synchronizovanou s akvizicí fMR. Synchronizace byla zajištěna pomocí LED diody umístěné v zorném poli kamery společně s pohybující se rukou. Záblesky LED byly přitom vázány na synchronizační pulzy MR přístroje. Analýza byla provedena pomocí vlastního software (fMR synchro software, G. Operto), který umožnil automatickou detekci záblesků diody se stanovením časování jednotlivých událostí s přesností na 40 ms. Začátek a konec

každého pohybu ruky byl určen vizuálně experimentátorem na základě zpomalené frame-by-frame projekce videozáznamu. Do statistické analýzy byly vybrány pouze pohyby, které trvaly v rozmezí 4-6 sekund.

Individuální fMR data z obou úloh byly analyzovány pomocí programu SPM5 (Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, UCL, London, UK) a Matlab 6.5 (The MathWorks, Inc, Natick, MA). Během první fáze byla obrazová data korigována na pohybové artefakty, normalizována (Ashburner and Friston, 2005) a rozostřena s použitím Gausovského kernelu 8-mm full width at half maximum. Statistická analýza vycházela z obecného lineárního modelu. Pro účely individuálních statistik byla design matrice vytvořena pomocí funkce s kanonickou hemodynamickou odpovědí (canonical hemodynamic response function) (Friston et al., 1998) se zohledněním počátku a trvání každého pohybu. Individuální kontrasty vycházely z rozdílu BOLD signálu mezi pohybovou a klidovou fází. V případě komplexní pohybové úlohy byly kontrasty vypočteny pro každý typ pohybu zvlášť a to podle obsahu psaného projevu a přítomnosti zrakové kontroly.

Pro skupinovou analýzu výsledků komplexní pohybové úlohy byl použit full factorial design se dvěma faktory: (i) obsahem psaného projevu (písmeno/náhodný obrazec), (ii) zrakovou kontrolou (přítomnost/absence); a třemi kovariátami: (i) délkou napsané čáry, (ii) dobou psaní písmene/obrazce a jeho (iii) tortuositou. Skupinová statistika byla založena na kontrastu mezi pacienty s písarskou křečí a zdravými kontrolami (a naopak) a to zvlášť pro úlohu s komplexními a jednoduchými pohyby. Výsledky byly následně zobrazeny na hladině  $p < 0.05$  s korekcí na family-wise error (FWE).

Behaviorální data z joysticku byla předmětem samostatné statistické analýzy, při které byly porovnávány pohyby pacientů a zdravých kontrol z hlediska individuální délky napsané čáry, doby psaní každého písmene/obrazce a tortuosity. Pro tento účel byla použita ANOVA s opakováním v programu SPSS 14.0.1 (SPSS Inc, Chicago, IL).

### **3.3. Výsledky**

Funkce dystonické ruky pacientů byla dle vizuální analogové škály postižena na průměrných  $4,7 \pm (SD) 2$  bodů a její bolestivost činila v průměru  $3,7 \pm 3$  bodů (Tabulka č. 2). Počet písmen napsaných během dvouminutového testu při opisování textu byl u pacientů významně nižší ( $145 \pm 72$ ) než u zdravých osob ( $240 \pm 58$ ) ( $T=3,3$ ,  $P < 0.01$ ). Během motorické úlohy s komplexními ani jednoduchými pohyby nebyla během fMR u žádného pacienta objektivně ani subjektivně zaznamenána dystonická křeč.

### *Komplexní pohybová úloha*

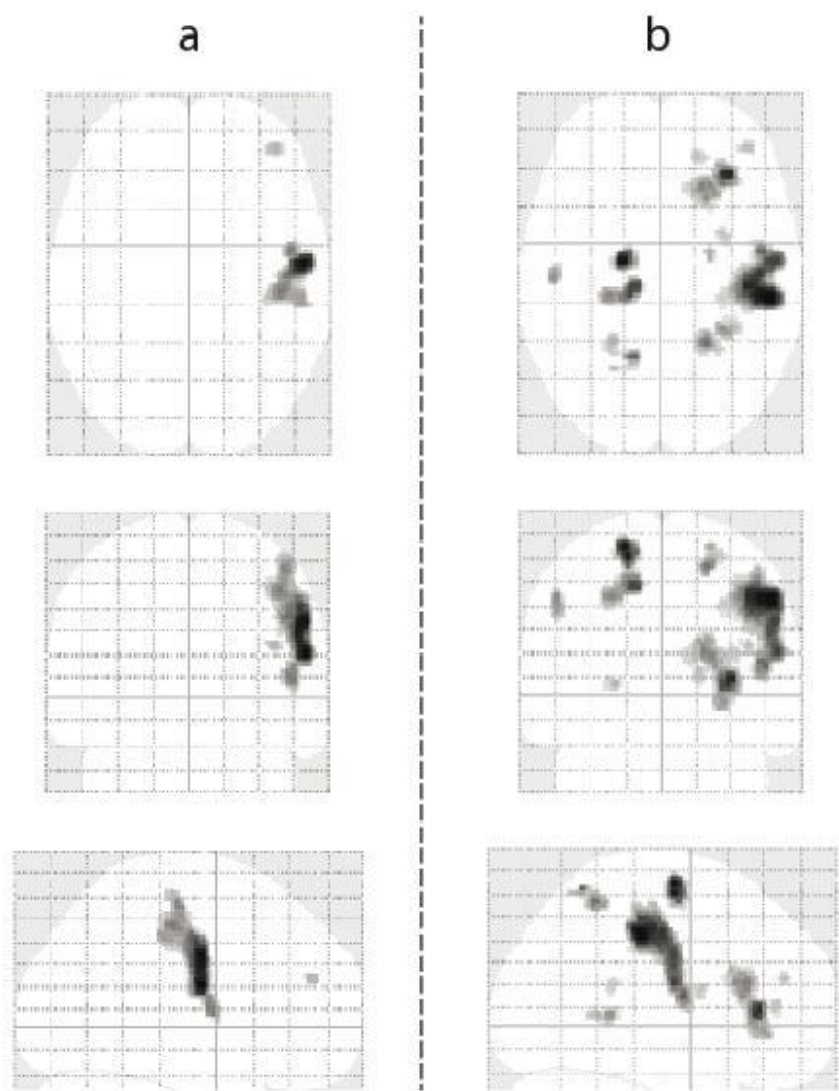
Psaní písmene ani náhodné kreslicí pohyby se z hlediska rychlosti psaní, délky čáry a tortuosity čáry mezi oběma skupinami subjektů statisticky nelišily. Provádění komplexních pohybů bylo u pacientů s písářskou křečí ve srovnání se zdravými kontrolami spojeno s významným snížením intenzity BOLD signálu v klastru pokrývající téměř celou rolandickou oblast (SM kortex) pravé hemisféry (Obrázek č. 2a). Po kompenzaci výsledků na všechny tři sledované kinematické parametry (délku čáry, dobu psaní a tortuositu čáry), došlo ke zvýraznění stávajících výsledků a objevení se dalších kortikálních oblastí obou hemisfér, jejichž aktivita byla u pacientů významně nižší než u zdravých osob (Obrázek č. 2b). Zvýšení BOLD signálu se přitom u pacientů neprojevovalo v žádné z oblastí.

Robustní snížení BOLD signálu při komplexní motorické úloze nastalo u pacientů bez ohledu na charakter psaného projevu a přítomnost vizuální zpětné vazby, tzn. při analýze, do které byly zahrnuty všechny komplexní pohyby dohromady (Obrázek č. 3 – nahoře). Snížení intenzity BOLD signálu bylo pozorováno oboustranně v primárním sensorimotorickém kortexu (SM) převážně v jeho sensorické části a dále v parietálním asociačním kortexu. Tyto oblasti vykazovaly výraznou mezistranovou asymetrii s výraznější deaktivací v pravé hemisféře. Vpravo došlo navíc k významné redukci BOLD signálu v sekundární somatosenzorické oblasti (SII) a přední inzule. Snížení aktivity premotorického kortexu bylo naopak pozorováno výhradně v levé hemisféře. (Tabulka č. 3). Signifikantní rozdíly v intenzitě BOLD signálu vyplývající z kontrastu mezi pacienty a kontrolami byly podmíněny částečně odlišnými fenomény (Obrázek č. 3 – dole). U pacientů byl tento rozdíl podmíněn nedostatečnou aktivací pravostranného SM kortexu za současné relativní hypoaktivace levostranného SM kortexu, pravostranného SII kortexu a inzuly. Premotorický kortex vlevo se u pacientů prakticky neaktivoval vůbec, podobně jako se u zdravých osob neaktivovala pravá přední inzula nebo SII kortex.

Faktor obsahu psaného projevu (psaní/náhodné kreslení) a faktor vizuální zpětné vazby (přítomnost/absence) se ukázaly jako významné u obou skupin subjektů (Tabulka č. 4). Žádná interakce mezi faktory a skupinou subjektů však významná nebyla. Při psaní písmene došlo u pacientů i zdravých osob k podobnému zvýšení aktivity levostranného SM kortexu ve srovnání s náhodným kreslením čáry. Podobně i za přítomnosti zrakové kontroly došlo u obou skupin subjektů ke shodnému navýšení aktivity sekundární zrakové kůry za současné deaktivace prefrontální kůry (Obrázek č. 4).

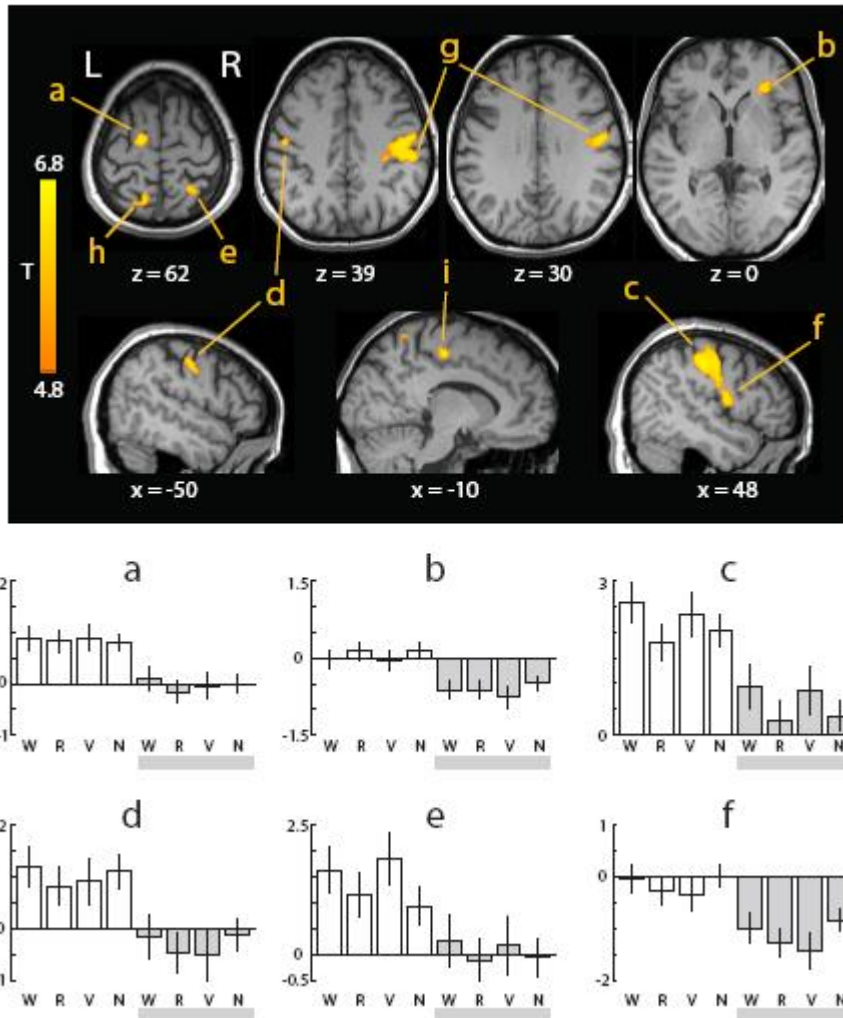


**Obrázek č. 2.** Změny BOLD signálů u kontrol (N=11) a pacientů s písářskou křečí (N=11) při využití kinematických parametrů psaní.



a) - bez zohlednění těchto parametrů došlo ke snížení BOLD signálu u pacientů s písářskou křečí jen v rolandické oblasti pravé hemisféry, b) - při použití doby psaní, délky a trajektorie čáry jako kovariát je snížení BOLD signálu patrné i v dalších oblastech obou hemisfér (skupinová analýza na hladině  $p < 0.05$  s FWE korekcí).

**Obrázek č. 3.** Pokles BOLD signálu u pacientů s písáskou křečí (N=11) ve srovnání se zdravými osobami (N=11) při provádění komplexních pohybů bez ohledu na typ písemného projevu a na přítomnost zrakové zpětné vazby; skupinová analýza na hladině  $p < 0.05$  s FWE korekcí.



*Horní část obrázku:* výsledky skupinové analýzy fMR na vybraných axiálních a sagitálních řezech.

*Dolní část obrázku:* skupinová analýza fMR s odhady kontrastu ( $\pm$  90% interval spolehlivosti) ve vybraných klastrech z horní části obrázku v závislosti na obsahu písemného projevu (W – psaní písmene, R – kreslení náhodného obrazce) a na přítomnosti zrakové zpětné vazby (V – přítomna, N – nepřítomna). Bílé sloupce vyjadřují odhady kontrastu ve skupině zdravých osob, šedé sloupce u pacientů s písáskou křečí.

a – premotorický kortex vlevo, b – přední insula vpravo, c – SI kortex vpravo, d – SM kortex vlevo, e – horní parietální kortex vpravo, f – SII kortex vpravo, (g – SM kortex vlevo, h – horní parietální kortex vlevo, i – SMA vlevo)

**Tabulka č. 3.** Pokles BOLD signálu u pacientů s písarskou křečí (N=11) v porovnání se zdravými jedinci (N=11); skupinová analýza s FWE korekcí na hladině  $P < 0.05$

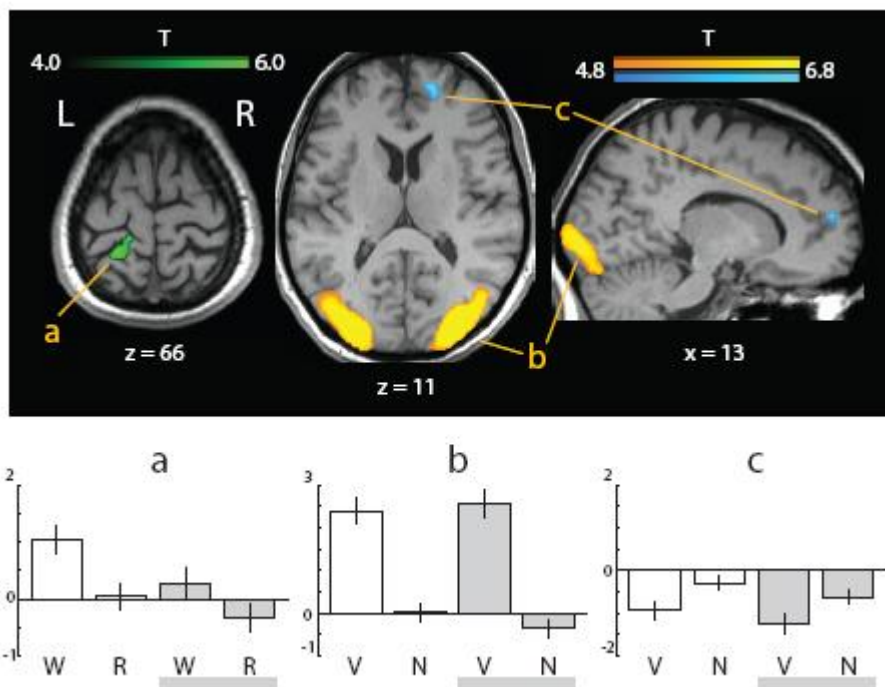
<b>Kompení úloha:</b>	BA	x	y	z	k	T	P
g. frontalis sup. sin. (premotor. k)	6	-16	-8	62	106	6.78	0.00002
s. centralis sin. (SM)	4, 3, 1, 2	-50	-16	44	40	5.68	0.003
lobulus paracentralis sin. (SMA)		-10	-22	49	161	5.93	0.001
lobulus parietalis sup. sin.	7	-22	-60	62	28	5.23	0.01
g. postcentralis dx. (SI)	3, 1, 2	54	-26	44	1057	6.99	0.00002
s. centralis dx. (SM)	4, 3, 1, 2	44	-20	44		6.60	0.0001
g. postcentralis dx. / parietální operculum (SII)		50	-4	14		6.02	0.0009
g. frontalis inf. dx. / přední insula		34	34	8	376	6.59	0.0001
lobulus parietalis sup. dx.	7	22	-46	58	79	5.9	0.001

**úloha s jednoduchými pohyby:**

bez signifikantních změn

BA – Brodmanova area; x, y, z – MNI koordináty; k – velikost clusteru; T – statistická hodnota, P – bez korekce

**Obrázek č. 4.** Efekt písemného projevu a přítomnosti zrakové zpětné vazby na změnu BOLD signálu během úlohy s komplexními pohyby v obou skupinách subjektů (N=22); skupinová analýza na hladině  $p < 0.05$  s FWE korekcí.



*Horní část obrázku:* výsledky skupinové analýzy fMR na vybraných řezech.

*Dolní část obrázku:* skupinová analýza fMR s odhady kontrastu ( $\pm$  90% interval spolehlivosti) ve vybraných klastrech z horní části obrázku v závislosti na typu písemného projevu (W – psaní písmene, R – kreslení náhodného obrazce) a na přítomnosti zrakové zpětné vazby (V – přítomna, N – nepřítomna). Bílé sloupce vyjadřují odhady kontrastu ve skupině zdravých osob, šedé sloupce u pacientů s grafospasmem.

a – SI a horní parietální kortex vlevo, b – V4 a V5 kortex oboustranně, c – s. paracinguli vpravo

**Tabulka č. 4.** Efekt psaného projevu a vizuální zpětné vazby na hodnotu BOLD signálu při úloze s komplexními pohyby u obou skupin (N=22); skupinová analýza s FWE korekcí na hladině  $P < 0.05$ .

<b>Komplexní úloha:</b>	BA	x	y	z	k	T	P
<b>PSANÍ &gt; ČMÁRÁNÍ:</b>							
g. postcentralis sin. (SI)	3, 1, 2	-16	-32	68	] 54	4.43	0.002
lobulus parietalis sup. sin.	7	-20	-40	66		4.56	0.002
<b>ČMÁRÁNÍ &gt; PSANÍ:</b>							
Bez signifikantních změn							
<b>VIZUÁLNÍ ZPĚTNÁ VAZBA &gt; BEZ VAZBY:</b>							
okcipitální kortex sin.	V4, V5	-42	-72	-6	3147	11.24	$10^{-9}$
okcipitální kortex dx.	V4, V5	30	-94	8	4668	15.64	$10^{-9}$
<b>BEZ VAZBY &gt; VIZUÁLNÍ ZPĚTNÁ VAZBA:</b>							
s. paracingularis sin.		12	54	12	26	5.57	0.005

BA – Brodmanova area; x, y, z – MNI souřadnice; k – velikost clusteru; T – statistická hodnota, P – bez korekce

### *Jednoduchá pohybová úloha*

Počet a trvání jednotlivých pohybů se mezi oběma skupinami subjektů nelišil. Provádění jednoduchých pohybů bylo u zdravých osob i u pacientů s písarskou křečí spojeno s očekávaným vzestupem BOLD signálu v obvyklých motorických a sensorických oblastech mozku. Při vzájemném srovnání obou skupin se však žádné signifikantní rozdíly v aktivaci mozkové kůry neprojevíly.

## **3.4. Diskuse**

Provádění komplexního pohybu bylo u pacientů s písarskou křečí spojeno s významnou změnou BOLD signálu v řadě motorických i non-motorických oblastí obou hemisfér a to i přesto, že z hlediska kinematických parametrů se pohybový výkon mezi pacienty a kontrolní skupinou nijak nelišil (Tabulka č. 3). Tento náleží přitom nereflektuje klinickou manifestaci dystonie, protože během fMR vyšetření u žádného z pacientů nebyly projevy dystonické křeče zaznamenány. Jednalo se spíše o projev odlišné funkční organizace kortexu GF pacientů, který reagoval masivní deaktivací, vyvolanou výhradně v kontextu provádění komplexního pohybu – psaním písmene či kreslením jednoduchého obrazce, tedy ještě dříve než se dystonická křeč stačila projevit. Tito pacienti přitom při dlouhodobé zátěži komplexním

pohybem v testu s opisováním textu (před fMR experimentem) reagovali očekávaným způsobem. Do dvou minut rozvinuli písarskou křeč, která oproti kontrolní skupině zhoršila jejich písemný projev o 40%. Naopak při provádění jednoduchého pohybu, který k dystonii nikdy nevedl, se funkční obraz aktivovaných oblastí mozku od nálezů zdravých osob vůbec nelišil (Tabulka č. 3).

Naše výsledky jsou tedy v souladu s dualistickým chováním senzomotorického kortexu, kdy příprava a provádění volního pohybu může být realizována dvěma způsoby – fyziologickým nebo patologickým. Navazujeme tím na některé předchozí práce, které u pacientů popsaly korelát dystonické křeče (Ceballos-Baumann et al., 1997; Hu et al., 2006; Ibanez et al., 1999; Lerner et al., 2004; Odergren et al., 1998; Pujol et al., 2000) nebo hledaly změny kortikální aktivace během pohybu, který křeč během experimentu nevyvolával. (Butterworth et al., 2003; Ibanez et al., 1999; Islam et al., 2009; Odergren et al., 1998; Oga et al., 2002; Peller et al., 2006; Wu et al., 2009) Pohyby, které k dystonické křeči nevedou, bývají spojeny se sníženou aktivitou premotorických a motorických oblastí, zatímco pohyby, které jsou s dystonickou křečí spojeny, bývají doprovázeny abnormálně zvýšenou kortikální aktivitou (Tabulka č. 1).

Oproti doposud publikovaným studiím (Tabulka č. 1) zaměřených na funkční zobrazování písarské křeče jsme použili parametrický design fMR, ve kterém jsme zohlednili dobu strávenou psaním písmene či obrazce, délku napsané čáry a její komplexitu. Vycházeli jsme přitom z předpokladu, že použití kovariát zahrnující základní kinematické parametry pohybu umožní eliminovat interindividuální variabilitu kortikální aktivace vyplývající výhradně z fyzikálních vlastností pohybu a dovolí zvýraznit meziskupinové rozdíly související s odlišným plánováním a řízením pohybu. To se ukázalo jako správné, protože za použití kovariát došlo nejen ke zvýraznění stávajícího výsledku v pravé hemisféře, ale i k zobrazení dalších oblastí v levé hemisféře, které by bez kompenzace na kinematické parametry zůstaly nepoznány (Obrázek č. 2).

Při provádění komplexního pohybu (bez ohledu na psaní či kreslení) byla u našich pacientů ve srovnání se zdravými kontrolami kortikální aktivita zaznamenána výhradně jako snížená (Obrázek č. 3 nahoře, Tabulka č. 3). Ačkoliv tento vzorec vypadal v řadě oblastí uniformně, byl v různých částech kortexu podmíněn dvěma odlišnými fenomény (Obrázek č. 3a-f). V první řadě šlo o nedostatečnou aktivaci, která se týkala SM kortexu pravé (k pohybu ipsilaterální) hemisféry, jenž se při pohybu sice aktivoval, ale ve srovnání s kontrolami příliš málo. Na druhé straně šlo o absenci nebo dokonce o hypoaktivaci oblastí, které se u zdravých osob obvykle aktivovaly. Absence BOLD odezvy postihla převážně premotorický kortex levé

(k pohybu kontralaterální) hemisféry a posteriorní parietální kortex oboustranně. K hypoaktivaci BOLD signálu došlo jen v SM kortexu laterálně, v pravostranném SII kortexu a insule – tedy v oblastech, které se u zdravých osob do komplexního pohybu nezapojily vůbec.

Celkově jde tedy o relativně složitý proces, který naznačuje, že řízení komplexního pohybu je u pacientů s písářskou křečí organizováno zcela odlišným způsobem. Lze přitom jen těžko rozhodnout, zda je tento vzorec kortikální aktivity jen projevem patologie, který dystonické křeči předchází, nebo zda je o projev adaptivní kompenzace, kterou se mozek dystonii snaží zabránit.

Největší změny jsme dle očekávání zaznamenali v senzorické části SM kortexu a dále v SII kortexu. To je v souladu s dobře známou představou o aberantním zapojení receptivních polí somatosenzorické kůry, (Bara-Jimenez et al., 2000b; Braun et al., 2003; Elbert et al., 1998; Fiorio et al., 2006; Meunier et al., 2001; Nelson et al., 2009) hypotézou o porušené sensorimotorické integraci na kortikální úrovni (Abbruzzese et al., 2001; Roze et al., 2009; Vidailhet et al., 2009) či s výsledky mnoha funkčně zobrazovacích studií. (Butterworth et al., 2003; Hu et al., 2006; Ibanez et al., 1999; Islam et al., 2009; Lerner et al., 2004; Odergren et al., 1998; Oga et al., 2002; Wu et al., 2009) Výsledky naší předchozí práce rovněž potvrdily, že SI kortex hraje v patogenezi dystonie významnou roli, protože repetitivní transkraniální magnetická stimulace cílená na tuto oblast měla u pacientů s písářskou křečí jednoznačně pozitivní efekt. (Havrankova et al., 2010)

Nižší intenzitu BOLD signálu v SM jsme u pacientů zaznamenali bilaterálně. To není překvapivé, protože komplexní pohyb je na rozdíl od jednoduchého pohybu spojen více s oboustrannou aktivací senzorických i motorických oblastí, (Catalan et al., 1998) podmíněnou existencí četných recipročních transkalosálních spojů. (Killackey et al., 1983; Pons and Kaas, 1986) Bohaté propojení obou hemisfér může proto usnadnit rozvoj dystonie i na původně nepostížené končetině. (Sheehy and Marsden, 1982) Bilaterální pokles aktivity SM kortexu vykazoval u našich pacientů paradoxně větší pokles v ipsilaterální hemisféře, což může svědčit pro potlačení aberantní transcalosální koaktivace a pro relativní posílení role kontralaterálního SM kortexu. Oboustranné snížení aktivity postihlo u našich pacientů také PPC, který patří do somatosenzorického asociačního kortexu podílejícím se na integraci a analýze somestetických podnětů, (Knecht et al., 1996) jehož dysfunkce byla v souvislosti s GF pozorována již dříve. (Butterworth et al., 2003) Funkční změny v primární motorické kůře (MI) byly oproti postižení somatosenzorických oblastí nesrovnatelně menší. To může souviset s tím, že k výraznějším změnám v aktivitě MI dochází obvykle až v souvislosti se vznikem dystonické křeče. (Lerner et al., 2004; Odergren et al., 1998)

S odlišným způsobem řízení motorického aktu u písarské křeče pravděpodobně souviselo i snížení aktivace premotorické kůry a SMA, která se podílí na přípravě volního pohybu (Ibanez et al., 1999) a jeho správném načasování.(Tanji, 2001) Její funkce bývá spojována s motorickým učením i kognitivní kontrolou pohybu.(Nachev et al., 2008) Kromě přípravy volních pohybů se SMA podílí také na potlačení pohybů nechtěných.(Dinomais et al., 2009; Jaffard et al., 2008) Snížená aktivita by proto mohla souviset s poruchou schopnosti SMA potlačovat „overflow“ a vznik aberantních dystonických pohybů. Její dysfunkce se zřejmě podílí i na samotném rozvoji dystonie (Guehl et al., 2009), svědčí proto četné nálezy abnormálně snížené aktivity SMA u dystonických pacientů.(Ceballos-Baumann et al., 1995; Islam et al., 2009; Lerner et al., 2004; Oga et al., 2002)

Otázkou zůstává, proč došlo u našich pacientů k deaktivaci také v přední části pravé insuly. Nižší aktivita přední inzuly byly u GF pacientů pozorována již několikrát.(Havrankova et al., 2010; Hu et al., 2006; Lerner et al., 2004; Peller et al., 2006) Lze jen spekulovat, zda jde o projevy nociceptivních mechanismů (Treede et al., 1999) nebo změněného subjektivního vnímání vlastních pohybů, (Craig, 2009; Tsakiris et al., 2007) které mohou dystonii doprovázet.

Obsah psaného projevu (psaní versus náhodné kreslení) nevedl u našich GF pacientů ve srovnání se zdravými osobami k odlišné aktivaci sensorimotorického systému. Považujeme to za jeden z hlavních nálezů naší studie. Výsledek to není až tak překvapivý, protože v obou případech se jednalo o relativně krátký komplexní pohyb ruky, který dystonii nestačil nevyprovokovat. Zdá se tedy, že obsah psaného projevu nepředurčuje – alespoň ve své iniciační fázi – zda se dystonická křeč objeví či nikoliv. Děje se tak přesto, že psaní písmene více zaměstnávalo SM kortex kontralaterální hemisféry v oblasti pro ruku (Obrázek č. 4), což lze z hlediska iniciace dystonické křeče považovat za více rizikové. Ke zvýšené aktivaci této oblasti při psaní ve srovnání s náhodným kreslením došlo přitom u obou skupin subjektů podobným způsobem (Tabulka č. 4) a bylo zaznamenáno v souvislosti se psáním již dříve.(Brownsett and Wise, 2010)

Přítomnost či absence vizuální zpětné vazby nevedla u GF pacientů ve funkčním zobrazení mozku oproti normám k žádným podstatným rozdílům. To je v souladu s výsledky předchozích studií, které význam vizuální zpětné vazby u GF studovaly rovněž s negativním nálezem.(Chakarov et al., 2006; Prodoehl et al., 2006) Samotná vizuální kontrola prováděného pohybu vedla přitom shodně u našich pacientů i norem k rozsáhlé bilaterální aktivaci extrastriálního vizuálního kortexu, zahrnující areu V5 zodpovědnou právě za percepci viděného pohybu.(Bartels et al., 2008) Pokud byl komplexní pohyb vykonáván

s vyloučením zrakové vazby, převzal kontrolní úlohu pravděpodobně mediální frontální kortex (Obrázek č. 4), který bývá aktivován při úlohách zaměřených mj. na sebekontrolu, pozornost a korekci chyb.(Meunier et al., 2001; Paus, 2001) K jeho aktivaci došlo u GF pacientů a norem v podobném rozsahu (Tabulka č. 4).

### **3.5. Závěr**

Prokázali jsme, že u pacientů s písářskou křečí dochází oproti zdravým osobám k rozsáhlým změnám aktivace mozkové kůry při provádění komplexních, ale nikoliv jednoduchých pohybů postiženou rukou. Tyto změny byly přitom nezávislé na obsahu psaného projevu či přítomnosti vizuální zpětné vazby. Na rozdíl od předchozích studií jsme použili parametrický design fMR s použitím kinematických parametrů, které umožnily potlačit interindividuální rozdíly v pohybu ruky a vyjádřit hlavní podstatu odlišného kortikálního motorického vzorce GF pacientů. Veškeré pozorované změny se přitom u GF pacientů projevily snížením BOLD signálu. Maximální pokles byl patrný v sensorimotorické, premotorické kůře, SMA a dalších oblastech obou hemisfér – tedy v oblastech, které se účastní přípravy a řízení volního pohybu. Tyto změny přitom nebyly vázány na vyvolání dystonie ruky během fMR experimentu, což podporuje teorii dualistického chování sensorimotorických oblastí u písářské křeče.



#### 4. Studie č. 2. **Repetitivní transkraniální magnetické stimulace primární somatosensorické kůry u pacientů s písářskou křečí**

##### **Souhrn**

Cílem této práce bylo ovlivnit příznaky písářské křeče pomocí repetitivní transkraniální magnetické stimulace (rTMS) cílené na kontralaterální primární somatosensorickou kůru (SI). Jednalo se o placebem kontrolovanou jednoduše zaslepenou studii.

Studie se skládala ze dvou částí, pilotní a terapeutické. Do pilotní studie jsme zařadili 9 pacientek, do terapeutické 11 pacientů s písářskou křečí. Tito pacienti byli léčeni pomocí 30 minutových bloků rTMS cílených nad primární somatosensorickou kůru (SI) po dobu 5 dnů. Před a po rTMS byla provedena funkční magnetická rezonance (fMR) při vykonávání jednoduchých aktivních a pasivních pohybů postiženou končetinou.

V pilotní studii byla stimulační cívka cílena nad SI do místa, které odpovídalo maximálnímu BOLD (blood – oxygenation - level - dependent) signálu v SI při vykonávání pasivních pohybů postiženou končetinou. V terapeutické části studie byl cílem přímo levý sulcus postcentralis.

Po reálné rTMS došlo u 4 pacientů z pilotní studie a 10 pacientů z terapeutické studie k subjektivnímu i objektivnímu zlepšení písma. Po placebo rTMS nebyly pozorovány signifikantní změny písma u žádného z pacientů.

Po reálné rTMS zároveň došlo ke změnám BOLD signálu, hlavně při aktivních pohybech postiženou končetinou. Jednalo se o zvýšení signálu oboustranně v oblasti SI, dále posteriorní parietální kůry a suplementální motorické arey ( $P < 0.001$  s korekcí). Po placebo rTMS změny BOLD signálu pozorovány nebyly.

rTMS cílená nad SI kůru tedy pozitivně ovlivňuje klinické příznaky písářské křeče a tento efekt je doprovázen reorganizací SI a dalších oblastí.

##### **4.1. Úvod**

Písářská křeč je nejčastějším zástupcem ze skupiny task – specific fokálních dystonií, projevuje se ko – kontrakcemi agonistických i antagonistických svalů předloktí a ruky. Klinické obtíže se manifestují převážně při psaní. (Marsden and Sheehy, 1990)

Léčbou první volby je v současné době lokální injekční aplikace botulotoxinu do postižených svalů, který vyvolává jejich dočasnou denervaci (Cohen et al., 1989). Kromě lokálního efektu, byly popsány po aplikaci botulotoxinu i změny motorického systému na úrovni centrální. (Byrnes et al., 1998; Ceballos-Baumann et al., 1997) Ostatní léčebné metody

jsou pouze experimentální, převážně založené na sensorickém (Zeuner et al., 2002; Zeuner and Hallett, 2003) nebo motorickém tréninku postižené končetiny (Zeuner et al., 2008; Zeuner et al., 2005). Též jsou popsány jednotlivé případy úspěšné hluboké mozkové stimulace u pacientů s písářskou křečí. (Fukaya et al., 2007; Cho et al., 2009)

Jinou možností ovlivnění písářské křeče je repetitivní transkraniální magnetická stimulace (rTMS). rTMS je charakterizována pravidelně se opakujícími magnetickými stimuly, které aplikujeme nad mozkovou kůru pacienta. Zatímco botulotoxin ovlivňuje mozkovou kůru nepřímo přes nervosvalové ploténky změnou proprioceptivní zpětné vazby (Abbruzzese et al., 2001), rTMS působí přímo na úrovni mozkové kůry. Po aplikaci 1 Hz rTMS cílené na kontralaterální motorickou kůru pozorovali pacienti s písářskou křečí zlepšení asi v 50% případů. (Siebner et al., 1999) V dalších studiích byla rTMS cílena na kontralaterální premotorickou kůru. V první studii nebyl patrný terapeutický efekt, ale byly přítomny změny aktivity zobrazitelné pomocí PET v oblasti premotorické kůry, bazálních ganglií a mozečku (Siebner et al., 2003). V druhé studii byl naopak přítomen pozitivní terapeutický efekt na dystonické obtíže. (Murase et al., 2005)

Výše uvedené práce s rTMS se zaměřily na ovlivnění písářské křeče přes motorický systém, nicméně byla publikována řada studií, které dokazují možnost ovlivnění klinických příznaků i přes systém somatosensorický. Mimo pozitivního efektu geste antagoniste, můžeme jmenovat pozitivní efekt somatosensorického tréninku (Zeuner and Hallett, 2003) nebo perkutánní elektrickou stimulaci. (Tinazzi et al., 2005)

Vznik písářské křeče není doposud zcela osvětlen, ale klíčové jsou změny v somatosensorickém a motorickém systému, porušená sensorimotorická integrace a změny motorického učení. To vše vede pravděpodobně k „přeučení“ psaní u disponovaných jedinců. Tuto teorii podporuje i samotný název onemocnění, protože původně se jednalo o onemocnění profesionálních písářů, kteří trávili psaním mnoho hodin. Nadměrnou psací zátěž jako významný rizikový faktor potvrzuje i současná studie velkého souboru pacientů s písářskou křečí. (Roze et al., 2009)

Dlouhodobé motorické učení bývá spojeno se zvýšenou aktivací, zvětšením a překrýváním receptivních polí v SI kůře (Candia et al., 2003; Elbert et al., 1998; Floyer-Lea and Matthews, 2005). Podobné změny byly nalezeny i u zvířecích modelů dystonie založených na opakovaném aktivním pohybu končetinou (Blake et al., 2002; Byl et al., 1997). Některá zvířata ale vyvinula dystonické obtíže i po opakovaném vykonávání pasivního pohybu (Byl, 2007). Z toho vyplývá, že dystonie se u predisponovaných jedinců může vyvinout „přehlcením“ somatosensorického či proprioceptivního vstupu. To vede

k abnormální přestavbě nejprve somatosensorických, ale později i motorických korových oblastí.

Všechny tyto výsledky podporují hypotézu, že písářská křeč může být ovlivněna přes somatosensorický systém.

V naší studii jsme se pokusili ovlivnit klinické příznaky písářské křeče pomocí 1 Hz rTMS cílené na kontralaterální primární somatosensorickou kůru (SI rTMS). Zvolili jsme nízkofrekvenční stimulaci pro její známý inhibiční efekt na mozkovou kůru (Chen et al., 1997a) a dále pro možnost ovlivnění taktilní diskriminace (Knecht et al., 2003; Satow et al., 2003).

Kromě možného terapeutického efektu jsme sledovali i změny aktivace mozkové kůry v obraze funkční magnetické rezonance (fMR). fMR byla provedena při vykonávání jednoduchých aktivních a pasivních pohybů postižené končetiny. Aktivní i pasivní provedení pohybů jsme volili proto, že každý typ pohybu je zajišťován odlišnými mechanismy (Dinomais et al., 2009; Mima et al., 1999; Reddy et al., 2001; Weiller et al., 1996). Zatímco aktivní pohyb musí být naplánován, kontrolován, proveden, pasivní pohyb je spojen spíše s percepcí a vědomou svalovou relaxací. Pokud SI rTMS vyvolá změny především v plánování, kontrole motorického aktu, změny v obraze fMR by měly být patrné hlavně při aktivním pohybu. Pokud ale SI rTMS vyvolá změny převážně v propriocepci, měly bychom změny v aktivaci mozkové kůry pozorovat při obou typech pohybů, protože proprioceptivní zpětná vazba je společná pro oba typy pohybů. A nakonec pokud bude ovlivněna pomocí rTMS pouze percepce, změny by se měly projevit jen při pasivních pohybech.

## **4.2. Pacienti a metoda**

Studie se skládala ze dvou částí – pilotní a terapeutické studie.

Do *pilotní studie* bylo zařazeno 9 pacientek s písářskou křečí, průměrný věk  $42.5 \pm$  (SD) 9 let. *Terapeutickou studii* absolvovalo 11 pacientů s písářskou křečí (8 žen a 3 muži), průměrný věk  $40.3 \pm 3$  roky. Pět z těchto pacientů předtím prošlo pilotní studii (Tabulka č. 1). Všichni pacienti byli praváci, délka onemocnění se pohybovala mezi 2 – 11 lety. Čtyři pacienti v pilotní studii a pět pacientů v terapeutické studii trpělo simplexní formou písářské křeče, u ostatních byla přítomna dystonická forma onemocnění.

Čtyři pacienti z každé studie byli v minulosti léčeni botulotoxinem, poslední aplikace proběhla nejméně čtyři měsíce před vstupem do studie. U žádného z pacientů nebyl při vstupu

do studie subjektivně ani objektivně patrný efekt botulotoxinu. Do studie byli zařazeni pouze pacienti s rozvojem dystonie v dospělosti, u kterých nebyla prokázána sekundární příčina vzniku písářské křeče.

Všichni pacienti podepsali před vstupem do studie informovaný souhlas, vlastní protokol studie byl schválen místní etickou komisí.

### *Průběh studie*

Každý pacient absolvoval v rámci studie dva čtyřtýdenní bloky, jeden s reálnou rTMS, druhý s placebo (falešnou) rTMS v náhodném pořadí. Jedna rTMS aplikace trvala 30 minut a byla opakována 5 po sobě následujících dní v každém bloku. Abychom minimalizovali efekt placeba, byli pacienti informováni tak, že oba bloky mohou mít pozitivní klinický efekt a jsou prováděny jen jiným technickým postupem.

Míra dystonických obtíží byla sledována subjektivně i objektivně nejprve před reálnou či placebo rTMS (den 0, vizita V1), ihned po jejím skončení (den 5, vizita V2) a dále s odstupem jednoho týdne (den 14, vizita V3) a tří týdnů (den 28, vizita V4). Pacienti byli stejným způsobem testováni před a po druhém bloku rTMS (opět vizity V1, V2, V3, V4). Druhý blok stimulace byl zahájen tehdy, když pacient již nepozoroval klinický efekt předchozího bloku a od konce předchozí stimulace uplynuly nejméně 3 týdny.

Pozice hot – spotu stimulační cívky byla definována odlišně v obou částech studie:

V *pilotní studii* byly pro vyhledání cíle – primání somatosensorické kůry – využity výsledky funkční magnetické rezonance v průběhu pasivních pohybů postiženou končetinou. Cívka byla zacílena nad místo s maximálním BOLD signálem v SI kontralaterálně k postižené končetině.

V *terapeutické studii* byl cíl pozměněn dle výsledků pilotní studie. Při analýze výsledků pilotní studie bylo zjištěno, že pacienti, u kterých byl patrný terapeutický efekt reálné rTMS (respondéři), byli stimulováni v oblasti sulcus postcentralis. Proto byl cíl v terapeutické studii umístěn do oblasti sulcus postcentralis kontralaterálně k postižené končetině. Jako respondéři byli označeni pacienti, u kterých subjektivní a objektivní zlepšení písma po reálné rTMS dosáhlo alespoň 25% a po placebo rTMS nebylo patrné srovnatelné zlepšení.

## *Klinické vyšetření*

Tíži dystonie jsme objektivně hodnotili podle Burke – Fahn - Marsdenovy dystonické škály (BFMDS) a dále při opisování textu v délce dvou minut. Subjektivně pacienti hodnotili postižení funkce ruky při psaní (v % normálního psaní) (FR) a intenzitu bolesti ruky (BR) při psaní – obojí pomocí vizuálních analogových škál.

Subjektivní efekt rTMS na psaní (SEP) a objektivní efekt na kvalitu písma (OEP) byly hodnoceny během vizit V2, V3 a V4 po reálné či placebo rTMS. OEP byl hodnocen třemi nezávislými hodnotiteli (FR, PD, SH). Hodnocen byl celkový charakter rukopisu - zda došlo k jeho zlepšení či zhoršení vůči vizitě V1. Hodnotitelné nebyli samozřejmě informováni, zda hodnotí písmo po reálné nebo placebo stimulaci a též pořadí vizit V2, V3 a V4 bylo náhodně měněno.

Pro hodnocení SEP a OEP byla využita semikvantitativní škála, kde bylo možné zlepšení hodnotit jako maximální (+100%), výrazné (+75%), střední (+50%), mírné (+25%) nebo hodnotit jako beze změny (0%) a též zhoršení hodnotit jako mírné (-25%), střední (-50%), výrazné (-75%) nebo maximální (-100%) vůči vizitě V1. Shoda mezi jednotlivými hodnotiteli v OEP byla vypočítána podle Spearmanova korelačního koeficientu. Pro další analýzu jsme pak využili průměrné OEP skóre všech tří hodnotitelů.

Data byla analyzována pomocí SPSS 11.5 softwaru (SPSS Inc., Chicago, IL). Zatímco výsledky pilotní studie byly analyzovány pouze pomocí deskriptivních statistických metod, výsledky terapeutické studie byly testovány testy na normalitu distribuce a poté ještě neparametrickými testy. Subjektivní a objektivní hodnocení všech vizit byla testována pomocí Fridmanova testu na efekt pořadí a dále u každého bloku (reálné či placebo rTMS) byla korigována na vícečetná srovnání (Bonferroni).

Signifikantní výsledky byly dále analyzovány post hoc pomocí Wilcoxonova testu, kde byl každý parametr každé vizity porovnán mezi reálnou a placebo rTMS (např. SEP V2 po reálné rTMS bylo porovnáno s SEP V2 po placebo rTMS).

## *Provedení rTMS*

K stimulaci jsme použili Magstim Rapid stimulator (Magstim, Whitland, UK) propojený s vzduchem chlazenou osmičkovou cívkou o průměru 70 mm. Použili jsme bifázickou stimulaci o frekvenci 1 Hz. Stimulace byla podprahová, stimulovali jsme 90% aktivního motorického prahu. Motorický práh byl určen při 30% izometrické prekontrakci m.

abductor pollicis brevis dx. jako hodnota intenzity stimulace, při které bylo vybaveno 50% motorických odpovědí (z deseti pokusů) o amplitudě vyšší než 150  $\mu$ V.

Za pět dnů pacient absolvoval celkem pět aplikací rTMS o celkové dávce 9000 stimulů (1800 stimulů denně po dobu 30 minut). Cívka byla nad předem určený cíl navigována pomocí systému bezrámové stereotaktické navigace Brainsight (Magstim, Whitland, UK) využívající koregistraci MR snímků pacienta.

Při reálné rTMS byla cívka umístěna tangenciálně ke skalpu s hot spotem naléhajícím na skalp pacienta. Při placebo rTMS byla cívka pootočena o 90 stupňů a dotýkala se skalpu pacienta jedním ze svých ramen. Parametry obou stimulací byly identické a cívka byla vždy pevně uchycena v rameni stereotaktické navigace, aby nemohlo dojít k jejímu posunu v průběhu stimulace. Při reálné rTMS bylo po celou dobu stimulace vizuálně kontrolováno, zda nedošlo k odchýlení cívky či hlavy pacienta od požadovaného cíle.

V *pilotní studii* byla cívka navigována nad primární somatosensorickou kůru kontralaterálně k postižené končetině, cíl byl umístěn v oblasti maximálního BOLD signálu v oblasti SI dle výsledků fMR při provádění pasivních pohybů.

V terapeutické studii byla použita prakticky identická pozice cíle u všech pacientů. Cíl byl definován ve standartizovaném stereotaktickém prostoru (Montreal Neurological Institute) jako průměr koordinát pozic hot - spotu cívek respondérů pilotní studie (pacientů, kteří pozorovali pozitivní efekt po reálné rTMS v pilotní studii). Tento průměr byl zpět promítnut do normálního MR obrazu každého pacienta terapeutické studie pomocí SPM 5 softwaru (The Wellcome Department of Imaging, London, UK).

### *fMR vyšetření*

fMR v této studii byla prováděna při jednoduchých aktivních a pasivních pohybech postiženou končetinou.

V úloze s aktivními pohyby měl pacient za úkol provést flexi následovanou extenzí v metakarpofalangeálních a proximálních interfalangeálních kloubech II. – V. prstu pravé ruky. Za dobu trvání úlohy (přibližně 6 minut) měl za úkol provést přibližně 10 těchto pohybů. Nesměl mezi nimi však počítat či jinak odhadovat čas. Každý pohyb trval přibližně 5 sekund.

Úloha s pasivními pohyby byla prováděna stejným způsobem s tím rozdílem, že pasivní pohyby prováděl vyšetřující a pacient měl za úkol jen maximálně uvolnit

vyšetřovanou končetinu a pohybům se nebránit. V mezidobí mezi pohyby vyšetřující držel pacientovy prsty v mírné semiflexi. U všech pacientů pasivní pohyby prováděl týž vyšetřující.

Vyšetření magnetickou rezonancí bylo provedeno na přístroji Siemens Symphony 1.5 Tesla (Erlangen, Germany). Vyšetření fMR byl provedeno pomocí gradient echo planární T2\*-vážené sekvence o následujících parametrech: TR = 2900 ms; TE = 56 ms; FA = 90st. Během každé sekvence fMR, která trvala 6 minut a 11 sekund, bylo získáno 128 dynamických snímků, které se skládaly z 27 axiálních řezů o tloušťce 4mm. Dále byla u každého pacienta doplněna T1 vážená sekvence o 160 axiálních snímcích při tloušťce snímku 1.6 mm s těmito parametry: TR = 2140 ms; TE = 3.93 ms; FA = 15st; TI = 1100 ms.

Pro přesnou detekci počátku a konce každého pohybu i způsobu jeho provedení jsme vytvořili speciální metodu videomonitorace synchronizované se signálem magnetické rezonance. Preprocessing dat fMR a jejich statistická analýza byly provedeny pomocí SPM 5 softwaru (Institute of Neurology, University College London). Preprocessing se skládal z odstranění pohybových artefaktů jednotlivých snímků (realignment), dále z jejich časového uspořádání (slice – time correction), z normalizace dat do jednotného standartizovaného stereotaktického prostoru (Montreal Neurological Institute) (normalization) a z izotropického rozostření na 8mm Gaussova filtru (smooth).

Do další analýzy byly vybrány pouze pohyby, které trvaly přibližně 5 sekund a statisticky nebyl pozorován žádný rozdíl v trvání pohybů před a po aplikaci rTMS. Vektor aktivního či pasivního pohybu obsahoval čas počátku a trvání každého pohybu a tyto vektory byly vloženy do další analýzy snímků v rámci event – related designu.

Čtyři regresory aktivních pohybů a čtyři pasivních pohybů byly použity pro individuální analýzu. Pro skupinovou analýzu byla využita random – effect analýza, kde byl porovnán stav před (V1) a po reálné či placebo rTMS (V2) zvláště u aktivních a pasivních pohybů. Výsledky analýzy byly zobrazeny na hladině významnosti  $P < 0.001$  s korekcí na úrovni klastru.

### *Dynamické kauzální modelování (DCM)*

V terapeutické studii byly navíc díky metodě dynamického kauzálního modelování (DCM – Dynamic Causal Modeling) studovány spoje mezi jednotlivými oblastmi, které byly aktivovány při fMR úlohách.

DCM analýza umožňuje predikovat vnitřní spoje mezi jednotlivými oblastmi mozku, sledovat změny těchto spojů a jejich vliv na aktivitu mozkové kůry (Pleger et al., 2006). Do DCM analýzy byly vybrány výsledky skupinové analýzy fMR při aktivních pohybech, které

ukázaly zvýšení aktivity v různých korových oblastech po reálné rTMS na hladině významnosti  $P < 0.001$  s korekcí. V rámci zjednodušení jsme vytipovali čtyři korové oblasti, které se účastní kontroly pohybů či jejich percepce a jsou navzájem anatomicky propojeny. V levé hemisféře to byla primární somatosensorická kůra, dále posteriorní parietální kůra (PPC) a suplementární motorická area (SMA). V pravé hemisféře to pak byla pouze primární somatosensorická kůra. Souřadnice těchto oblastí jsou uvedeny v tabulce č. 3. Z dat pacientů byly vybrány časově specifické série snímků z každé ze čtyř sekvencí fMR zobrazené na hladině významnosti  $P < 0.01$  bez korekce.

Nejprve jsme definovali model, který znázorňoval stav před provedením rTMS. S využitím Bayesovského modelu výběru jsme určili nejvhodnější z 11 modelů, které vyjadřovaly různá spojení mezi čtyřmi námi definovanými oblastmi (Pleger et al., 2006). Všechny testované modely jsou uvedeny na obrázku č. 4.

Model č. 1 představoval reciproční spoje mezi oblastmi, zatímco další modely vyjadřovaly spoje pouze v jednom směru. Hlavním předpokladem bylo, že dominantními vstupy jsou SMA (iniciace volního pohybu) a levá SI (percepce pohybu) u všech modelů.

V další analýze jsme použili konzervativní model pro srovnání (Penny et al., 2004). Důkaz pro každý model, založený na Akaikových a Bayesovských informačních kritériích byl analyzován pomocí Bayesovského faktoru (BF) pro každý pár modelů a každého pacienta zvlášť. BF je poměr mezi odhadovaným důkazem dvou modelů, jenž vyjadřuje, který z nich lépe hodnotí skutečnou situaci. Nejlepší model byl nakonec vybrán pomocí skupinového Bayesovského faktoru (GBF) a poměru pozitivních důkazů (PER). GBF byl vypočten jako výsledek individuálních Bayesovských faktorů. PER vyjadřuje počet srovnání, ve kterých BF dosáhne hladiny pozitivního důkazu pro jeden z porovnávaných modelů.

Poté byl analyzován model pro nejvýhodnější modulační efekt rTMS na skupinové úrovni. Wilcoxonův test jsme použili pro srovnání interindividuálních spojů před a po reálné rTMS. Stejný postup byl použit i pro analýzu placebo rTMS. Tyto testy byly použity pro každý spoj zvlášť. Výsledky byly zobrazeny na hladině významnosti  $P < 0.05$  s korekcí na mnohočetná srovnání (Bonferroni).



### 4.3. Výsledky

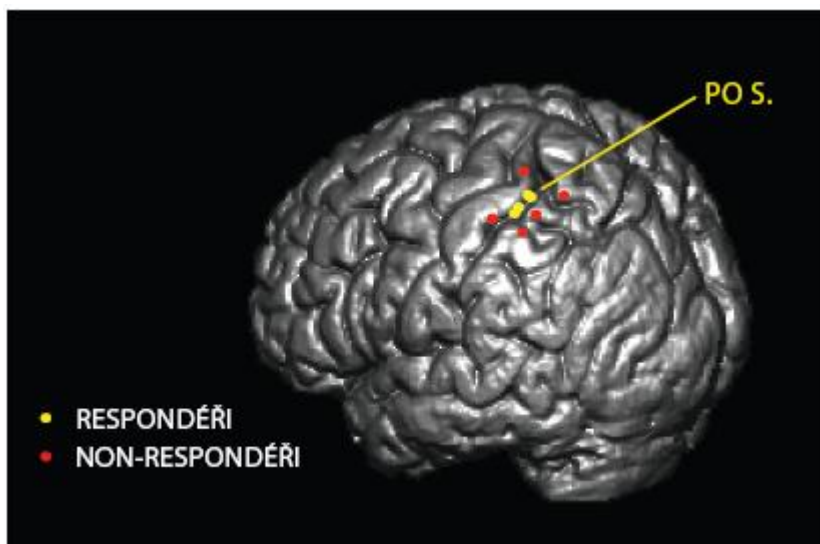
#### *Pilotní studie*

Při vizitě č. 2 (V2) ihned po skončení pětidenní série reálné rTMS, pozorovaly čtyři z devíti pacientek subjektivní zlepšení písma (SEP). Tyto pacientky jsme označili jako respondéry. Zlepšení bylo u všech respondérů patrné i při následující vizitě č. 3 (V3) o týden později a u dvou z nich i při vizitě č. 4 (V4) o další dva týdny později. Po placebo rTMS jedna pacientka pozorovala mírné zhoršení písma při vizitě V3.

Objektivní efekt stimulace na kvalitu písma (OEP) prokázal jasné zlepšení písma u všech respondérů. Po placebo stimulaci nedošlo k objektivnímu zlepšení písma u žádné z pacientek.

Pozice hot - spotu stimulační cívky všech pacientů byly převedeny do standartizovaného stereotaktického prostoru (Obrázek č. 1). A je patrné, že zatímco hot - spoty cívky u respondérů byly umístěny v těsné blízkosti sulcus postcentralis, hot spoty u ostatních pacientů (non – respondérů) jsou rozptýleny v okolí. Průměrná poloha hot - spotu cívky respondérů má souřadnice:  $x = -44$ ,  $y = -42$ ,  $z = 60$ . Tyto souřadnice pak byly využity při navigaci stimulační cívky v terapeutické studii.

**Obrázek č. 1.** Pozice hot – spotu stimulační cívky pacientů zařazených do *pilotní studie*



*Pilotní studie* – pozice hot – spotu stimulační cívky u 4 respondérů se zlepšením písma po reálné rTMS a 5 pacientů beze změn písma po rTMS. Pouze respondéři měli umístěný hot – spot cívky nad sulcus postcentralis (PO S.) (žluté body). Non – respondéři měli hot – spot umístěný v okolních oblastech (červené body). Průměrná pozice hot – spotu respondérů byla využita jako cíl stimulace v *terapeutické studii*.

### *Terapeutická studie*

#### *Subjektivní parametry*

Téměř všichni pacienti zařazení do terapeutické studie vykazovali signifikantní subjektivní zlepšení kvality písma ( $\chi^2=36$ ,  $P<10^{-5}$  s korekcí) (Tabulka č. 1) po skončení pětidenní série reálné rTMS. Toto zlepšení bylo patrné v průběhu vizit V2, V3 i V4. Nejvýraznější zlepšení SEP bylo patrné v průběhu vizity V2 (zlepšení SEP o  $30\% \pm$  (SD)18%, variance 0-75%,  $P<0.01$ ), kde 8 pacientů popisovalo maximální efekt. Jeden z pacientů popsal maximální SEP při vizitě V3, další při vizitě V4. Poslední z pacientů neměl pocit subjektivního zlepšení písma po reálné rTMS. Rukopisy pacientů před a po reálné rTMS jsou ukázány na Obrázku č. 2.

U žádného z pacientů se písmo po reálné rTMS subjektivně nezhoršilo a nebyl patrný ani efekt pořadí jednotlivých stimulací.

Po placebo rTMS byly patrné pouze nesignifikantní změny SEP u pacientů. Subjektivní parametry funkce ruky při psaní a bolest ruky při psaní nevykazovaly signifikantní změny mezi reálnou a placebo stimulací.

**Tabulka č. 1.** Pacienti zařazení do terapeutické studie, jejich charakteristika, sledované parametry a jejich změny po rTMS

č.	m/ž	věk	trv.	typ	btx	poř.	R/N	Realná rTMS						placebo rTMS					
								SEP			OEP			SEP			OEP		
								V2	V3	V4	V2	V3	V4	V2	V3	V4	V2	V3	V4
1	Ž	53	3	s	n	1	R	+25	+25	+30	+42	+33	+25	+25	+25	0	-17	0	-8
2	Ž	42	3	s	a(4)	1	R	+50	+50	+50	+25	0	+17	0	-25	-25	0	0	-8
3	Ž	43	8	d	a(24)	2	R	+25	+25	0	+50	+50	+25	0	0	0	0	-8	-25
4	Ž	58	11	d	a(5)	1	R	+70	+25	0	+58	+58	+50	+25	+25	0	+17	+8	+8
5	Ž	42	10	d	n	1	R	+25	+25	+25	+8	0	+25	0	0	0	-25	-33	-42
6	Ž	47	2	s	n	2	R	+25	+50	+25	+25	+25	+17	0	0	0	-8	-8	-8
7	Ž	38	2	d	n	2	R	+25	+25	+25	+33	+17	+25	0	0	0	0	0	0
8	Ž	51	6	s	a(4)	2	N	0	0	0	+25	+25	+33	0	0	0	-17	-25	-25
9	M	57	10	d	n	1	R	+25	+25	+25	+33	+8	+33	0	0	0	0	0	0
10	M	58	6	d	n	2	R	+25	+25	+25	+17	+17	-8	0	0	0	0	0	-17
11	M	42	4	s	n	1	R	+25	+25	+25	+25	+25	+25	0	-25	0	-17	-8	-17

m/ž – muž/žena trv. – délka trvání choroby typ – simplexní(s)/dystonická(d) forma písácké křeče

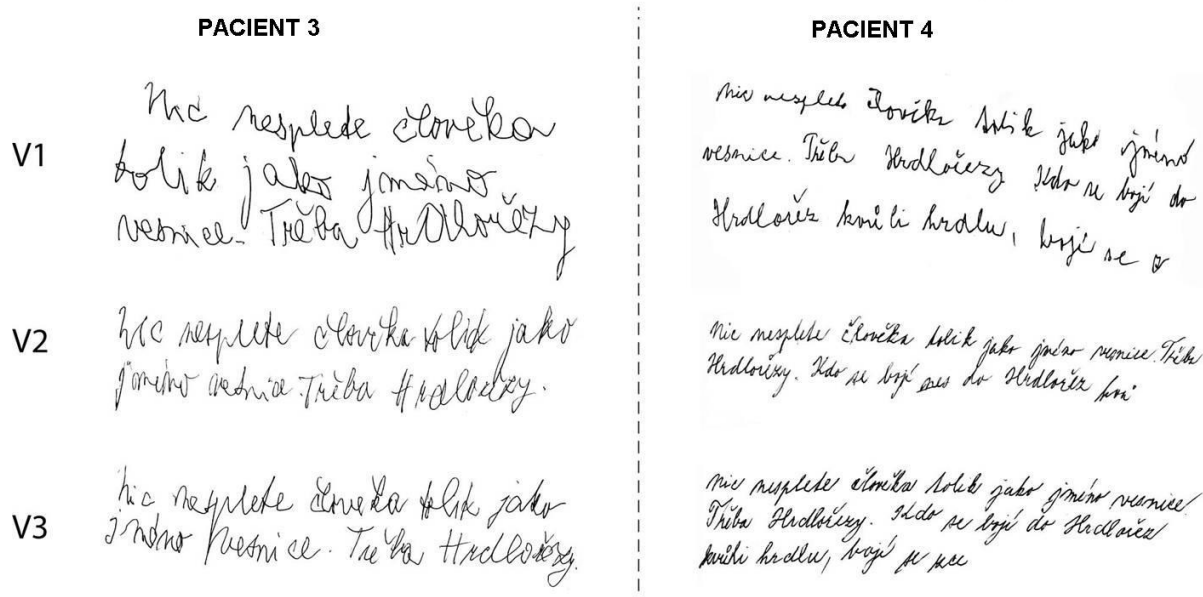
btx – botulotoxin ano(a)/ne(n) – jestliže ano (před kolika měsíci) poř. – pořadí - reálná rTMS poté placebo rTMS (1) nebo placebo rTMS poté reálná rTMS (2) R/N – respondér (R), non respondér(N)

SEP – subjektivní efekt na psaní (%) – hodnoceno při V2, V3, V4 – porovnáván stav s V1 který hodnocen jako 0

OEP – objektivní efekt na psaní (průměr hodnocení 3 nezávislých hodnotitelů) (%) – hodnoceno při V2, V3, V4 – porovnáván stav s V1 který hodnocen jako výchozí hodnota - 0

V2 – kontrola ihned po ukončení reálné či placebo rTMS V3 – kontrola týden po ukončení reálné či placebo rTMS V4 – kontrola 3 týdny po ukončení reálné či placebo rTMS

**Obrázek č. 2.** Změny písma dvou pacientů před a po reálné rTMS



Zlepšení kvality písma po reálné rTMS cílené na primární somatosensorickou kůru u dvou pacientů s písmařskou křečí v terapeutické studii. Písmo před reálnou rTMS u pacienta č. 3 a 4 (V1), ihned po skončení rTMS (V2) a týden po skončení stimulace (V3).

### Objektivní parametry

Zlepšení OEP bylo zaznamenáno u všech pacientů po reálné rTMS při vizitách V2, V3, V4 ( $\chi^2=44$ ,  $P<10^{-6}$  s korekcí). Nejlepší efekt byl zaznamenán ve shodě s SEP při vizitě V2 (zlepšení o  $31\pm(\text{SD})14\%$ , variance 8-58%,  $P<0.01$ ), kdy u devíti pacientů bylo patrné maximální objektivní zlepšení písma (Tabulka č. 2). U dvou pacientů byl patrný maximální efekt OEP při vizitě V4 a u jednoho pacienta bylo patrné mírné zhoršení po reálné rTMS při vizitě V4.

Jak vyplývá z analýzy interindividuální variability jednotlivých hodnotitelů, OEP lze považovat za spolehlivý ukazatel změny písma po rTMS (korelace mezi FR a PD  $\rho=0.62$ ,  $P<10^{-6}$ ; korelace mezi PD a SH:  $\rho=0.44$ ,  $P<0.001$ ; korelace mezi FR a SH.:  $\rho=0.36$ ,  $P<0.01$ ). Při testu dvouminutového opisování textu byly nejlepší výsledky patrné u devíti pacientů při vizitě V4 po reálné rTMS. Nicméně tyto změny nebyly statisticky signifikantní.

Po placebo stimulaci byly nejlepší výsledky opisování textu patrné při různých vizitách (při V1 u 5 pacientů, při V2 u 1 pacienta, při V3 u 3 pacientů a při V4 u 2 pacientů).

BMFDS skóre kleslo u pěti z jedenácti pacientů po reálné rTMS, po placebo stimulaci se nezměnilo u deseti pacientů. Tyto změny však opět nebyly statisticky signifikantní.

**Tabulka č. 2.** Statistické zpracování výsledků subjektivních a objektivních parametrů terapeutické studie

Subjektivní hodnocení	P	Realná rTMS				placebo rTMS			
		V1	V2	V3	V4	V1	V2	V3	V4
SEP	10 <sup>-5</sup>		+29(18)**	+27(13)**	+21(15)**		+5(10)	0(16)	-2(8)
Funkce ruky	n.s.	3.7(2)	4.4(2)	4.0(2)	3.8(2)	4.1(2)	3.7(2)	3.8(2)	3.6(2)
Bolest ruky	n.s.	2.9(3)	2.0(3)	2.2(3)	2.1(3)	2.6(3)	1.9(2)	2.4(2)	2.9(3)
<b>Objektivní hodnocení</b>									
OEP	10 <sup>-6</sup>		+31(14)**	+23(19)**	+24(14)**		-6(12)	-7(12)	-13(14)
Počet napsaných slov	n.s.	170(68)	174(70)	172(74)	189(73)*	178(73)	178(71)	173(69)	174(71)
BFMDS	n.s.	3.0(1.2)	2.5(0.5)	2.5(0.5)	2.5(0.5)	2.8(1.2)	2.8(1.2)	2.8(1.2)	2.7(1.2)

V tabulce jsou uvedeny vždy průměrné hodnoty všech pacientů ( $\pm$ směrodatná odchylka) subjektivních a objektivních parametrů psaní 11 pacientů s písáskou křečí před a po reálné nebo placebo rTMS.

P – hladina významnosti vypočtená Friedmanovým testem \*\* (P < 0.01), \* (P < 0.05) – hladina významnosti určená hodnotou Wilcoxonova neparametrického testu, která porovnává korespondující kontroly po reálné versus placebo rTMS

V1 – kontrola před zahájením reálné či placebo rTMS V2 – kontrola ihned po ukončení reálné či placebo rTMS

V3 – kontrola týden po ukončení reálné či placebo rTMS V4 – kontrola 3 týdny po ukončení reálné či placebo rTMS

SEP – průměrný subjektivní efekt na psaní (%) – hodnoceno při V2, V3, V4 – porovnáván stav s V1 který hodnocen jako 0

Funkce ruky – subjektivní hodnocení postižení funkce ruky při psaní – hodnoceno pomocí subjektivní analogové škály (0 – ruka není schopna psát, 10 – normální psaní) Bolest ruky – subjektivní hodnocení bolesti ruky při psaní - hodnoceno pomocí subjektivní analogové škály (0 – žádná bolest-10 – nejhorší možná bolest)

OEP – objektivní efekt na psaní (průměr hodnocení 3 nezávislých hodnotitelů) (%) – hodnoceno při V2, V3, V4 – porovnáván stav s V1 který hodnocen jako výchozí hodnota – 0 Počet napsaných slov – počet slov napsaných za 2 minuty

BFMDS –Burke – Fahn – Marsdenova škála

## *fMR výsledky*

Do skupinové analýzy fMR bylo zahrnuto devět z jedenácti pacientů (respondérů) terapeutické studie.

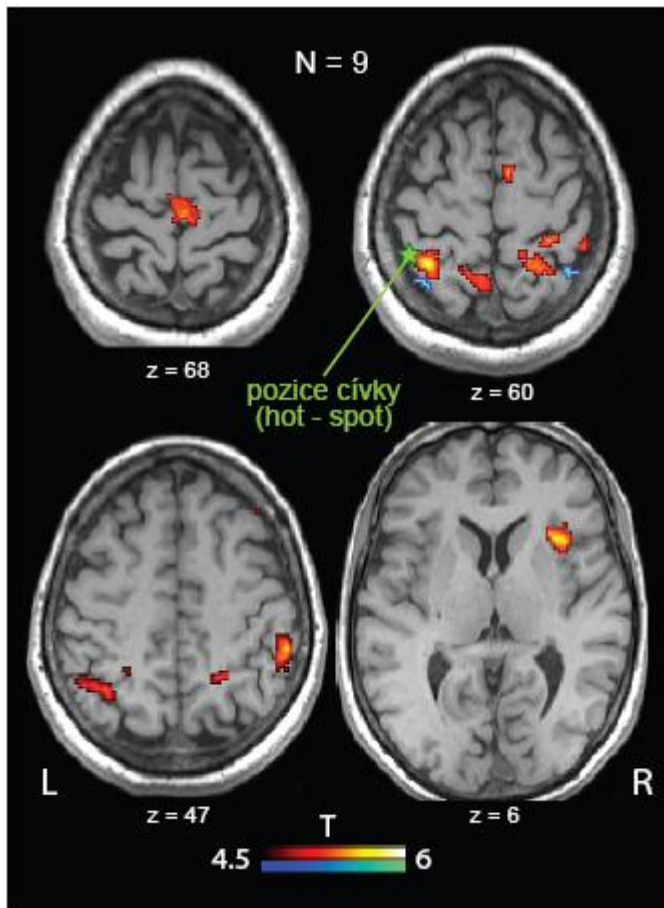
Pacient č. 5 (též respondér) byl vyloučen pro četné pohybové artefakty v průběhu vyšetření, které nebylo možné odstranit běžnými postupy při analýze. Pacient č. 8 byl vyřazen jako non – respondér.

Skupinová analýza fMR výsledků ukazuje, že po aplikaci reálné rTMS oproti vyšetření před stimulací došlo při aktivních pohybech k vyšší aktivaci v různých oblastech obou hemisfér. Zvýšena byla aktivita jednak v oblasti levé SI (blízko místa stimulace), ale podobná aktivita byla patrna i kontralaterálně v oblasti SI pravé hemisféry, dále byl oboustranně zvýšený BOLD signál v PPC a SMA a v oblasti přední části inzuly vpravo (Obrázek č. 3 a Tabulka č. 3). Snížená aktivace nebyla patrna v žádné ze sledovaných oblastí.

Při úloze s pasivními pohyby byla po reálné rTMS patrna vyšší aktivita oboustranně pouze v oblasti lobulus parietalis superior (Obrázek č. 3 a Tabulka č. 3).

Po aplikaci placebo rTMS nebyly patrné ani při jedné z úloh žádné změny aktivace sledovaných korových oblastí.

**Obrázek č. 3.** Skupinová analýza změn BOLD signálu při úloze s aktivními a pasivními pohyby



*Terapeutická studie* - Skupinová analýza efektu reálné rTMS při úloze s aktivními a pasivními pohyby pacientů s písářskou křečí (N=9). Obrázek ukazuje nárůst BOLD signálu po reálné rTMS (V2) v porovnání se stavem před reálnou rTMS (V1). Výsledky jsou zobrazeny nezávisle pro aktivní pohyby (žlutooranžová škála) a pro pasivní pohyby (modrozelená škála). Hot – spot cívký byl u všech pacientů umístěn v podobné pozici (sulcus postcentralis – označen hvězdičkou). Výsledky jsou zobrazeny na hladině významnosti ( $P < 0.001$ ) s korekcí na úrovni klastru a promítnuty do normalizovaného obrazu mozku pacienta č. 1.

**Tabulka č. 3.** Statistické výsledky změn BOLD signálu po reálné a placebo rTMS

	BA	x	y	z	k	T	P nekor.
Hot - spot cívky:							
sulcus postcentralis l.sin. ●	2, 5	-44	-42	60			
<b>realná rTMS:</b>							
<u>aktivní pohyby levou rukou:</u> po versus před rTMS							
sulcus postcentralis sin.	2, 5, 7	-32	-48	60	} 697	10.3	0.00001
+ lobulus parietalis superior sin.	7						
lobulus parietalis inferior sin. ●	40	-46	-52	42		6.5	0.0001
precuneus sin.	7	-6	-58	62	245	5.7	0.001
gyrus frontalis medius (SMA) ●	6	4	-22	68	173	6.9	0.0001
gyrus postcentralis dx. ●	3, 1, 2	26	-36	64	3842	9.4	0.00001
sulcus postcentralis dx.	2, 5, 7	46	-40	58	} 805	6.4	0.0001
+ lobule parietalis superior dx.	7						
lobulus parietalis inferior dx.	39, 40	50	-58	40		10.0	0.00001
insula dx.		32	18	6	400	8.9	0.0001
<u>pasivní pohyby levou rukou:</u> po versus před rTMS							
lobulus parietalis superior sin.	7	-36	-56	60	160	5.3	0.001
lobulus parietalis superior dx.	7	40	-54	58	166	6.2	0.001
<b>placebo rTMS:</b>							
<u>aktivní pohyby levou rukou:</u> po versus před rTMS							
<i>beze změny aktivace</i>							
<u>pasivní pohyby levou rukou:</u> po versus před rTMS							
<i>beze změny aktivace</i>							

*Terapeutická studie* - Oblasti se signifikantním nárůstem BOLD signálu u pacientů s písářskou křečí po reálné či placebo rTMS ( $P < 0.001$  s korekcí na úrovni klastru). Tabulka ukazuje výsledky kontrastů po versus před reálné nebo placebo stimulací (t.j. porovnána tyto dva stavy) při aktivních nebo pasivních pohybech levou rukou. Při porovnání stavu před versus po stimulaci nebyly patrné žádné signifikantní výsledky. Po placebo stimulaci nebyly též patrné žádné změny kontrastů

- – oblast použitá pro DCM analýzu BA – Brodmannova area x, y, z – souřadnice ve standartizovaném stereotaktickém prostoru (Montreal Neurological Institute – MNI) k – velikost clusteru T – t-hodnota
- P nekor. – P hladina bez korekce na velikost voxelu

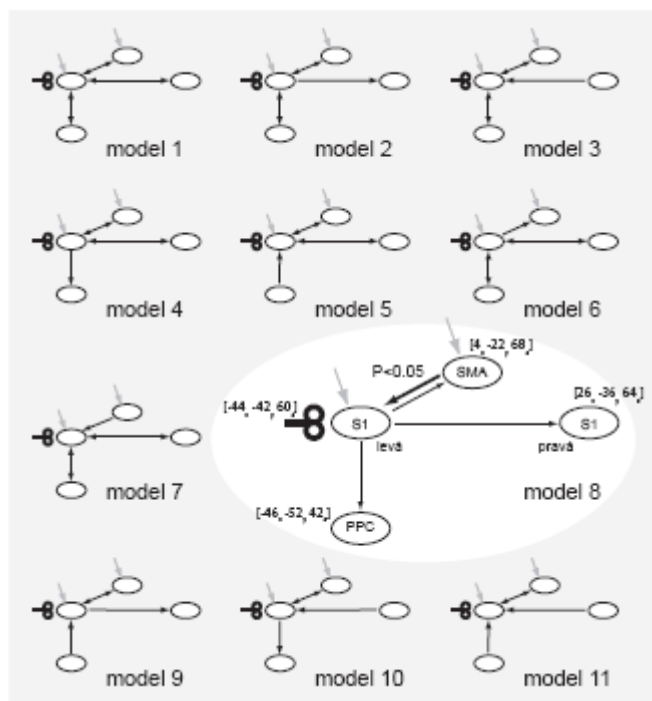


## Výsledky DCM analýzy dynamického kauzálního modelování (DCM)

Bayesovský párový model porovnání 11 modelů (Obrázek č. 4) ukazuje jako nejlepší model M8. Tento model popisující chování aktivovaných oblastí před rTMS ukázal jasnou preferenci na bázi parametru GBF u všech pacientů: M8 vs. MI ( $GBF > 10^7$ ); M8 vs. M2 ( $GBF > 10^3$ ); M8 vs. M3 ( $GBF > 10^4$ ), M8 vs. M4 ( $GBF > 10^3$ ), M8 vs. M5 ( $GBF > 10^4$ ); M8 vs. M6 ( $GBF > 10^3$ ); M8 vs. M7 ( $GBF > 10^4$ ); M8 vs. M9 ( $GBF > 10^1$ ); M8 vs. MI0 ( $GBF > 10^0$ ); M8 vs. MI1 ( $GBF > 10^2$ ). S ohledem na parametr PER, byl též model M8 určen jako výhodnější než modely MI – M7 u všech devíti pacientů (PER 9:0). Modely MI0 a MI1 byl lepší u dvou pacientů (PER 7:2) a model M9 byl výhodnější pouze u jednoho pacienta (PER 8:1).

Statistická analýza modelu M8 ukazuje modulační efekt reálné rTMS naspoje z SMA do levé SI, které po expozici reálné rTMS zesílily z  $0.02 \pm (SD) 0.02 s^{-1}$  na  $0.06 \pm 0.05 s^{-1}$  ( $Z=2.3$ ,  $P < 0.05$  s korekcí). Naproti tomu po placebo stimulaci žádný modulační efekt nebyl patrný.

**Obrázek č. 4.** Výsledky analýzy dynamického kauzálního modelování (DCM)



*Terapeutická studie* - Dynamické kauzální modelování. U respondérů byl model č. 8 určen jako nejpřesnější ze všech 11 modelů. Po reálné rTMS v porovnání se stavem před rTMS se zvýraznily spoje z SMA do levé SI (t.j. místa stimulace) ( $0.06 \pm (SD) 0.05 s^{-1}$ ). Naopak po placebo rTMS nebyly patrné žádné změny konektivity.

SI – primární somatosensorická kůra PPC – posteriorní parietální kůra SMA – suplementární motorická area

#### 4.4. Diskuse

##### *Klinický efekt rTMS*

Reálná rTMS cílená na kontralaterální primární somatosensorickou kůru měla pozitivní subjektivní a objektivní terapeutický efekt na klinické obtíže pacientů s písarskou křečí. V *pilotní studii* byl tento pozitivní vliv pozorován u čtyř pacientů z devíti, v *terapeutické studii* to bylo u deseti pacientů z jedenácti. Toto zlepšení bylo průměrně 30% a bylo nejvíce patrné ihned po skončení pětidenní série reálné rTMS, ale u většiny pacientů přetrvalo po dobu tří týdnů. Sami pacienti označovali zlepšení stavu nejčastěji jako mírné či střední. Pozitivní subjektivní efekt byl podpořen i objektivními výsledky, kdy tři nezávislí hodnotitelé označili písmo po reálné rTMS jako zlepšené, a toto zlepšení bylo také kromě jednoho pacienta patrné po dobu tří týdnů (Tabulka č. 1).

Ostatní parametry se ukázaly jako nedostatečně citlivé pro zachycení efektu rTMS. Funkce ruky při psaní a intenzita bolesti při psaní zaznamenané pomocí vizuálních analogových škál ukázaly po reálné rTMS jen staticky nevýznamné zlepšení. Počet písmen napsaných za dvě minuty při opisování textu a skóre BFMDS se po aplikaci reálné rTMS prakticky nezměnily. U BFMDS nás to příliš nepřekvapuje, neboť se jedná o škálu, která je používána především pro pacienty s generalizovanou dystonií a pro task - specific fokální dystonie je její skóre málo citlivé.

Jako u jiných klinických studií může být samozřejmě pozitivní vliv rTMS ovlivněn placebo efektem. Placebo efekt jsme se snažili omezit náhodným pořadím bloků reálné a placebo stimulace a informací o možném účinku kterékoliv série rTMS. Vzhledem k těmto opatřením věříme, že pozitivní terapeutický efekt rTMS SI byl nezávislý na placebo efektu. Tomu odpovídá jednotný efekt reálné rTMS v terapeutické studii. Kromě jednoho pacienta, pociťovali efekt všichni a tento efekt měl i přibližně stejnou délku. K velmi podobným závěrům navíc došli se vzájemnou shodou i tři nezávislí hodnotitelé rukopisů pacientů. Po placebo stimulaci pak signifikantní objektivní ani subjektivní změny písma patrné nebyly.

Samozřejmě lze namítnout, že vzhledem k provedení obou typů stimulace u každého pacienta mohlo dojít k efektu přenosu, že efekt reálné rTMS přetrvával i po dobu placebo stimulace. Tomu jsme se snažili čelit dvěma způsoby: za prvé jsme měnili pořadí – tj. polovina pacientů začínala reálnou rTMS, ale druhá polovina začínala placebo stimulací (efekt pořadí na výsledky byl vyloučen i statisticky) a za druhé před zahájením druhé stimulace byli pacienti podrobně dotazováni zda již není přítomný subjektivní efekt stimulace

a též byl hodnocen rukopis, zda jsou vyjádřeny příznaky písárecké křeče obdobně jako před první stimulací. Proto interval mezi zahájením prvního a druhého bloku rTMS kolísal u pacientů v rozmezí 4 – 10 týdnů.

Tento interval jsme považovali za dostatečný, neboť v předchozích studiích terapeutický efekt rTMS trval maximálně dny (Siebner et al., 1999). I když studie z poslední doby (Borich et al., 2009) ukazuje, že doba trvání rTMS efektu je úměrná celkové době stimulace, po pětidenní stimulaci (stejný protokol jako v naší studii) byl efekt pozorován cca 2 týdny, tedy po výrazně kratší dobu než byl náš interstimulační interval. V další studii byl pozorován dlouhodobý efekt po elektrické somatosensorické stimulaci periferních svalů, kdy po deseti dnech stimulace pozitivní efekt přetrvával tři týdny. (Tinazzi et al., 2005)

Existuje několik klinických studií, které testovaly efekt rTMS u pacientů s písáreckou křečí. V některých případech bylo po aplikaci na oblast motorické či premotorické kůry pozorováno zlepšení písma (Borich et al., 2009; Murase et al., 2005; Siebner et al., 1999), v jiné však pozitivní terapeutický efekt přítomen nebyl (Siebner et al., 2003). Důvodem pro tyto rozporuplné výsledky je patrně odlišná metodika včetně metody zaměření cíle a dále zvolené parametry stimulace.

Pozitivní efekt rTMS v naší studii je patrně důsledkem změn plasticity sensorimotorického systému díky reorganizaci somatosensorické kůry. Naše výsledky potvrzují úlohu somatosensorické kůry v etiopatogenezi písárecké křeče, tak jak to uvádí předešlé klinické studie. (Abbruzzese et al., 2001; Baumer et al., 2007; Berardelli et al., 1998; Kanovsky, 2002; Quartarone et al., 2006; Tinazzi et al., 2000; Tinazzi et al., 2003)

#### *Vliv pozice stimulační cívk*

V *pilotní studii* jsme prokázali závislost pozitivního terapeutického efektu na přesném umístění cívk nad určitou část somatosensorické kůry. U pacientek v pilotní studii byla cívka navigována nad oblast s maximem BOLD signálu v SI v průběhu pasivních pohybů. Primární somatosensorická kůra je rozsáhlá, má přesnou somatotopickou organizaci (Hlustik et al., 2001) a je organizována do receptivních polí pro jednotlivé části těla (Bara-Jimenez et al., 1998; Braun et al., 2003; Meunier et al., 2001). Vzhledem k tomu, že pozitivní efekt rTMS na psaní byl patrný jen u některých pacientů, podrobili jsme cíle jednotlivých pacientů retrospektivní analýze. A zjistili jsme při jejich promítnutí na standartizovaný model (obrázek č. 1), že pozitivní efekt rTMS pacientů byl vázaný pouze na stimulaci v oblasti podél sulcus postcentralis. Pacienti, kteří nepozorovali klinický efekt stimulace, byli stimulováni v jiných

oblastech SI.

Tyto poznatky jsme dále využili v terapeutické studii, kdy jsme cíl stimulace umístili do oblasti podél sulcus postcentralis, který se jevil jako optimální místo pro stimulaci ze závěrů pilotní studie. Tato oblast přibližně odpovídá Brodmannově aree (BA) 2, která tvoří přední stěnu sulcus postcentralis a zčásti též BA 40, která vytváří zadní stěnu sulcus postcentralis. Zatímco BA 2 patří ještě k oblasti SI, BA 40 se již řadí k parietálním asociačním oblastem.

Jak je známo z předešlých studií se zvířecími modely, BA 2 integruje informace o pozici jednotlivých prstů spolu s taktilními vjemy a dostává komplexní informace z receptorů pokožky a svalových vřetének (Pons and Kaas, 1986). Brodmannova area 40 se zase pravděpodobně podílí na somatosensorické diskriminaci a má bohaté spoje nejen s BA 2, ale i s motorickými oblastmi.

### *Změny aktivace mozkové kůry po aplikaci reálné rTMS*

Pozitivní efekt na psaní byl provázen změnami BOLD signálu rozsáhlých oblastí mozkové kůry pacientů. Po aplikaci reálné rTMS došlo ke zvýšení aktivace SI oboustranně včetně PPC, dále ke zvýšení aktivace SMA a pravé inzuly. Jedna z oblastí zvýšené aktivace v oblasti SI odpovídala přibližně hot spotu stimulační cívky v průběhu reálné rTMS t.j sulcus postcentralis. Všechny tyto změny byly patrné u respondérů terapeutické studie (Obrázek č. 3) a to v průběhu aktivních pohybů postiženou končetinou (Tabulka č. 3). Naopak po aplikaci placebo rTMS nebyly patrné žádné signifikantní změny v aktivaci sledovaných mozkových oblastí. Změny aktivace jsou v jasné souvislosti s pozitivním efektem rTMS na psaní pacientů.

Task – specific fokální dystonie, mezi něž patří písářská křeč, se pravděpodobně rozvíjí u predisponovaných jedinců jakýmsi „přeučením“ určité specifické činnosti např. psaní. To patrně vede k nevhodné reorganizaci SI, která je provázena abnormálními motorickými projevy – dystonickou křečí (Byl, 2007; Sanger et al., 2001). Na druhou stranu při dlouhodobém motorickém učení také dochází k reorganizaci sensorimotorické kůry a v těchto případech dystonie nevznikne (Floyer-Lea and Matthews, 2005). Rozdíl je v charakteru reorganizace – jak již bylo naznačeno, v případě dystonie je to reorganizace nevhodná pro organizmus, je maladaptivní. V naší studii bylo po reálné rTMS, přestože byla nízkofrekvenční, která má běžně inhibiční účinky na motorickou kůru (Chen et al., 1997a), patrné zvýšení aktivace v somatosensorických oblastech, což považujeme za projev reorganizace SI.

Vliv rTMS na somatosensorickou kůru byl dokumentován v práci, která prokázala zvýšení excitability SI kůry po aplikaci nízkofrekvenční rTMS u pacientů s písarskou křečí (Baumer et al., 2007). U zdravých kontrol bylo naopak zvýšení excitability SI kůry pozorováno po vysokofrekvenční rTMS (Ragert et al., 2004) spojené s hyperaktivací v obrazu fMR a též změnami taktilního diskriminačního čítí (Pleger et al., 2006; Tegenthoff et al., 2005).

Jak jsme očekávali, rTMS ovlivnila různě obraz fMR při úloze s aktivními a pasivními pohyby. Změny aktivace byly daleko výraznější při úloze s aktivními pohyby. Při úloze s pasivními pohyby bylo patrné pouze zvýšení aktivace v malé oblasti posteriorní parietální kůry (Obrázek č. 3). Změny v SI způsobené rTMS se tedy promítají hlavně do změn motorického aktu, jeho přípravy a provedení, zatímco změny aktivace v oblasti PPC souvisí nejspíše se změnami propriocepce, a proto jsou patrné při aktivních i pasivních pohybech (Mima et al., 1999; Reddy et al., 2001; Weiller et al., 1996).

To je jeden ze základních výsledků naší studie, protože jsme prokázali, že podstatné pro ovlivnění písarské křeče jsou změny somatosensorických procesů, které ale mají vyústění v ovlivnění přípravy a provedení vlastního motorického aktu a ne změny percepce. V případě, že by podstatné byly změny percepce, očekávali bychom změny aktivace hlavně při pasivních pohybech postiženou končetinou. Naše výsledky dále svědčí pro velmi bohaté spoje mezi primární somatosensorickou a motorickou kůrou.

Autoři předchozích PET či fMR studií u písarské křeče se zaměřili hlavně na odlišnosti mezi pacienty a zdravými kontrolami. V řadě studií pak uváděli SI kůru dohromady s primární motorickou kůrou vzhledem k horšímu prostorovému rozlišení. Zaznamenány byly změny receptivních polí v SI (Butterworth et al., 2003), dále změny aktivace v závislosti na intenzitě somatosensorické stimulace (Sanger et al., 2002). Průměrná intenzita aktivace SI byla buď nižší (Tempel and Perlmutter, 1993) nebo stejná jako u zdravých kontrol (Peller et al., 2006). Při jednoduchých aktivních pohybech bylo pozorováno snížení aktivity v SI u pacientů, (Ibanez et al., 1999; Islam et al., 2009; Oga et al., 2002) naproti tomu při psaní byla patrná spíše zvýšená aktivita v SI (Ceballos-Baumann et al., 1997; Hu et al., 2006), která pozitivně korelovala s délkou psaní (Lerner et al., 2004; Obergren et al., 1998). Dá se proto říci, že vyšší aktivita v SI kůře je spíše spojena se situacemi, které vedou k rozvoji dystonických obtíží. Na druhé straně výsledky nejsou zcela jednoznačné, neboť v dalších studiích nebyla vyšší aktivita při psaní popsána. (Ibanez et al., 1999; Preibisch et al., 2001)

V naší studii nebyly patrné změny BOLD signálu pouze v oblasti, která odpovídala hot – spotu cívky, ale zvýšená aktivace byla přítomna v řadě jiných oblastí. To též podporuje

teorii o velmi bohatých spojích SI s ostatními korovými oblastmi. Kromě zvýšené aktivity v kontralaterální SI jsme pozorovali i změny aktivace v ipsilaterální PPC. To však není příliš překvapivé při znalosti bohatých kortiko – kortikálních a transkalosálních spojů (Killackey et al., 1983; Pons and Kaas, 1986). Přičemž PPC se podílí převážně na integraci somestetických stimulů (Knecht et al., 2003), která je u písářské křeče porušena. (Butterworth et al., 2003)

Oblasti, ve kterých došlo ke změně BOLD signálu po reálné rTMS jsou mezi sebou anatomicky propojeny. Proto jsme předpokládali i změny spojů mezi jednotlivými oblastmi. K tomu jsme využili tzv. DCM analýzu (Pleger et al., 2006). Jak bylo prokázáno v předešlých studiích, primární motorická kůra je výrazně ovlivňována primární somatosensorickou kůrou (Pleger et al., 2006) a SMA (Kasess et al., 2008). V naší studii jsme testovali 11 modelů spojů mezi čtyřmi zvolenými oblastmi patřícími k sensorimotorickému systému. Spoje mezi těmito oblastmi před rTMS nejlépe vyjadřoval model 8, který předpokládal propojení z SI do PPC a z SI do druhostranné SI a dále reciproční spoje mezi SI a SMA (obrázek č. 4). Tedy u pacientů s písářskou křečí SI kůra ovlivňuje ipsilaterální PPC a SMA a kontralaterální SI, zatímco sama je pod kontrolou SMA. Po reálné rTMS jsme pozorovali akcentaci projekce z SMA do levé SI, zatímco po placebo rTMS nebyly zaznamenány žádné funkční změny (obrázek č. 4). Zesílení spojů z SMA do SI patrně vyjadřuje, že somatosensorická kůra je více pod vlivem SMA, což může znamenat lepší kontrolu volních pohybů.

SMA se běžně podílí na přípravě volního pohybu (Ibanez et al., 1999) a jeho správném načasování (Tanji, 2001). Dále je spojena s motorickým učením a kognitivní kontrolou pohybu (Nachev et al., 2008). Zdá se, že změny v SMA by se mohly podílet i na rozvoji dystonie, i když není zatím znám jasný mechanismus (Guehl et al., 2009). Nicméně pokud byly pozorovány změny v aktivaci SMA u pacientů s dystonií, většinou se jednalo o sníženou aktivaci. (Ceballos-Baumann et al., 1995; Islam et al., 2009; Lerner et al., 2004; Oga et al., 2002) Vyšší aktivita SMA byla patrna pouze po aplikaci botulotoxinu do postižených svalů (Ceballos-Baumann et al., 1997). Z elektrofyziologických studií zvířecích modelů dystonie je dále patrné, že u dystonie jsou přítomné změny receptivních polí SMA podobně jako v SI (Guehl et al., 2009).

SMA se nepodílí jen na přípravě pohybů ale též na jejich potlačení. Tento inhibiční efekt byl opakovaně prokázán u zdravých jedinců v rámci úloh s potlačením pohybů (Jaffard et al., 2008), představy pohybu (Kasess et al., 2008) nebo sensorickou modulací pasivních či aktivních pohybů (Dinormais et al., 2009).

S tímto jsou v souladu i naše závěry změn funkčních spojů ze SMA do SI. Klinické zlepšení může souviset s výraznějším inhibičním efektem SMA po rTMS, který vede

k potlačení nechtěných pohybů (dystonické křeče).

V naší studii jsme pozorovali zvýšenou aktivaci po rTMS i v oblasti přední inzulý, která též byla v předchozích funkčně zobrazovacích studiích pacientů s písáčkou křečí popsána (Hu et al., 2006; Lerner et al., 2004; Peller et al., 2006). Tato změna aktivity může být důsledkem změny nociceptivních mechanismů u pacientů (Treede et al., 1999). Též se však může jednat o vliv změněného vnímání pohybů a částí těla (Craig, 2009; Tsakiris et al., 2007). Změny po aplikaci rTMS mohou svědčit o nápravě chybného vnímání postižené končetiny při psaní a podobně.

#### **4.5. Závěr**

V naší studii jsme prokázali, že nízkofrekvenční rTMS cílená po pět dnů na oblast kontralaterální primární somatosensorické kůry vede k dlouhodobému zlepšení psaní u pacientů s písáčkou křečí. Toto zlepšení bylo patrné u deseti z jedenácti pacientů terapeutické studie. U všech trvalo zlepšení několik týdnů. Naopak po aplikaci placebo rTMS nedošlo k signifikantnímu zlepšení u žádného z pacientů.

Pilotní studie měla hlavní význam v tom, že nás upozornila na vhodný cíl stimulace v rámci primární somatosensorické kůry. Tímto cílem byl úzký pruh podél sulcus postcentralis.

Kromě klinického efektu na psaní jsme pozorovali po aplikaci reálné rTMS i změny aktivace rozsáhlých korových oblastí v obraze fMR hlavně v průběhu aktivních pohybů postižené končetiny. Tyto změny jsou patrně výsledkem reorganizace mozkové kůry vlivem rTMS.

## 5. Studie č. 3. **Efekt hluboké mozkové stimulace u pacienta s fenotypem syndromu dystonie – hluchota**

### **Souhrn**

V této práci prezentujeme případ úspěšného využití hluboké mozkové stimulace (DBS) globus pallidus pars interna (GPi) u 30 letého pacienta s fenotypem syndromu dystonie – hluchota (dystonia – deafness syndrome), který se projevoval generalizovanou dystonií a těžkou sensorineurální poruchou sluchu. Mutace genu DDP1/TIMM8A, která je typická pro syndrom dystonie – hluchota, u tohoto pacienta nebyla prokázána. DBS vedla k výraznému zlepšení dystonických obtíží, 10 měsíců po implantaci došlo k poklesu skóre Burke – Fahn – Marsdenovy škály dystonie (BFMDS) o 75%.

### **5.1. Úvod**

Syndrom dystonie – hluchota (dystonia deafness syndrome, Mohr – Tranebjaerg syndrome) (Tranebjaerg et al., 1995) je vzácné X recesivně vázané neurodegenerativní onemocnění. Je charakterizován časným rozvojem těžké sensorineurální poruchy sluchu (Bahmad et al., 2007), zpravidla již v kojeneckém či batolecím věku, která může ústít až do úplné hluchoty. Dystonie se objevuje zpravidla později, většinou v pubertě, adolescenci či mladé dospělosti (Mohr and Mageroy, 1960). Začíná nejčastěji jako fokální, v některých případech je zpočátku vázána jen na určitou činnost (task – specific dystonie) (Kreisel et al., 2004), ale postupně generalizuje a vede k invalidizaci pacienta.

U některých pacientů se mohou v průběhu života objevovat i jiné klinické příznaky. Je to např. porucha zraku (Mohr and Mageroy, 1960; Swerdlow and Wooten, 2001; Ujike et al., 2001), spasticita, demence, psychiatrické symptomy (Tranebjaerg et al., 2000b; Tranebjaerg et al., 1995) či poruchy imunity (Pizzuti et al., 2004). Jak bylo zmíněno výše, onemocnění je dědičné, s recesivní dědičností vázanou na X chromozom (Tranebjaerg et al., 1995). V posledním desetiletí byla prokázána řada mutací genu DDP1/TIMM8A na chromozomu Xq22 u pacientů s tímto onemocněním (Aguirre et al., 2008; Hayes et al., 1998; Jin et al., 1996; Roesch et al., 2002; Swerdlow and Wooten, 2001; Tranebjaerg et al., 2000a; Ujike et al., 2001) a nové mutace se stále objevují. Gen DDP1 kóduje malý polypeptid o 97 aminokyselinách, který je jedním z proteinů v intermembránovém prostoru mitochondrie (Koehler et al., 1999). Mutace genu zpravidla způsobuje postižení importu kódujících proteinů do vnitřní membrány mitochondrie.



Kauzální léčba není známa, pacienti jsou odkázáni pouze na symptomatickou léčbu dystonie (Kreisel et al., 2004) a dalších přídatných příznaků.

V naší práci prezentujeme pozitivní terapeutický efekt hluboké mozkové stimulace (DBS) globus pallidus pars interna (GPi) u pacienta s fenotypem syndromu dystonie – hluchota.

## **5.2. Popis kazuistiky**

V této práci představujeme případ 30 letého muže s negativní rodinnou anamnézou dystonie či poruchy sluchu. Těhotenství matky, porod i časný postnatální vývoj pacienta probíhaly bez komplikací. Přibližně ve 3 letech věku byla zjištěna těžká sensorineurální porucha sluchu, která se ale až do časně dospělosti nezhoršovala.

Ve věku 24 let pacient prodělal běžný stomatologický zákrok v lokální anestézii a od té doby začal pozorovat občasné stáčení hlavy na levou stranu, které bylo spojeno s mírnou poruchou polykání tuhých soust. Přibližně v této době došlo i k zhoršení poruchy sluchu do hluchoty. Tyto obtíže zůstaly stabilní po další 3 roky.

Ve věku 27 let, několik dnů po esofagoskopii v celkové anestézii pro obtíže s polykáním, došlo ke zhoršení stáčení hlavy na levou stranu, které od tohoto okamžiku bylo již permanentní a též se přidalo stáčení hlavy nazad. V souvislosti s anestézií nedošlo k aplikaci neuroleptik či jejich derivátů. Se zhoršením stáčení hlavy u pacienta došlo i ke zhoršení poruchy polykání a objevily se dýchací obtíže. Klinicky byla u pacienta přítomna hluchota s těžkou dysartrií, těžká forma cervikální dystonie s počínající i trupovou dystonií, dysfagie a občasná dyspnoe.

Neuropsychologické vyšetření neprokázalo kognitivní postižení. Na vizuálních evokovaných potenciálech byla patrna oboustranná demyelinizační léze zrakové dráhy, ale oční vyšetření neprokázalo patologický nález. MR mozku prokázala též normální nález intracerebrálně. V této době byl proveden rozsáhlý biochemický screening včetně vyšetření k vyloučení Wilsonovy choroby. Ten zahrnoval zjištění hladiny ceruloplasminu, jaterních testů, volné mědi v séru a množství vylučované mědi v moči za 24 hod, vše s normálním nálezem. Genetická vyšetření vyloučila DYT1 dystonii, deficit pantotenát kinázy (PKAN, dříve Hallervorden Spatzova choroba), všechny formy spinocerebelárních ataxií (SCA) geneticky vyšetřitelných v ČR - typ 1,2,3,6,7 a Friedreichovu ataxii.

Kombinace klinických příznaků nás vedla k podezření na vzácný syndrom dystonie – hluchota. Bylo však překvapivé, že genetické vyšetření nepotvrdilo mutaci TIMM8A/DDP1

geny, která je pro tento syndrom typická. Negativní výsledek jsme postupně obdrželi ze dvou pracovišť: 1. Ústav dědičných metabolických poruch I. LF UK v Praze, 2., Centogene GmbH, Rostock, Německo.

Symptomatická farmakologická léčba nebyla u tohoto pacienta příliš úspěšná. Postupně byly vyzkoušeny tyto preparáty (max. dávka mg/den): biperiden (12mg/den), tiaprid (300mg/den), amantadine (300mg/den) a clonazepam (2.25mg/den). Žádný z těchto preparátů neměl dostatečný efekt na cervikální dystonii. Pacient absolvoval také opakované lokální aplikace botulotoxinu do postižených svalů šíje, jednalo se o vysoké dávky (200-250 IU preparátu Botox<sup>®</sup> při jedné aplikaci), které však měly pouze mírný efekt na stáčení hlavy a vedly ke zhoršení poruchy polykání.

Ve věku 28 let byla u pacienta zaznamenána ojedinělá psychotická epizoda. Jednalo se o paranoidní představu, že otec je jeho úhlavní nepřítel a pacient se ho pokusil otrávit. Proto byl po psychiatrickém vyšetření nasazen sulpirid v dávce 200 mg denně a podobné epizody se již nevyskytly.

Ve věku 29 let došlo u pacienta k dalšímu zhoršení stavu, zhoršila se cervikální dystonie, dále dystonie trupu a došlo i k rozvoji dystonie na dolních končetinách. Pacient již nebyl schopen sám se najíst, musel být krměn a toleroval pouze tekutou stravu. V té době se objevila též anartrie. Stáčení hlavy, trupu a dolních končetin vedlo k poruše chůze a progresi poruch dýchání, které se akcentovaly vleže.

Vzhledem ke generalizaci dystonie, ohrožení základních životních funkcí a vyčerpání konzervativních metod léčby, jsme se u pacienta rozhodli pro léčbu hlubokou mozkovou stimulací. Skóre Burke - Fahn - Marsdenovy škály dystonie (BFMDS) (Burke et al., 1985) dosahovalo krátce před operací 53 bodů.

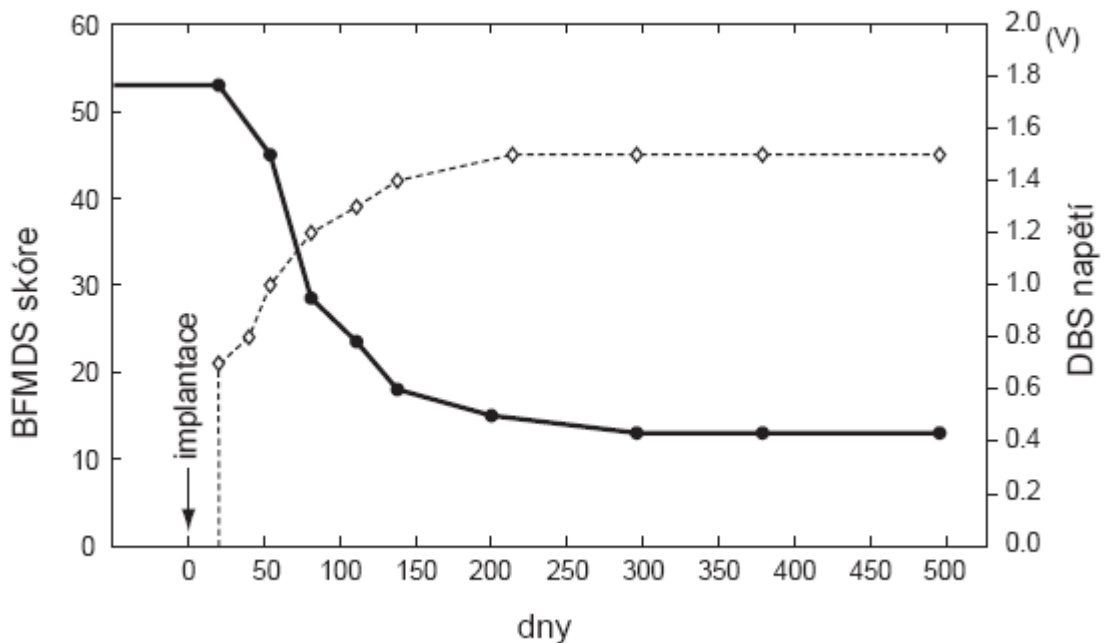
U pacienta byla po předoperační přípravě provedena implantace elektrod (Model 3389, Medtronic, Minneapolis, MN). Elektrody byly implantovány do posteroventrální porce GPi oboustranně (souřadnice distálních kontaktů: 19mm laterálně od střední čáry v levé hemisféře a 21mm v pravé hemisféře, 3.5mm pod úroveň interkomisurální linie v levé hemisféře a 2.5mm pod úroveň v pravé hemisféře a 3mm vpřed od jejich středu oboustranně) dle metodiky předchozích studií (Coubes et al., 2002). S odstupem byl pacientovi implantován dvoukanálový neurostimulátor Kinetra<sup>®</sup> (Medtronic, Minneapolis, MN) do podklíčkové krajiny, který byl propojen s oběma elektrodami.

Po implantaci elektrod a neurostimulátoru se BFMDS skóre nezměnilo. Vlastní stimulace byla zahájena měsíc po implantaci s následujícími parametry: 0.7 V, 450  $\mu$ s a 130 Hz v monopolárním zapojení (kontakt 0[-], vůči plášti neurostimulátoru [+]). Za 3 měsíce po

implantaci BFMDS skóre kleslo na 28.5 bodu (z původních 53). A za další 2 měsíce skóre kleslo na 18 bodů. Pacient i jeho rodina tuto změnu popisovali jako výrazné zlepšení stavu. Zlepšilo se hlavně stáčení hlavy a trupu. Pacient byl znovu schopen samostatné chůze, schopen se sám najíst, výrazně se zlepšily obtíže s polykáním a vymizely dýchací obtíže. Též nálada pacienta se samozřejmě výrazně zlepšila. Další úprava parametrů stimulace vedla k dalším změnám BFMDS skóre (Obrázek č. 1).

Maximum efektu bylo dosaženo 10 měsíců po implantaci elektrod, BFMDS skóre kleslo na 13 bodů s parametry stimulace 1.5 V oboustranně. V klinickém obrazu přetrvává lehká dysfagie, lehká cervikální dystonie a dystonie trupu. Podařilo se i zredukovat farmakologickou léčbu, pacient nyní užívá 6 mg biperidenu, 1 mg clonazepamu a 100 mg sulpiridu denně. Kvalita života pacienta je nyní, 16 měsíců po implantaci elektrod výrazně zlepšena. Pacient je však samozřejmě limitován v běžném životě poruchou sluchu.

**Obrázek č. 1.** Vývoj Burke – Fahn – Marsdenovy škály po implantaci DBS



Klinické zlepšení pacienta s fenotypem syndromu dystonie – hluchota po implantaci DBS GPi. Zlepšení je dokumentováno poklesem skóre Burke – Fahn – Marsdenovy škály (nepřerušovaná křivka) v čase. Přerušovaná křivka vyjadřuje vývoj parametrů stimulace v čase (DBS napětí). Optimálního efektu byla dosaženo 10 měsíců po implantaci.

### 5.3. Diskuse

Těžká sensorineurální porucha sluchu od batolecího věku a postupně se rozvíjející dystonie v časně dospělosti vedou k podezření na syndrom dystonie – hluchota (Mohr and Mageroy, 1960; Tranebjaerg et al., 2000b). Náš pacient tato klinická kritéria zcela splňoval, ale při genetickém vyšetření nebyla prokázána mutace TIMM8A/DDP1 genu, která je pro tento syndrom typická. Vysvětlením může být, že se u našeho pacienta jedná o novou, dosud neznámou mutaci. Nové typy mutací se v posledních letech stále objevují, byl popsán frameshift (Jin et al., 1996), delece (Aguirre et al., 2008; Pizzuti et al., 2004; Sediva et al., 2007), stop (Ujike et al., 2001) nebo missence mutace (Kreisel et al., 2004; Tranebjaerg et al., 2000a). Též byla popsána mutace v intronické části genu, která není běžným genetickým vyšetřením detekována (Ezquerro et al., 2005).

Obdobná kombinace klinických příznaků - generalizované dystonie a hluchoty může být asociována s missence mutací genu kódujícího  $\beta$ -aktin (Procaccio et al., 2006) nebo s tzv. Woodhouse Sakatiho syndromem (Schneider and Bhatia, 2008). Tyto syndromy se však projevují také vývojovými abnormalitami a vrozenými malformacemi, které u našeho pacienta přítomny nebyly.

Samozřejmě nelze vyloučit, že se zde jedná o komorbiditu – tedy o pacienta s primární dystonií, který náhodou trpí též hluchotou. To však, vzhledem k ostatním příznakům typickým pro syndrom dystonie – hluchota, považujeme za velmi nepravděpodobné. Těmito příznaky jsou subklinická porucha zraku objektivizovaná pomocí vizuálních evokovaných potenciálů a psychotická epizoda v anamnéze. Proto se stále domníváme, že se spíše jedná o syndrom dystonie – hluchota s neznámou mutací genu.

Na rozdíl od předešlých prací o případech pacientů s tímto onemocněním, jsme se nezaměřili na patologii (Bahmad et al., 2007; Koehler et al., 1999) ani na typy mutací genu (Aguirre et al., 2008; Hayes et al., 1998; Jin et al., 1996; Roesch et al., 2002; Swerdlow and Wooten, 2001; Tranebjaerg et al., 2000a; Ujike et al., 2001), ale soustředili jsme se na novou možnost symptomatické terapie těchto pacientů.

Po selhání dostupné farmakologické léčby jsme přistoupili k implantaci elektrod do oblasti globus pallidus. Tento postup jsme zvolili prakticky již při ohrožení života pacienta základním onemocněním, kdy cervikální dystonie vedla k těžké poruše polykání a dýchacím obtížím. Vzhledem k tomu, že neexistují jasná indikační kritéria pro aplikaci DBS GPi u pacientů s dystonií, vycházeli jsme z předešlých empirických pozorování efektu (Volkman and Benecke, 2002). I v našem případě se jednalo o mladého pacienta s pomalu progredující

generalizovanou mobilní dystonií, s normálním perinatálním vývojem, bez globálního kognitivního deficitu a s normálním nálezem MR nálezem mozku.

Tak jako u ostatních pacientů s generalizovanou dystonií, se terapeutický efekt DBS GPi objevil postupně, měsíce po zahájení stimulace (obrázek č. 1). Maximum efektu bylo patrné 10 měsíců po implantaci, kdy BFMDS skóre kleslo o 75%. Tento efekt je srovnatelný s efektem DBS GPi u pacientů s primární DYT1 dystonií (Coubes et al., 2002).

Z naší práce vyplývá, že DBS GPi může být velmi výhodnou symptomatickou terapií u pacientů se syndromem dystonie – hluchota. Pacient i 16 měsíců po implantaci elektrod vykazuje stabilní efekt stimulace. Otázkou zůstává další vývoj klinického stavu. U pacientů s primární generalizovanou dystonií je popisován dlouhotrvající efekt DBS (Coubes et al., 2002; Vidailhet et al., 2007), naopak u pacientů se sekundárními formami dystonie jako např. PKAN (Krause et al., 2006) nebo GMI – gangliosidóza (Roze et al., 2006) bývá pozorováno vyhasínání efektu, patrně díky neurodegenerativním procesům, které dále postupují. Vzhledem ale k zatím stabilnímu a dobrému efektu doufáme, že k jeho vyhasnutí v dohledné době nedojde.

## 6. Studie č. 4. **DYT 6 – nová mutace THAP1 genu s výborným efektem DBS**

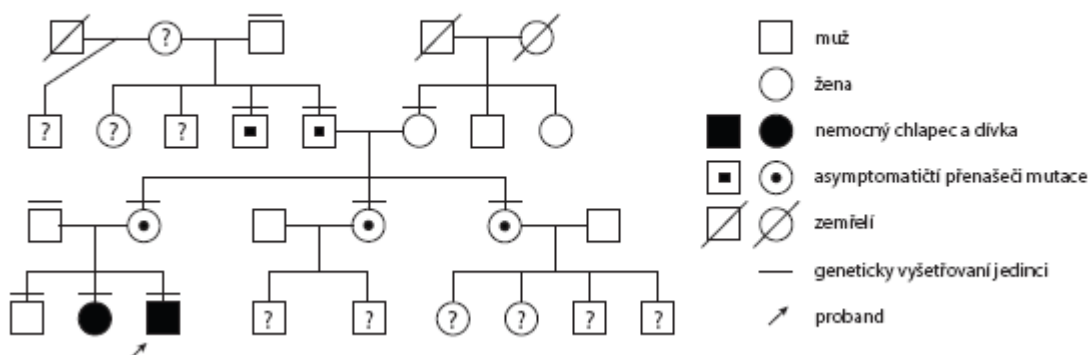
### Souhrn

DYT 6 je typ dystonie s časným počátkem obtíží, který je způsoben mutací genu kódujícího thanatos-associated protein (THAP1)(Fuchs et al., 2009). Klinické projevy obvykle začínají v kraniální oblasti nebo na horních končetinách a postupně generalizují. Uvádí se, že DBS GPi nemá u toho onemocnění dobrý efekt (Groen et al., 2010; Zittel et al., 2010). V této práci je popsána nová mutace genu THAP1 u dvou sourozenců (chlapce a dívky) s rychlou generalizací dystonie vedoucí u chlapce až do status dystonicus. Na rozdíl od sedmi předchozích pacientů s touto diagnózou (Groen et al., 2010; Zittel et al., 2010), byl u našeho pacienta patrný výborný efekt DBS GPi bilat.

### 6.1. Popis kazuistiky

Prezentujeme rodinu s dvěma nemocnými jedinci a pěti přenašeči v předchozích dvou generacích (Obrázek č. 1). Matka, dvě tety, dědeček a prarodiče pacientů byli asymptomatickými přenašeči mutace. Sekvenční analýza DNA z periferní krve odhalila v této rodině novou mutaci (NM\_018105.2) c.89C>G v exonu 2 genu THAP1 v heterozygotní konstituci, která vedla k záměně aminokyselin (p.Pro30Arg).

**Obrázek č. 1.** Rodokmen rodiny probanda



U dívky, nyní dvacetileté, se objevila v patnácti letech věku písácká křeč. O dva roky později se přidala lehká dysartrie a od 18 let trpí dale těžkou dystonií levé ruky. Nyní se tedy jedná o multifokální dystonii, která postihuje prsty u rukou, nohou, oromandibulární svaly (BFMDS=8).

U jejího bratra, nyní čtrnáctiletého, se písášká křeč objevila v osmi letech věku, a postupně došlo ke generalizaci a ve dvanácti letech se rozvinul status dystonicus (BFMDS=41).

V předchozí práci byl u tohoto pacienta ukázán výborný efekt DBS na příznaky status dystonicus. U tohoto pacienta i 2,5 roku po implantaci přetrvává excelentní efekt DBS GPi (BFMDS=3)(Jech et al., 2009) s těmito parametry: délka pulzu 450 $\mu$ s, frekvence 130Hz a amplitude vlevo 1.6V; vpravo 1.8V. Při neočekávaném vypnutí stimulátoru vlevo došlo k znovuobjevení cervikální dystonie. Po opětovném zapnutí stimulátoru dystonie opět vymizela.

Nyní je pacient stimulován dobíjitelným RC stimulátorem (Medtronic, Minneapolis, MN). Při výměně stimulátoru došlo po probuzení z anestézie u pacienta k několika generalizovaným dystonickým záškubům trupu a končetin, které připomínaly záškuby při status dystonicus. Tyto záškuby vymizely několik minut po zapnutí stimulátoru. V současné době u pacienta přetrvává pouze lehká dystonie pravé ruky a mírná dysartrie (BFMDS=6).

Od objevení mutace THAP 1 genu c.89C>G, je toto první případ výborného efektu DBS u pacienta s DYT 6 dystonií a též patrně první případ status dystonicus u této diagnózy. Je řada důvodů, proč je u našeho pacienta patrný tak dobrý efekt DBS (98% zlepšení za 1 měsíc, 85% 32 měsíců po implantaci) na rozdíl od předchozí práce Groen et al.(Groen et al., 2010) (33% průměrné zlepšení 6 měsíců po implantaci) nebo dvou pacientů z další studie - Zittel et al.(Zittel et al., 2010) (mírné zlepšení). Kromě rozdílů v klinickém obraze a DBS parametrech, může být dalším důvodem právě specifická mutace THAP1 genu. Mutace THAP1 genu mají velkou variabilitu a jejich počet stále roste. V r. 2009 bylo popsáno prvních patnáct mutací genu, o rok později už bylo uváděno dalších 25 mutací. (Burke et al., 1985; Groen et al., 2010; Houlden et al., 2010; Van Gerpen et al., 2010; Zittel et al., 2010) Na rozdíl od osmi předchozích pacientů, měl náš pacient (Jech et al., 2009) mutaci lokalizovanou v první polovině exonu 2. Čtyři pacienti (Groen et al., 2010) měli mutaci v druhé polovině exonu 2, dva (Groen et al., 2010; Zittel et al., 2010) v exonu 3 a jeden pacient (Zittel et al., 2010) v exonu 1.

Můžeme se pouze domnívat, že každý exon ovlivňuje klinickou manifestaci a i odpověď pacienta na DBS.

## 7. Závěry

I. *U pacientů s písářskou křečí je přítomen odlišný vzorec kortikální aktivace při provádění pohybů, které mohou dystonii indukovat (komplexní pohyby) a pohybů, které ke křeči obvykle nevedou (jednoduché pohyby).*

### **Hypotéza potvrzena**

Prokázali jsme, že u pacientů s písářskou křečí dochází oproti zdravým osobám k rozsáhlým změnám aktivace mozkové kůry při provádění komplexních (potenciálně dystonii vyvolávajících), ale nikoliv jednoduchých pohybů postiženou rukou. Tyto změny byly přitom nezávislé na obsahu psaného projevu či přítomnosti vizuální zpětné vazby. Na rozdíl od předchozích studií jsme použili parametrický design fMR s použitím kinematických parametrů, které umožnily potlačit interindividuální rozdíly v pohybu ruky a vyjádřit hlavní podstatu odlišného kortikálního motorického vzorce pacientů.

II. *SI rTMS je schopna pozitivně terapeuticky ovlivnit klinické projevy písářské křeče. Efekt terapie je patrný při subjektivním i objektivním hodnocení písma pacientů a jejich pocitů při psaní.*

### **Hypotéza potvrzena.**

Prokázali jsme, že nízkofrekvenční SI rTMS vede k dlouhodobému zlepšení psaní u pacientů s písářskou křečí. Toto zlepšení bylo patrné u deseti z jedenácti pacientů terapeutické studie. U všech trvalo zlepšení několik týdnů. Naopak po aplikaci placebo rTMS nedošlo k signifikantnímu zlepšení u žádného z pacientů. Pilotní studie měla hlavní význam v tom, že nás upozornila na vhodný cíl stimulace v rámci primární somatosensorické kůry. Tímto cílem byl úzký pruh podél sulcus postcentralis.

Naše studie tedy ukazuje na rTMS jako na novou úspěšnou metodu léčby písářské křeče a zároveň podtrhuje významnou roli somatosensorické kůry v patogenezi tohoto onemocnění.

III. *Efekt rTMS je doprovázen změnami aktivace mozkové kůry v obraze fMR.*

### **Hypotéza potvrzena**

Po reálné SI rTMS jsme pozorovali rozsáhlé změny aktivace korových oblastí v obraze fMR hlavně v průběhu aktivních pohybů postižené končetiny. Jednalo se především o změny v primární somatosensorické kůře, posteriorní parietální kůře a suplementární motorické oblasti. Tyto změny jsou patrně výsledkem reorganizace mozkové kůry vlivem rTMS. Placebo rTMS naproti tomu neindukovala žádné změny.



*IV. DBS je účinnou terapeutickou metodou i u vzácných dystonických syndromů, pokud se jedná o mobilní formy dystonie, vzniklé v dětství a bez kognitivního deficitu. Účinek DBS je patrný při objektivním vyšetření pacienta pomocí Burke Fahn Marsdenovy škály (BFMDS).*

**Hypotéza potvrzena.**

U pacientů se vzácnými dystonickými syndromy (fenotyp syndromu dystonie – hluchota a DYT 6 dystonie) došlo po implantaci DBS GPi k výraznému subjektivnímu a objektivnímu zlepšení klinického stavu. Zlepšení klinického stavu bylo jasně průkazné při vyšetření BFMDS.

## 8. Seznam zkratek použitých v textu

EMG	elektromyografie
TSFD	task – specific fokální dystonie
GF	písařská křeč (grafospasmus)
DYT 1	idiopatická torzní dystonie typ 1
SI	primární somatosensorická kůra
GABA	kyselina gama – aminomáselná
SSEP	somatosensorické evokované potenciály
GA	geste antagoniste
SMA	suplementární motorická area
SM	primární sensorimotorická kůra
TENS	perkutánní elektrická stimulace nervů
PM	premotorická kůra
TMS	transkraniální magnetická stimulace
MEP	motorické evokované potenciály
pTMS	párová transkraniální magnetická stimulace
SP	perioda útlumu (silent period)
ISI	interstimulační interval
BOLD	blood oxygenation level dependent
DBS	hluboká mozková stimulace
rTMS	repetitivní transkraniální magnetická stimulace
fMR	funkční magnetická rezonance
PET	pozitronová emisní tomografie
MR	magnetická rezonance
LED	světlo emitující
GPI	globus pallidus, vnitřní část
BFMDS	Burke – Fahn – Marsdenova dystonická škála
PKAN	deficit pantotenát kinázy (dříve Hallervorden Spatzova nemoc)
SI rTMS	repetitivní transkraniální magnetická stimulace primární somatosensorické kůry
FWE	family – wise error korekce
SII	sekundární somatosensorická kůra
MI	primární motorická kůra

DCM	dynamické kauzální modelování
PPC	posteriorní parietální kůra
BF	Bayesovský faktor
GBF	skupinový Bayesovský faktor
PER	poměr pozitivních důkazů
BA	Brodmannova area
SCA	spinocerebelární ataxie
THAP	thanatos – associated protein
DYT 6	idiopatická torzní dystonie typ 6

## 9. Seznam publikací autorky (souhrnný IF 10.463)

### Původní práce související s dizertační prací:

1. **Havrankova P**, Jech R, Walker ND, Operto G, Tauchmanova J, Vymazal J, Dusek P, Hromcik M, Ruzicka E. Repetitive TMS of the somatosensory cortex improves writer's cramp and enhances cortical activity. *Neuro Endocrinol Lett.* 2010;31(1):73-86. **IF = 1.047**
2. **Havranková P**, Jech R, Roth J, Urgosik D, Ruzicka E. Beneficial effect of deep brain stimulation of GPi in a patient with dystonia-deafness phenotype. *Mov Disord.* 2009 Feb 15;24(3):465-6. **IF = 4.014**
3. Jech R, Bareš M, Křepelová A, Urgošík D, **Havránková P**, Růžička E. DYT 6-A novel THAP1 mutation with excellent effect on pallidal DBS. *Mov Disord.* 2011; Epub Mar 21. **IF = 4.014**
4. Anders M, Dvorakova J, Rathova L, **Havrankova P**, Pelcova P, Vaneckova M, Jech R, Holcat M, Seidl Z, Raboch J. Efficacy of repetitive transcranial magnetic stimulation for the treatment of refractory chronic tinnitus: a randomized, placebo controlled study. *Neuro Endocrinol Lett.* 2010;31(2):238-49. **IF = 1.047**
5. **Havránková P**, Walker ND, Operto G, Sieger T, Vymazal J, Jech R. Cortical pattern of complex and not simple movements is affected in writer's cramp: an event related fMR study. *Clin Neurophysiol* – **v recenzním řízení**
6. Jech R, Müller K, Urgošík D, Sieger T, Holiga Š, Růžičk F, Dušek P, **Havránková P**, Vymazal J, Růžička E. Acute effects of electrode penetration into the subthalamic nucleus on tapping task in Parkinson's disease: a functional MRI study in the absence of DBS. *J Neurol Neurosurgery Psychiatry* – **v recenzním řízení**

### **Ostatní původní práce:**

- 7. Havránková P**, Ulmanová O, Roth J. Rabdomyolýza po aplikaci tiapridu u pacienta s Parkinsonovou chorobou, Čes a Slov Neurol Neurochir. 2006;69: 308-310. **IF = 0,05**
- 8. Šonka K**, Salvét A, **Havránková P**, Dušek P, Volná J, Pretl M. Úspěšné použití jediné otázky pro skrínink syndromu neklidných nohou v ČR. Čes a Slov Neurol Neurochir. 2007;70:685-6. **IF = 0,045**
- 9. Bezdíček O**, Balabánová P, **Havránková P**, Štochl J, Roth J, Růžička E. Srovnání české verze Montrealského kognitivního testu s Mini-Mental State pro stanovení kognitivního deficitu u Parkinsonovy nemoci, Česká Čes a Slov Neurol Neurochir. 2010;73:150-6. **IF = 0,246**

### **Ostatní práce:**

- 10. Roth J**, Havránková P. Vztah motorických a non – motorických symptomů Parkinsonovy nemoci k dopaminergní terapii: část první. Neurol prax 2008;9: 33-36
- 11. Roth J**, Havránková P. Vztah motorických a non – motorických symptomů Parkinsonovy nemoci k dopaminergní terapii: část druhá. Neurol prax 2008;9: 100-103
- 12. Roth J**, Havránková P. Parkinsonské syndromy v geriatrické praxi: diferenciálně diagnostický algoritmus. Čes Ger Rev 2008;6:220-6

### 13. Publikace in extenso

#### **Cortical pattern of complex but not simple movements is affected in writer's cramp: an event related fMRI study**

Petra Havránková<sup>a</sup>, Nolan D Walker<sup>a</sup>, Gregory Operto<sup>b</sup>, Tomáš Sieger<sup>a,c</sup>, Josef Vymazal<sup>d</sup> and Robert Jech<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>Dept. of Neurology and Center of Clinical Neuroscience, Charles University in Prague, 1st Faculty of Medicine and General University Hospital, Prague, Czech Republic

<sup>b</sup>Ecole Supérieure d'Ingénieurs de Luminy, Marseille, France

<sup>c</sup>Dept. of Cybernetics, Faculty of Electrical Engineering, Czech Technical University in Prague, Czech Republic

<sup>d</sup>Dept. of Radiology, Na Homolce Hospital, Prague, Czech Republic

Corresponding author:

Robert Jech, MD, PhD, Department of Neurology and Center of Clinical Neuroscience, 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Kateřinská 30, 120 00, Praha 2, Czech Republic.

E-mail: jech@cesnet.cz

Phone: +420 224 965 540

Fax: +420 224 965 078

Key words: writer's cramp, graphospasm, task-specific, focal dystonia, event-related, fMRI

#### **Abstract**

**Objective:** Patients with writer's cramp (WC) were studied for differences in cortical activation during movements likely to induce WC (complex movements) and movements which rarely lead to dystonia (simple movements).

**Methods:** Eleven WC patients (10F, 1M, mean age 41.5±(SD)7.2 years) and eleven age matched controls were examined for Blood Oxygenation-Level Dependent (BOLD) 1.5 T fMRI. The complex task consisted of writing a single letter or random drawing using an especially adapted joystick with the line of trajectory visualized or hidden. The simple task consisted of self-initiated fingers flexion/extension using the affected hand.

**Results:** Unlike the controls, WC patients performing complex movements exhibited a lower BOLD signal in the primary sensorimotor cortex and in the posterior parietal cortex bilaterally. A hypoactivation was also observed in the right secondary somatosensory area, in the right anterior insula and in the left premotor cortex ( $p < 0.05$  corrected). No significant intergroup differences were found for simple movements.

**Conclusions:** Although WC patients' complex movements during fMRI were never associated with dystonic cramp, they exhibited an abnormally low cortical activity. This phenomenon was not observed in simple movements and was unrelated to the character of handwriting or to visual feedback.

**Significance:** Our results support the dualistic behavior in the sensorimotor system in WC.

#### **Highlights:**

- 1) We showed that patients with writer's cramp (WC) as compared to healthy subjects exhibit major changes in cortical activation during complex but not simple movements when using

the affected hand. This supports the theory of dualistic behavior in the sensorimotor cortex of WC patients where the execution of voluntary movement can occur in two ways – physiological or pathological.

- 2) The observed fMRI changes were independent of character of graphic expression (writing or scrawling) and the presence of visual feedback.
- 3) Unlike previous studies, we have chosen a parametric event-related fMRI design using kinematic parameters of writing for compensation of inter-individual variability of hand movements and thus better visualization of differences in the cortical motor pattern between WC patients and controls.

## 1. Introduction

Writer's cramp (WC) is the most common type of task-specific focal dystonia. Manifested by involuntary muscle contraction of agonists and antagonists of the forearm and hand, it is usually associated with writing as it is the most frequent complex movement (Marsden and Sheehy, 1990). Predisposed individuals are likely to develop WC with a combination of risk factors and excessive writing effort (Roze et al., 2009). However, the pathophysiological mechanisms of WC remain unclear. WC is probably underpinned by the involvement of the motor as well as the sensory system and their aberrant mutual integration (Abbruzzese et al., 2001; Vidailhet et al., 2009).

WC arises from a selective disorder of motor programming for writing as a result of impaired motor learning. The execution of all other movements is little or unaffected. This supports the theory of the motor system dualistic behavior in task-specific dystonia in which the execution of a specific (dystonia-inducing) movement is associated with a different cortical pattern than other movements. The motor pattern of cortical activation in WC has repeatedly been studied with methods of functional imaging – functional magnetic resonance (fMRI) and positron emission tomography (PET) (Table 1). Execution of movements unaffected by WC usually revealed hypoactivation in the primary sensorimotor cortex (SM1), the supplementary motor area (SMA) (Butterworth et al., 2003; Islam et al., 2009; Oga et al., 2002; Wu et al., 2009) and the posterior parietal cortex (Butterworth et al., 2003; Wu et al., 2009). Conversely, these areas were found to be hyperactivated during signs of WC (Hu et al., 2006; Lerner et al., 2004; Odergren et al., 1998). Other studies brought rather different results (Ceballos-Baumann et al., 1997; Ibanez et al., 1999; Preibisch et al., 2001) perhaps due to a different task design or technique of functional imaging. Some authors used parametric designs to describe quantitative relationships between the intensity of dysfunctional motor areas and the extent of the movement performed, e.g., the number of words written (Ibanez et al., 1999; Odergren et al., 1998) or the severity of dystonia (Lerner et al., 2004). This suggested that fMRI parametric analysis with use of other quantitative variables may further improve our understanding of the pathophysiological mechanisms of focal dystonia.

We employed the parametric approach as well. Using two motor tasks with complex and simple movements performed by patients and healthy controls, we searched for the motor system dualistic behavior in WC. It was necessary to make sure that the selected complex movement should be short enough to not induce WC during the experiment. Rather than obtaining a fMRI correlate of focal hand dystonia, we expected to detect an inter-group difference in the cortical pattern during the execution of complex but not in simple movements. The latter consisted of the opening and closing of a hand, for the former we chose writing with a specially adapted joystick held as a pen. In contrast to most of the previous fMRI studies, we used an event-related design which offers the advantage of correct assessment from the start and duration of each single movement.

This may not be completely precise because the fMRI motor pattern may depend heavily on other factors, such as writing content or the presence of sensory feedback. It has been reported that drawing lines doesn't necessarily lead to dystonic cramp (Odergren et al., 1998). Similarly, there are only a few reports of focal hand dystonia in painters. Moreover, the process of writing depends on somatosensory proprioception and visual control. While somatosensory perception is known to be

altered in WC patients (Bara-Jimenez et al., 2000b; Nelson et al., 2009; Sanger et al., 2001) visual feedback is probably not crucial for the clinical manifestation of WC (Chakarov et al., 2006; Prodoehl et al., 2006). Conversely, when WC patients see someone's hand writing it leads to significant changes in motor cortex excitability (Fiorio et al., 2010) suggesting that visual input may play certain role in WC.

Hence, we studied the execution of complex movements from two aspects. One was the "character" of writing with the subject writing a predefined letter or just freely doodling. The idea was to find out whether the motor pattern for writing, i.e., the motor activity which is usually associated with WC, is different from healthy subjects when compared to the motor pattern for random scrawling. The second aspect was the presence or absence of "visual feedback" with the subject seeing or not seeing the line trajectory on the screen. Unlike previous studies, we included several quantitative motor parameters in the fMRI parametric analysis such as the speed of writing, the line length and its tortuosity since the handwriting of WC patients is marked by kinematic differences from healthy subjects (Schneider et al., 2010).

## 2. Method

### 2.1. Subjects and clinical examination

Eleven WC patients (10F, 1M; mean age  $41.5 \pm (SD)7.2$  years) and 11 healthy volunteers (5F, 6M;  $44.6 \pm 9.3$  years) were enrolled in the study. All the subjects were right-handed, and the WC patients were affected by dystonia in their right hand. We included only patients who had developed WC in adulthood and in whom a secondary origin of dystonia had been excluded. Prior to enrollment in the study, five had been treated with botulinum toxin A – with the last dose applied at least 4 months previous to the study. The mean duration of the disease was  $4.7 \pm 2.7$  years. The WC patients' demographic data are presented in Table 2.

The clinical extent of dystonia was rated objectively with the Burke-Fahn-Marsden Dystonia scale (BFMDS) (Burke et al., 1985) and subjectively with visual analogue scales concentrated on the hand function (0 – completely disabled function; 10 – normal function) and on hand pain during writing (0 – no pain; 10 – maximal pain) and also with the 2-minute writing test. Before enrollment, all the participants were given detailed information and signed an informed consent. The study was approved by the local ethics committee and was conducted in compliance with the Helsinki declaration.

### 2.2 Complex motor task

The subject was lying supine in the MR scanner with his/her right hand on the adapted joystick held like a pen, and facing the screen in order to watch the line written during the fMRI task. In half the cases (=events) the subject was instructed to write a letter (B, L, M, P, R, U, V or Z), in the other half – to scrawl a random figure. While in 50% of the events the joystick line trajectory was continuously visualized, the line was hidden in the other 50%.

The task took 11 minutes to complete. Its course is described on the Fig. 1. Each event began with a symbol displayed on the left side of the screen for a period of 500 ms expressing instruction what to write during this event (a specific letter or figure for random scrawling). The subject was informed by the "yellow ink" of the letter/figure that the line would be visible; "grey ink" indicated that the line would not be displayed. Disappearance of the symbol directed the subject to start writing/scrawling. The time interval reserved for the writing/scrawling was always 14 s, whereupon the red fixation cross in the center turned black announcing the end of time and the need to return the joystick to its neutral position. During the subsequent 26 sec of resting phase, the subject was waiting for the next event.

Each subject was trained to finish writing the letter/scrawling the figure well before the time limit and try to do it at approximately the same speed. The writing/scrawling area was defined by a dot grid in order to make a comparable size of the letters/random figures. The symbols of



letters/figures for random scrawling with the instruction about presence/absence of visual feedback were ordered pseudo-randomly to reach all combinations equally (out of the total number of 16 events, a letter was written 4 times in the presence (25%) and in the absence (25%) of visual control; likewise, a random figure was scrawled 4 times in the presence (25%) and in the absence (25%) of visual control. The relative size of the dot grid allowing each subject to identify the symbol and perceive the trajectory line upon visual fixation of the central cross.

### 2.3 Simple motor task

Each subject was instructed to make a voluntary movement, in this case the opening and closing of the fingers on their right hand. The beginning of each movement was solely up to the subject. Emphasis was laid on correct performance of the movement (slow flexion followed by slow extension of the metacarpophalangeal and proximal interphalangeal joints of digits II-V, lasting about 5 s). During the 6-minute task, the subject was expected to make roughly 10 such movements without counting them. Throughout the fMRI experiment, the eyes remained closed, both upper extremities extended on armrests in the semi-pronated position.

#### *fMRI protocol and statistical processing*

A 1.5 T Siemens Symphony scanner (Erlangen, Germany) was used for magnetic resonance imaging. For Blood Oxygenation-Level Dependent (BOLD) fMRI, a gradient echo planar T2\*-weighted sequence (TR=2900 ms; TE=56 ms; FA=90 deg) was employed using 31 axial sections covering the entire brain and cerebellum. The matrix size was 64x64 with an in-plane resolution of 2.6 x 2.6 mm<sup>2</sup>. The slice thickness was 3 mm with an inter-slice gap of 1 mm. A total of 224 dynamic scans were acquired during the complex task and 128 during the simple task. Morphological brain imaging was carried out by magnetization-prepared rapid gradient echo acquisition (3D MP-RAGE) T1-weighted sequence (TR = 2140 ms; TE = 3.93 ms; FA = 15 deg; TI = 1100 ms) with 160 axial sections with 1.6-mm thickness.

We used a Trust Predator XK100 joystick of 100 Hz sampling frequency with continuous recording of the x, y cursor co-ordinates synchronized with fMRI acquisition for movement detection during the complex task. During visually controlled movements, the cursor position and the drawn trajectory line were projected immediately on a screen. The functions of the MR scanner, LCD projector and joystick were coordinated with our E-Seng software (J. Wackermann & T. Sieger). The joystick-recorded movements were used for the computation of three kinematic parameters of writing/scrawling which were subsequently employed in statistical analysis. The writing/scrawling *duration* was determined from the beginning of the movement to the cursor stabilization at the end of the movement. The trajectory *length* was calculated as the relative cumulative distance between all the actual states of the cursor defined by the writing/scrawling duration. For *tortuosity* estimation, the trajectory was first approximated with a fractional line consisting of N vectors of length A/10 (where A was the length of the cursor area edge) and subsequently defined as the ratio of the sum of angles between the successive fractional line vectors and the right angle.

$$tort(X) = \frac{\sum_{i=1}^{N-1} \angle(\vec{x}_i, \vec{x}_{i+1})}{\frac{\pi}{2}}$$

In the simple task, hand movement was detected using a digital video camera (Canon MV20i) synchronized with fMRI acquisition. This was done using a flashing LED synchronized with TR MRI pulses and placed in the camera field as well as the subject's hand. For analysis we used our software (fMRI synchro software, G. Operto) which permits automatic detection of the LED flashes and expert assisted detection of the beginning/end of each hand movement with 40 ms precision. Only movements lasting 4-6 seconds were selected for statistical analysis.

fMRI from both tasks were analyzed using the SPM5 software (Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, UCL, London, UK) and Matlab 6.5 (The MathWorks, Inc, Natick, MA). In the preprocessing phase, image data were corrected for motion artifacts, normalized (Ashburner and Friston, 2005) and blurred using Gaussian kernel 8-mm full width at half maximum. Statistical analysis was based on the general linear model. For individual statistics, the design matrix was constructed with use of canonical hemodynamic response function (Friston et al., 1998) in respect to the start and duration of each movement. Individual contrasts were calculated from BOLD signal differences between the movement and resting phases. As for the complex motor task, contrasts were determined for each type of movement separately, depending on writing/scrawling and the presence of visual control.

For fMRI group analysis of the complex motor task, we used a full factorial design with two factors: (i) *character* of graphic expression (letter/random figure), and (ii) *visual control* (presence/absence) and three covariates: (i) drawn line *length*, (ii) *duration* of time of writing/scrawling and (iii) *tortuosity* line. The group statistics were based on the contrast between WC patients and healthy controls (and vice versa) for complex and simple movement tasks separately. Finally the results were visualized at the  $p < 0.05$  level of significance and corrected for family-wise error (FWE).

Behavioral data from the joystick was subject to a separate statistical analysis comparing the patients' and the controls' movements from the perspective of individual length, duration and tortuosity of the line. For that purpose, ANOVA with a repetition in the software SPSS 14.0.1 (SPSS Inc, Chicago, IL) was used.

### 3. Results

According to visual analog scales, the function of the dystonic hand was disabled in WC patients at  $4.7 \pm (\text{SD}) 2$  points and its pain reached an average of  $3.7 \pm 3$  points. The number of letters written during copying of the text (2-minutes writing task) was significantly lower in WC ( $145 \pm 72$ ) than in healthy subjects ( $240 \pm 58$ ) ( $T = 3.3$ ,  $P < 0.01$ ). No objective or subjective signs of dystonia were noted during fMRI in any of the patients performing motor tasks with complex or simple movements.

#### 3.1 Complex motor task

Neither letter writing nor random scrawling movements showed any statistical differences between the two groups of subjects in terms of writing duration, line length or tortuosity. Distinct to healthy controls, complex movements in WC patients were marked by significantly lower BOLD signal intensity in a cluster covering nearly all of the rolandic area (SM1 cortex) of the right hemisphere (Fig. 2a). After compensation of the results for all three kinematic parameters (writing duration, line length and tortuosity), the existing results became more emphasized along with the appearance of new cortical clusters in both hemispheres. The BOLD signal was significantly lower in WC patients as compared with controls in all these areas (Fig. 2b) whereas a BOLD signal increase was not observed in any of the brain regions.

A diffuse insufficient BOLD signal activation during the complex motor task was noted in the patients group regardless of the *character* of writing or the presence of *visual feedback*, i.e., when analyzing all of the complex movements together (Fig. 3 – top). Reduced BOLD signal intensity was present bilaterally in the primary sensorimotor cortex (SM1), predominantly in its sensory part, and also in the posterior parietal cortex (PPC). These areas exhibited prominent asymmetry with marked BOLD signal reduction in the right hemisphere. In addition, significant BOLD signal reduction was noted in the right secondary somatosensory area (S2) and anteriorly in the right insula. In contrast, premotor cortex activity was found to be reduced solely in the left hemisphere (Table 3). The inter-group differences in BOLD signal intensity were conditional upon different phenomena (Fig. 3 – bottom). In patients, this difference arose from insufficient activation in the right SM1 cortex alongside with relative signal decrease in the left SM1 cortex, right S2 cortex and insula. The patients' premotor cortex on the left remained practically inactivated and just like healthy subjects had no

activation in the right anterior insula or S2 cortex.

Modulation by the factors of *character* (writing/scrawling) and *visual feedback* (presence/absence) had a similar impact in both groups of subjects (Table 4) with no factor-group interaction. Both the patients and the healthy controls developed similar BOLD signal increase in the left S1 cortex with writing compared to random scrawling. Under visual control both groups of subjects showed similar hyperactivation in the secondary visual cortex accompanied by concurrent deactivation of the prefrontal cortex (Fig. 4).

### 3.2 Simple motor task

The number and duration of the task movements revealed no inter-group differences. The execution of movements in both WC patients and healthy subjects was associated with an expected BOLD signal increase in a number of motor and sensory areas. However, a comparison of the two groups showed no significant differences in cortical activation.

## 4. Discussion

Complex movement in WC patients was associated with a significant BOLD signal change in a number of motor and non-motor areas in both hemispheres, despite a lack of differences in kinematic parameters of motor performance between the patients and the controls during the task (Table 3). However, this finding does not reflect any clinical manifestation of dystonia since no dystonic cramp was observed during the fMRI experiment in any of the patients. This finding is probably a consequence of functional reorganization of the cortex in WC patients solely for situations where a complex movement had been executed, i.e. even before first signs of WC occurred. As expected, patients exposed to prolonged exertion of complex movements during the 2-minutes copying task induced the WC, which deteriorated their writing performance by 40% against the control group. In contrast, during simple movements, which never induced focal hand dystonia, the functional brain image of the WC patients did not differ from healthy controls (Table 3).

Hence, our results are in agreement with the dualistic behavior of the sensorimotor cortex where the preparation for and execution of voluntary movement can be realized in two ways – physiological or pathological. Our study thus aligns with some previous works describing correlates of dystonic cramp in WC patients (Ceballos-Baumann et al., 1997; Hu et al., 2006; Ibanez et al., 1999; Lerner et al., 2004; Odergren et al., 1998; Pujol et al., 2000), or searching for changes in cortical activation during a movement with no signs of WC during the experiment (Butterworth et al., 2003; Ibanez et al., 1999; Islam et al., 2009; Odergren et al., 1998; Oga et al., 2002; Peller et al., 2006; Wu et al., 2009). Movements that didn't induce dystonic cramp were often associated with lowered activity in premotor and motor areas, while those which provoke WC were usually accompanied by abnormally increased cortical activity (Table 1).

Unlike several published studies (Table 1) on functional imaging in WC, we employed a parametric fMRI design, in which we considered the time spent by writing, the length and the complexity of the line drawn. We anticipated that use of covariates comprising the basic kinematic parameters of movement would suppress inter-individual variability of cortical activation resulting exclusively from the physical properties of movement, thus enhancing inter-group differences based more on movement planning and control. This assumption proved to be correct as the use of kinematic covariates highlighted the existing results and visualized other areas in both hemispheres which would otherwise have remained undisclosed (Fig. 2).

While performing complex movements (regardless of writing or scrawling), our WC patients exhibited exclusively reduced cortical activity when compared with healthy controls (Fig. 3 – top, Table 3). This apparent uniform pattern of the BOLD signal reduction was caused by several different phenomena (Fig. 3a-f) – insufficient activation, absence of activation or even deactivation. Firstly, the right SM1 cortex (ipsilateral to the movement) was activated in WC patients too little when compared to controls. Secondly, there was either no BOLD response or even deactivation in areas

which were activated in healthy persons. This absence of BOLD response affected mainly the patients' premotor cortex in the left hemisphere (contralateral to the movement), and the posterior parietal cortex bilaterally. The BOLD signal deactivation was found only in the lateral parts of the SM1 cortex, in the right SII cortex and in the insula – i.e., in areas which were uninvolved during complex movements in healthy individuals.

Hence, the complex movement control in WC patients is probably organized in an entirely different way. It is hard to decide whether this different cortical pattern in WC patients is only a sign of pathological involvement preceding dystonic cramp or a sign of brain adaptive compensation, which the dystonia is being suppressed or even prevented.

As expected, the greatest BOLD signal differences were found in the sensory part of the SM1 cortex and in the SII cortex in our WC patients. This is in agreement with aberrant involvement of the receptive fields in the somatosensory cortex (Bara-Jimenez et al., 2000b; Braun et al., 2003; Elbert et al., 1998; Fiorio et al., 2006; Meunier et al., 2001; Nelson et al., 2009), with the hypothesis of disordered sensorimotor integration at the cortical level (Abbruzzese et al., 2001; Roze et al., 2009; Vidailhet et al., 2009) or with the results of several functional imaging studies (Butterworth et al., 2003; Hu et al., 2006; Ibanez et al., 1999; Islam et al., 2009; Lerner et al., 2004; Odergren et al., 1998; Oga et al., 2002; Wu et al., 2009). As also confirmed by our previous study, the somatosensory cortex has an important role in the pathogenesis of dystonia since repeated transcranial magnetic stimulation of the S1 cortex proved to have an unambiguously positive effect on WC patients (Havrankova et al., 2010).

Lower BOLD signal intensity was identified in both hemispheres of our WC patients. This is not surprising, as complex movement are more likely associated with bilateral activation of sensory and motor areas (Catalan et al., 1998) which are conditional upon rich transcallosal connections (Killackey et al., 1983; Pons and Kaas, 1986). Hence, the connections between the two hemispheres can facilitate the development of dystonia even on an unaffected extremity (Sheehy and Marsden, 1982). Bilateral hypoactivation in our patients was also observed in the posterior parietal cortex which is part of the somatosensory association cortex responsible for the integration and analysis of somesthetic stimuli (Knecht et al., 1996), and whose dystonia-related dysfunction had already been described previously (Butterworth et al., 2003). Functional changes in the primary motor cortex (M1) were found notably less affected than the somatosensory areas. More prominent changes in M1 activity usually do not occur until the appearance of dystonic cramp (Lerner et al., 2004; Odergren et al., 1998).

The aberrant pattern of motor control in our patients was accompanied by an insufficient activation of the premotor cortex and SMA which are known to participate in preparation of voluntary movement (Ibanez et al., 1999) and its correct timing (Tanji, 2001). The SMA function is associated with motor learning and cognitive control of movement (Nachev et al., 2008) and even engaged in suppression of unwanted movements (Dinomais et al., 2009; Jaffard et al., 2008). Consequently, the SMA hypoactivation in WC patients may relate to its impaired ability to suppress the overflow and generation of dystonic movements. The SMA dysfunction has already been suggested as contributing to the development of dystonia (Guehl et al., 2009) as corroborated by frequent findings of abnormally decreased SMA activity in dystonic patients (Ceballos-Baumann et al., 1995; Islam et al., 2009; Lerner et al., 2004; Oga et al., 2002).

Why deactivation in our patients should affect also the anterior part of the insula is not completely understood. Anterior insula hypoactivation in WC has been observed repeatedly (Havrankova et al., 2010; Hu et al., 2006; Lerner et al., 2004; Peller et al., 2006). We can only speculate whether this was due to nociception (Treede et al., 1999) or to altered self-perception of the actual movements (Craig, 2009; Tsakiris et al., 2007) which may accompany dystonia.

Both graphic expressions (writing and random scrawling) were processed by the somatosensory system in WC patients and healthy controls in a similar way. We consider this to be one of the main outputs of our study. This was not surprising as both types of the complex movement were too short to provoke dystonia. It seems then that the writing or scrawling – at least in the initial phase – does not predetermine whether or not dystonia will appear. This happened

despite the fact that writing requires more effort from the contralateral SM1 cortex (Fig. 4) than scrawling and perhaps carries more risk for dystonic cramp development. Higher activation in the SM1 cortex induced by writing compared to random scrawling occurred in both groups of subjects (Table 4) and has already been described as being connected to writing (Brownsett and Wise, 2010).

There was no difference in the cortical pattern of our WC patients and healthy controls in terms of visual feedback. This concurs with the outcome of previous studies failing to confirm any significance of visual feedback in WC (Chakarov et al., 2006; Prodoehl et al., 2006). In our subjects the presence of visual control during movement caused a major bilateral activation in the extrastriatal visual cortex encompassing the V5 – an area involved in motion perception. (Bartels et al., 2008) When the complex movement was performed in the absence of visual feedback, the control function appears to have been supplied by the anterior medial frontal cortex (Fig. 4) which engages in tasks involving self-control, selective attention and error corrections (Meunier et al., 2001; Paus, 2001) and which was activated in the both groups of subjects to a similar extent.

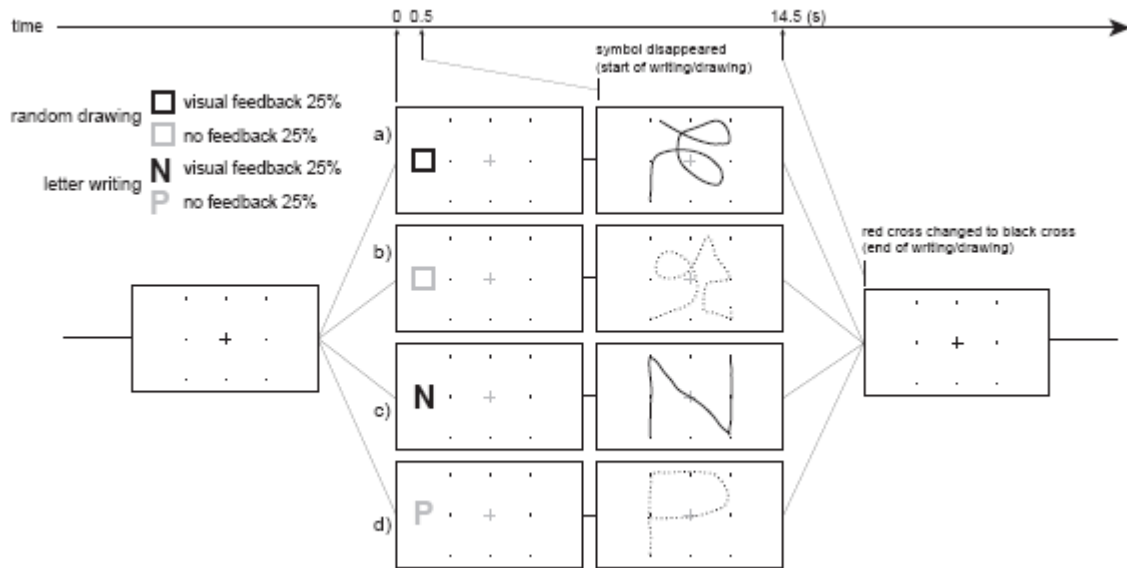
## **5. Conclusion**

We showed that WC patients exhibit major changes in cortical activation during complex but not simple movements with the hand affected when compared to healthy subjects. The changes were independent of the character of writing and the presence of visual feedback. Unlike in previous studies, we chose a parametric event-related fMRI design using kinematic parameters for compensation of inter-individual differences of hand movements and thus better visualization of the cortical motor pattern. All the changes in WC patients were expressed solely by BOLD signal reduction and were found in the primary sensorimotor and premotor cortices, in the SMA and other areas important for voluntary movement preparation and control. As the fMRI changes did not reflect the clinical manifestation of focal hand dystonia during the fMRI experiment, our observations support the theory of a dualistic behavior of sensorimotor areas in writer's cramp.

## **Acknowledgments**

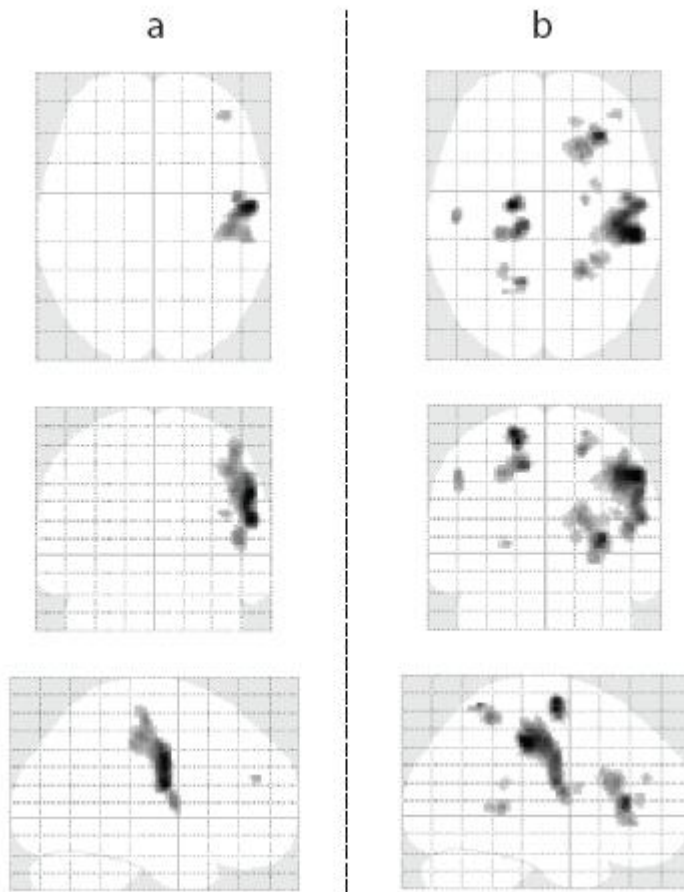
This work was supported by the Czech Ministry of Health: IGA MZ ČR NT12282-5/2011, the Czech Science Foundation: grant project 309/09/1145 and by the Czech Ministry of Education: research project MŠM 0021620849.

**Fig. 1**



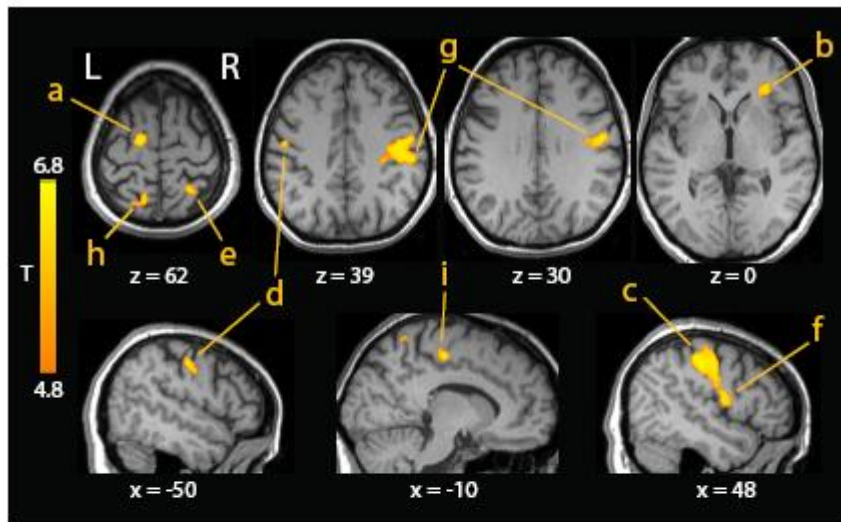
**Complex motor task with writing and scrawling.** The task consisted in events, each beginning with a symbol displayed on the left side of the screen which informed the subject what to write (letter/random figure) and whether the visual feedback will be present or absent: in events a), b) scrawling of random figure (50%), in events c), d) writing an alphabetical letter (50%); in events a), c) the line trajectory was continuously displayed (50%), in events b), d) the line was invisible (50%). The time limit for writing/scrawling and was marked by the disappearance of the symbol and by a color change in the central cross.

**Fig. 2**



**Improvement of the BOLD signal contrast between healthy subjects (N=11) and WC patients (N=11) using kinematic parameters of writing/scrawling.** a) – without these parameters, BOLD signal reduction in WC patients occurred solely in the right rolandic area, b) – using the duration of writing, line length and trajectory as covariates, BOLD signal reduction was emphasized and notable in other areas of both hemispheres ( $P < 0.05$  with FWE correction).

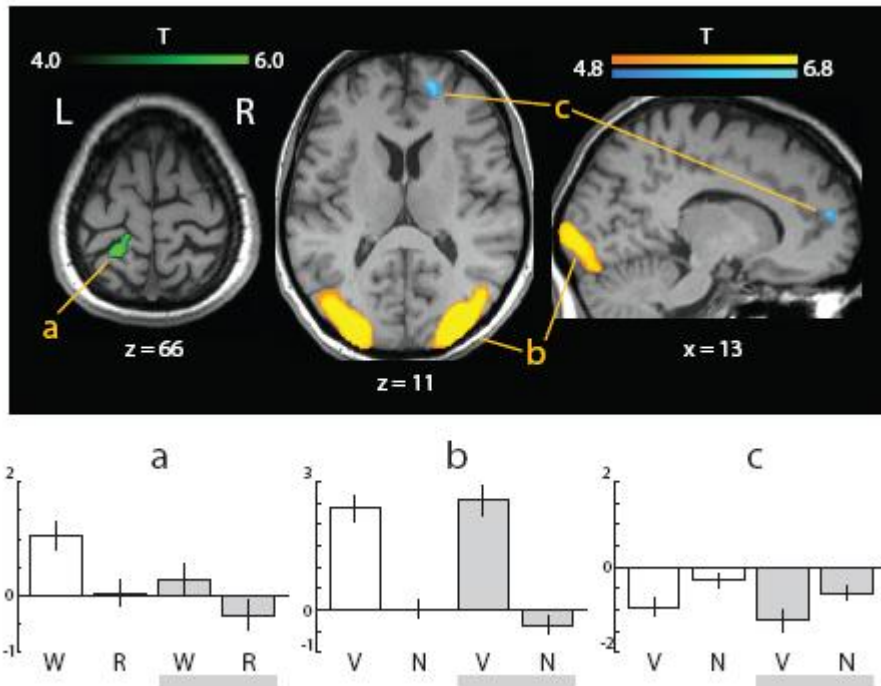
Fig. 3



**BOLD signal decrease in WC patients (N=11) performing active complex movements regardless of the *character* of writing or the presence of *visual feedback* as compared with healthy controls (N=11);** Top: Results of fMRI group analysis in selected axial and sagittal projections ( $P < 0.05$  with FWE correction). Bottom: fMRI group analysis with contrast estimates ( $\pm 90\%$  confidence interval) in selected clusters from the upper part of the figure relative to the *character* of writing (W – writing, R – random scrawling) and to the presence of *visual feedback* (V – present, N – absent). White columns denote contrast estimates in healthy controls, gray columns in WC patients; a – premotor cortex, b – anterior insula, c – S1 cortex, d, g – SM1 cortex, e, h – PPC, f – S2 cortex, i – SMA



Fig. 4



**Character of writing and visual feedback effects on BOLD signal during active complex movement task in both groups of subjects (N=22);** Top: results of fMRI analysis in selected sections ( $P < 0.05$  with FWE correction). Bottom: fMRI group analysis with contrast estimates ( $\pm 90\%$  confidence interval) in selected clusters from the upper part of the figure relative to the *character* of writing (W – writing, R – random scrawling) and to the presence of *visual feedback* (V – present, N – absent). White columns denote contrast estimates in healthy controls, gray columns in WC patients; a – S1 and PPC, b – V4 and V5 cortex bilaterally, c – paracingulate sulcus

**Table 1**

study	N	type	imaging	task	results	cramp
Ceballos–Baumann et al. 1995	6	ID <sup>#</sup>	PET (ED)	joystick movements	↑ PMC, SMA, DLPFC, ant. cingulate ↓ caudal SMA, posterior cingulate, mesial parietal c.	Y1
Ceballos–Baumann et al. 1997	6	WC	PET (ED)	writing	↑ S1, PMC, mesial parietal c., vermis ↓ M1, caud. SMA, mesial parietal c., ant. cingulate, mesial prefrontal c., thalamus	Y
Odergren et al. 1998	4	WC	PET (PA)	writing drawing	↑ SM1*, cerebellum ↓ supramarginal g., angular g. no changes	Y N
Ibáñez et al. 1999	7	WC	PET (ED)	writing wrist+finger flexion tapping	↓ PMC ↓ SM1 no changes	Y N N
Pujol et al. 2000	5	MC	fMRI (ED)	music instrument playing	↑ SM1 ↓ PMC	Y
Preibisch et al. 2001	12	WC	fMRI (ED)	writing	↑ cerebellum ↓ sup.+middle temporal g., lingual g.	Y?
Oga et al. 2002	8	WC	fMRI (ERD)	right wrist relaxation right wrist contraction	↓ SM1, SMA ↓ SM1, SMA	N N
Butterworth et al. 2003	9	WC	fMRI (ED)	2 <sup>nd</sup> digit vibrotact. stimul. 5 <sup>nd</sup> digit vibrotact. stimul.	↓ S2, PPC ↓ S2	N N
Lerner et al. 2004	10	WC	PET (PA)	writing tapping	↑ SM1 ↓ SMA no changes	Y Y7
Hu et al. 2006	10	WC	fMRI (ED)	writing with pen writing with finger mental writing	↑ cerebellum ↓ thalamus no changes no changes	Y Y Y
Peller et al. 2006	17	WC	fMRI (ED)	2 <sup>nd</sup> digit tactile stimul.	↑ BG, insula, parietal c., posterior visual c., frontal operculum	N
Islam et al. 2009	17	WC	fMRI (ED)	tapping 2 <sup>nd</sup> digit flexion median nerve stimul.	↓ SM1, SMA, S2 ↓ S1 no changes	N N N
Wu et al. 2009	11	WC, MC	fMRI (ED)	complex tapping simple tapping	↓ PPC, SMA, cerebellum ↓ SM1, SMA, cerebellum	N N
Havránková et al. (this study)	11	WC	fMRI (PA)	complex (writing/drawing) simple (hand grips)	↓ SM1, S1, S2, SMA, PMC, PPC, insula no changes	N N

**Summary of previous functional imaging studies on task-specific focal dystonia.**

N – number of patients; type of dystonia: ID – idiopathic dystonia, WC – writer’s cramp, MC – musician cramp; functional imaging method: fMRI – functional magnetic resonance imaging, PET – positron emission tomography; study design: (ED – epoch design, ERD – event related design, PA – parametric analysis); type of study task; results – (↑) higher or (↓) lower activity in patients relative to controls (PMC– premotor cortex, SMA – supplementary motor area, DLPFC – dorsolateral prefrontal cortex, SM1 – primary sensorimotor cortex, S1 – primary sensory cortex, M1 – primary motor cortex, S2 – secondary somatosensory cortex, PPC – posterior parietal cortex); cramp – dystonic cramp during the task: Y – yes, N – no, Y1,7 – reported number of patients with dystonic cramp during the task, Y? – presence of dystonic cramp during the task not reported; <sup>#</sup>one patient with writer’s cramp only; \*positive correlation with writing duration.

**Table 2**

case	age	sex	duration	type	botulinum	BFMDS	hand funct.	pain
1	53	F	3	simple	no	3	7.8	3.2
2	30	F	9	complex	no	3	5.2	0
3	42	F	3	simple	yes (4m)	2	4.9	2.7
4	43	F	8	complex	yes (24m)	4	4.8	9.6
5	39	F	4	complex	yes (5m)	3	3.0	7.2
6	38	F	3	complex	yes (12m)	3	2.2	0.6
7	50	F	4	simple	no	4	7.8	5.6
8	30	F	2	simple	no	3	2.2	4.9
9	42	F	10	complex	no	3	2.0	0
10	47	F	2	simple	no	3	6.9	0.4
11	42	M	4	simple	no	3	4.6	6.7

**Group of 11 patients with writer's cramp (WC) enrolled in the study.**

M/F – male/female; duration – duration of WC (years); type – type of WC: simple/complex; botulinum – previous treatment with botulinum toxin: yes/no – if yes, time since last injection in months; BFMDS – motor Burke Fahn Marsden dystonia scale; visual analogue scale of hand function (0 – normal, 10 – completely disabled); visual analogue scale of hand pain (0 – no pain, 10 – maximal pain)

**Table 3****The BOLD signal reduction in writer's cramp patients (N=11) as compared to healthy subjects (N=11); group analysis with FWE corrected results at P<0.05 level.**

BA – Brodman's area; x, y, z – MNI coordinates; k – size of cluster; T – statistics, P – uncorrected

<i>complex movement task:</i>	BA	x	y	z	k	T	P
left superior frontal g. (premotor)	6	-16	-8	62	106	6.78	0.00002
left central s. (SM1)	4, 3, 1, 2	-50	-16	44	40	5.68	0.003
left paracentral lobule (SMA)		-10	-22	49	161	5.93	0.001
left superior parietal lobule (PPC)	7	-22	-60	62	28	5.23	0.01
right postcentral g. (S1)	3, 1, 2	54	-26	44	} 1057	6.99	0.00002
right central s. (SM1)	4, 3, 1, 2	44	-20	44		6.60	0.0001
right postcentral g. / parietal operculum (S2)		50	-4	14		6.02	0.0009
right inf. frontal g. / anterior insula		34	34	8	376	6.59	0.0001
right superior parietal lobule (PPC)	7	22	-46	58	79	5.90	0.001

***simple movement task:***

no significant results

**Table 4**

**Character of writing and visual feedback effects on the BOLD signal during complex movement task in both groups of subjects (N=22);** group analysis with FWE corrected results at P<0.05 level.

BA – Brodman’s area; x, y, z – MNI coordinates; k – size of cluster; T – statistics, P – uncorrected

<b><i>complex movement task:</i></b>	BA	x	y	z	k	T	P
WRITING > RANDOM DRAWING:							
left postcentral g. (S1)	3, 1, 2	-16	-32	68	54	4.43	0.002
left superior parietal lobule (PPC)	7	-20	-40	66		4.56	0.002
RANDOM DRAWING > WRITING:							
no significant results							
VISUAL FEEDBACK > NO VISUAL FEEDBACK:							
left occipital cortex	V4, V5	-42	-72	-6	3147	11.24	10 <sup>-9</sup>
right occipital cortex	V4, V5	30	-94	8	4668	15.64	10 <sup>-9</sup>
NO VISUAL FEEDBACK > VISUAL FEEDBACK:							
right paracingulate s.		12	54	12	26	5.57	0.005

## References

- Abbruzzese G, Marchese R, Buccolieri A, Gasparetto B, Trompetto C. Abnormalities of sensorimotor integration in focal dystonia: a transcranial magnetic stimulation study. *Brain* 2001; 124: 537-45.
- Bara-Jimenez W, Shelton P, Sanger TD, Hallett M. Sensory discrimination capabilities in patients with focal hand dystonia. *Ann Neurol* 2000; 47: 377-80.
- Bartels A, Logothetis NK, Moutoussis K. fMRI and its interpretations: an illustration on directional selectivity in area V5/MT. *Trends Neurosci* 2008; 31: 444-53.
- 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: 1329-38.
- Brownsett SL, Wise RJ. The contribution of the parietal lobes to speaking and writing. *Cereb Cortex* 2010; 20: 517-23.
- Burke RE, Fahn S, Marsden CD, Bressman SB, Moskowitz C, Friedman J. Validity and reliability of a rating scale for the primary torsion dystonias. *Neurology* 1985; 35: 73-7.
- 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.
- Catalan MJ, Honda M, Weeks RA, Cohen LG, Hallett M. The functional neuroanatomy of simple and complex sequential finger movements: a PET study. *Brain* 1998; 121 ( Pt 2): 253-64.
- 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; 37: 363-72.
- Ceballos-Baumann AO, Sheean G, Passingham RE, Marsden CD, Brooks DJ. Botulinum toxin does not reverse the cortical dysfunction associated with writer's cramp. A PET study. *Brain* 1997; 120 ( Pt 4): 571-82.
- Craig AD. How do you feel--now? The anterior insula and human awareness. *Nat Rev Neurosci* 2009; 10: 59-70.
- Dinomais M, Minassian AT, Tuilier T, Delion M, Wilke M, N'Guyen S, Richard I, Aube C, Menei P. Functional MRI comparison of passive and active movement: possible inhibitory role of supplementary motor area. *Neuroreport* 2009.
- Elbert T, Candia V, Altenmuller E, Rau H, Sterr A, Rockstroh B, Pantev C, Taub E. Alteration of digital representations in somatosensory cortex in focal hand dystonia. *Neuroreport* 1998; 9: 3571-5.
- Fiorio M, Tinazzi M, Aglioti SM. Selective impairment of hand mental rotation in patients with focal hand dystonia. *Brain* 2006; 129: 47-54.
- Fiorio M, Zhang W, Bresciani MC, Rodi G, Bertolasi L, Gambarin M, Tinazzi M. Corticospinal excitability during action observation in task-specific dystonia: a transcranial magnetic stimulation study. *Neuroscience* 2010; 171: 117-24.
- Friston KJ, Fletcher P, Josephs O, Holmes A, Rugg MD, Turner R. Event-related fMRI: characterizing differential responses. *Neuroimage* 1998; 7: 30-40.
- Guehl D, Cuny E, Ghorayeb I, Michelet T, Bioulac B, Burbaud P. Primate models of dystonia. *Prog Neurobiol* 2009; 87: 118-31.
- Havrankova P, Jech R, Walker ND, Operto G, Tauchmanova J, Vymazal J, Dusek P, Hromcik M, Ruzicka E. Repetitive TMS of the somatosensory cortex improves writer's cramp and enhances cortical activity. *Neuro Endocrinol Lett* 2010; 31: 21.
- 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.
- Chakarov V, Hummel S, Losch F, Schulte-Monting J, Kristeva R. Handwriting performance in the absence of visual control in writer's cramp patients: initial observations. *BMC Neurol* 2006; 6: 14.
- 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.

- 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.
- Jaffard M, Longcamp M, Velay JL, Anton JL, Roth M, Nazarian B, Boulinguez P. Proactive inhibitory control of movement assessed by event-related fMRI. *Neuroimage* 2008; 42: 1196-206.
- Killackey HP, Gould HJ, 3rd, Cusick CG, Pons TP, Kaas JH. The relation of corpus callosum connections to architectonic fields and body surface maps in sensorimotor cortex of new and old world monkeys. *J Comp Neurol* 1983; 219: 384-419.
- Knecht S, Kunesch E, Schnitzler A. Parallel and serial processing of haptic information in man: effects of parietal lesions on sensorimotor hand function. *Neuropsychologia* 1996; 34: 669-87.
- 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.
- Marsden CD, Sheehy MP. Writer's cramp. *Trends Neurosci* 1990; 13: 148-53.
- Meunier S, Garnero L, Ducorps A, Mazieres 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.
- Nachev P, Kennard C, Husain M. Functional role of the supplementary and pre-supplementary motor areas. *Nat Rev Neurosci* 2008; 9: 856-69.
- Nelson AJ, Blake DT, Chen R. Digit-specific aberrations in the primary somatosensory cortex in Writer's cramp. *Ann Neurol* 2009; 66: 146-54.
- Odergren T, Stone-Elander S, Ingvar M. Cerebral and cerebellar activation in correlation to the action-induced dystonia in writer's cramp. *Mov Disord* 1998; 13: 497-508.
- 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.
- Paus T. Primate anterior cingulate cortex: where motor control, drive and cognition interface. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2: 417-24.
- 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.
- Pons TP, Kaas JH. Corticocortical connections of area 2 of somatosensory cortex in macaque monkeys: a correlative anatomical and electrophysiological study. *J Comp Neurol* 1986; 248: 313-35.
- 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: 10-7.
- Prodoehl J, Corcos DM, Vaillancourt DE. Effects of focal hand dystonia on visually guided and internally guided force control. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006; 77: 909-14.
- Pujol J, Roset-Llobet J, Rosines-Cubells D, Deus J, Narberhaus B, Valls-Sole J, Capdevila A, Pascual-Leone A. Brain cortical activation during guitar-induced hand dystonia studied by functional MRI. *Neuroimage* 2000; 12: 257-67.
- Roze E, Soumare A, Pironneau I, Sangla S, de Cock VC, Teixeira A, Astorquiza A, Bonnet C, Bleton JP, Vidailhet M, Elbaz A. Case-control study of writer's cramp. *Brain* 2009; 132: 756-64.
- Sanger TD, Tarsy D, Pascual-Leone A. Abnormalities of spatial and temporal sensory discrimination in writer's cramp. *Mov Disord* 2001; 16: 94-9.
- Sheehy MP, Marsden CD. Writers' cramp-a focal dystonia. *Brain* 1982; 105 (Pt 3): 461-80.
- Schneider AS, Baur B, Furholzer W, Jasper I, Marquardt C, Hermsdorfer J. Writing kinematics and pen forces in writer's cramp: effects of task and clinical subtype. *Clin Neurophysiol* 2010; 121: 1898-907.
- Tanji J. Sequential organization of multiple movements: involvement of cortical motor areas. *Annu Rev Neurosci* 2001; 24: 631-51.

- Treede RD, Kenshalo DR, Gracely RH, Jones AK. The cortical representation of pain. *Pain* 1999; 79: 105-11.
- Tsakiris M, Hesse MD, Boy C, Haggard P, Fink GR. Neural signatures of body ownership: a sensory network for bodily self-consciousness. *Cereb Cortex* 2007; 17: 2235-44.
- Vidailhet M, Grabli D, Roze E. Pathophysiology of dystonia. *Curr Opin Neurol* 2009; 22: 406-13.
- 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* 2009.

## Repetitive TMS of the somatosensory cortex improves writer's cramp and enhances cortical activity

Petra HAVRANKOVA<sup>1\*</sup>, Robert JECH<sup>1\*</sup>, Nolan D. WALKER<sup>1</sup>,  
Gregory OPERTO<sup>2</sup>, Jana TAUCHMANOVA<sup>3</sup>, Josef VYMAZAL<sup>1,4</sup>,  
Petr DUSEK<sup>1</sup>, Martin HROMCIK<sup>3</sup>, Evzen RUZICKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Charles University in Prague, First Faculty of Medicine and General Teaching Hospital, Department of Neurology, Prague, Czech Republic

<sup>2</sup> Ecole Supérieure d'Ingénieurs de Luminy, Marseille, France

<sup>3</sup> Czech Technical University, Faculty of Electrical Engineering, Department of Control Engineering, Prague, Czech Republic

<sup>4</sup> Na Homolce Hospital, Prague, Czech Republic

\*Authors equally contributed to the work

*Correspondence to:* Assoc. Prof. Robert Jech, MD., PhD.  
Department of Neurology, First Faculty of Medicine and General Teaching  
Hospital, Charles University in Prague,  
Kateřinská 30, 120 00 Prague 2, Czech Republic.  
TEL: +420 224965540; FAX: +420 224965078; E-MAIL: jech@cesnet.cz

*Submitted:* 2010-01-28 *Accepted:* 2010-02-10 *Published online:* 2010-02-17

*Key words:* transcranial magnetic stimulation; somatosensory cortex; writer's cramp; graphospasm; focal dystonia; functional imaging; dynamic causal modeling; fMRI; rTMS; DCM

Neuroendocrinol Lett 2010;31(1):73–86 PMID: 20150883 NEL310110A21 ©2010 Neuroendocrinology Letters • www.nel.edu

### Abstract

**OBJECTIVE:** Since the somatosensory system is believed to be affected in focal dystonia, we focused on the modulation of the primary somatosensory cortex (SI) induced by repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in order to improve symptoms of writer's cramp.

**PATIENTS AND METHODS:** Patients with writer's cramp (N=9 in the pilot study and N=11 in the advanced study) were treated with 30-minute 1 Hz real- or sham-rTMS of the SI cortex every day for 5 days. Before and after rTMS, 1.5 T fMRI was examined during simple hand movements. While in the pilot study the rTMS coil was navigated over the SI cortex with a maximum of blood oxygenation-level dependent (BOLD) signal induced by passive movement, patients in the advanced study had the coil above the postcentral sulcus.

**RESULTS:** After real-rTMS, 4 pilot study patients and 10 advanced study patients experienced subjective and objective improvement in writing, while only minimal changes were observed after sham-rTMS. Patients involved in the active movement task exhibited a rTMS-induced BOLD signal increase bilaterally in the SI cortex, posterior parietal cortex and in the supplementary motor area ( $p < 0.001$  corrected). After sham-rTMS, no BOLD signal changes were observed.

**CONCLUSIONS:** 1 Hz rTMS of the SI cortex can improve writer's cramp while increasing the cortical activity in both hemispheres. Handwriting improved in most patients, as well as the subjective benefit, and lasted for 2–3 weeks. The beneficial effects of rTMS paralleled the functional reorganization in the SI cortex and connected areas, reflecting the impact of somatosensory system on active motion control.

To cite this article: Neuroendocrinol Lett 2010;31(1):73–86



## INTRODUCTION

Writer's cramp (graphospasm) is the most frequent form of task-specific dystonia and is manifested as excessive involuntary co-contractions of the agonists and antagonists in the forearm and hand, and experienced mainly in writing (Marsden & Sheehy 1990). Conventional treatment consists of local botulinum toxin induced denervation of the dystonic muscles (Cohen *et al.* 1989). In addition to the local effects of botulinum toxin, motor system changes have also been demonstrated at a central level (Byrnes *et al.* 1998; Ceballos-Baumann *et al.* 1997; Senkarova *et al.* 2009). Other treatment techniques are rather experimental in nature and comprise of special rehabilitation procedures using sensory (Zeuner & Hallett 2003) or motor training (Zeuner *et al.* 2008; Zeuner *et al.* 2005). Successful use of deep brain stimulation has also been reported (Fukaya *et al.* 2007).

Another approach involves repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) based on a series of high-energy magnetic pulses applied to the cerebral cortex. While botulinum toxin affects the brain indirectly through neuromuscular junction chemodeneration causing a change in proprioceptive feedback (Trompetto *et al.* 2006), rTMS interacts with motion control directly at a cortical level. After the application of 1 Hz rTMS to the contralateral motor cortex, several patients showed subjective improvement of writer's cramp (Siebner *et al.* 1999). When rTMS was focused on the contralateral premotor cortex, PET revealed functional changes in the premotor cortex, basal ganglia and cerebellum. However no positive therapeutic effect was observed (Siebner *et al.* 2003). In contrast, another study produced quite opposite results. Therapeutic improvement of dystonia was achieved by rTMS of the premotor rather than the motor cortex (Murase *et al.* 2005).

As follows from the choice of the rTMS targets made in previous studies, these efforts focused on therapeutic intervention in the motor system. Although focal dystonia is primarily considered to be a movement disorder, a number of authors have also suggested the possible involvement of the somatosensory system. Besides the positive effects of somatosensory tricks – *geste antagoniste*, long-term somatosensory training (Zeuner & Hallett 2003), or percutaneous somatosensory electric stimulation of the hand (Tinazzi *et al.* 2005), this is also supported by other findings. Writer's cramp also affects the somatosensory spatial (Sanger *et al.* 2001), temporal (Bara-Jimenez *et al.* 2000; Fiorio *et al.* 2003) and somatognostic (Fiorio *et al.* 2006) discrimination of the hand.

Furthermore, abnormal somatotopy and abnormal size of the receptive fields of the fingers (Bara-Jimenez *et al.* 1998; Braun *et al.* 2003; Elbert *et al.* 1998; Meunier *et al.* 2001; Nelson *et al.* 2009) and significant changes in somatosensory gating (Murase *et al.* 2000) have

been observed. As documented by imaging studies, the somatosensory cortex of patients with writer's cramp exhibits bilateral thickening (Garraux *et al.* 2004), various functional abnormalities (Butterworth *et al.* 2003; Hu *et al.* 2006; Lerner *et al.* 2004; Peller *et al.* 2006; Sanger *et al.* 2002) and changes in its subcortical connectivity (Delmaire *et al.* 2009).

Co-responsible for the development of focal dystonia may be disordered sensorimotor integration in long-term motor learning or a somatosensory system abnormality due to overlearning a specific motion (Abbruzzese *et al.* 2001; Roze *et al.* 2009; Tinazzi *et al.* 2000; Vidailhet *et al.* 2009). Historically speaking, the name writer's cramp lends support to the theory. Originally, the term referred to a cramp experienced by professional individuals who performed a specific activity (writing) for several hours per day. Long-term motor learning is being associated with hyperactivation, disintegration, enlargement and overlapping of the receptive fields of the contralateral somatosensory cortex (Candia *et al.* 2003; Elbert *et al.* 1995; Floyer-Lea & Matthews 2005; Karni *et al.* 1995). Such manifestations have also been found in animal models based on long-term repetition of active limb movements (Blake *et al.* 2002; Byl *et al.* 1997). Some animals developed dystonia-like movements even after prolonged execution of repetitive movements in a passive way (Byl 2007). This suggests that in predisposed individuals dystonia can develop by overloading the somatosensory or proprioceptive input leading to an abnormal rebuilding of first the somatosensory and then the motor cortices.

All this led us to the hypothesis that focal dystonia might be therapeutically influenced through the somatosensory system. Patients with writer's cramp underwent rTMS focused on the contralateral primary somatosensory cortex of the hand (SI) as part of a sham-controlled, single-blind study. High-frequency rTMS of the SI cortex had previously been used on healthy subjects, in whom an increase in cortical activation was observed (Pleger *et al.* 2006; Tegenthoff *et al.* 2005). We chose low-frequency (1 Hz) rTMS for its known interference with tactile discrimination (Knecht *et al.* 2003; Satow *et al.* 2003) and for its assumed interaction with inhibitory mechanisms observed in healthy subjects (Ogawa *et al.* 2004). It has also been shown, that low-frequency rTMS may affect somatosensory integration in patients with writer's cramp. After 1 Hz exposure of the SI cortex there was a reduction of short-latency afferent inhibition not seen after rTMS of the primary motor cortex (Baumer *et al.* 2007).

Besides the clinical effects, we searched for any functional changes in the cerebral cortex that may have occurred from applying the 30-minute sessions of rTMS over a 5 day period. For this purpose, event-related functional magnetic resonance imaging (fMRI) was employed during the execution of a simple movement – closing and opening of the palm of the affected hand. For better understanding of the rTMS-related effects on

somatosensory circuits, the movement was executed actively and passively. Active and passive movements are known to be accompanied by activation of similar cortical areas even if those are controlled by different mechanisms (Dinomais *et al.* 2009; Guzzetta *et al.* 2007; Mima *et al.* 1999; Reddy *et al.* 2001; Weiller *et al.* 1996). While active movement has to be planned, controlled, executed and perceived; passive movement is associated primarily with kinesthetic perception and voluntary muscle relaxation. In our assumption, if the motor system function is influenced by SI rTMS, fMRI change will be manifest exclusively in active movement task. On the other hand, if SI rTMS mostly affects the kinesthetic perception, we should notice similar fMRI changes in the execution of active and passive movements because proprioceptive feedback is common to both types of movement. Assuming that SI rTMS interferes with the clinical manifestation of dystonia, i.e., with functional modulation of motor circuits, we predict to see more pronounced rTMS-related changes in fMRI with active movement rather than with passive movement task.

## MATERIAL AND METHODS

Fifteen patients with writer's cramp in the right hand participated in two experimental protocols (*pilot study* and/or *advanced study*). Nine patients (all women) of mean age  $42.5 \pm (\text{SD}) 9$  years were enrolled in the *pilot study*. The *advanced study* comprised 11 patients (8 women, 3 men; mean age  $40.3 \pm 3$  years), five of

whom had taken part in the *pilot study* (Table 1). All patients were right-handed, and their hand dystonia had first occurred between 2 and 11 years before entering the study. Four patients in the *pilot study* and five patients in the *advanced study* had cramps which were manifested only during writing (simple dystonia), while the others were affected during other hand movements as well (complex dystonia). Four patients in both studies had already been treated with botulinum toxin in the past, the last injection having been received at least four months prior to the study. No clinical effect of botulinum toxin was detectable in any of the patients during enrollment. Only patients with adult-onset dystonia were enrolled and all were otherwise healthy. All confirmed their participation in the study by signing their informed consent. The study received the approval of the local ethics committee.

### Design of the study

Each patient completed two four-week treatment blocks – one with real-rTMS, the other with sham-rTMS, in random order. Each (real- or sham)-rTMS lasted 30 minutes and was administered every day for the first five consecutive days of each block. In order to minimize the effect of placebo, all patients were informed that both would be therapeutic blocks differing only in technical details. The severity of dystonia was assessed subjectively and objectively before the first (real- or sham)-rTMS block (day 0, visit V1), after its termination (day 5, visit V2), and subsequently

Tab. 1. A group of 11 patients with writer's cramp enrolled in the *Advanced study*.

N	M/F	age	dur.	type	btx.	ord.	MT	R/N	real-rTMS						sham-rTMS					
									SEW			OEWQ			SEW			OEWQ		
									V2	V3	V4	V2	V3	V4	V2	V3	V4	V2	V3	V4
1	F	53	3	s	n	1	43	R	+25	+25	+30	+42	+33	+25	+25	0	-17	0	-8	
2	F	42	3	s	y(4)	1	35	R	+50	+50	+50	+25	0	+17	0	-25	-25	0	0	-8
3	F	43	8	c	y(24)	2	43	R	+25	+25	0	+50	+50	+25	0	0	0	0	-8	-25
4	F	58	11	c	y(5)	1	34	R	+75	+25	0	+58	+58	+50	+25	+25	0	+17	+8	+8
5	F	42	10	c	n	1	35	R	+25	+25	+25	+8	0	+25	0	0	0	-25	-33	-42
6	F	47	2	s	n	2	35	R	+25	+50	+25	+25	+25	+17	0	0	0	-8	-8	-8
7	F	38	2	c	n	2	47	R	+25	+25	+25	+33	+17	+25	0	0	0	0	0	0
8	F	51	6	s	y(4)	2	39	N	0	0	0	+25	+25	+33	0	0	0	-17	-25	-25
9	M	57	10	c	n	1	47	R	+25	+25	+25	+33	+8	+33	0	0	0	0	0	0
10	M	58	6	c	n	2	43	R	+25	+25	+25	+17	+17	-8	0	0	0	0	0	-17
11	M	42	4	s	n	1	42	R	+25	+25	+25	+25	+25	+25	0	-25	0	-17	-8	-17

SEW – subjective effect of rTMS on writing (%); OEWQ – objective effect of rTMS on writing quality (%); V2, V3, V4 – state at end of real- or sham-rTMS (visit V2), at a week afterwards (visit V3), at another two weeks (visit V4) in comparison with state prior real- sham-rTMS (visit V1). M/F – male/female; dur. – duration of write's cramp (yrs); type – type of writer's cramp: simple/complex; btx – previous treatment with botulinum toxin: yes/no – if yes, period of time from last injection in months; MT – motor threshold (% of maximal output of stimulator); R/N – responder/non-responder

one week (day 14, visit V3) and three weeks (day 28, visit V4) after the end of the treatment block. Patients were then re-tested before and after the second (real- or sham)-rTMS block in the same intervals as in the first treatment block (repeated visits V1, V2, V3, V4). Continuing in the second block was conditional upon a phone call in which each patient reported the ineffectiveness or extinction of the effect of the first rTMS block.

The hot-spot coil position was defined in two ways (for more detail see rTMS procedure):

In the *pilot study*, the SI cortex of each patient was visualized using fMRI. The coil was then navigated on the local maximum of the activated cluster within the SI cortex contralateral to the affected hand.

In the *advanced study*, the coil position was determined using the results of the *pilot study*. The position was calculated by averaging the normalized coordinates of the coil positions obtained from patients-responders, i.e., only from those who manifested clinical improvement in the *pilot study*. Rated as responders were patients showing post-real-rTMS subjective as well as objective improvement of writer's cramp of at least 25% while their dystonia changed only little or not at all after sham-rTMS. Four fMRI sessions were held in the *advanced study*: before and after real-rTMS and before and after sham-rTMS.

#### Clinical assessment

The severity of writer's cramp was evaluated during all eight visits. For *objective* assessment, the Burke-Fahn-Marsden dystonia scale (BFMDS) and the 2M-Writing test in which transcribing a text within a 2-minute time limit were used. For *subjective* assessment, self-evaluation of hand function (HF) and pain intensity (PI) using visual analogue scales were employed. The subjective effect of treatment on writing (SEW) and the objective effect of treatment on writing quality (OEWQ) were assessed during visits V2, V3 and V4, after real- or sham-rTMS. While the SEW was rated by the patients themselves, OEWQ was assessed by three independent blinded raters (F.R., P.D. and S.H.). While objective measures for evaluation of writing is difficult to define, qualitative change in tidiness of writing (improvement or worsening) of the same subject is easier to recognize. To avoid bias, the raters were instructed to assess a change in quality of writing without knowledge of rTMS state (real or sham). A semi-quantitative scale was used for SEW and OEWQ rating (maximal (+100%), large (+75%), moderate (+50%) or mild (+25%) improvement; no change (0%); mild (-25%), moderate (-50%), large (-75%) or maximal (100%) worsening) against the state before real- or sham-rTMS at visit V1. Agreement among raters was calculated by Spearman's correlation analysis. For subsequent evaluation we used the average OEWQ scores from all three raters.

The clinical data was evaluated using SPSS 11.5 software (SPSS Inc., Chicago, IL). While the results of the *pilot study* were assessed with descriptive statistics

only, those of the *advanced study* were tested for normality of distribution and then rated with nonparametric tests. Each of the subjective and objective clinical measures was tested with the Friedman test for all visits, for the effect of order and for either of the two rTMS techniques (real- or sham-) corrected for multiple comparisons (Bonferroni). Significant results were further analyzed post hoc with the Wilcoxon signed ranks test, in which each parameter was compared relative to real- and sham-rTMS for each visit separately (e.g., SEW (visit V2) after real-rTMS was compared with the SEW (visit V2) after sham-rTMS).

#### rTMS procedure

rTMS was performed using a figure-eight 70-mm air-cooled double coil attached to a Magstim Rapid stimulator (Magstim, Whitland, UK). Biphasic stimulation was used at a frequency of 1 Hz and at 90% intensity of the active motor threshold. The threshold was based on the intensity of motor cortex stimulation during 30% isometric contraction of the abductor pollicis brevis muscle, in which only 50% of the motor responses reached an amplitude of 150  $\mu$ V. Over the five-day block, a total of 9000 stimuli were delivered (each day a series of 1800 stimuli were applied within a 30-minute period). The position of the coil was reached with the frameless stereotaxy navigation system Brainsight (Magstim, Whitland, UK) using the co-registered fMRI results obtained prior to rTMS. For real-rTMS, the coil was positioned tangentially to the skull surface with its handle directed posteriorly. For sham-rTMS, the coil was tilted by 90 degrees, and the rest of the stimulation parameters being identical. Throughout real- or sham-rTMS, the coil was firmly fixed in the required position using a gripping arm.

In the *pilot study*, the coil was focused on the SI cortex contralateral to the affected hand with the hot-spot placed above the postcentral sulcus or posterior bank of the postcentral gyrus near the local maximum of the activated cluster of each individual fMRI elicited by passive hand movements.

In the *advanced study*, a relatively identical position of the coil was used in all patients. The position was defined in a standardized stereotactic space (Montreal Neurological Institute) by means of averaging the normalized coordinates of the positions of the coil hot-spot in the responders from the *pilot study*. The averaged position was then transformed through reverse normalization back into the native space of each patient enrolled in the *advanced study*. The SPM5 software (The Wellcome Department of Imaging, London, UK) was employed for forward and reverse normalization procedures.

#### fMRI procedure

During fMRI, each patient performed a simple movement with the fingers of the right (dystonic) hand. The *active movement* task required voluntary flexion and

extension of the 2<sup>nd</sup>-5<sup>th</sup> fingers in the metacarpophalangeal and proximal interphalangeal joints. During the six-minute task, each subject was instructed to execute about ten such motions, each lasting approximately 5 seconds, and to avoid counting the movements performed or the intervals between them. The motion during the *passive movement* task was performed in the same manner as in the *active movement* task except that the subject's hand was moved passively by the investigator. In the resting phase, the investigator held the subject's fingers mildly semiflexed. Each subject was asked to keep the hand relaxed throughout the investigation without assisting or hampering the execution of the movements. To standardize the procedure, all of the passive movements were executed by the same investigator wearing a rubber glove. The investigator watched for any muscle tone variation caused by voluntary co-activation or passive resistance from insufficient muscle relaxation. Since great emphasis was laid on practicing relaxation in the training phase, the investigator never noticed any voluntary or dystonic contraction of the hand muscles during fMRI.

The investigation was made with a 1.5T MR Siemens Symphony scanner (Erlangen, Germany). The blood oxygenation-level dependent (BOLD) signal was detected using gradient echo-planar T2\*-weighted sequence of the following parameters: TR=2900 ms; TE=56 ms; FA=90 deg. During each fMRI session, lasting 6 minutes and 11 seconds, 128 dynamic scans were obtained consisting of 27 axial slices 4-mm thick. For morphological imaging, a T1-weighted sequence was added (TR=2140 ms; TE=3.93 ms; FA=15 deg; TI=1100 ms) to obtain 160 axial 1.6-mm thick slices.

For exact hand movement detection, we developed a method of video-monitoring using a digital video camera (Canon MV20i) linked to the fMRI scanner. A detail of each subject's right hand was taken during each fMRI session. The video recording was synchronized during the course of fMRI using a light emitting diode (LED) placed in the camera visual field. The video records were then analyzed using our own software permitting automatic LED flash detection as well as timing for any videotaped event with a 40 ms time resolution. The beginning and the end of the hand movement were detected visually by the investigator during slowed-down frame-by-frame projection. This procedure enabled us retrospectively to exclude any incorrectly executed movements.

fMRI data preprocessing and statistical analysis were made in the SPM5. The preprocessing involved realignment of images distorted by motion artifacts, slice-time correction, normalization into standardized stereotactic space (Montreal Neurological Institute), and isotropic smoothing with a 8-mm Gaussian FWHM (full-width at half-maximum) filter. For stereotactic navigation over the SI cortex, the source image data for individual fMRI analysis of passive movement was left in the native space.

Only active and passive movements lasting for close to 5 seconds were selected for analysis. Hence, there was no statistical difference in the average duration of the selected movements before and after rTMS. The vectors containing the beginning and duration of each single movement were subsequently convolved with the expected haemodynamic response function as an input to the general linear model using an event-related design. Four regressors of active movements and four regressors of passive movements (i.e. one from each fMRI session) were used for individual analyses. Random-effect analysis was employed for group results processing, in which contrasts between the condition before real- or sham-rTMS (visit V1) and after real- or sham-rTMS (visit V2) were calculated for active and passive movements separately. The results of group analyses were at a threshold of  $p < 0.001$  level of significance and corrected at non-isotropic adjusted cluster-level.

#### *Dynamic Causal modeling*

Connectivity between active movement-related brain regions was analyzed in an *advanced study* using Dynamic Causal Modeling (DCM). Whether or not this connectivity could be changed by exposure to rTMS was also analyzed. DCM analysis makes it possible to estimate intrinsic connectivity between brain regions, the modulation of connectivity induced by experimental conditions and the influence of direct external input on regional brain activity (Friston *et al.* 2003). Local cluster maxima of group-level fMRI analysis showing the impact of real-rTMS on execution of active movement (i.e. contrast: after vs. before real-rTMS treatment) with a threshold of  $p < 0.001$  corrected at cluster level were selected for DCM analysis. To make the model as simple as possible, we chose from among the four cerebral areas known to be involved in movement control or perception and to be anatomically interconnected. In the left hemisphere, we chose the SI cortex (defined by the rTMS coil position), the posterior parietal cortex (PPC), and the supplementary motor area (SMA). In the right hemisphere, we chose the SI cortex. The coordinates of those areas are given in Table 3 and Figure 4. Cluster-specific time series were extracted from each patient for each of the four fMRI sessions at the uncorrected threshold of  $p < 0.01$ . The time series were the first eigenvariate from all voxels within a 4-mm diameter centered on each position of the above mentioned regions.

First, we defined the model which reflected the brain areas behavior before exposure to rTMS. Using Bayesian model selection, we selected the best from among 11 models, which reflected various connections between all four brain regions (Stephan *et al.* 2007). The DCM module in SPM5 was used for the Bayesian model estimation and selection. All the tested models are described in Figure 4. While model 1 made use of reciprocal connections between the areas, each of the

Tab. 2. Advanced study: mean clinical results (±SD) of subjective and objective parameters in 11 patients with writer's cramp before and after real/sham-rTMS.

Subjective measures	p-value	real-rTMS				sham-rTMS			
		V1	V2	V3	V4	V1	V2	V3	V4
SEW	10 <sup>-5</sup>		+29(18)**	+27(13)**	+21(15)**		+5(10)	0(16)	-2(8)
Function of the hand (FH)	n.s.	3.7(2)	4.4(2)	4.0(2)	3.8(2)	4.1(2)	3.7(2)	3.8(2)	3.6(2)
Pain intensity (PI)	n.s.	2.9(3)	2.0(3)	2.2(3)	2.1(3)	2.6(3)	1.9(2)	2.4(2)	2.9(3)
<b>Objective measures</b>									
OEWO	10 <sup>-6</sup>		+31(14)**	+23(19)**	+24(14)**		-6(12)	-7(12)	-13(14)
2M-Writing test	n.s.	170(68)	174(70)	172(74)	189(73)	178(73)	178(71)	173(69)	174(71)
BFMDS	n.s.	3.0(1.2)	2.5(0.5)	2.5(0.5)	2.5(0.5)	2.8(1.2)	2.8(1.2)	2.8(1.2)	2.7(1.2)

SEW – Subjective Effect on Writing and OEWO – Objective Effect on Writing Quality give per-cent rating at end of real- or sham-rTMS (V2), at a week thereafter (V3), and at another two weeks (V4) in comparison with the state before real- or sham-rTMS (V1). FH – Function of the hand and PI – Pain intensity in the hand are subjective visual analogue scales (0 – worst, 10 – best). 2M-Writing test – number of letters written within 2 min. interval; BFMDS – Burke-Fahn-Marsden dystonia scale; p – corrected significance level of Friedman test; \*\* (p<0.01) – significance level of Wilcoxon signed ranks test comparing corresponding visits between real- and sham-rTMS.

Tab. 3. Advanced study: regions with significantly increased BOLD signal in patients with writer's cramp (N=9) exposed to real- or sham-rTMS (p<0.001 corrected at non-isotropic adjusted cluster level) with the coil positioned on the left postcentral sulcus.

	BA	x	y	z	k	T	p uncorr.
hot spot of the coil:							
left postcentral sulcus *	2, 5	-44	-42	60			
<b>real-rTMS:</b>							
right hand active movement: after vs. before treatment							
left postcentral sulcus	2, 5, 7	-32	-48	60	} 697	10.3	0.00001
+ left superior parietal lobule	7						
left inferior parietal lobule *	40	-46	-52	42		6.5	0.0001
left precuneus	7	-6	-58	62	245	5.7	0.001
medial frontal gyrus (SMA) *	6	4	-22	68	173	6.9	0.0001
right postcentral gyrus *	3, 1, 2	26	-36	64	3842	9.4	0.00001
right postcentral sulcus	2, 5, 7	46	-40	58	} 805	6.4	0.0001
+ right superior parietal lobule	7						
right inferior parietal lobule	39, 40	50	-58	40		10.0	0.00001
right insula		32	18	6	400	8.9	0.0001
right hand passive movement: after vs. before treatment							
left superior parietal lobule	7	-36	-56	60	160	5.3	0.001
right superior parietal lobule	7	40	-54	58	166	6.2	0.001
<b>sham-rTMS:</b>							
right hand active movement: after vs. before treatment							
no activation							
right hand passive movement: after vs. before treatment							
no activation							

The table shows results of the contrast: after vs. before real-rTMS, i.e. state after real-rTMS (visit V2) as compared to the state before real-rTMS (visit V1) for active and passive movements separately. No significant results were found for the contrast: before vs. after real-rTMS. For sham-rTMS treatment, no clusters have been detected for any contrasts. \* – region used for DCM analysis; BA – Brodmann area; x, y, z – coordinates in standardized stereotactic space (Montreal Neurological Institute – MNI); k – cluster size; T – t-score, P uncorr. – uncorrected significance at voxel level.

other models preferred connections in a particular direction. The general assumption was that the driving inputs directly influenced the SMA (voluntary movement initiation) and the left SI (performed movement perception) in all the models.

In DCM analysis, we followed the conservative model comparison strategy (Penny *et al.* 2004). Evidence for each model, based on Akaike's and Bayesian information criterion, was analyzed by Bayes Factors (BF) for each pair of models and each patient separately. BF is the ratio between the estimated evidences of the two models and indicates which between the two better explains the data. The best model was finally chosen by using a Group Bayes Factor (GBF) and Positive Evidence Ratio (PER). The GBF was computed as a product of the individual Bayes factors. The PER counts the number of comparisons which the BF passed the threshold for positive evidence for either of the compared models.

During the second step, we analyzed the rTMS modulatory effects at the group-level for the best model only. The Wilcoxon signed ranks test was carried out to compare individual intrinsic connections before and after real-rTMS. The same procedure was applied to analyze the effects related to sham-rTMS. These tests were used separately for each connection. The results were thresholded at the  $p < 0.05$  significance level with correction (Bonferroni).

## RESULTS

### Pilot Study

On the day of visit V2, i.e. after the end of the 5th series of real-rTMS, four of the nine patients noted a subjectively positive effect on writing (SEW). Subjective improvement was present in all four a week after (V3), and in two of them for three weeks after real-rTMS ended (V4). After sham-rTMS, only one patient noted a mild deterioration in writing one week after the series (V3), while the rest reported no change in writing. The objective quality of writing (OEWQ) showed clear improvement in response to real-rTMS in these four responders. After sham-rTMS, the quality of writing showed no visible improvement.

The actual coil positions for each patient were plotted in a standardized stereotactic space (Figure 1). Unlike the non-responders, the coil hot-spot positions of these four responders were remarkably close to each other. Their averaged position with coordinates  $x = -44$ ,  $y = -42$ ,  $z = 60$  was then used for coil navigation in the advanced study.

### Advanced Study

#### Clinical results

**Subjective parameters:** The group of patients enrolled in the advanced study exhibited significant SEW improvement ( $\chi^2 = 36$ ,  $p < 10^{-5}$  corrected) (Figure 2) which was observed at every visit (V2, V3, V4) after exposure to

real-rTMS. The best result was noted during visit V2 (an improvement of  $30\% \pm (\text{SD})18\%$ , variance 0–75%,  $p < 0.01$ ) when 8 patients showed maximal effect. Another patient reached maximum SEW improvement during visit V3 and another one at V4. SEW was unaffected in one patient.

None of the patients showed SEW worsening in response to real-rTMS (Table 1 and 2), and there was also no effect caused by the order of treatment blocks. After sham-rTMS, only non-significant SEW changes of SEW were noted. Hand function (HF) and its pain intensity (PI) expressed by means of visual analogue scales showed no differences between real- and sham-rTMS.

**Objective parameters:** OEWQ improvement was noted in all patients during every visit (V2, V3, V4) in response to real-rTMS ( $\chi^2 = 44$ ,  $p < 10^{-6}$  corrected). The best effect was found at visit V2 (improvement of  $31\% \pm (\text{SD})14\%$ , variance 8–58%,  $p < 0.01$ ), when 9 patients showed maximum improvement (Table 1 and 2). Maximum OEWQ improvement was seen in two patients at V4. Only one patient experienced slight worsening after real rTMS (visit V4, 8% worsening) despite improvements seen during two previous visits. Both sham-rTMS and the order of treatment blocks resulted in only non-significant OEWQ changes. As follows from the inter-rater variability analysis, the QEWQ parameter can be considered a reliable measure of tidy handwriting (correlation ER. vs. PD.:  $\rho = 0.62$ ,  $p < 10^{-6}$ ; correlation P.D. vs. S.H.:  $\rho = 0.44$ ,  $p < 0.001$ ; correlation ER. vs. S.H.:  $\rho = 0.36$ ,  $p < 0.01$ ). After real-rTMS, the largest number of letters written (2M-Writing test) was noted during visit 4 in 9 out of 11 patients. After correction, however, no statistical significance was reached. In response to sham-rTMS, the maximum number of written letters occurred

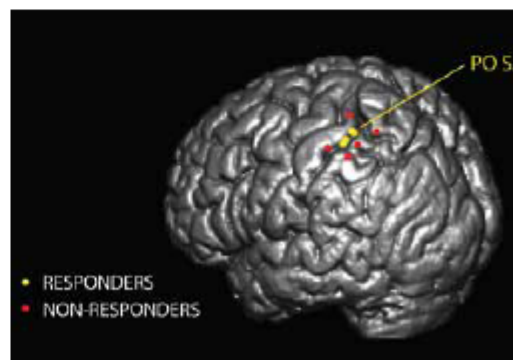


Fig. 1. Pilot study – positions of the coil hot-spot in 4 responders with real-rTMS-related improvement and in 5 patients with no effect. Only the responders had the hot-spot (yellow dots) positioned over the postcentral sulcus (PO S.). In non-responders, the hot-spot was entirely outside this area (red dots). An averaged hot-spot position of responders from pilot study has been used for coil targeting in advanced study.

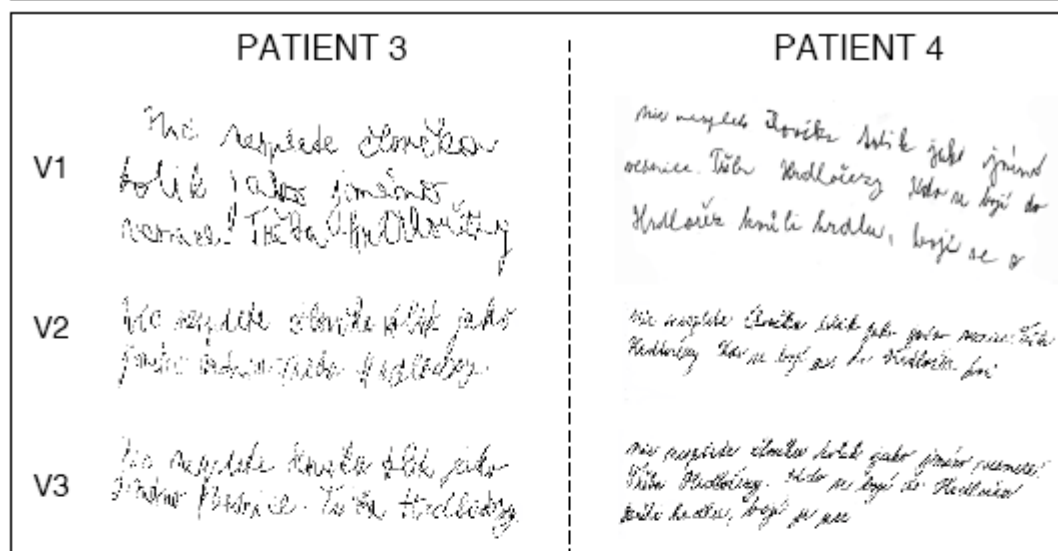


Fig. 2. Improved quality of writing after real-rTMS of the primary somatosensory cortex in two responders with writer's cramp in *Advanced study*. The handwriting of patient 3 (left column) and patient 4 (right column) before rTMS (V1), immediately after the last session of rTMS (V2), and one week later (V3).

during different visits (at V1 in 5 patients, V2 in 1, V3 in 3 and V4 in 2 patients).

The BFMDs score dropped in 5 out of 11 patients after real-rTMS but after sham-rTMS remained unaltered in 10 of them. Nonetheless, the BFMDs change was not significant.

#### fMRI results

Nine responders out of the 11 patients in the *advanced study* were enrolled in the group-level fMRI analysis. Patient 5, also a responder, had to be excluded for high contamination with head motion artifacts. Patient 8 was withdrawn due to failure of subjective improvement, thus falling short of the criteria for responders.

Group-level fMRI results showed that the active movements performed after the end of real-rTMS (visit V2) were associated with greater activation in several regions of both hemispheres as compared to the period before rTMS (visit V1), in particular the left SI cortex near the site of stimulation but also the SI cortex in the right hemisphere (Table 3 and Figure 3). In response to real-rTMS there was a bilateral BOLD signal increase in the posterior parietal cortex, SMA and in the right anterior insula. No rTMS-related hypoactivation was noted in any area.

Real-rTMS effect on the cortex during passive movement was manifested by bilateral BOLD signal increase in a small part of the superior parietal lobule (Table 3 and Figure 3). Conversely, sham-rTMS caused no change in cortical activation in either motor task.

#### DCM results

Pairwise Bayesian model comparisons of 11 models shown in Figure 4 suggested model M8 as the best option. This model which describes the behavior of the activated brain areas before the rTMS was given showed clear preference on the basis of parameter GBF in all patients: M8 vs. M1 ( $GBF > 10^7$ ); M8 vs. M2 ( $GBF > 10^3$ ); M8 vs. M3 ( $GBF > 10^4$ ), M8 vs. M4 ( $GBF > 10^3$ ), M8 vs. M5 ( $GBF > 10^4$ ); M8 vs. M6 ( $GBF > 10^3$ ); M8 vs. M7 ( $GBF > 10^4$ ); M8 vs. M9 ( $GBF > 10^1$ ); M8 vs. M10 ( $GBF > 10^0$ ); M8 vs. M11 ( $GBF > 10^2$ ). With respect to parameter PER, the M8 model was found to be more advantageous than models M1–M7 in all nine patients (PER 9:0). The models M10 and M11 were better for two patients (PER 7:2) and the model M9 was better in one patient only (PER 8:1).

Statistical analysis of model M8 showed the modulatory effect of real-rTMS solely on connectivity from the SMA to the left SI which, after exposure to real-rTMS increased from (mean)  $0.02 \pm (SD) 0.02s^{-1}$  to  $0.06 \pm 0.05s^{-1}$  ( $Z = 2.3$ ,  $p < 0.05$  corrected). In contrast, it was found that sham-rTMS had no modulatory effect on any of the connections.

## DISCUSSION

#### Clinical effects

Real-rTMS of the contralateral SI cortex had a positive subjective and objective effect on the manifestations of writer's cramp in four patients (out of nine)

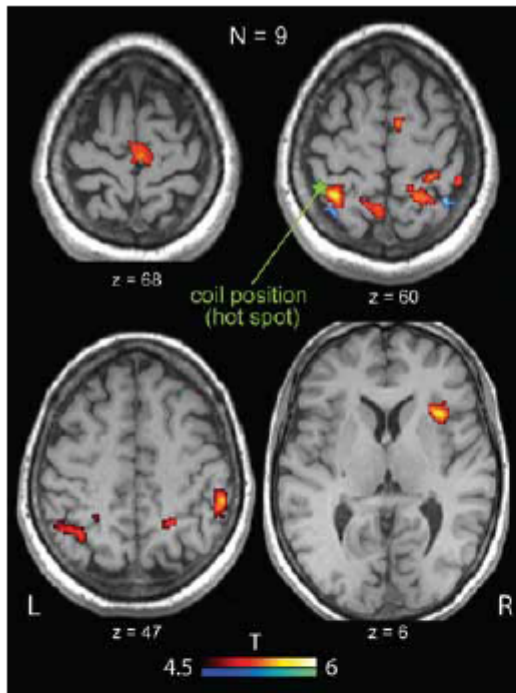


Fig. 3. *Advanced study* – group-level analysis of real-rTMS effects on execution of active and passive movements in patients with writer's cramp (N=9). Figure represents increase of the BOLD signal after real-rTMS (visit V2) as compared to state before real-rTMS (visit V1). Results are shown independently for active (red-yellow scale) and passive (blue-green scale) movements. The coil hot-spot has been positioned in the relatively same location (postcentral sulcus) in all patients (green star). Results are corrected at non-isotropic adjusted cluster-level ( $p < 0.001$ ) and projected on the normalized brain image of patient 1.

in the *pilot study* and in ten of eleven in the *advanced study*. This improvement reached an average of 30% and was already noticeable, after the five-day block of real-rTMS, and persisted for the next three weeks. The patients themselves rated the improvement after real rTMS as either mild or moderate. As confirmed by all three blinded-raters, objective effect of rTMS on writing quality (OEQ) was noted in all *advanced study* patients and lasted with the exception of one patient for three weeks (Table 1 and 2).

Other parameters appeared to be insufficiently sensitive. Hand function and pain intensity expressed in visual analog scales showed non-significant improvement because of higher variability. The number of letters written within two minutes or the BFMDS subscore (Burke *et al.* 1985) remained almost unchanged after real- or sham-rTMS (Table 2). The result of the BFMDS subscore analysis was not surprising as the scale is too broad and is intended for rating generalized dystonia.

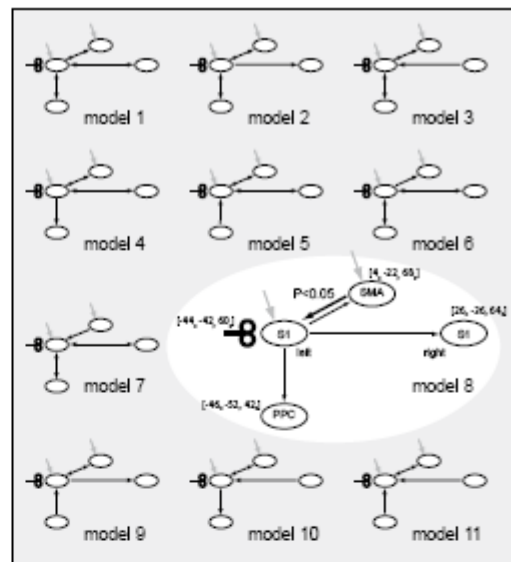


Fig. 4. Dynamic Causal Modeling in *Advanced study*. In responders, Model 8 was found as the best among 11 models. Connection from the SMA to the left SI cortex (i.e. area of stimulation) became stronger after real-rTMS ( $0.06 \pm (SD) 0.05 \text{ s}^{-1}$ ) as compared to state before rTMS ( $0.02 \pm 0.02 \text{ s}^{-1}$ ,  $p < 0.05$  corrected). On the contrary, no changes in connectivity were noted after sham-rTMS. SI – primary sensory cortex; PPC – posterior parietal cortex; SMA – supplementary motor area.

Like pharmacological studies, those with rTMS are limited by the placebo effect arising from the expectation of the positive impact of treatment. Alternation of blocks of effective and ineffective therapies is one way of suppressing this phenomenon. However, patients may still subconsciously expect one of the blocks to be naturally ineffective. To avoid this, our patients were not told that placebo treatment would be used in this study. Before the study was launched, they received information that both blocks would be therapeutically effective. With the exceptions of two patients, one patient (8) who could feel no changes in either block and another (1) who showed partial improvement in both blocks, the rest of the cohort experienced subjective improvement exclusively after real rTMS. Similar conclusions were reached by blinded raters: qualitative improvement of handwriting after real rTMS was noted in all patients whereas after sham rTMS improvement was seen in only one patient (4), who notably showed even more improvement after real rTMS. We thus believe that positive effects on SEW and OEQ in our study cannot be attributed to placebo effect or bias since, sham-rTMS produced no or minimal changes.

Studies, in which real- and sham-rTMS alternate, are limited by the cross-over effect, whereby the therapeutic block effects may persist into the subsequent sham-



rTMS block. We tried to prevent this in two ways: firstly by administering the blocks in reverse order so that nearly half the patients were exposed to sham-rTMS first. Statistical analysis failed to prove that the order of the blocks would have significant effect on any clinical parameter. The second prevention was to continue with the second block only after any possible clinical effects of the previous block had disappeared. A period of 4–10 weeks had passed between the last visit of the first block (V4) and the first visit of the second block (V1). We considered this to be a sufficiently long interval taking into account that the longest after-effect due to motor cortex rTMS in patients with writer's cramp lasted only a few hours or days (Siebner *et al.* 1999). Moreover, as well as a different rTMS target, there were differences in the total dose of low-frequency rTMS pulses applied. Each patient received a dose five times higher in our study. We expected that the more stimuli applied the greater chance of inducing long-lasting plasticity changes in the brain. This apparently holds true not only for rTMS. Electric somatosensory stimulation of the muscles of the forearm applied repeatedly for a period of ten days also improved writer's cramp for as long as three weeks (Tinazzi *et al.* 2005).

Several other attempts to treat writer's cramp using rTMS have been made previously. Whereas low-frequency rTMS of the motor cortex was accompanied by temporary improvement in some patients with writer's cramp (Murase *et al.* 2005; Siebner *et al.* 1999), stimulation of the premotor cortex produced rather inconsistent results. According to one study, rTMS of the premotor cortex exceeded the clinical effects of motor cortex stimulation (Murase *et al.* 2005), and according to another (Siebner *et al.* 2003) no positive effect was observed at all. As pointed by Hosono *et al.*, these varying effects may result from different frequencies and phases (monophasic/biphasic) of rTMS used in the previous studies (Hosono *et al.* 2008).

rTMS-related improvement in certain aspects of writing as observed in our study suggests that maladaptive plasticity of the sensorimotor system may be temporarily overcome by forced reorganization of the SI cortex. Accordingly, our clinical results further support the involvement of the somatosensory cortex in the pathophysiology of writer's cramp which is in agreement with many previous clinical and electrophysiological observations, which suggested that dystonia is also a sensory disorder (Hallett 1995) with dysfunction of the peripheral and/or central somatosensory systems (Abbruzzese *et al.* 2001; Baumer *et al.* 2007; Berardelli *et al.* 1998; Kanovsky 2002; Quartarone *et al.* 2006; Tinazzi *et al.* 2000; Tinazzi *et al.* 2003).

#### Importance of stimulation coil positioning

The *pilot study* revealed the critical importance of accurate coil positioning above the SI cortex. As is known from our experience with TMS of the primary motor cortex, even a slight displacement of the stimulation

coil can cause a dramatic decrease in the amplitude or even loss of motor evoked potential. In the *pilot study* it was necessary to navigate the coil on the SI cortex of the contralateral dystonic hand. This was done using fMRI with the passive movement task. Admittedly, the SI occupies a relatively large part of the cortex and, like the primary motor cortex, has a clear somatotopic organization (Hluštík *et al.* 2001) and is organized into various reception fields (Bara-Jimenez *et al.* 1998; Braun *et al.* 2003; Meunier *et al.* 2001). Evidently then, different parts of the SI may respond to rTMS in different manners. Therefore, we retrospectively evaluated the normalized positions of the coil hot-spot for all patients involved in the *pilot study*. After their simultaneous visualization (Figure 1), we noticed that an almost identical position of the coil had been reached in four responders along the postcentral sulcus. Conversely, the coil was positioned in different locations in five non-responders.

Consequently, a narrow strip of the SI cortex along the postcentral sulcus seemed to be the optimal target for rTMS. This proved to be the correct assumption. Targeting the coil hot-spot at exactly the postcentral sulcus, i.e., relatively the same place in the brain for all of the patients, accounted for substantially better clinical results in the *advanced study*. Since TMS induces currents in a plane parallel to the coil (Rothwell 1997), it is likely that the cortex deep inside the sulcus was exposed to stimulation. This includes the Brodmann area (BA) 2 constituting the anterior wall of the posterior sulcus, as well as BA 40 forming its posterior wall. While the BA 2 is still a part of the SI cortex, the BA 40 belongs to the parietal association cortex. As known from animal studies, the BA 2 combines information on finger position with tactile somesthetic information (Kaas 2004) and receives complex projections from skin receptors and muscle spindles (Pons & Kaas 1986). The BA 40 adjoining the postcentral sulcus participates in somatosensory discrimination by providing a mental model of the extremity function (Kaas 2004) and having connections with the BA 2 as well as with the motor and premotor cortices (Pons & Kaas 1986).

#### rTMS-induced cortical activation

Clinical improvement of writer's cramp paralleled functional reorganization of several cortical regions in both hemispheres. As follows from comparison between fMRI performed before and after the end of the five-day series of real-rTMS, there was an activation in the bilateral SI cortex including the adjacent posterior parietal cortex (PPC), in the supplementary motor area (SMA) and in the right insula. In addition, one cluster of activation in the contralateral postcentral sulcus (SI cortex) was localized close to the hot-spot of the coil (Figure 3). All these changes were seen in the *advanced study* responders, and solely during the active movement task (Table 3). In contrast, no cortical activity changes were found after sham-rTMS. The increased activity in the

somatosensory and in adjacent areas is likely to have been directly related to the effects of real-rTMS and thereby to writer's cramp improvement.

Focal dystonia may develop in predisposed individuals by "overlearning" the repetitive complex movement. This may lead to SI cortex enlargement and maladaptive reorganization accompanied by aberrant behavior of the motor cortex and subsequently by clinical manifestation of dystonia (Byl 2007; Guehl *et al.* 2009; Nelson *et al.* 2009; Sanger & Merzenich 2000). However, enlargement and hyperactivation of the primary sensorimotor cortex is also seen in long-term motor learning which does not lead to dystonia (Floyer-Lea & Matthews 2005; Karni *et al.* 1995; Rioult-Pedotti *et al.* 1998). In these cases, the primary sensorimotor cortex is also subject to functional reorganization resulting in functional integration of the new complex movement in already existing motor patterns. In this process, the areas of perception grow in size, differentiating better and overlapping less, leading to their more specialized interaction with the motor cortex and more accurate movement execution. From this perspective, any plastic reorganization of the SI cortex – positive as well as maladaptive – may be conditional upon its enlargement and increased activation. Our results are in agreement with this concept. Presumably enough, long-term repetitive exposure by rTMS may have been another way of inducing plastic reorganization of the SI cortex as manifested by the local BOLD signal enhancement and improved writing.

As documented by previous studies, the SI cortex can be greatly influenced by rTMS. The SI cortex of patients with writer's cramp manifested plastic changes in response to low-frequency (1 Hz) rTMS by increasing its excitability due to reduced short-latency afferent inhibition (Baumer *et al.* 2007). In healthy subjects, increased SI cortex excitability was observed with high-frequency rTMS (Ragert *et al.* 2004) accompanied by local hyperactivation in fMRI (Tegenthoff *et al.* 2005) and by improved tactile discrimination (Pleger *et al.* 2006; Ragert *et al.* 2003).

As expected, rTMS in our study influenced the SI cortex activity during active and passive movements in different ways. While rTMS produced wide cortical activations during active movements we noticed only limited rTMS-related enhancement found in a small portion of PPC during passive movements (Figure 3). This then means that the effect on the SI cortex was related to more than just proprioception, otherwise, rTMS would have produced a similar fMRI pattern regardless of whether the movement was active or passive since the process of proprioception is common for both types of movement (Mima *et al.* 1999; Reddy *et al.* 2001; Weiller *et al.* 1996). We considered this finding as one of the main results of our study, suggesting that SI rTMS selectively influences somatosensory processing especially in relation to active motion control and not just to mechanisms of kinesthetic perception. This is

perhaps possible due to rich cortico-cortical connections arising from the SI and represents the main input into the primary motor cortex (Asanuma *et al.* 1968).

Unlike our study, authors of previous PET and fMRI studies focused mainly on differences between patients with writer's cramp and healthy controls. They reported variable findings concerning the SI cortex and some of them evaluated the SI area together with the primary motor cortex because of poor spatial resolution. Displacement of the reception fields of the dystonic hand on the SI cortex (Butterworth *et al.* 2003) and abnormal SI activation dependence on the intensity of somatosensory stimulation were observed (Sanger *et al.* 2002). The average intensity of SI activation was either reduced (Tempel & Perlmutter 1993) or the same as in healthy subjects (Peller *et al.* 2006). On voluntary contraction of the muscles of the forearm the level of SI activation was significantly lower in patients with writer's cramp than in the controls (Ibanez *et al.* 1999; Islam *et al.* 2009; Oga *et al.* 2002). In contrast, writing was accompanied by a distinct increase in SI activation (Ceballos-Baumann *et al.* 1997; Hu *et al.* 2006) which was positively correlated with the duration of the task (Lerner *et al.* 2004; Odergren *et al.* 1998). It has then been suggested that for patients with writer's cramp, increased SI activation is mostly related to situations provoking dystonia. Conversely, other authors found no such SI activity increase in patients during writing (Ibanez *et al.* 1999; Preibisch *et al.* 2001).

In our study, real-rTMS was found to lead not only to local BOLD signal changes in the SI cortex close to the coil hot-spot but also to hyperactivation of a number of cortical areas. This supports the idea that rTMS effects were spreading from the SI cortex to remote cortical regions. Apart from increased SI cortex activation contralateral to the dystonic hand, we observed rTMS-induced co-activation of the neighbouring PPC and mirror areas in the ipsilateral hemisphere. This was not surprising because there are rich cortico-cortical and transcallosal connections (Killackey *et al.* 1983; Pons & Kaas 1986). The PPC is part of the somatosensory association cortex participating in the integration and comprehensive processing of somesthetic stimuli (Knecht *et al.* 1996). Its aberrant involvement in writer's cramp was reported previously (Butterworth *et al.* 2003).

Cortical areas co-activated after real-rTMS are known to be anatomically interconnected. We studied the relevance of those connections using the DCM (Friston *et al.* 2003). As previously confirmed by DCM analysis, the primary motor cortex is strongly influenced by the SI cortex (Pleger *et al.* 2006) and SMA (Kasess *et al.* 2008). In our study we tested 11 models with connections between four activated cortical regions belonging to the sensorimotor system. As we found out, the behavior of those areas before the beginning of rTMS could best be explained by model 8 suggesting forward connection pointing from SI to PPC and from SI to the contralateral SI, and containing

reciprocal connection between SI and SMA (Figure 4). Consequently, in patients with writer's cramp, the SI cortex modulates ipsilateral PPC, SMA and the contralateral SI cortex while being itself under SMA control. As expected, rTMS improved not only the clinical manifestations of writer's cramp but also changed the functional connectivity of model 8.

After real-rTMS we observed enhancement of connections projecting from the SMA to the left SI cortex whereas in response to sham-rTMS no functional connections were modulated (Figure 4). SI rTMS-related strengthening of functional connectivity from the SMA implies that the SI cortex was more influenced by the SMA, which may explain some of the therapeutic mechanisms of the treatment suggesting better voluntary control of ongoing movements. The SMA is involved in the preparation of self-initiated voluntary motion (Deiber *et al.* 1999) and in correct sequential movement timing (Tanji 2001). Its function is associated with motor learning and apparently with the cognitive control of movement (Nachev *et al.* 2008). In addition, the SMA probably participates in the development of dystonia. It is not understood what kind of mechanism is involved (Guehl *et al.* 2009). Regardless of whether or not the task may trigger the dystonic cramp, the SMA is usually hypoactivated in focal dystonia patients (Ceballos-Baumann *et al.* 1995; Islam *et al.* 2009; Lerner *et al.* 2004; Oga *et al.* 2002). SMA hyperactivation was only noted after local botulinum toxin injections to dystonic muscles (Ceballos-Baumann *et al.* 1997). As electrophysiological recordings in animal models of dystonia showed, the receptive fields of SMA proprioceptive neurons are abnormally enlarged (Cuny *et al.* 2008), meaning that the SMA in dystonia undergoes changes similar to those in the SI cortex.

Apart from voluntary movement preparation, the SMA is also involved in the suppression of movements. This may be essential for understating our results. The inhibitory effects of the SMA on primary sensorimotor cortex has been repeatedly demonstrated by imaging studies on healthy subjects with stop-inhibition task (Jaffard *et al.* 2008), imaginary movements (Kasess *et al.* 2008) or sensory modulation of passive and active movements (Dinomais *et al.* 2009). Our finding of rTMS-related strengthening of functional connection pointing from the SMA to SI, as suggested by model 8, is in accordance with this. Clinical improvement in our patients with writer's cramp then may have related to the SMA exerting its inhibitory effect on the sensorimotor cortex by suppressing overflow and genesis of unwanted aberrant movements.

In our study, rTMS-related activation was seen even in distant areas such as the anterior insular cortex, whose activation had previously been noted in patients with writer's cramp when compared to healthy subjects (Hu *et al.* 2006; Lerner *et al.* 2004; Peller *et al.* 2006). This may be related to involvement on the nociceptive mechanisms which also belong to the somatosensory

system (Treede *et al.* 1999). It may also reflect a re-representation of awareness of body movement because the insular cortex probably holds a somatotopic representation of the subjective feelings of performed movements and is involved in feelings of body ownership (Craig 2009; Tsakiris *et al.* 2007). This may suggest that the SI rTMS-related hyperactivation in the anterior insular cortex as seen in our study was related to a change in subjective feeling or to improved discomfort in the hand during writing.

## CONCLUSIONS

We found that 30-minute low-frequency rTMS applied for five consecutive days to the contralateral SI cortex of patients with writer's cramp had favorable therapeutic effects. Subjective improvement of dystonia was observed in ten out of eleven patients of the *advanced study*. All of them showed improvement in quality of writing lasting, like the subjective effect, several weeks. Conversely, no clinical improvement was noted after sham-rTMS. The *pilot study* highlighted the critical importance of accurate rTMS coil positioning over the selected portion of the SI cortex. A narrow strip along the postcentral sulcus was shown to be the optimal site for therapeutic stimulation. Apart from the clinical improvement, SI rTMS induced extensive functional reorganization of the cerebral cortex was reflected in BOLD signal increase in somatosensory areas of both hemispheres. All this suggests new options for treatment and, like in previous findings, supports the relevance of the sensory system in the pathogenesis of focal dystonia.

## ACKNOWLEDGMENT

The study was supported from the Czech Ministry of Education (research program MSM 0021620849 and project 1M0567), from the Czech Ministry of Health (grants IGA MZČR NR8937-4, 1A/8629-5, NR9215-3) and from the Grant Agency of the Czech Republic 309/09/1145.

## REFERENCES

- 1 Abbruzzese G, Marchese R, Buccolieri A, Gasparetto B, Trompetto C. (2001). Abnormalities of sensorimotor integration in focal dystonia: a transcranial magnetic stimulation study. *Brain*. 124: 537-545.
- 2 Asanuma H, Stoney SD, Jr., Abzug C. (1968). Relationship between afferent input and motor outflow in cat motor sensory cortex. *J Neurophysiol*. 31: 670-681.
- 3 Bara-Jimenez W, Catalan MJ, Hallett M, Gerloff C. (1998). Abnormal somatosensory homunculus in dystonia of the hand. *Ann Neurol*. 44: 828-831.
- 4 Bara-Jimenez W, Shelton P, Sanger TD, Hallett M. (2000). Sensory discrimination capabilities in patients with focal hand dystonia. *Ann Neurol*. 47: 377-380.

- 5 Baumer T, Demiralay C, Hidding U, Bikmullina R, Helmich RC, Wunderlich S, et al. (2007). Abnormal plasticity of the sensorimotor cortex to slow repetitive transcranial magnetic stimulation in patients with writer's cramp. *Mov Disord*. 22: 81–90.
- 6 Berardelli A, Rothwell JC, Hallett M, Thompson PD, Manfredi M, Marsden CD. (1998). The pathophysiology of primary dystonia. *Brain*. 121: 1195–1212.
- 7 Blake DT, Byl NN, Cheung S, Bedenbaugh P, Nagarajan S, Lamb M, et al. (2002). Sensory representation abnormalities that parallel focal hand dystonia in a primate model. *Somatosens Mot Res*. 19: 347–357.
- 8 Braun C, Schweizer R, Heinz U, Wiech K, Birbaumer N, Topka H. (2003). Task-specific plasticity of somatosensory cortex in patients with writer's cramp. *Neuroimage*. 20: 1329–1338.
- 9 Burke RE, Fahn S, Marsden CD, Bressman SB, Moskowitz C, Friedman J. (1985). Validity and reliability of a rating scale for the primary torsion dystonias. *Neurology*. 35: 73–77.
- 10 Butterworth S, Francis S, Kelly E, McGlone F, Bowtell R, Sawle GV. (2003). Abnormal cortical sensory activation in dystonia: an fMRI study. *Mov Disord*. 18: 673–682.
- 11 Byl NN. (2007). Learning-based animal models: task-specific focal hand dystonia. *Ilar J*. 48: 411–431.
- 12 Byl NN, Merzenich MM, Cheung S, Bedenbaugh P, Nagarajan SS, Jenkins WM. (1997). A primate model for studying focal dystonia and repetitive strain injury: effects on the primary somatosensory cortex. *Phys Ther*. 77: 269–284.
- 13 Byrnes ML, Thickbroom GW, Wilson SA, Sacco P, Shipman JM, Stell R, et al. (1998). The corticomotor representation of upper limb muscles in writer's cramp and changes following botulinum toxin injection. *Brain*. 121: 977–988.
- 14 Candia V, Wienbruch C, Elbert T, Rockstroh B, Ray W. (2003). Effective behavioral treatment of focal hand dystonia in musicians alters somatosensory cortical organization. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 100: 7942–7946.
- 15 Ceballos-Baumann AO, Passingham RE, Warner T, Playford ED, Marsden CD, Brooks DJ. (1995). Overactive prefrontal and underactive motor cortical areas in idiopathic dystonia. *Ann Neurol*. 37: 363–372.
- 16 Ceballos-Baumann AO, Sheean G, Passingham RE, Marsden CD, Brooks DJ. (1997). Botulinum toxin does not reverse the cortical dysfunction associated with writer's cramp. A PET study. *Brain*. 120: 571–582.
- 17 Cohen LG, Hallett M, Geller BD, Hochberg F. (1989). Treatment of focal dystonias of the hand with botulinum toxin injections. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 52: 355–363.
- 18 Craig AD. (2009). How do you feel—now? The anterior insula and human awareness. *Nat Rev Neurosci*. 10: 59–70.
- 19 Cuny E, Ghorayeb I, Guehl D, Escola L, Bioulac B, Burbaud P. (2008). Sensory motor mismatch within the supplementary motor area in the dystonic monkey. *Neurobiol Dis*. 30: 151–161.
- 20 Deiber MP, Honda M, Ibanez V, Sadato N, Hallett M. (1999). Mesial motor areas in self-initiated versus externally triggered movements examined with fMRI: effect of movement type and rate. *J Neurophysiol*. 81: 3065–3077.
- 21 Delmaire C, Vidailhet M, Wassermann D, Descoteaux M, Valabregue R, Bourdain F, et al. (2009). Diffusion abnormalities in the primary sensorimotor pathways in writer's cramp. *Arch Neurol*. 66: 502–508.
- 22 Dinomais M, Minassian AT, Tuillet T, Delion M, Wilke M, N'Guyen S, et al. (2009). Functional MRI comparison of passive and active movement: possible inhibitory role of supplementary motor area. *Neuroreport*.
- 23 Elbert T, Candia V, Altenmuller E, Rau H, Sterr A, Rockstroh B, et al. (1998). Alteration of digital representations in somatosensory cortex in focal hand dystonia. *Neuroreport*. 9: 3571–3575.
- 24 Elbert T, Pantev C, Wienbruch C, Rockstroh B, Taub E. (1995). Increased cortical representation of the fingers of the left hand in string players. *Science*. 270: 305–307.
- 25 Florio M, Tinazzi M, Aglioti SM. (2006). Selective impairment of hand mental rotation in patients with focal hand dystonia. *Brain*. 129: 47–54.
- 26 Florio M, Tinazzi M, Bertolasi L, Aglioti SM. (2003). Temporal processing of visuotactile and tactile stimuli in writer's cramp. *Ann Neurol*. 53: 630–635.
- 27 Floyer-Lea A, Matthews PM. (2005). Distinguishable brain activation networks for short- and long-term motor skill learning. *J Neurophysiol*. 94: 512–518.
- 28 Friston KJ, Harrison L, Penny W. (2003). Dynamic causal modeling. *Neuroimage*. 19: 1273–1302.
- 29 Fukaya C, Katayama Y, Kano T, Nagaoka T, Kobayashi K, Oshima H, et al. (2007). Thalamic deep brain stimulation for writer's cramp. *J Neurosurg*. 107: 977–982.
- 30 Garraux G, Bauer A, Hanakawa T, Wu T, Kansaku K, Hallett M. (2004). Changes in brain anatomy in focal hand dystonia. *Ann Neurol*. 55: 736–739.
- 31 Guehl D, Cuny E, Ghorayeb I, Michelet T, Bioulac B, Burbaud P. (2009). Primate models of dystonia. *Prog Neurobiol*. 87: 118–131.
- 32 Guzzetta A, Staudt M, Petacchi E, Ehlers J, Erb M, Wilke M, et al. (2007). Brain representation of active and passive hand movements in children. *Pediatr Res*. 61: 485–490.
- 33 Hallett M. (1995). Is dystonia a sensory disorder? *Ann Neurol*. 38: 139–140.
- 34 Hluštík P, Solodkin A, Gullapalli RP, Noll DC, Small SL. (2001). Somatotopy in human primary motor and somatosensory hand representations revisited. *Cereb Cortex*. 11: 312–321.
- 35 Hosono Y, Urushihara R, Harada M, Morita N, Murase N, Kunikane Y, et al. (2008). Comparison of monophasic versus biphasic stimulation in rTMS over premotor cortex: SEP and SPECT studies. *Clin Neurophysiol*. 119: 2538–2545.
- 36 Hu XY, Wang L, Liu H, Zhang SZ. (2006). Functional magnetic resonance imaging study of writer's cramp. *Chin Med J (Engl)*. 119: 1263–1271.
- 37 Ibanez V, Sadato N, Karp B, Deiber MP, Hallett M. (1999). Deficient activation of the motor cortical network in patients with writer's cramp. *Neurology*. 53: 96–105.
- 38 Islam T, Kupsch A, Bruhn H, Scheurig C, Schmidt S, Hoffmann KT. (2009). Decreased bilateral cortical representation patterns in writer's cramp: a functional magnetic resonance imaging study at 3.0T. *Neuro Sci*. 30: 219–226.
- 39 Jaffard M, Longcamp M, Velay JL, Anton JL, Roth M, Nazarian B, et al. (2008). Proactive inhibitory control of movement assessed by event-related fMRI. *Neuroimage*. 42: 1196–1206.
- 40 Kaas JH. (2004). Somatosensory System. In: Paxinos G & Mai JK, editors. *The Human Nervous System*, 2nd edition. London: Elsevier Academic Press. p. 1061–1093.
- 41 Kanovsky P. (2002). Dystonia: a disorder of motor programming or motor execution? *Mov Disord*. 17: 1143–1147.
- 42 Karni A, Meyer G, Jezzard P, Adams MM, Turner R, Ungerleider LG. (1995). Functional MRI evidence for adult motor cortex plasticity during motor skill learning. *Nature*. 377: 155–158.
- 43 Kassess CH, Windischberger C, Cunnington R, Lanzenberger R, Pezawas L, Moser E. (2008). The suppressive influence of SMA on M1 in motor imagery revealed by fMRI and dynamic causal modeling. *Neuroimage*. 40: 828–837.
- 44 Killackey HP, Gould HJ, 3rd, Cusick CG, Pons TP, Kaas JH. (1983). The relation of corpus callosum connections to architectonic fields and body surface maps in sensorimotor cortex of new and old world monkeys. *J Comp Neurol*. 219: 384–419.
- 45 Knecht S, Ellger T, Breitenstein C, Bernd Ringelstein E, Henningsen H. (2003). Changing cortical excitability with low-frequency transcranial magnetic stimulation can induce sustained disruption of tactile perception. *Biol Psychiatry*. 53: 175–179.
- 46 Knecht S, Kunesch E, Schnitzler A. (1996). Parallel and serial processing of haptic information in man: effects of parietal lesions on sensorimotor hand function. *Neuropsychologia*. 34: 669–687.
- 47 Lerner A, Shill H, Hanakawa T, Bushara K, Goldfine A, Hallett M. (2004). Regional cerebral blood flow correlates of the severity of writer's cramp symptoms. *Neuroimage*. 21: 904–913.
- 48 Marsden CD, Sheehy MP. (1990). Writer's cramp. *Trends Neurosci*. 13: 148–153.
- 49 Meunier S, Garnero L, Ducorps A, Mazieres L, Lehericy S, du Montcel ST, et al. (2001). Human brain mapping in dystonia reveals both endophenotypic traits and adaptive reorganization. *Ann Neurol*. 50: 521–527.
- 50 Mima T, Sadato N, Yazawa S, Hanakawa T, Fukuyama H, Yonekura Y, et al. (1999). Brain structures related to active and passive finger movements in man. *Brain*. 122: 1989–1997.

- 51 Murase N, Kaji R, Shimazu H, Katayama-Hirota M, Ikeda A, Kohara N, *et al.* (2000). Abnormal premovement gating of somatosensory input in writer's cramp. *Brain*. 123: 1813–1829.
- 52 Murase N, Rothwell JC, Kaji R, Urushihara R, Nakamura K, Murayama N, *et al.* (2005). Subthreshold low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation over the premotor cortex modulates writer's cramp. *Brain*. 128: 104–115.
- 53 Nachev P, Kennard C, Husain M. (2008). Functional role of the supplementary and pre-supplementary motor areas. *Nat Rev Neurosci*. 9: 856–869.
- 54 Nelson AJ, Blake DT, Chen R. (2009). Digit-specific aberrations in the primary somatosensory cortex in Writer's cramp. *Ann Neurol*. 66: 146–154.
- 55 Odergren T, Stone-Elander S, Ingvar M. (1998). Cerebral and cerebellar activation in correlation to the action-induced dystonia in writer's cramp. *Mov Disord*. 13: 497–508.
- 56 Oga T, Honda M, Toma K, Murase N, Okada T, Hanakawa T, *et al.* (2002). Abnormal cortical mechanisms of voluntary muscle relaxation in patients with writer's cramp: an fMRI study. *Brain*. 125: 895–903.
- 57 Ogawa A, Ukai S, Shinosaki K, Yamamoto M, Kawaguchi S, Ishii R, *et al.* (2004). Slow repetitive transcranial magnetic stimulation increases somatosensory high-frequency oscillations in humans. *Neurosci Lett*. 358: 193–196.
- 58 Peller M, Zeuner KE, Munchau A, Quartarone A, Weiss M, Knutzen A, *et al.* (2006). The basal ganglia are hyperactive during the discrimination of tactile stimuli in writer's cramp. *Brain*.
- 59 Penny WD, Stephan KE, Mechelli A, Friston KJ. (2004). Comparing dynamic causal models. *Neuroimage*. 22: 1157–1172.
- 60 Pleger B, Blankenburg F, Bestmann S, Ruff CC, Wiech K, Stephan KE, *et al.* (2006). Repetitive transcranial magnetic stimulation-induced changes in sensorimotor coupling parallel improvements of somatosensation in humans. *J Neurosci*. 26: 1945–1952.
- 61 Pons TP, Kaas JH. (1986). Corticocortical connections of area 2 of somatosensory cortex in macaque monkeys: a correlative anatomical and electrophysiological study. *J Comp Neurol*. 248: 313–335.
- 62 Preibisch C, Berg D, Hofmann E, Solymosi L, Naumann M. (2001). Cerebral activation patterns in patients with writer's cramp: a functional magnetic resonance imaging study. *J Neurol*. 248: 10–17.
- 63 Quartarone A, Siebner HR, Rothwell JC. (2006). Task-specific hand dystonia: can too much plasticity be bad for you? *Trends Neurosci*. 29: 192–199.
- 64 Ragert P, Becker M, Tegenthoff M, Pleger B, Dinse HR. (2004). Sustained increase of somatosensory cortex excitability by 5 Hz repetitive transcranial magnetic stimulation studied by paired median nerve stimulation in humans. *Neurosci Lett*. 356: 91–94.
- 65 Ragert P, Dinse HR, Pleger B, Wilimzig C, Frombach E, Schwenkreis P, *et al.* (2003). Combination of 5 Hz repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) and tactile coactivation boosts tactile discrimination in humans. *Neurosci Lett*. 348: 105–108.
- 66 Reddy H, Floyer A, Donaghy M, Matthews PM. (2001). Altered cortical activation with finger movement after peripheral denervation: comparison of active and passive tasks. *Exp Brain Res*. 138: 484–491.
- 67 Rioult-Pedotti MS, Friedman D, Hess G, Donoghue JP. (1998). Strengthening of horizontal cortical connections following skill learning. *Nat Neurosci*. 1: 230–234.
- 68 Rothwell JC. (1997). Techniques and mechanisms of action of transcranial stimulation of the human motor cortex. *J Neurosci Methods*. 74: 113–122.
- 69 Roze E, Scummare A, Pironneau I, Sangla S, de Cock VC, Teixeira A, *et al.* (2009). Case-control study of writer's cramp. *Brain*. 132: 756–764.
- 70 Sanger TD, Merzenich MM. (2000). Computational model of the role of sensory disorganization in focal task-specific dystonia. *J Neurophysiol*. 84: 2458–2464.
- 71 Sanger TD, Pascual-Leone A, Tarsy D, Schlaug G. (2002). Nonlinear sensory cortex response to simultaneous tactile stimuli in writer's cramp. *Mov Disord*. 17: 105–111.
- 72 Sanger TD, Tarsy D, Pascual-Leone A. (2001). Abnormalities of spatial and temporal sensory discrimination in writer's cramp. *Mov Disord*. 16: 94–99.
- 73 Satow T, Mima T, Yamamoto J, Oga T, Begum T, Aso T, *et al.* (2003). Short-lasting impairment of tactile perception by 0.9Hz-rTMS of the sensorimotor cortex. *Neurology*. 60: 1045–1047.
- 74 Senkarova Z, Hlustik P, Otruba P, Herzig R, Kanovsky P. (2009). Modulation of Cortical Activity in Patients Suffering from Upper Arm Spasticity following Stroke and Treated with Botulinum Toxin A: An fMRI Study. *J Neuroimaging*.
- 75 Siebner HR, Filipovic SR, Rowe JB, Cordivari C, Gerschlagner W, Rothwell JC, *et al.* (2003). Patients with focal arm dystonia have increased sensitivity to slow-frequency repetitive TMS of the dorsal premotor cortex. *Brain*. 126: 2710–2725.
- 76 Siebner HR, Tormos JM, Ceballos-Baumann AO, Auer C, Catala MD, Conrad B, *et al.* (1999). Low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation of the motor cortex in writer's cramp. *Neurology*. 52: 529–537.
- 77 Stephan KE, Marshall JC, Penny WD, Friston KJ, Fink GR. (2007). Interhemispheric integration of visual processing during task-driven lateralization. *J Neurosci*. 27: 3512–3522.
- 78 Tanji J. (2001). Sequential organization of multiple movements: involvement of cortical motor areas. *Annu Rev Neurosci*. 24: 631–651.
- 79 Tegenthoff M, Ragert P, Pleger B, Schwenkreis P, Forster AF, Nicolas V, *et al.* (2005). Improvement of tactile discrimination performance and enlargement of cortical somatosensory maps after 5 Hz rTMS. *PLoS Biol*. 3: e362.
- 80 Tempel LW, Perlmutter JS. (1993). Abnormal cortical responses in patients with writer's cramp. *Neurology*. 43: 2252–2257.
- 81 Tinazzi M, Farina S, Bhatia K, Fiaschi A, Moretto G, Bertolasi L, *et al.* (2005). TENS for the treatment of writer's cramp dystonia: a randomized, placebo-controlled study. *Neurology*. 64: 1946–1948.
- 82 Tinazzi M, Priori A, Bertolasi L, Frasson E, Mauguiere F, Fiaschi A. (2000). Abnormal central integration of a dual somatosensory input in dystonia. Evidence for sensory overflow. *Brain*. 123: 42–50.
- 83 Tinazzi M, Rosso T, Fiaschi A. (2003). Role of the somatosensory system in primary dystonia. *Mov Disord*. 18: 605–622.
- 84 Treede RD, Kenshalo DR, Gracely RH, Jones AK. (1999). The cortical representation of pain. *Pain*. 79: 105–111.
- 85 Trompetto C, Curra A, Buccolieri A, Suppa A, Abbruzzese G, Berardelli A. (2006). Botulinum toxin changes intrafusal feedback in dystonia: a study with the tonic vibration reflex. *Mov Disord*. 21: 777–782.
- 86 Tsakiris M, Hesse MD, Boy C, Haggard P, Fink GR. (2007). Neural signatures of body ownership: a sensory network for bodily self-consciousness. *Cereb Cortex*. 17: 2235–2244.
- 87 Vidalhet M, Grabli D, Roze E. (2009). Pathophysiology of dystonia. *Curr Opin Neurol*. 22: 406–413.
- 88 Weiller C, Juptner M, Fellows S, Rijntjes M, Leonhardt G, Kiebel S, *et al.* (1996). Brain representation of active and passive movements. *Neuroimage*. 4: 105–110.
- 89 Zeuner KE, Hallett M. (2003). Sensory training as treatment for focal hand dystonia: a 1-year follow-up. *Mov Disord*. 18: 1044–1047.
- 90 Zeuner KE, Peller M, Knutzen A, Hallett M, Deuschl G, Siebner HR. (2008). Motor re-training does not need to be task specific to improve writer's cramp. *Mov Disord*. 23: 2319–2327.
- 91 Zeuner KE, Shill HA, Sohn YH, Molloy FM, Thornton BC, Dambrosia JM, *et al.* (2005). Motor training as treatment in focal hand dystonia. *Mov Disord*. 20: 335–341.

### Beneficial Effect of Deep Brain Stimulation of GPI in a Patient with Dystonia-Deafness Phenotype

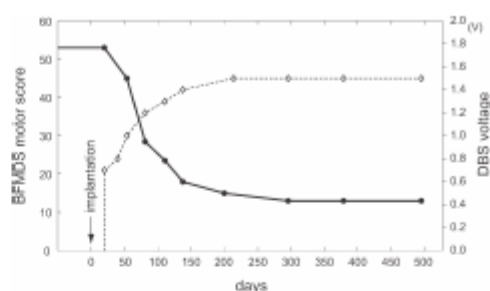
Video 

We present the first case of the successful treatment of dystonia-deafness syndrome by deep brain stimulation (DBS) of the globus pallidus interna (GPI).

The case concerns a 30-year-old male patient who had a negative family history of dystonia or hearing loss. At about 3 years of age, he was found to have a severe sensorineural hearing impairment, which remained stable until the age of 24. At that time, the patient noticed occasional involuntary twisting of his head toward left. The hearing impairment progressed to total deafness. Notably, there was no previous exposure to neuroleptics until 28 years of age, when he had a psychotic episode with paranoid delusions. The deafness and severe truncal and cervical dystonia accompanied by dysphagia and severe dysarthria further predominated in the clinical picture. Visual evoked potentials were significantly prolonged bilaterally. The ophthalmologic examination and magnetic resonance imaging of the brain were normal. Neuropsychological tests revealed no cognitive deficit.

By clinical examination and genetic testing, we ruled out the DYT1, PKAN, Wilson disease, spinocerebellar ataxias, as well as rare syndromes of deafness with generalized dystonia. A comorbidity of primary sporadic non-DYT1 dystonia compounded by deafness due to other causes appeared rather speculative. Finally, severe sensorineural hearing disorder from early childhood followed by generalized dystonia developing in early adulthood made us suspect the dystonia-deafness (Mohr-Tranebjærg) syndrome.<sup>1</sup> Several additional symptoms such as history of behavioral disorder and subclinical involvement of the visual system supported this diagnosis. Even if genetic testing showed no evidence of mutation<sup>2-5</sup> (frameshift, deletion, stop, missense, splice-site, or intronic mutation) of the gene TIMM8A/DDP1, a novel mutation could not be excluded. Therefore, we still believe that the present case is the dystonia-deafness syndrome.

The patient received repeated local injections of botulinum toxin into dystonic neck muscles with only partial relief. Oral treatments by biperidene, tiapride, amantadine, and clonazepam were subsequently given with no or minor improvement. At the age of 29, his cervical and truncal dystonia further progressed with dystonic involvement spreading to his lower extremities. Extreme retrocollis soon led to compromised respiration forcing the patient to sleep in a semirecumbent position. After the failed use of all available pharmacological treatment, we resorted to GPI DBS as to the ultimate option. The patient then had the electrodes (Model 3389, Medtronic, Minneapolis, MN) implanted into the posteroventral portion of the GPI bilaterally. The coordinates of the distal (active) contacts were as follows: 19-mm lateral from the midline in



**FIG. 1.** Clinical improvement in a patient with the dystonia-deafness phenotype is documented by a gradual decrease of the BFMDs motor score (closed circles) following bilateral GPI DBS. To find optimal parameters of neurostimulation, the voltage (open diamonds) was gradually increased to 1.5 V with the pulse duration (450  $\mu$ s) and frequency (130 Hz) being constant. As a result of the slow start of the clinical benefit, the optimum was reached 10 months after implantation.

the left and 21-mm lateral in the right hemisphere; 3.5-mm below the level of the intercommissural line in the left and 2.5-mm below this line in the right hemisphere; and 3-mm anterior to its middle on both sides. A Kinetra neurostimulator was implanted into the subclavicular region.

Like in other generalized dystonias, the antidystonic effect of GPI DBS began to show gradually over a course of several months (Fig. 1). Maximum improvement was expressed by a 75% decrease in the motor score of the Burke-Fahn-Marsden scale (BFMDs),<sup>6</sup> which was reached 10 months after surgery. This is comparable with the effects of GPI DBS commonly seen in patients with DYT1-positive primary dystonia.<sup>7</sup> There was marked abatement of cervical and truncal dystonia as well as improvement of gait (see video). Swallowing and speech showed only little improvement. The hearing loss remained unchanged as expected.

As our experience suggests, bilateral GPI DBS can be a suitable symptomatic therapy in patients with the dystonia-deafness phenotype. Now, 21 months after the implantation, the patient is experiencing the stable clinical effects of neurostimulation.

#### LEGENDS TO THE VIDEO

**Segment 1.** Before the implantation of DBS electrodes: severe cervical and truncal dystonia, impairment of gait.

**Segment 2.** One month after the implantation, a day before the start of the chronic GPI DBS: same clinical picture as before surgery.

**Segment 3.** Three months after the implantation: cervical and truncal dystonia shows improvement.

**Segment 4.** Ten months after the implantation: minor cervical dystonia, gait markedly improved.

Petra Havránková, MD  
Robert Jech, MD, PhD\*  
Jan Roth, MD, PhD  
Department of Neurology  
1st Faculty of Medicine  
Charles University  
Prague, Czech Republic  
\*Email: jech@ce.smet.cz

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article.

Published online 2 December 2008 in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com). DOI: 10.1002/mds.22317

Dušan Urgošák, MD, PhD  
Stereotactic and Radiation Neurosurgery  
Na Homolce Hospital  
Prague, Czech Republic

Evžen Růžička, MD, DSc  
Department of Neurology, 1st Faculty of Medicine  
Charles University  
Prague, Czech Republic

**Acknowledgments:** Supported by grant from the Czech Ministry of Health (IGA MZCR IA/8629-5) and by research program of the Czech Ministry of Education (MSM 0021620849).

### References

- Mohr J, Mageroy K. Sex-linked deafness of a possibly new type. *Acta Genetica et Statistica Medica* 1960;10:54-62.
- Jin H, May M, Tranebjaerg L, et al. A novel X-linked gene, DDP, shows mutations in families with deafness (DFN-1), dystonia, mental deficiency and blindness. *Nat Gen* 1996;14:177-180.
- Tranebjaerg L, Hamel BC, Gabreels FJ, Renier WO, Van Ghelue M. A de novo missense mutation in a critical domain of the X-linked DDP gene causes the typical deafness-dystonia-optic atrophy syndrome. *Eur J Hum Genet* 2000;8:464-467.
- Ezquerria M, Campdelacreu J, Muñoz E, Tolosa E, Martí MJ. A novel intronic mutation in the DDP1 gene in a family with X-linked dystonia-deafness syndrome. *Arch Neurol* 2005;62:306-308.
- Kim HT, Edwards MJ, Tyson J, Quinn NP, Bitner-Glindzicz M, Bhatia KP. Blepharospasm and limb dystonia caused by Mohr-Tranebjaerg syndrome with a novel splice-site mutation in the deafness/dystonia peptide gene. *Mov Disord* 2007;22:1328-1331.
- Burke RE, Fahn S, Marsden CD, Bressman SB, Moskowitz C, Friedman J. Validity and reliability of a rating scale for the primary torsion dystonias. *Neurology* 1985;35:73-77.
- Coubes P, Cif L, El Fertit H, et al. Electrical stimulation of the globus pallidus internus in patients with primary generalized dystonia: Long-term results. *J Neurosurg* 2004;101:189-194.

### Cervical Dystonia Presenting as a Phenocopy in an Irish SCA2 Family

Spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) is an autosomal dominant neurodegenerative disorder caused by an unstable CAG repeat in the *ataxin-2* gene on chromosome 12q.<sup>1</sup>

Ataxia is almost invariable and may be accompanied by pyramidal and extrapyramidal signs, peripheral neuropathy, and oculomotor abnormalities. Cervical dystonia has been described in SCA1,<sup>2,3,3</sup> and 6,<sup>4</sup> as well as in genetically undetermined cases.<sup>5</sup> Recently a number of reports have described the association of SCA2 with cervical dystonia.<sup>6,7</sup> In a series of 11 patients with SCA2 and cervical dystonia, seven had an isolated laterocollis and in one case dystonia preceded the onset of ataxia by 3 years.<sup>8</sup>

Normal SCA2 alleles contain between 14 and 31 CAG repeats; the 22 repeat normal allele accounts for up to 86.4% of alleles.<sup>9</sup> Clinical signs compatible with SCA2 have been described in a patient with 33 repeats.<sup>10</sup> We report on an Irish SCA2 pedigree in which four members have varying combinations of adult onset dystonia and ataxia; one sibling with cervical dystonia, originally presumed to have inherited a pathogenic SCA2 allele, was later found to represent a disease phenocopy.

A truncated pedigree drawing is provided in Figure 1. The proband (II:9) is a 74-year-old woman who reported the gradual onset of shoulder pain and neck stiffness at the age of 57. There was no history of preceding trauma or neuroleptic exposure. At presentation, she had a moderate to severe right laterocollis and a "no-no" head tremor that precluded MRI examination. No limb or laryngeal dystonia was identified. Gait and saccadic eye movements were normal and there was no sensory neuropathy or pyramidal signs. She has been treated with botulinum toxin every 3 months with a moderate response.

Both II:1 and II:4 are cousins of the proband currently living in the UK. They are both ataxic with onset after 30 years of age. The older of the pair, II:1, is now wheelchair bound. II:5 is a 78-year-old woman who developed cervical dystonia (laterocollis) of sudden onset at 40 years of age. At 69 years, she reported deterioration of her gait with the need to use a stick due to imbalance. In the last decade, she has developed a severely disabling spasmodic dysphonia (adductor type) and writer's cramp of her right hand. Clinically evident slowing of saccadic eye movements was observed with a moderate truncal and limb ataxia. She has had a poor response to botulinum toxin treatment. II:10 is a 71-year-old woman who developed an insidious onset of gait imbalance in her fourth decade. She has required the assistance of a stick to walk since her late sixties. Since childhood she describes having "poor writing" and currently has evidence of a writer's cramp on the right side as well as an adductor-type spasmodic dysphonia since the age of 68 years. She has a moderately severe truncal ataxia, limb ataxia, and slow saccadic eye movements on examination. Ankle jerks are absent and there is distal loss of vibration sensation in the lower limbs. No cervical dystonia is present. MRI brain showed moderately severe cerebellar atrophy.

II:1, II:5, and II:10 were found to have single pathological allelic expansions with 36, 34, and 35 CAG repeats respectively at the SCA2 locus on chromosome 12. Individual II:4 also had confirmed pathological SCA2 expansion although no further details are available to us. Gene sequencing on II:10 identified an uninterrupted expansion suggesting a greater possibility of instability of this region when transmitted between generations. Analysis of the SCA2 gene in the proband, II:9, surprisingly revealed normal alleles of 22 repeats. A further sample taken for reanalysis confirmed the result. It is therefore highly unlikely that she has inherited the SCA2 genotype.

Genetic testing for inherited neurological diseases has hugely improved our ability to provide patients with a diagnosis and genetic counselling. The ability to test for known mutations has also enabled the description of a more complete phenotypic spectrum in some conditions. The presence of phenocopies within pedigrees is a well-known hazard of linkage analysis and has the ability to confound genetic stud-

Published online 11 December 2008 in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com). DOI: 10.1002/mds.22387

with bromocriptine. Our results are consistent with a previous study that also did not detect myocardial dysfunction among patients treated with pergolide and cabergoline.<sup>7</sup> To our best knowledge, no other similar study has been performed.

Although assessment of LV longitudinal systolic and diastolic function has been widely used to diagnose subclinical diastolic LV dysfunction in various diseases associated with myocardial fibrosis, it is recognized that a definite diagnosis of myocardial fibrosis can only be made by histopathological examination of the myocardium.

We conclude that although bromocriptine use is associated with an increased risk of developing valvular heart disease,<sup>4</sup> bromocriptine does not have a detectable adverse impact on myocardial systolic and diastolic function.

**Acknowledgments:** We thank Ms. Irene Sesh Soo Hoon for assisting in this study.

Louis C.S. Tan, FRCP,<sup>1,2\*</sup> Kenneth K.C. Ng, MRCP,<sup>3</sup>  
Wing-Lok Au, FRCP,<sup>1,2</sup> Raymond K.K. Lee, FRCP,<sup>3</sup> and  
Nigel C.K. Tan, FRCP<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Parkinson's Disease and Movement Disorders  
Centre, National Neuroscience Institute  
Singapore, USA National Parkinson Foundation  
Centre of Excellence; <sup>2</sup>Department of Neurology,  
National Neuroscience Institute, Singapore

\*E-mail: louis\_tan@nni.com.sg

<sup>3</sup>Department of Cardiology, Tan Tock Seng  
Hospital, Singapore

## References

- Antonini A, Poewe W. Fibrotic heart-valve reactions to dopamine agonist treatment in Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 2007;6: 826–829.
- Gustafsson BI, Tommeras K, Nodrum I, et al. Long-term serotonin administration induces heart valve disease in rats. *Circulation* 2005;111:1517–1522.
- Mekontso-Dessap A, Brouil F, Pascal O, et al. Deficiency of 5-hydroxytryptamine transporter gene leads to cardiac fibrosis and valvulopathy in mice. *Circulation.* 2006;113:81–89.
- Tan LCS, Ng KKC, Au WL, Lee RKK, Chan YH, Tan NCK. Bromocriptine use and the risk of valvular heart disease. *Mov Disord.* 2008;24:344–349.
- Lang RM, Bierig M, Devereux RB, et al. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's guidelines and standards committee and the chamber quantification writing group, developed in conjunction with the European association of echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr.* 2005;18:1440–1463.
- Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, et al. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2009;22:107–133.
- Rasmussen VG, Poulsen SH, Dupont E, Ostergaard K, Safikhany G, Egeblad H. Ergotamine-derived dopamine agonists and left ventricular function in Parkinson patients: systolic and diastolic function studied by conventional echocardiography, tissue Doppler imaging, and two-dimensional speckle tracking. *Eur J Echocardiogr.* 2008;9:803–808.

## DYT 6—A Novel THAP1 Mutation With Excellent Effect on Pallidal DBS

DYT6 is an early-onset dystonia caused by variable mutations of the gene encoding the thanatos-associated protein (THAP1).<sup>1</sup> It usually starts in the cranial region or on the upper extremities with subsequent generalization. It has been reported that deep brain stimulation of the internal globus pallidus (Gpi-DBS) has moderate or unsatisfactory effects in these patients.<sup>2,3</sup> We describe a novel mutation of the THAP1 gene in 2 siblings (a boy and a girl) with a rapid generalization into a life-threatening status dystonicus (SD) in the boy. Unlike in the 7 previously reported patients,<sup>2,3</sup> in his case, we observed excellent long-term effects from bilateral Gpi-DBS.

We report on a Czech family with 2 affected members with dystonia and 5 carriers in 2 preceding generations (Fig. 1). Asymptomatic mutation was noted in the mother, 2 aunts, grandfather, and granduncle of the affected siblings. A sequence analysis of genomic DNA from peripheral blood leukocytes revealed a new mutation (NM\_018105.2) c.89C>G in exon 2 of the THAP1 gene in a heterozygote state, leading to amino acid substitution (p.Pro30Arg).

The girl, now 20 years old, started with writer's cramp in her right hand when she was 15. Two years later, she developed a slight dysarthria, and since the age of 18 she has suffered from disabling dystonia in the left hand. Her actual clinical symptoms correspond to multifocal dystonia involving fingers, toes, and oromandibular muscles (Burke Fahn Marsden Dystonia motor score [BFMDS] = 8).

Her brother, now 14.5 years old, developed writer's cramp at the age of 8, which gradually deteriorated into severe generalized dystonia that lapsed into status dystonicus (SD) when he was 12 (BFMDS = 41). We have previously published details of the case (including video) as an example of the excellent effect of Gpi-DBS in SD occurring in non-DYT1 dystonia (BFMDS = 3).<sup>4</sup> Subsequently, 30 months after the implantation, with the DBS parameters set on pulse duration 450  $\mu$ s, frequency 130 Hz, amplitude left 1.6 V, and amplitude right 1.8 V, cervical dystonia suddenly reappeared because of repeated unpredictable switching off of the left neurostimulator, probably related to battery exhaustion. Soon after DBS was switched on again, cervical dystonia disappeared. Recently, 2 Soletra stimulators were replaced by a rechargeable RC stimulator (Medtronic, Minneapolis, MN). Awakening from propofol anesthesia was accompanied by severe generalized dystonic jerks of the trunk and extremities resembling the original signs of SD. These symptoms

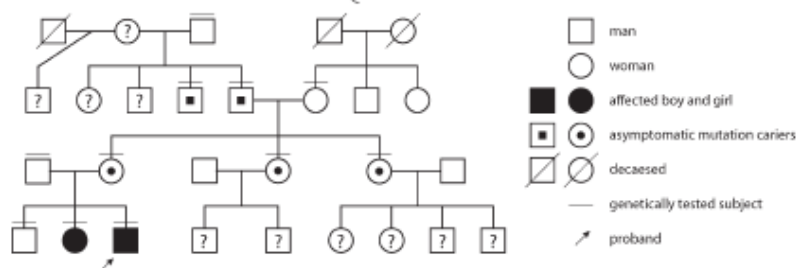
\*Correspondence to: Robert Jech, Department of Neurology and Center of Clinical Neuroscience, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague and General University Hospital in Prague, Czech Republic; jech@cesnet.cz

This work was supported by the Czech Science Foundation (grant project 309/09/1145) and by the Czech Ministry of Education (research project MŠM 0021620849).

Relevant conflicts of interest/financial disclosures: Nothing to report. Full financial disclosures and author roles may be found in the online version of this article.

Published online 21 March 2011 in Wiley Online Library  
(wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/mds.23599





**FIG. 1.** Pedigree of the DYT6 affected individuals and relatives in the Czech family with the c.89C>G mutation (? denotes nontested, clinically asymptomatic subjects potentially at risk of having this mutation).

were suppressed within minutes after restarting the DBS. Now 32 months after implantation, the patient is stable, with only mild dystonia in his right hand and slight dystonic dysarthria (BFMDS = 6).

Since the discovery of the *THAP1* mutation c.89C>G, this is the first documented case of excellent DBS effects in a patient with DYT6 and probably the first case of SD in DYT6. There may be a number of reasons why our patient responded fairly better to GPi-DBS (98% improvement in 1 month, 85% 32 months after surgery) than the 5 patients of Groen et al<sup>3</sup> (33% mean improvement 6 months after surgery) or the 2 patients treated by Zittel et al<sup>2</sup> (mild to moderate improvement). Apart from differences in the clinical picture and in DBS parameters, this may be because of the specific *THAP1* mutation. *THAP1* mutations are marked by considerable variability. Their number is steadily growing; in 2009 the first 15 mutations were reported, and by August 2010, another 25 new mutations had been described (list of references limited).<sup>2,3,5-7</sup> Of 8 DBS-treated DYT6 patients, ours<sup>4</sup> is the only one who has the mutation in the first half of exon 2. Four patients<sup>3</sup> have the mutation in the second half of exon 2, 2 patients<sup>2,3</sup> in exon 3, and 1 patient<sup>2</sup> in exon 1. We can only speculate that each exon or its part may influence different properties of the translation product, clinical manifestations, and perhaps also the patient's response to DBS. Therefore, patients with other *THAP1* mutations may improve after GPi-DBS to a similar extent as our patient with SD. We thus believe that in advanced cases of DYT6, deep brain stimulation of GPi should continue being regarded as a method of treatment.

Robert Jech, MD, PhD,<sup>1,2\*</sup> Martin Bareš, MD, PhD,<sup>3</sup>  
Anna Křepelová, MD, PhD,<sup>4</sup> Dušan Urgošik, MD, PhD,<sup>1,2,5</sup>  
Petra Havránková, MD,<sup>1,2</sup> and Evžen Růžička, MD, DSc<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Neurology and Center of Clinical Neuroscience, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Czech Republic; <sup>2</sup>General University Hospital in Prague, Czech Republic;

<sup>3</sup>First Department of Neurology, St. Anne's Hospital, Faculty of Medicine, Masaryk University Brno, Czech Republic; <sup>4</sup>Institute of Biology and Medical Genetics, Second Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Prague, Czech Republic; and <sup>5</sup>Department of Stereotactic and

Radiation Neurosurgery, Na Homolce Hospital,  
Prague, Czech Republic  
\*E-mail: jech@cesnet.cz

## References

- Fuchs T, Gavarini S, Saunders-Pullman R, et al. Mutations in the *THAP1* gene are responsible for DYT6 primary torsion dystonia. *Nat Genet* 2009;41:286-288.
- Zittel S, Moll CK, Biggemann N, et al. Clinical neuroimaging and electrophysiological assessment of three DYT6 dystonia families. *Mov Disord* 2010;25:2405-2412.
- Groen JL, Ritz K, Contarino MF, et al. DYT6 dystonia: Mutation screening, phenotype, and response to deep brain stimulation. *Mov Disord* 2010;25:2420-2427.
- Jech R, Bares M, Urgošik D, et al. Deep brain stimulation in acute management of status dystonicus. *Mov Disord* 2009;24:2291-2292.
- Van Gerpen JA, Ledoux MS, Wszolek ZK. Adult-onset leg dystonia due to a missense mutation in *THAP1*. *Mov Disord* 2010;25:1306-1307.
- Houlden H, Schneider SA, Paudel R, et al. *THAP1* mutations (DYT6) are an additional cause of early-onset dystonia. *Neurology* 2010;74:846-850.
- Bressman SB, Raymond D, Fuchs T, Heiman GA, Ozelius LJ, Saunders-Pullman R. Mutations in *THAP1* (DYT6) in early-onset dystonia: a genetic screening study. *Lancet Neurol* 2009;8:441-446.

## Caudate Glucose Hypometabolism in a Subject Carrying an Unstable Allele of Intermediate CAG<sub>33</sub> Repeat Length in the Huntington's Disease Gene

Huntington's disease (HD) is caused by an abnormal CAG expansion in the huntingtin (*htt*) gene. Current guidelines indicate that individuals with  $\geq 36$  CAG repeats will inevitably develop HD, whereas those with 27-35 CAG

\*Correspondence to: Ferdinando Squitieri, Neurogenetics and Rare Diseases Centre, IRCCS Neuromed, Pozzilli, Italy; squitieri@neuromed.it

Relevant conflicts of interest/financial disclosures: Nothing to report. Full financial disclosures and author roles may be found in the online version of this article.

Published online 2 March 2011 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/mds.23623

## Efficacy of repetitive transcranial magnetic stimulation for the treatment of refractory chronic tinnitus: A randomized, placebo controlled study

Martin Anders<sup>1</sup>, Jana Dvorakova<sup>1</sup>, Lucie Rathova<sup>2</sup>, Petra Havrankova<sup>3</sup>, Petra Pelcova<sup>1</sup>, Manuela Vaneckova<sup>4</sup>, Robert Jech<sup>2</sup>, Martin Holcat<sup>2</sup>, Zdenek Seidl<sup>4</sup>, Jiri Raboch<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Charles University in Prague, First Faculty of Medicine, Department of Psychiatry of the First Faculty of Medicine and General Teaching Hospital, Prague, Czech Republic

<sup>2</sup> Charles University in Prague, First Faculty of Medicine, Department of Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery of the First Faculty of Medicine and Motol Teaching Hospital, Prague, Czech Republic

<sup>3</sup> Charles University in Prague, First Faculty of Medicine, Department of Neurology of the First Faculty of Medicine and General Teaching Hospital, Prague, Czech Republic

<sup>4</sup> Charles University in Prague, First Faculty of Medicine, Department of Radiology of the First Faculty of Medicine and General Teaching Hospital, Prague, Czech Republic

*Correspondence to:* Martin Anders, MD., PhD.  
Charles University in Prague, First Faculty of Medicine, Department of Psychiatry of the First Faculty of Medicine and General Teaching Hospital  
Ke Karlovu 11, Prague 2, 120 00, Czech Republic.  
TEL: +420-2-24965220; FAX: +420-2-24923077; E-MAIL: martin.anders@vfn.cz

*Submitted:* 2009-11-15 *Accepted:* 2009-12-17 *Published online:* 2010-04-28

*Key words:* rTMS; transcranial magnetic stimulation; neuronavigation; chronic refractory tinnitus

Neuroendocrinol Lett 2010;31(2):238-249 PMID: 20424590 NEL310210A01 ©2010 Neuroendocrinology Letters • www.nel.edu

### Abstract

**OBJECTIVE:** The pathophysiologic mechanisms of idiopathic tinnitus remain unclear. Low frequency rTMS applied over the auditory cortex has been proposed as a new and causally oriented treatment approach for pathological conditions with abnormal, increased cortical activity including tinnitus with increased activity in the auditory cortex. However available studies are characterized by a positive reports on the therapeutic effects of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) for treatment of tinnitus, there are few details about the duration of specific treatment effects.

**DESIGN:** The design of the study was randomized, prospective, placebo-controlled. Right-handed patients were treated with either real or sham 1 Hz frequency rTMS over a period of two weeks. Fifty-two patients with chronic, treatment resistant tinnitus and stable medication were enrolled in the study after giving written informed consent and forty-two patients completed the study and were included in data analysis.

**RESULTS:** The ability to reduce the symptoms of tinnitus appeared in both randomized groups immediately after the 1 Hz rTMS and sham stimulation phase. There was a significant reduction in both groups of the tinnitus total score on the Tinnitus Handicap Inventory (THI) (real rTMS  $p=0.005$ ; sham rTMS  $p=0.049$ ) and Tinnitus Questionnaire (TQ) total score (real rTMS  $p=0.003$ ; sham rTMS  $p=0.049$ ). On the THI evaluation scale, in the real rTMS a mild worsening was noted during week 6 in comparison with the state attained in week 2. During the subsequent course of the study a significant reduction of the total score persisted in the case of THI (real rTMS week 14  $p=0.033$  and borderline week 26  $p=0.058$ ).

To cite this article: Neuroendocrinol Lett 2010;31(2):238-249

The reduction of symptoms as evaluated using the TQ was significant compared to baseline in the real rTMS group at week 2, 6 and 14 ( $p=0.003$ ;  $p=0.024$ ;  $p=0.022$ ). The group treated with sham stimulation reached significant reduction of symptoms only at week 2 ( $p=0.049$ ). A comparison of the difference in the recorded values of the total score during follow-up in relation to baseline expressed as a percentage demonstrates the difference in the effect of rTMS and sham stimulation as evaluated by both the basic scales. Graphical analysis of mean patterns of treatment response according to stimulation type shows a similarity between treatment response patterns evaluated by reduction of the total scores using THI and TQ.

**CONCLUSIONS:** The principal finding of this study is that real 1 Hz rTMS treatment was capable of significantly reducing the total baseline score of basic scales that measure tinnitus severity. This result is important as it proves that significant reduction of symptoms can be achieved even in a group of patients with long-term symptoms resistant to pharmacological treatment.

## INTRODUCTION

Subjective tinnitus has been defined as a frequent auditory sensation experienced in the absence of an external or internal acoustic stimulus e.g. without any corresponding mechanical, vibratory activity within the cochlea (Sala 1997). Tinnitus affects about 10–15% of the adult population (Demeester *et al.* 2007) and in about 5% of cases, it has a significant impact on patient's life, affecting sleep, concentration, emotional balance and social life (Rizzardo *et al.* 1998; Langguth *et al.* 2007). It occurs more frequently in men than in women and it is more frequent among Caucasians. The prevalence of this disorder increases with age. Almost 12% of the population between the age of 65–74 years suffers from chronic tinnitus.

Tinnitus is divided into a pulsatile and non-pulsatile type. The pulsatile type has a mechanical cause, e.g. A-V malformations, otitis media, partial stenosis of the cervical artery, abnormalities of Eustachian tube size or clonic contractions of the tensor veli palatini muscle. As the underlying cause of this type of tinnitus is known, it is usually amenable to treatment. This type is further divided into a subjective and objective form. Objective tinnitus can also be heard externally, while subjective tinnitus is heard only by the patient. The non-pulsatile type of tinnitus is caused by disorders of the peripheral or central auditory nervous system. It is always subjective and is difficult to treat using currently available therapeutic methods (Noell & Meyerhoff 2003). To date, the etiology and pathophysiology of the various types of tinnitus have not been comprehensively clarified.

There is increasing evidence from electrophysiological and functional neuroimaging studies that tinnitus results from increased neuronal activity within central

auditory pathways (Moller 2003). It is presumed that tinnitus may be the acoustic manifestation of pathological neuroplastic processes within the brain that develop as a response to abnormal conditions within the auditory apparatus (Moller 2003). Electrophysiological studies conducted in patients suffering from tinnitus (Muhlnickel *et al.* 1998; Langguth *et al.* 2005) as well as data acquired from animal models (Kaltenbach 2000) demonstrate an impairment of the excitation and inhibition equilibrium within the central auditory cortex, which leads to increased spontaneous activity and structural reorganization.

Data collected to date work with the hypothesis that excessive neuronal activity in both cortical and subcortical auditory regions may cause phantom perception of sound in the central nervous system (Arnold *et al.* 1996; Lockwood *et al.* 1998; Giraud *et al.* 1999; Mirz *et al.* 2000). Additional activation of non-auditory cerebral regions, such as the limbic system, indicates that chronic tinnitus and chronic pain are associated at the neuronal level. This potentially explains why tinnitus causes its sufferers significant emotional discomfort. This is why the investigation of other disorders involving similar neuroplastic changes such as e.g. parallel changes following amputation of a limb or experimental deafferentation is gaining in importance in the treatment of tinnitus (Langguth *et al.* 2005).

Recent neuroimaging studies point to a pathologically over-activated, distributed cortical network involving the inferior colliculus (Melcher *et al.* 2000), the thalamus (Reyes *et al.* 2002) and the primary auditory cortex (Arnold *et al.* 1996; Mirz *et al.* 1999; Lockwood *et al.* 1999). The pathophysiological importance of this network has been demonstrated by transient suppression of tinnitus after high frequency rTMS to the temporoparietal cortex (Plewnia *et al.* 2003; De Ridder *et al.* 2005).

Analysis of available clinical studies shows that we currently lack a well-established and fully efficient treatment leading to the long-term reduction of tinnitus. Experience is being sought using various procedures and pharmacological interventions (Dobie 1999; Jalali *et al.* 2009; She *et al.* 2009).

Transcranial magnetic stimulation (TMS) is a non-invasive means of inducing electric current in stimulated brain regions. Repetitive e.g. oscillating transcranial magnetic stimulation (rTMS) can induce alterations of neuronal activity that outlast the actual stimulation period for a considerable amount of time. This method has been experimentally tested in a range of neuropsychiatric disorders, especially in depression alone or associated with a somatic comorbidity (Langguth *et al.* 2005; Langguth *et al.* 2007). A subtype low-frequency ( $\leq 1$  Hz) rTMS is known to reduce neuronal activity in directly stimulated brain regions (Chen *et al.* 1997; Siebner *et al.* 2003) and in structurally connected remote brain regions (May *et al.* 2007). Low frequency rTMS has been proposed as a new and causally oriented

treatment approach for pathological conditions with increased cortical activity (Hoffman & Cavus 2002), including auditory hallucinations in schizophrenia with increased activity in the auditory cortex (review see Zaman *et al.* 2008). Based on the premise that maladaptive cortical reorganization may promote tinnitus, several investigators have studied the effect of slow rTMS on tinnitus (Kleinjung *et al.* 2005; Plewnia *et al.* 2003; De Ridder *et al.* 2005) and they have shown that low frequency rTMS applied over the auditory cortex can ameliorate it, at least temporarily. This suggests that rTMS may inhibit abnormal cortical activity associated tinnitus.

## PATIENT POPULATION AND METHODS

### *Patients*

Study participants were recruited amongst outpatients seeking treatment at the Department of Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery of the First Faculty of Medicine and Motol Teaching Hospital, Charles University in Prague from June 2006 to December 2008. All participants were enrolled after having signed the study informed consent that had been approved by the Ethics Committee of the General Teaching Hospital Prague (April 2004, registration number of the Ethics Committee of The Office for Human Research Protections at the U.S. Dept. of Health and Human Services IRB00002705 and General Teaching Hospital IORG0002175) in accordance with the Helsinki declaration.

Inclusion criteria were: right handedness as assessed by Annett's questionnaire (Annett 1970), female and male subjects aged 18 to 70 years naïve with regards to rTMS, written informed consent, unilateral or bilateral tinnitus according to the International Classification of Diseases (ICD-10) 10th Revision (H 93.1) of at least 6 months duration, pharmacological treatment for at least 3 months without significant clinical response, identical doses of current pharmacological treatment for at least 6 weeks, age-adjusted normal sensorineural hearing determined by audiogram within the last 6 weeks before start of study, i.e. no more than 5 dB below the 10% percentile (DIN EN ISO 7029) of the appropriate age and gender group in all measured standard frequencies, a normal neurological exam and normal cranial magnetic resonance imaging finding. Normal middle ear status was demonstrated by tympanometry, stapedius reflex tests and otoscopy.

Exclusion criteria were: concurrent other forms of tinnitus treatments, a history of neuropsychiatric disorder (personal or family history of epilepsy, documented abnormal EEG, intracranial hypertension, history of dizziness, significant head injury, stroke, aneurysm, brain malformation, neurodegenerative disorder affecting the brain, previous cranial neurosurgery, presence of acoustic neuroma, glomus tumor, brain tumor, profound hearing loss >90 dB threshold at 4 000 Hz or active Menière disease), pacemaker and other metal implants,

implanted medication pump, pregnancy, lactation, presence of other significant medical condition (neuroendocrine, cardiovascular, cerebrovascular, systemic autoimmune diseases), concomitant psychotropic medication or medication that lowers seizure threshold (tricyclic antidepressants or bupropion) or reduces cortical excitation (anticonvulsants, benzodiazepines or other sedatives). All patients also underwent a psychiatric examination by an experienced psychiatrist to exclude patients suffering from clinically relevant concomitant axis I psychiatric disorders according to ICD-10 (especially diagnosis groups F 1-4 according to ICD-10: affective and anxiety disorders, psychoactive substances dependency including alcohol and psychotic disorders). Also excluded were patients unable to fulfill the study requirements and those unable to communicate reliably with the investigators or those unlikely to cope with the trial requirements. Participation in a clinical trial within the last 30 days before starting this trial was also an exclusion criterion.

Amongst the 124 patients who were screened for inclusion in the study, 52 met the selection criteria (see Figure 1). Three patients withdrew consent before beginning treatment. Fifty-two patients were enrolled in the study after giving written informed consent. Patients were randomized (1:1) to receive either active (N=26) or sham stimulation (N=26). In the group of real rTMS, 4 patients withdrew during the course of treatment. Two of these patients experienced a worsening of tinnitus during the initial phase; one woman could not withstand the pain at the site of stimulation and the unpleasant twitching of the masseter muscle; one man withdrew prematurely in the first week of stimulation because of headache. A total of 6 patients withdrew in the group of sham rTMS treatment. The main reason for their withdrawal was a perceived lack of efficacy at the end of the first week of treatment in the case of 3 patients; headache in the case of 2 patients; one patient did not return after two applications for unknown reasons.

Forty-two patients completed the study and were included in data analysis. The real rTMS group (study completed by 22 patients, Table 1) consisted of 10 women/12 men; tinnitus laterality 6right/3left/13bilateral; tinnitus duration 106.8±81.6 months.

The sham rTMS group (study completed by 20 patients, Table 1) consisted of 3women/17men; tinnitus laterality 2right/4left/14bilateral; tinnitus duration 88.4±67.5 months.

### *Study design and tinnitus rating: Repetitive TMS procedures and placebo conditions*

After screening, written informed consent, baseline assessments and randomization, patients underwent structural magnetic resonance imaging. The Brain-sight-Frameless neuronavigation system (Magstim Company Ltd., Whitland, UK) based on frameless

Tab. 1. Descriptive statistics of the age of study completers (N=42) divided into the real treatment group (V) (N=22) and the sham treatment group (S) (N=20).

AGE			
V	N	Valid	22
		Missing	0
	Mean		48.09
	Median		51.50
	Mode		58
	Std. Deviation		14.86
	Minimum		20
	Maximum		69
S	N	Valid	20
		Missing	0
	Mean		50.05
	Median		56.00
	Mode		33 <sup>a</sup>
	Std. Deviation		13.97
	Minimum		27
	Maximum		66

<sup>a</sup> Multiple modes exist. The smallest value is shown

stereotaxy allowed navigation of the coil on the surface of the skull over the auditory cortex (Brodmann area 41 and 42) according to individual structural MRI data (T1-weighted, 1.5-T system, Gyroscan NT, Philips Medical Systems, Shelton, CT).

The resting motor threshold was determined at the beginning of the study as the minimal intensity that produced motor-evoked potentials of at least 50  $\mu$ V in the right abductor pollicis brevis muscle in five of ten stimulations. This procedure was taken as the first step of the stimulation process in all randomized patients.

The design of the study was prospective placebo-controlled. Patients were treated with either real or sham low frequency rTMS over a period of two weeks. Repetitive TMS was administered according to current safety guidelines (Wassermann 1998). The Magstim Super Rapid (Magstim Company Ltd., Whitland, UK) stimulator was used for stimulation. Active and sham rTMS was delivered through a figure-eight coil. Sham stimulation was carried out by tilting the coil 45° away from the skull with one wing touching the skull. The treatment group received real stimulation, 2  $\times$  5 sessions, 1 Hz rTMS, stimulation intensity 110% of the individual resting motor threshold, 1500 stimuli per session, coil position over the left primary auditory

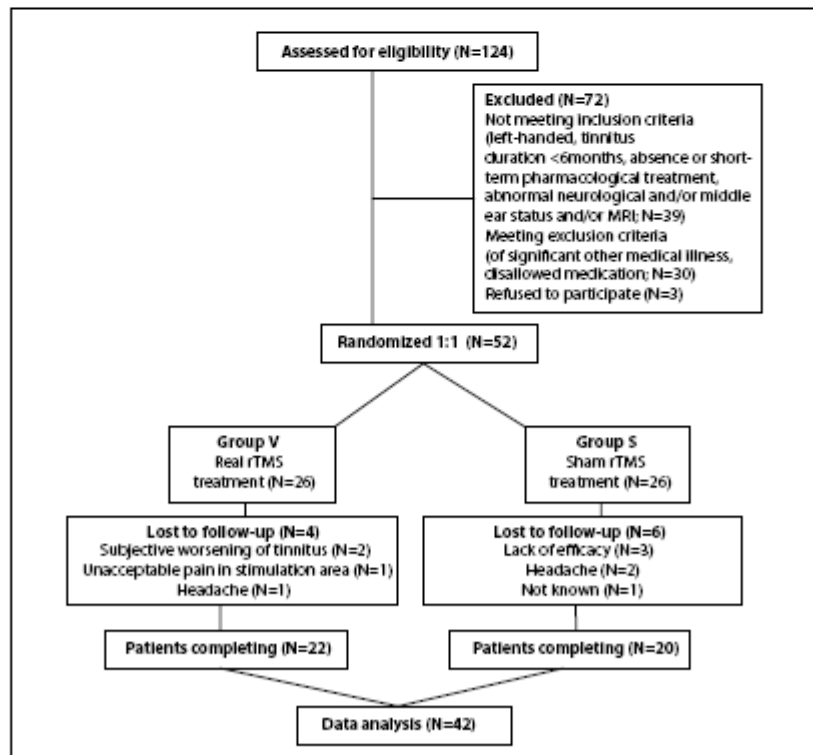


Fig. 1. Study flow chart.

cortex (Brodmann areas 41 and 42) localized and marked by a water-resistant pen during Brainsight stereotaxy navigation session. Patients were enrolled in the study on Monday and received five sessions of rTMS on five consecutive business days.

The control group received sham stimulation by distortion of the magnetic coil 45° away from the skull with one wing touching the skull. The placement, coil position and stimulation parameters were as in the treatment group. In both groups, low frequency rTMS was administered over the left auditory cortex regardless of tinnitus laterality. During both types of treatments, the coil was held by a mechanical arm and the correct position was periodically adjusted by a physician who was present during the stimulation session.

A blinding design was applied, whereby patients and raters were blind to treatment conditions. All patients were naive regarding rTMS treatment and were not informed about the technical details of specific rTMS applications. The investigators performing all other assessments were experienced physicians, not involved in the rTMS treatment of the patients and not present during the rTMS procedures. Self-rating instruments were used for assessment.

The aim of the trial was to evaluate the efficacy of 1 Hz rTMS in the treatment of tinnitus. Based on previous findings, we hypothesized that two weeks of active treatment are more efficient for alleviating symptoms than sham treatment. Changes in the Tinnitus Handicap Inventory (Newman *et al.* 1996), the Goebel Hiller tinnitus questionnaire (Goebel & Hiller 1994) and the self rating Visual Analogue Scale (see hereinafter) were used to evaluate the efficacy of real rTMS versus sham rTMS in the treatment of chronic, treatment resistant tinnitus. Another focus of the study was the investigation of the potentially lasting effect of rTMS.

Tinnitus severity was assessed before treatment (baseline), at the end of treatment (week 2) and during the follow-up period of 26 weeks after rTMS treatment (weeks 6, 14, 26) by using the Tinnitus Handicap Inventory and Goebel & Hiller tinnitus questionnaire. Subjects were also asked to rate two Visual Analogue Scales (VAS). The first instruction (VAS1) was "Please, indicate the current severity of your tinnitus. Scale 0 = completely insignificant problem to 10 = currently the most serious problem of my life".

The second (VAS2) was "How does your tinnitus disrupt your routine daily activities (work, caring for yourself, rest, hobbies, fun)? 0- no disruption at all.....10-disrupts them quite seriously".

#### Data analysis

SPSS software version 15 was used for statistical analysis. The level of significance was set at 0.05 for all cases. As data collection did not meet the criteria for normal distribution, nonparametric tests were applied for statistical difference assessment and comparison of groups. Groups were created with respect to the type of treat-

ment (active stimulation – STIM(V) versus sham stimulation –SHAM(S)), assessment method and the time of assessment (B-baseline, V1–V4 – follow-up period 26 weeks).

## RESULTS

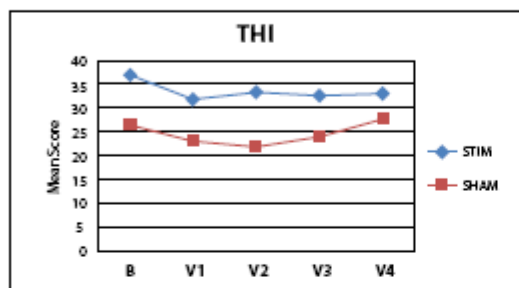
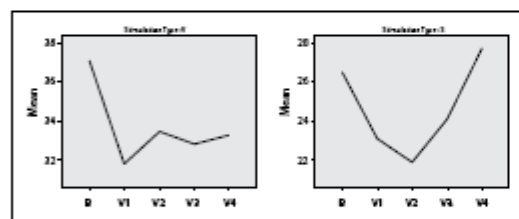
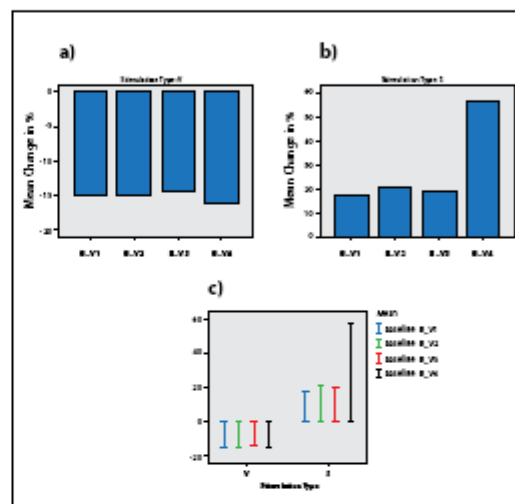
In the group actively treated with 1 Hz rTMS, two patients withdrew during the stimulation phase due to worsening of tinnitus, one patient withdrew due to headache and one woman withdrew due to pain at the site of stimulation and unpleasant, unbearable contractions of the neck muscles on the stimulated side. In the actively treated group, we recorded in completers during the stimulation phase transitory headache, mild tongue paresthesia, transient worsening of tinnitus and changes in quality of sleep. In the group treated with sham stimulation, the spectrum of side effects during the stimulation phase was very similar: two patients withdrew because of headache, but three patients terminated the study after one week because of a perceived lack of efficacy. In those who completed the sham stimulation phase of the study, we noted during the course of the study mild headache (which did not require pharmacological treatment), transient worsening of tinnitus and changes in the quality of sleep. None of the patients developed seizures or other serious side-effects.

The ability to reduce the symptoms of tinnitus appeared in both randomized groups immediately after the 1 Hz rTMS and sham stimulation phase (week 2). There was a significant reduction in both groups of the tinnitus total score on the Tinnitus Handicap Inventory and the 52-items Tinnitus Questionnaire modified by Goebel & Hiller (THI group V  $p=0.005$ ; THI group S  $p=0.049$ ; Goebel Glob group V  $p=0.003$ , Goebel Glob group S  $p=0.049$ ). On the THI evaluation scale, in the real rTMS group, a mild worsening was noted during week 6 in comparison with the state attained in week 2. During the subsequent course of the study, though, a significant reduction of the total score persisted in the case of THI (THI group V, week 14  $p=0.033$  and borderline week 26  $p=0.058$ ). The reduction of symptoms as evaluated using the Tinnitus Questionnaire modified by Goebel & Hiller was significant compared to baseline in the real rTMS group at week 2, 6 and 14 ( $p=0.003$ ;  $p=0.024$ ;  $p=0.022$ ). The group treated with sham stimulation reached significant reduction of symptoms only at week 2 ( $p=0.049$ ) i.e. immediately upon completion of the stimulation phase (Figure 2, Table 2, Figure 5, Table 3). A comparison of the difference in the recorded values of the total score during follow-up in relation to baseline expressed as a percentage demonstrates graphically the difference in the effect of rTMS and sham stimulation as evaluated by both the basic scales (Figure 4, Figure 7). Graphical analysis of mean patterns of treatment response according to stimulation type shows a similarity between treatment response patterns evalu-

**Tab. 2.** Tinnitus Handicap Inventory total score (mean±standard deviation): comparison of baseline and week 2, week 6, week 14 and week 26 according to stimulation type (V-real stimulation, S-sham stimulation; B-baseline, V1-week 2, V2-week 6, V3-week 14, V4-week 26).

	B	p-value	V1	p-value	V2	p-value	V3	p-value	V4
<b>V</b>									
THI Total	37.09±21.7	0.005	31.82±22.9	0.084	33.45±24.5	0.033	32.82±22.9	0.058	33.27±21.6
<b>S</b>									
THI Total	26.5±20.4	0.049	23.1±19.5	0.074	21.9±19.6	0.125	24.1±22.3	0.293	27.7±23.2

Wilcoxon Signed Ranks Test

**Fig. 2.** Tinnitus Handicap Inventory (THI) mean total score in the 22 patients treated with real stimulation (STIM) and the 20 patients treated with sham stimulation (SHAM) who completed the study (B-baseline, V1-week 2, V2-week 6, V3-week 14, V4-week 26).**Fig. 3.** Tinnitus Handicap Inventory graphical analysis of mean patterns of treatment response according to stimulation type (Stimulation type V – real stimulation; Stimulation type S – sham stimulation; B-baseline, V1-week 2, V2-week 6, V3-week 14, V4-week 26).**Fig. 4.** a)b): Mean percentage change according to the Tinnitus Handicap Inventory baseline total score (Stimulation type V – real stimulation; Stimulation type S – sham stimulation; B-baseline, B\_V1-baseline vs. week 2, B\_V2-baseline vs. week 6, B\_V3-baseline vs. week 14, B\_V4-baseline vs. week 26). c) A figure showing the calculated upper and lower values (%) for each set of data points, so that two values are displayed graphically for each set. In this case 0% represents the baseline while the other values represent each follow-up change (V1-V4) expressed in percent.

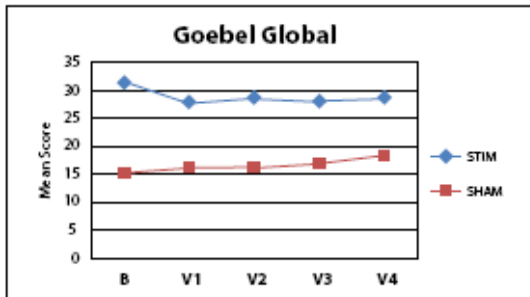
ated by reduction of the total scores using THI and the Tinnitus Questionnaire modified by Goebel & Hiller (Figure 3, Figure 6).

Whereas the total score of the Tinnitus Questionnaire modified by Goebel & Hiller is the sum of items, this instrument also allows the computation of subscales. The most relevant of these include tinnitus associated emotional distress, intrusiveness and audition. Within the emotional distress subscale (Figure 8, Table 4), we observed a reduction of the subscale score in the real rTMS group during follow-up. Active treatment significantly reduced baseline scores at week 2 ( $p=0.013$ ), week

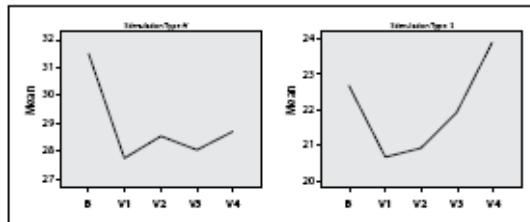
6 ( $p=0.041$ ) and week 14 ( $p=0.036$ ). Sham treatment demonstrated this ability at week 2 ( $p=0.015$ ). These findings are also supported by the graphical analysis of mean patterns of treatment response (Figure 9). Within the intrusiveness subscale (Figure 10), we observed a modest reduction of the subscale score in the real rTMS group during follow-up. This sub score was significantly reduced in the real rTMS group at week 6 ( $p=0.021$ ), week 14 ( $p=0.032$ ) and week 26 ( $p=0.045$ ). Sham treatment significantly reduced this subscale score at week 2 ( $p=0.043$ ), with no significant effect during weeks 6, 14 and 26 (Table 5, Figure 11).

**Tab. 3.** Tinnitus Questionnaire modified by Goebel & Hiller (Goebel Glob) total score (mean±standard deviation): comparison of baseline and week 2, week 6, week 14, week 26 according to stimulation type (V-real stimulation, S-sham stimulation; B-baseline, V1-week 2, V2-week 6, V3-week 14, V4-week 26).

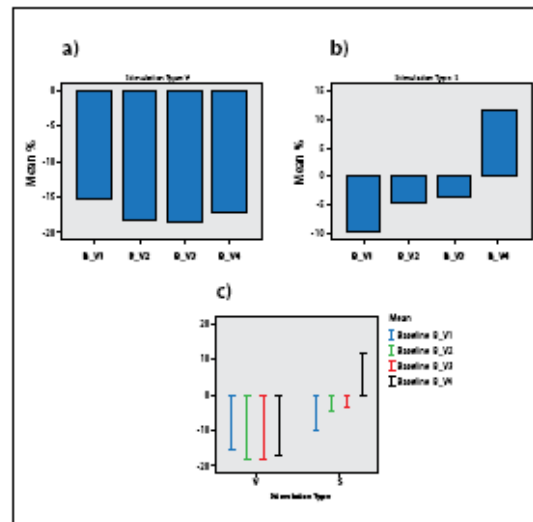
	B	p-value	V1	p-value	V2	p-value	V3	p-value	V4
V									
Goebel Glob	31.50±16.28	0.003	27.77±17.51	0.024	28.55±18.30	0.022	28.05±17.94	0.096	28.73±18.74
S									
Goebel Glob	22.65±15.13	0.049	20.65±16.28	0.084	20.9±16.23	0.273	21.9±16.87	0.487	23.9±18.41



**Fig. 5.** Tinnitus Questionnaire modified by Goebel & Hiller (Goebel Global) total score: mean total score in the 22 patients treated with real stimulation (STIM) and the 20 patients receiving sham stimulation (SHAM) all of whom completed the study (B-baseline, V1-week 2, V2-week 6, V3-week 14, V4-week 26)..



**Fig. 6.** Tinnitus Questionnaire modified by Goebel & Hiller: graphical analysis of mean patterns of treatment response according to stimulation type (Stimulation type V – real stimulation; Stimulation type S – sham stimulation; B-baseline, V1-week 2, V2-week 6, V3-week 14, V4-week 26).



**Fig. 7.** a) Mean percent change according to baseline Tinnitus Questionnaire modified by Goebel & Hiller total score (Stimulation type V – real stimulation; Stimulation type S – sham stimulation; B\_V1- baseline vs. week 2, B\_V2- baseline vs. week 6, B\_V3- baseline vs. week 14, B\_V4-baseline vs. week 26). b) Mean percent change according to baseline Tinnitus Questionnaire modified by Goebel & Hiller total score (Stimulation type V – real stimulation; Stimulation type S – sham stimulation; B\_V1- baseline vs. week 2, B\_V2- baseline vs. week 6, B\_V3- baseline vs. week 14, B\_V4-baseline vs. week 26). c) A figure showing the calculated upper and lower values (%) for each set of data points, so that two values are displayed graphically for each set. In this case 0% represents the baseline while the other values represent each follow-up change (V1-V4) expressed in percent..

We did not observe any significant reduction for the audition subscale (Figure 12, Table 6) in either the real or sham treatment groups. Graphical analysis of mean patterns of treatment response shows a progressive worsening trend for this subscale in the sham group (Figure 13)

During the study, we did not record any significant changes in the evaluated Visual analogue scale – VAS1 (0–100 points), which studies the perceived severity of tinnitus (Table 7). In the actively treated group, there was a slight decrease in the total VAS1 score, which

continued until week 26, while in the sham treatment group the subjective perception of tinnitus severity rose from week 26.

Similarly, no significant changes compared to baseline were recorded in the Visual analogue scale – VAS2 (0–100 points), which studies the disruption of routine daily activities (Table 8). Graphical analysis of mean patterns shows congruency between VAS1 and VAS2 in the real treatment group but incongruence in the sham treatment group.



Tab. 4. Tinnitus Questionnaire modified by Goebel & Hiller; emotional distress dimension mean subscore (mean±standard deviation): comparison of baseline and week 2, week 6, week 14, week 26 according to stimulation type (V-real stimulation, S-sham stimulation; B-baseline, V1-week 2, V2-week 6, V3-week 14, V4-week 26).

	B	p-value	V1	p-value	V2	p-value	V3	p-value	V4
<b>V</b>									
Goebel E	8.32±4.92	0.013	7.32±5.0	0.041	7.235±5.12	0.036	7.05±5.21	0.092	7.36±5.70
<b>S</b>									
Goebel E	6.05±4.39	0.015	5.10±4.64	0.128	5.25±4.59	0.168	5.55±4.97	0.45	6.25±5.81

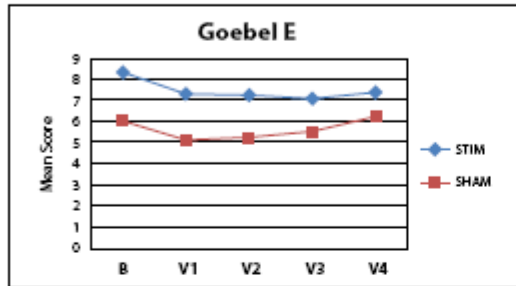


Fig. 8. Tinnitus Questionnaire modified by Goebel & Hiller: emotional distress dimension (Goebel E) mean subscore (maximum 24 points) in the 22 patients treated by real stimulation (STIM) and the 20 patients receiving sham stimulation (SHAM) all of whom completed the study (B-baseline, V1-week 2, V2-week 6, V3-week 14, V4-week 26).

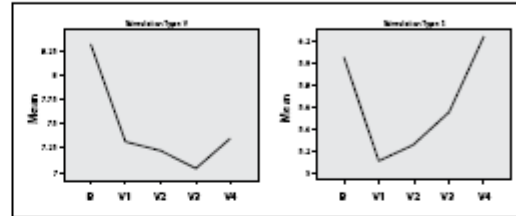


Fig. 9. Tinnitus Questionnaire modified by Goebel & Hiller emotional distress dimension: graphical analysis of mean patterns of treatment response according to stimulation type (Stimulation type V – real stimulation; Stimulation type S – sham stimulation; B-baseline, V1-week 2, V2-week 6, V3-week 14, V4-week 26).

Tab. 5. Tinnitus Questionnaire modified by Goebel & Hiller; intrusiveness dimension mean subscore (mean±standard deviation): comparison of baseline and week 2, week 6, week 14, week 26 according to stimulation type (V-real stimulation, S-sham stimulation; B-baseline, V1-week 2, V2-week 6, V3-week 14, V4-week 26).

	B	p-value	V1	p-value	V2	p-value	V3	p-value	V4
<b>V</b>									
Goebel I	8.59±4.63	0.084	7.77±4.89	0.021	7.55±5.04	0.032	7.59±4.88	0.045	7.41±4.88
<b>S</b>									
Goebel I	7.40±3.66	0.043	6.65±3.71	0.147	6.85±3.81	0.084	6.70±3.82	0.205	7.10±3.87

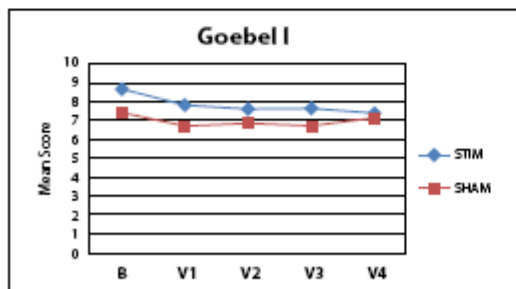


Fig. 10. Tinnitus Questionnaire modified by Goebel & Hiller: intrusiveness dimension (Goebel I) mean subscore (maximum 16 points) in the 22 patients treated with real stimulation (STIM) and the 20 patients receiving sham stimulation (SHAM) all of whom completed the study (B-baseline, V1-week 2, V2-week 6, V3-week 14, V4-week 26).

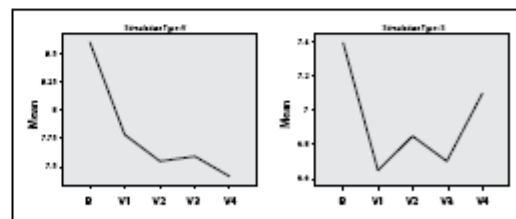


Fig. 11. Tinnitus Questionnaire modified by Goebel & Hiller intrusiveness dimension: graphical analysis of mean patterns of treatment response according to stimulation type (Stimulation type V – real stimulation; Stimulation type S – sham stimulation; B-baseline, V1-week 2, V2-week 6, V3-week 14, V4-week 26).

## DISCUSSION

The principal finding of this study is that real 1 Hz rTMS treatment was capable of significantly reducing the total baseline score of basic scales that measure tinnitus severity, namely in the case of patients with an average age of 50 suffering from tinnitus for an average duration of nearly nine years and who moreover did not respond to prior pharmacological treatment administered for at least three months before randomization. A similar conclusion applies to some of the subscales dealing with specific dimensions of patient tinnitus symptoms. This result is important as it proves that significant reduction of symptoms can be achieved even in a group of patients with long-term symptoms resistant to pharmacological treatment.

As to duration of the effect following stimulation, we may summarize that the positive effect evaluated using the various scales is chronologically limited and that persistence of significant differences during follow-up visits vs. baseline in our study is limited in the case of the most positively affected parameters up to week 14, including the emotional distress dimension (depression, anger, irritability, anxiety) subscale of the Tinnitus Questionnaire modified by Goebel & Hiller. This long-term improvement cannot be attributed to a placebo response, but rather to the true effect of rTMS on reducing the activity of the stimulated region as well as on neuroplasticity and its effect on other brain structures. The intrusiveness dimension (consisting of symptoms such as continuous focusing on tinnitus, difficulties concentrating) subscale of the Tinnitus Questionnaire modified by Goebel & Hiller remained significantly decreased up to week 26. The intervention, though, practically failed to influence the audition dimension (perceptual difficulties, hearing problems in demanding social situations) subscale of the Tinnitus Questionnaire modified by Goebel & Hiller. It could thus be assumed that the effect of this treatment lies primarily in its impact on items coming under the emotional distress and intrusiveness subscale. Impact on the audition subscale, which already demonstrates low values at baseline, is practically nil during follow-up. Thus, in the actively treated group, there is a significant reduction of emotional distress and intrusiveness, but active treatment fails to impact on the audition subscale.

The situation differs in the sham group, where we observed a significant response in the THI total score, the Tinnitus Questionnaire modified by Goebel & Hiller total score and the intrusiveness dimension subscale of the Tinnitus Questionnaire modified by Goebel & Hiller only immediately after stimulation (week 2) but not during the follow-up phase. Though we recorded a significant reduction of emotional distress at week 2, at the end of the study patients evaluated this parameter as being worse than at baseline. This placebo reaction surely involves factors related to patient selection

for similar studies. These are patients who have been unsuccessfully treated with pharmacotherapy, whose symptoms persist or even worsen in time, patients who have suffered disappointment and often harbor excessive expectations. Treatment motivation and acceptance can be a crucial point in the psychological and also biological intervention for tinnitus sufferers. During stimulation, there is an increase in the feeling of subjective control for 12 days, a sense of "being treated" and of "doing something" with the illness and "fighting it". At the same time, there is intense contact with the physician and the patient has a tendency to conduct a dialogue regarding his/her complaints (psychotherapy). Within the study, patients receive greater attention than is common under conditions of routine care in outpatient clinics. This may explain the significant reduction of scores at week 2 in our sham group. It may be stated that despite the primarily expected degree of placebo response, we found significant changes only immediately following stimulation.

We were unable to demonstrate neither in the real nor in the sham group any changes in the subjective perception of tinnitus using the Visual analogue scale (VAS1) or any influence on daily activities (VAS2). It is probable that these questions are too unspecific, too general and thus we will no longer use them in further studies.

Our results converge with previous studies suggesting that low-frequency rTMS can positively reduce tinnitus perception in some patients, at least temporarily. Some authors demonstrated a positive effect in approximately one half of patients with tinnitus treated with single sessions of rTMS (De Ridder *et al.* 2005). Similarly, further double blind studies (Kleinjung *et al.* 2005; Marcondes *et al.* 2010) have shown that slow frequency rTMS administered for five consecutive days could have a significant effect on tinnitus that persists up to 6 months after treatment. Our results rather correspond to the findings of the Smith *et al.* 2007 study. This study found that a response to active (but not sham) rTMS occurred in all actively treated patients, but tinnitus returned in all patients within four weeks following active treatment. The authors also conclude that there was a significant increase in the reaction time and that it is unclear whether the improved reaction times were caused by tinnitus reduction or a general effect of rTMS. It may thus be presumed, and this is confirmed by our results, that the duration of active treatment efficacy is limited in time and the maximally achieved effect decreases at a certain interval from the study stimulation phase. It will be necessary to consider developing a protocol of maintenance treatment for suitable patients. One case report showed that it is feasible to use maintenance rTMS to manage chronic tinnitus (Mennemeier *et al.* 2008).

Our study is limited due to many restrictions. We did not use PET imaging (financial aspects and accessibility in the Czech Republic) or functional magnetic

Tab. 6. Tinnitus Questionnaire modified by Goebel & Hiller; audition dimension mean subscore (mean±standard deviation): comparison of baseline and week 2, week 6, week 14, week 26 according to stimulation type (V-real stimulation, S-sham stimulation; B-baseline, V1-week 2, V2-week 6, V3-week 14, V4-week 26).

	B	p-value	V1	p-value	V2	p-value	V3	p-value	V4
<b>V</b>									
Goebell	4.82±3.77	0.067	4.18±3.23	0.129	4.45±3.63	0.105	4.27±3.12	0.325	4.50±3.46
<b>S</b>									
Goebell	2.70±3.13	0.471	2.70±3.70	0.261	2.90±3.41	0.154	3.15±3.26	0.167	3.30±3.51

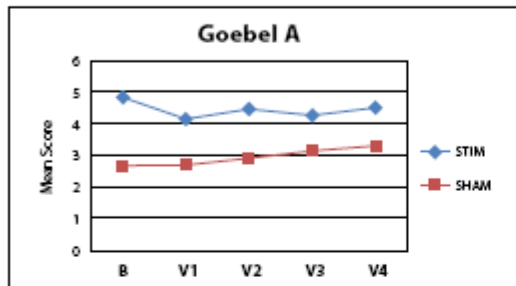


Fig. 12. Tinnitus Questionnaire modified by Goebel & Hiller; audition dimension (Goebel A) mean subscore (maximum 14 points) in the 22 patients treated by real stimulation (STIM) and the 20 patients receiving sham stimulation (SHAM) all of whom completed the study (B-baseline, V1-week 2, V2-week 6, V3-week 14, V4-week 26).

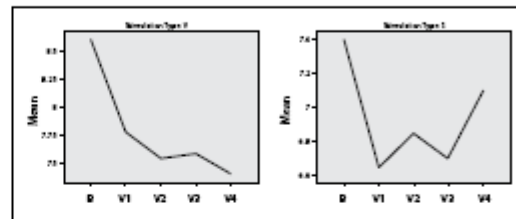


Fig. 13. Tinnitus Questionnaire modified by Goebel & Hiller audition dimension: graphical analysis of mean patterns of treatment response according to stimulation type (Stimulation type V – real stimulation; Stimulation type S – sham stimulation; B-baseline, V1-week 2, V2-week 6, V3-week 14, V4-week 26).

Tab. 7. Visual analogue scale (0–100 points) (VAS1) mean score (mean±standard deviation): comparison of baseline and week 2, week 6, week 14, week 26 according to stimulation type (V-real stimulation, S-sham stimulation; B-baseline, V1-week 2, V2-week 6, V3-week 14, V4-week 26).

	B	p-value	V1	p-value	V2	p-value	V3	p-value	V4
<b>V</b>									
VAS1	55.73±26.72	0.068	51.45±27.78	0.07	50.95±27.48	0.315	51.95±29.13	0.127	49.55±29.24
<b>S</b>									
VAS1	36.11±23.54	0.237	33.95±21.82	0.504	35.84±17.85	0.422	37.21±19.45	0.255	39.89±20.22

Tab. 8. Visual analogue scale (0–100 points) (VAS2) mean score (mean±standard deviation): comparison of baseline and week 2, week 6, week 14, week 26 according to stimulation type (V-real stimulation, S-sham stimulation; B-baseline, V1-week 2, V2-week 6, V3-week 14, V4-week 26).

	B	p-value	V1	p-value	V2	p-value	V3	p-value	V4
<b>V</b>									
VAS2	41.00±25.91	0.28	40.14±25.28	0.195	39.55±27.09	0.347	42.27±29.85	0.382	41.32±31.10
<b>S</b>									
VAS2	26.16±23.06	0.214	26.15±25.02	0.193	27.55±19.48	0.397	28.40±21.40	0.331	28.60±23.45

resonance imaging in order to determine the exact localization of asymmetric metabolic activity. Rather, we localized BA 41 and 42 according to anatomical conditions. It would certainly be interesting to determine the exact localization of metabolic hyperactivity, especially in our sample that included individuals with variously localized tinnitus (left, right and bilateral localized tinnitus).

We used the 1 Hz stimulation protocol at the typical localization of BA 41, 42 in our active treatment. Lately, though, there have been reports regarding the efficacy of combined temporal and prefrontal rTMS (1 Hz over auditory cortex vs. 20 Hz over DLPFC and then 1 Hz over auditory cortex), which confirm that functional abnormalities in tinnitus patients also involve brain structures used for attentional and emotional processing, such as the dorsolateral prefrontal cortex (Kleinjung *et al.* 2008). One recent study (Khedr *et al.* 2009) observed an efficacy of ten days of 1 Hz, 10 Hz, 25 Hz rTMS over the temporoparietal cortex, with some patients showing a lasting benefit at 1 year after 10 days of rTMS treatment.

Although we analyzed the results for the whole groups, we are aware that patient age plays a role and that it would be appropriate to divide the sample into age clusters. Similarly, we could, naturally in the case of a larger sample of probands, analyze the groups according to tinnitus severity or to the average disease duration. Data regarding the extent of response in these subgroups are either few or completely lacking. Some authors recommend that a stable baseline of tinnitus be established before starting a clinical trial. Scoring and rating should also be conducted daily, as relying on pre-experiment and post-experiment measurements may fail to detect real changes that occur during the course of the study. The most likely reason for pretreatment and post-treatment measurements failing to detect change was that tinnitus returned shortly after treatment was concluded (Smith *et al.* 2007).

Another limitation that frequently occurs in similar studies is the control conditions. Although sham stimulation takes place under the same laboratory conditions and the sham positioning of the coil is accompanied by the typical sound of active stimulation, it lacks the somatosensory sensation. Some authors are attempting to verify this original placebo condition (Rossi *et al.* 2007) and have shown that the rTMS effect on tinnitus is not mediated by somatosensory stimulation. We believe that subjects can easily distinguish the difference between real and sham stimulation, especially during stimulation of the temporal region, which strongly biases their judgments regarding eventual clinical benefits. In our study, we did not examine whether patients, who were all naïve for rTMS, identified the active or sham method of treatment.

In summary, our study of rTMS in patients suffering from chronic tinnitus confirms earlier studies by demonstrating tinnitus reduction after active rTMS treat-

ment but not after sham rTMS. An important, clinically significant fact emerging from our study is that the effect of real rTMS treatment persisted for 3 months of follow-up assessment. It is thus necessary to seek a further optimal chronological design of the stimulation protocol, especially in the group of patients with clinical characteristics similar to those of the patients included in our sample.

## ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by research grants IGA MZČR NR/8805-4 and MSM 0021620849. We especially thank Berthold Langguth (Department of Psychiatry and Psychotherapy, University of Regensburg, Interdisciplinary Tinnitus Clinic, University of Regensburg, Regensburg 93053, Germany) for his advice and helpful communication during all phases of this study.

## REFERENCES

- 1 Annett M. (1970). A classification of hand preference by association analysis. *British Journal of Psychology*. 61:303-321.
- 2 Arnold W, Bertenstein P, Oestreicher E, Romer W, Schwaiger M. (1996). Focal metabolic activation in the predominant left auditory cortex in patients suffering from tinnitus: a PET study with [<sup>18</sup>F]deoxyglucose. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*. 58: 159-199.
- 3 De Ridder D, Verstraeten E, Van der Kelen K, De Mulder G, Sunaert S, Verlooy J, Van de Heyning P, Moller A. (2005). Transcranial magnetic stimulation for tinnitus: influence of tinnitus duration on stimulation parameter choice and maximal tinnitus suppression. *Otol Neurotol*. 26: 616-619.
- 4 De Ridder D, Verstraeten E, Van der Kelen K, De Mulder G, Sunaert S, Verlooy J, Van de Heyning P, Moller A. (2005). Transcranial magnetic stimulation for tinnitus: influence of tinnitus duration on stimulation parameter choice and maximal tinnitus suppression. *Otol Neurotol*. 26: 616-619.
- 5 Demeester K, van Wieringen A, Hendrickx JJ, Topsakal V, Franssen E, Van Laer L, De Ridder D, Van Camp G, Van de Heyning P. (2007). Prevalence of tinnitus and audiometric shape. *B-ENT*. 3(Suppl7): 37-49.
- 6 Dobie RA. (1999). A review of randomized clinical trials in tinnitus. *Laryngoscope*. 109: 1202-1211.
- 7 Giraud AL, Chéry-Croze S, Fischer G, Fischer C, Vighetto A, Grégoire MC, Lavenne F, Collet L. (1999). A selective imaging of tinnitus. *Neuroreport*. 10: 1-5.
- 8 Goebel G, Hiller W. (1994). Tinnitus-Fragebogen (TF). *HNO*. 42: 166-72.
- 9 Hoffman RE, Cavus I. (2002). Slow transcranial magnetic stimulation, long-term depotentiation, and brain hyperexcitability disorders. *Am J Psychiatry*. 159: 1093-1102.
- 10 Chen R, Classen J, Gerloff C, Celnik P, Wassermann EM, Hallett M, Cohen LG. (1997). Depression of motor cortex excitability by low-frequency transcranial magnetic stimulation. *Neurology*. 48: 1398-1403.
- 11 Jalali MM, Kousha A, Naghavi SE, Soleimani R, Banan R. (2009). The effects of alprazolam on tinnitus: a cross-over randomized clinical trial. *Med Sci Monit*. 15(11): P155-60.
- 12 Kaltenbach JA. (2000). Neurophysiologic mechanism of tinnitus. *J Am Acad Audiol*. 11: 125-137.
- 13 Khedr EM, Rothwell JC, El-Atar A. (2009). One-year follow up of patients with chronic tinnitus treated with left temporoparietal rTMS. *Eur J Neurol*. 16(3): 404-8.

- 14 Kleinjung T, Eichhammer P, Langguth B, Sand P, Hajak G, Steffens T, Strutz J, Langguth B. (2008). Combined temporal and prefrontal transcranial magnetic stimulation for tinnitus treatment: a pilot study. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 138(4): 497-501.
- 15 Kleinjung T, Eichhammer P, Langguth B, Jacob P, Marienhagen J, Hajak G, Wolf SR, Strutz J. (2005). Long-term effects of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in patients with chronic tinnitus. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 132: 566-569.
- 16 Langguth B, Braun S, Aigner JM, Langguth B, Weinerth J, Hajak G, Eichhammer P. (2005). Repetitive transcranial magnetic stimulation in a patient suffering from depression and rheumatoid arthritis: evidence for immunomodulatory effects. *Neuro Endocrinol Lett.* 26(4): 314-6.
- 17 Langguth B, Eichhammer P, Zowe M, Kleinjung T, Jacob P, Binder H, Sand P, Hajak G. (2005). Altered motor cortex excitability in tinnitus patients: a hit at crossmodal plasticity. *Neurosci Lett.* 380(3): 326-329.
- 18 Langguth B, Kleinjung T, Marienhagen J, Binder H, Sand PG, Hajak G, Eichhammer P. (2007). Transcranial magnetic stimulation for the treatment of tinnitus: effects on cortical excitability. *BMC Neurosci.* 8: 45.
- 19 Langguth B, Wiegand R, Kharraz A, Langguth B, Marienhagen J, Frick U, Hajak G, Eichhammer P. (2007). Pre-treatment anterior cingulate activity as a predictor of antidepressant response to repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) *Neuroendocrinol Lett.* 28(5): 633-638.
- 20 Lockwood AH, Salvi RJ, Burkard RF, Galantowicz PJ, Coad ML, Wack DS. (1999). Neuroanatomy of tinnitus. *Scand Audiol Suppl.* 51: 47-52.
- 21 Lockwood AH, Salvi RJ, Coad ML, Towsley ML, Wack DS, Murphy BW. (1998). The functional neuroanatomy of tinnitus: evidence for limbic system links and neural plasticity. *Neurology.* 50: 114-120.
- 22 Marcondes RA, Sanchez TG, Kii MA, Ono CR, Buchpiguel CA, Langguth B, Marcolin MA. (2010). Repetitive transcranial magnetic stimulation improve tinnitus in normal hearing patients: a double-blind controlled, clinical and neuroimaging outcome study. *Eur J Neurol.* 17: 38-44.
- 23 May A, Hajak G, Ganssbauer S, Steffens T, Langguth B, Kleinjung T, Eichhammer P. (2007). Structural brain alterations following 5 days of intervention: dynamic aspects of neuroplasticity. *Cereb Cortex.* 17: 205-210.
- 24 Melcher JR, Sigalovsky IS, Guinan JJ Jr, Levine RA. (2000). Lateralized tinnitus studied with functional magnetic resonance imaging: abnormal inferior colliculus activation. *J Neurophysiol.* 83: 1058-1072.
- 25 Mennemeier M, Chelette KC, Myhill J, Taylor-Cooke P, Bartel T, Triggs W, Kimbrell T, Dornhoffer J. (2008). Maintenance repetitive transcranial magnetic stimulation can inhibit the return of tinnitus. *Laryngoscope.* 118(7): 1228-32.
- 26 Mirz F, Gjedde A, Ishizu K, Pedersen CB. (2000). Cortical networks subserving the perception of tinnitus-PET study. *Acta Otolaryngol Suppl.* 543: 241-243.
- 27 Mirz F, Pedersen B, Ishizu K, Johannsen P, Ovesen T, Stodkilde-Jorgensen H, Gjedde A. (1999). Positron emission tomography of cortical centers of tinnitus. *Hear Res.* 134: 133-144.
- 28 Moller AR. (2003). Pathophysiology of tinnitus. *Otolaryngol Clin North Am.* 36: 249-66.
- 29 Muhlnickel W, Elbert T, Taub E, Flor H. (1998). Reorganization of auditory cortex in tinnitus. *Proc Natl Acad Sci USA.* 95: 10340-10343.
- 30 Newman CW, Jacobson GP, Spitzer JB. (1996). Development of the Tinnitus Handicap Inventory. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 122: 143-148.
- 31 Noell CA, Meyerhoff WL. (2003). Tinnitus, diagnosis and treatment of this elusive symptom. *Geriatrics.* 58(2): 28-34.
- 32 Plewnia C, Bartels M, Gerloff C. (2003). Transient suppression of tinnitus by transcranial magnetic stimulation. *Ann Neurol.* 53: 263-266.
- 33 Plewnia C, Bartels M, Gerloff C. (2003). Transient suppression of tinnitus by transcranial magnetic stimulation. *Ann Neurol.* 53: 263-266.
- 34 Reyes SA, Salvi RJ, Burkard RF, Coad ML, Wack DS, Galantowicz PJ, Lockwood AH. (2002). Brain imaging of the effects of lidocaine on tinnitus. *Hear Res.* 71: 43-50.
- 35 Rizzardo R, Savastano M, Maron MB, Mangialaio M, Salvadori L. (1998). Psychological distress in patients with tinnitus. *J Otolaryngol.* 27: 21-25.
- 36 Rossi S, De Capua A, Ulivelli M, Bartalini S, Falzarano V, Filippone G, Passero S. (2007). Effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on chronic tinnitus: a randomised, crossover, double blind, placebo controlled study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 78(8): 857-63.
- 37 Sala T. (1997). Transtympanic gentamicin in the treatment of Menière's disease. *Auris Nasus Larynx.* 24: 239-46.
- 38 She W, Dai Y, Du X, Chen F, Ding X, Cui X. (2009). Treatment of subjective tinnitus: a comparative clinical study of intratympanic steroid injection vs. oral carbamazepine. *Med Sci Monit.* 15(6): P135-9.
- 39 Siebner HR, Filipovic SR, Rowe JB, Cordivari C, Gerschlagel W, Rothwell JC, Frackowiak RS, Bhatia KP. (2003). Patients with focal arm dystonia have increased sensitivity to slow-frequency repetitive TMS of the dorsal premotor cortex. *Brain.* 126: 2710-2725.
- 40 Smith JA, Mennemeier M, Bartel T, Chelette KC, Kimbrell T, Triggs W, Dornhoffer JL. (2007). Repetitive transcranial magnetic stimulation for tinnitus: a pilot study. *Laryngoscope.* 117(3): 529-34.
- 41 Wassermann EM. (1998). Risk and safety of repetitive transcranial magnetic stimulation: report and suggested guidelines from the International Workshop on the Safety of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation, June 5-7, 1996. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 108: 1-16.
- 42 Zaman R, Thind D, Kocmur M. (2008). Transcranial Magnetic Stimulation in Schizophrenia. *Neuroendocrinol Lett.* 29(Suppl 1): 147-160.

## 14. Použitá literatura

- Abbruzzese G, Marchese R, Buccolieri A, Gasparetto B, Trompetto C. Abnormalities of sensorimotor integration in focal dystonia: a transcranial magnetic stimulation study. *Brain* 2001; 124: 537-45.
- Aguirre LA, Perez-Bas M, Villamar M, Lopez-Ariztegui MA, Moreno-Pelayo MA, Moreno F, et al. A Spanish sporadic case of deafness-dystonia (Mohr-Tranebjaerg) syndrome with a novel mutation in the gene encoding TIMM8a, a component of the mitochondrial protein translocase complexes. *Neuromuscul Disord* 2008; 18: 979-81.
- Alarcon F, Tolosa E, Munoz E. Focal limb dystonia in a patient with a cerebellar mass. *Arch Neurol* 2001; 58: 1125-7.
- Albanese A, Barnes MP, Bhatia KP, Fernandez-Alvarez E, Filippini G, Gasser T, et al. A systematic review on the diagnosis and treatment of primary (idiopathic) dystonia and dystonia plus syndromes: report of an EFNS/MDS-ES Task Force. *Eur J Neurol* 2006; 13: 433-44.
- Andaluz N, Taha JM, Dalvi A. Bilateral pallidal deep brain stimulation for cervical and truncal dystonia. *Neurology* 2001; 57: 557-8.
- Anderson ME, Postupna N, Ruffo M. Effects of high-frequency stimulation in the internal globus pallidus on the activity of thalamic neurons in the awake monkey. *J Neurophysiol* 2003; 89: 1150-60.
- Ashburner J, Friston KJ. Unified segmentation. *Neuroimage* 2005; 26: 839-51.
- Bahmad F, Jr., Merchant SN, Nadol JB, Jr., Tranebjaerg L. Otopathology in Mohr-Tranebjaerg syndrome. *Laryngoscope* 2007; 117: 1202-8.
- Bara-Jimenez W, Catalan MJ, Hallett M, Gerloff C. Abnormal somatosensory homunculus in dystonia of the hand. *Ann Neurol* 1998; 44: 828-31.
- Bara-Jimenez W, Shelton P, Hallett M. Spatial discrimination is abnormal in focal hand dystonia. *Neurology* 2000a; 55: 1869-73.
- Bara-Jimenez W, Shelton P, Sanger TD, Hallett M. Sensory discrimination capabilities in patients with focal hand dystonia. *Ann Neurol* 2000b; 47: 377-80.
- Bareš M. Bezpečnost transkraniální magnetické stimulace. Bareš M, Dufek J, Kaňovský P.: Transkraniální magnetická stimulace. Brno: Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů 2003: p. 34 - 41.
- Bareš M, Dufek J, Kaňovský P. Transkraniální magnetická stimulace. Brno: Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2003.
- Bartels A, Logothetis NK, Moutoussis K. fMRI and its interpretations: an illustration on directional selectivity in area V5/MT. *Trends Neurosci* 2008; 31: 444-53.
- Baumer T, Demiralay C, Hidding U, Birkmullina R, Helmich RC, Wunderlich S, et al. Abnormal plasticity of the sensorimotor cortex to slow repetitive transcranial magnetic stimulation in patients with writer's cramp. *Mov Disord* 2007; 22: 81-90.
- Beck S, Richardson SP, Shamim EA, Dang N, Schubert M, Hallett M. Short intracortical and surround inhibition are selectively reduced during movement initiation in focal hand dystonia. *J Neurosci* 2008; 28: 10363-9.
- Berardelli A, Rothwell JC, Hallett M, Thompson PD, Manfredi M, Marsden CD. The pathophysiology of primary dystonia. *Brain* 1998; 121 ( Pt 7): 1195-212.
- Blake DT, Byl NN, Cheung S, Bedenbaugh P, Nagarajan S, Lamb M, et al. Sensory representation abnormalities that parallel focal hand dystonia in a primate model. *Somatosens Mot Res* 2002; 19: 347-57.

- Blood AJ, Flaherty AW, Choi JK, Hochberg FH, Greve DN, Bonmassar G, et al. Basal ganglia activity remains elevated after movement in focal hand dystonia. *Ann Neurol* 2004; 55: 744-8.
- Borich M, Arora S, Kimberley TJ. Lasting effects of repeated rTMS application in focal hand dystonia. *Restor Neurol Neurosci* 2009; 27: 55-65.
- 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: 1329-38.
- Brownsett SL, Wise RJ. The contribution of the parietal lobes to speaking and writing. *Cereb Cortex* 2010; 20: 517-23.
- Burguera JA, Bataller L, Valero C. Action hand dystonia after cortical parietal infarction. *Mov Disord* 2001; 16: 1183-5.
- Burke RE, Fahn S, Marsden CD, Bressman SB, Moskowitz C, Friedman J. Validity and reliability of a rating scale for the primary torsion dystonias. *Neurology* 1985; 35: 73-7.
- 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.
- Byl NN. Learning-based animal models: task-specific focal hand dystonia. *Ilar J* 2007; 48: 411-31.
- 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; quiz 198.
- Byl NN, Merzenich MM, Cheung S, Bedenbaugh P, Nagarajan SS, Jenkins WM. A primate model for studying focal dystonia and repetitive strain injury: effects on the primary somatosensory cortex. *Phys Ther* 1997; 77: 269-84.
- Byrnes ML, Thickbroom GW, Wilson SA, Sacco P, Shipman JM, Stell R, et al. The corticomotor representation of upper limb muscles in writer's cramp and changes following botulinum toxin injection. *Brain* 1998; 121 ( Pt 5): 977-88.
- Candia V, Wienbruch C, Elbert T, Rockstroh B, Ray W. Effective behavioral treatment of focal hand dystonia in musicians alters somatosensory cortical organization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 7942-6.
- Cantello R, Rossi S, Varrasi C, Ulivelli M, Civardi C, Bartalini S, et al. Slow repetitive TMS for drug-resistant epilepsy: clinical and EEG findings of a placebo-controlled trial. *Epilepsia* 2007; 48: 366-74.
- Castelnau P, Cif L, Valente EM, Vayssiere N, Hemm S, Gannau A, et al. Pallidal stimulation improves pantothenate kinase-associated neurodegeneration. *Ann Neurol* 2005; 57: 738-41.
- Catalan MJ, Honda M, Weeks RA, Cohen LG, Hallett M. The functional neuroanatomy of simple and complex sequential finger movements: a PET study. *Brain* 1998; 121 ( Pt 2): 253-64.
- 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; 37: 363-72.
- Ceballos-Baumann AO, Sheean G, Passingham RE, Marsden CD, Brooks DJ. Botulinum toxin does not reverse the cortical dysfunction associated with writer's cramp. A PET study. *Brain* 1997; 120 ( Pt 4): 571-82.
- Centonze D, Koch G, Versace V, Mori F, Rossi S, Brusa L, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation of the motor cortex ameliorates spasticity in multiple sclerosis. *Neurology* 2007; 68: 1045-50.

- Cimatti Z, Schwartz DP, Bourdain F, Meunier S, Bleton JP, Vidailhet M, et al. Time-frequency analysis reveals decreased high-frequency oscillations in writer's cramp. *Brain* 2007; 130: 198-205.
- Cohen LG, Hallett M. Hand cramps: clinical features and electromyographic patterns in a focal dystonia. *Neurology* 1988; 38: 1005-12.
- Cohen LG, Hallett M, Geller BD, Hochberg F. Treatment of focal dystonias of the hand with botulinum toxin injections. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1989; 52: 355-63.
- Cordes J, Falkai P, Guse B, Hasan A, Schneider-Axmann T, Arends M, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation for the treatment of negative symptoms in residual schizophrenia: rationale and design of a sham-controlled, randomized multicenter study. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2009; 259 Suppl 2: S189-97.
- Coubes P, Cif L, El Fertit H, Hemm S, Vayssiere N, Serrat S, et al. Electrical stimulation of the globus pallidus internus in patients with primary generalized dystonia: long-term results. *J Neurosurg* 2004; 101: 189-94.
- Coubes P, Echenne B, Roubertie A, Vayssiere N, Tuffery S, Humbertclaude V, et al. [Treatment of early-onset generalized dystonia by chronic bilateral stimulation of the internal globus pallidus. Apropos of a case]. *Neurochirurgie* 1999; 45: 139-44.
- Coubes P, Vayssiere N, El Fertit H, Hemm S, Cif L, Kienlen J, et al. Deep brain stimulation for dystonia. Surgical technique. *Stereotact Funct Neurosurg* 2002; 78: 183-91.
- Craig AD. How do you feel--now? The anterior insula and human awareness. *Nat Rev Neurosci* 2009; 10: 59-70.
- Delmaire C, Vidailhet M, Elbaz A, Bourdain F, Bleton JP, Sangla S, et al. Structural abnormalities in the cerebellum and sensorimotor circuit in writer's cramp. *Neurology* 2007; 69: 376-80.
- Dhaenens CM, Krystkowiak P, Douay X, Charpentier P, Bele S, Destee A, et al. Clinical and genetic evaluation in a French population presenting with primary focal dystonia. *Mov Disord* 2005; 20: 822-5.
- Dinomais M, Minassian AT, Tuilier T, Delion M, Wilke M, N'Guyen S, et al. Functional MRI comparison of passive and active movement: possible inhibitory role of supplementary motor area. *Neuroreport* 2009.
- Duchenne GdB. *Spasme fonctionnel et paralysies musculaires fonctionelles*. Paris: Balliere, 1861.
- 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: 3571-5.
- Eltahawy HA, Feinstein A, Khan F, Saint-Cyr J, Lang AE, Lozano AM. Bilateral globus pallidus internus deep brain stimulation in tardive dyskinesia: a case report. *Mov Disord* 2004; 19: 969-72.
- Ezquerria M, Campdelacreu J, Munoz E, Tolosa E, Marti MJ. A novel intronic mutation in the DDP1 gene in a family with X-linked dystonia-deafness syndrome. *Arch Neurol* 2005; 62: 306-8.
- Fahn S, Marsden, CD., Calne, DB. Classification and investigation of dystonia. In Marsden, CD., Fahn, S. (Eds), *Movement Disorders 2*. London: Butterworths, 1987.
- Filipovic SR, Ljubisavljevic M, Svetel M, Milanovic S, Kacar A, Kostic VS. Impairment of cortical inhibition in writer's cramp as revealed by changes in electromyographic silent period after transcranial magnetic stimulation. *Neurosci Lett* 1997; 222: 167-70.
- Fiorio M, Tinazzi M, Aglioti SM. Selective impairment of hand mental rotation in patients with focal hand dystonia. *Brain* 2006; 129: 47-54.
- Fiorio M, Tinazzi M, Bertolasi L, Aglioti SM. Temporal processing of visuotactile and tactile stimuli in writer's cramp. *Ann Neurol* 2003; 53: 630-5.



- Fiorio M, Zhang W, Bresciani MC, Rodi G, Bertolasi L, Gambarin M, et al. Corticospinal excitability during action observation in task-specific dystonia: a transcranial magnetic stimulation study. *Neuroscience* 2010; 171: 117-24.
- Floyer-Lea A, Matthews PM. Distinguishable brain activation networks for short- and long-term motor skill learning. *J Neurophysiol* 2005; 94: 512-8.
- Franzini A, Marras C, Ferroli P, Zorzi G, Bugiani O, Romito L, et al. Long-term high-frequency bilateral pallidal stimulation for neuroleptic-induced tardive dystonia. Report of two cases. *J Neurosurg* 2005; 102: 721-5.
- Friston KJ, Fletcher P, Josephs O, Holmes A, Rugg MD, Turner R. Event-related fMRI: characterizing differential responses. *Neuroimage* 1998; 7: 30-40.
- Fuchs T, Gavarini S, Saunders-Pullman R, Raymond D, Ehrlich ME, Bressman SB, et al. Mutations in the THAP1 gene are responsible for DYT6 primary torsion dystonia. *Nat Genet* 2009; 41: 286-8.
- Fukaya C, Katayama Y, Kano T, Nagaoka T, Kobayashi K, Oshima H, et al. Thalamic deep brain stimulation for writer's cramp. *J Neurosurg* 2007; 107: 977-82.
- Garraux G, Bauer A, Hanakawa T, Wu T, Kansaku K, Hallett M. Changes in brain anatomy in focal hand dystonia. *Ann Neurol* 2004; 55: 736-9.
- Gasser T, Bove CM, Ozelius LJ, Hallett M, Charness ME, Hochberg FH, et al. Haplotype analysis at the DYT1 locus in Ashkenazi Jewish patients with occupational hand dystonia. *Mov Disord* 1996; 11: 163-6.
- Gasser T, Windgassen K, Bereznai B, Kabus C, Ludolph AC. Phenotypic expression of the DYT1 mutation: a family with writer's cramp of juvenile onset. *Ann Neurol* 1998; 44: 126-8.
- Goetz CG, Chmura TA, Lanska DJ. History of dystonia: part 4 of the MDS-sponsored history of movement disorders exhibit, Barcelona, June, 2000. *Mov Disord* 2001; 16: 339-45.
- Gowers W. *A Manual of Diseases of the Nervous System*, vol. 2. London: Churchill, 1888.
- Groen JL, Ritz K, Contarino MF, van de Warrenburg BP, Aramideh M, Foncke EM, et al. DYT6 dystonia: Mutation screening, phenotype, and response to deep brain stimulation. *Mov Disord* 2010.
- Guehl D, Cuny E, Ghorayeb I, Michelet T, Bioulac B, Burbaud P. Primate models of dystonia. *Prog Neurobiol* 2009; 87: 118-31.
- Halbig TD, Gruber D, Kopp UA, Schneider GH, Trottenberg T, Kupsch A. Pallidal stimulation in dystonia: effects on cognition, mood, and quality of life. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005; 76: 1713-6.
- Hashimoto T, Elder CM, Okun MS, Patrick SK, Vitek JL. Stimulation of the subthalamic nucleus changes the firing pattern of pallidal neurons. *J Neurosci* 2003; 23: 1916-23.
- Havrankova P, Jech R, Roth J, Urgosik D, Ruzicka E. Beneficial effect of deep brain stimulation of GPi in a patient with dystonia-deafness phenotype. *Mov Disord* 2009; 24: 465-6.
- Havrankova P, Jech R, Walker ND, Operto G, Tauchmanova J, Vymazal J, et al. Repetitive TMS of the somatosensory cortex improves writer's cramp and enhances cortical activity. *Neuro Endocrinol Lett* 2010; 31: 21.
- Hayes MW, Ouvrier RA, Evans W, Somerville E, Morris JG. X-linked Dystonia-Deafness syndrome. *Mov Disord* 1998; 13: 303-8.
- Hlustik P, Solodkin A, Gullapalli RP, Noll DC, Small SL. Somatotopy in human primary motor and somatosensory hand representations revisited. *Cereb Cortex* 2001; 11: 312-21.
- Houlden H, Schneider SA, Paudel R, Melchers A, Schwingenschuh P, Edwards M, et al. THAP1 mutations (DYT6) are an additional cause of early-onset dystonia. *Neurology* 2010; 74: 846-50.

- 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.
- Huang YZ. The modulation of cortical motor circuits and spinal reflexes using theta burst stimulation in healthy and dystonic subjects. *Restor Neurol Neurosci* 2010; 28: 449-57.
- Huang YZ, Rothwell JC, Lu CS, Wang J, Chen RS. Restoration of motor inhibition through an abnormal premotor-motor connection in dystonia. *Mov Disord* 2010; 25: 689-96.
- Hufnagel A, Elger CE. Responses of the epileptic focus to transcranial magnetic stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl* 1991; 43: 86-99.
- Chakarov V, Hummel S, Losch F, Schulte-Monting J, Kristeva R. Handwriting performance in the absence of visual control in writer's cramp patients: initial observations. *BMC Neurol* 2006; 6: 14.
- Chen R, Classen J, Gerloff C, Celnik P, Wassermann EM, Hallett M, et al. Depression of motor cortex excitability by low-frequency transcranial magnetic stimulation. *Neurology* 1997a; 48: 1398-403.
- Chen R, Gerloff C, Classen J, Wassermann EM, Hallett M, Cohen LG. Safety of different inter-train intervals for repetitive transcranial magnetic stimulation and recommendations for safe ranges of stimulation parameters. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1997b; 105: 415-21.
- Cho CB, Park HK, Lee KJ, Rha HK. Thalamic Deep Brain Stimulation for Writer's Cramp. *J Korean Neurosurg Soc* 2009; 46: 52-5.
- 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.
- 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.
- Jaffard M, Longcamp M, Velay JL, Anton JL, Roth M, Nazarian B, et al. Proactive inhibitory control of movement assessed by event-related fMRI. *Neuroimage* 2008; 42: 1196-206.
- Jankovic J. Can peripheral trauma induce dystonia and other movement disorders? Yes! *Mov Disord* 2001; 16: 7-12.
- Jankovic J, Vuong KD, Ahsan J. Comparison of efficacy and immunogenicity of original versus current botulinum toxin in cervical dystonia. *Neurology* 2003; 60: 1186-8.
- Jech R. Technické parametry transkraniální magnetické stimulace. In: Bareš M, Dufek J, Kaňovský P.: *Transkraniální magnetická stimulace*. Brno: Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů 2003: p. 41 - 54.
- Jech R, Bares M, Krepelova A, Urgosik D, Havrankova P, Ruzicka E. DYT 6-A novel THAP1 mutation with excellent effect on pallidal DBS. *Mov Disord* 2011.
- Jech R, Bares M, Urgosik D, Cerna O, Klement P, Adamovicova M, et al. Deep brain stimulation in acute management of status dystonicus. *Mov Disord* 2009; 24: 2291-2.
- Jech R, Urgosik D, Tintera J, Nebuzelsky A, Krasensky J, Liscak R, et al. Functional magnetic resonance imaging during deep brain stimulation: a pilot study in four patients with Parkinson's disease. *Mov Disord* 2001; 16: 1126-32.
- Jin H, May M, Tranebjaerg L, Kendall E, Fontan G, Jackson J, et al. A novel X-linked gene, DDP, shows mutations in families with deafness (DFN-1), dystonia, mental deficiency and blindness. *Nat Genet* 1996; 14: 177-80.
- Kamm C, Naumann M, Mueller J, Mai N, Riedel L, Wissel J, et al. The DYT1 GAG deletion is infrequent in sporadic and familial writer's cramp. *Mov Disord* 2000; 15: 1238-41.

- Kanovsky P. Dystonia: a disorder of motor programming or motor execution? *Mov Disord* 2002; 17: 1143-7.
- Kaňovský P. Dystonie : mechanismy, diagnostika a terapie. Praha: Galén, 1999.
- Kaňovský P. Princip transkraniální magnetické stimulace: neuronální substrát magnetické stimulace mozkového kortexu. *Základní mechanismy magnetické stimulace*. Bareš M, Dufek J, Kaňovský P.: *Transkraniální magnetická stimulace*. Brnov: Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2003: p. 26 - 33.
- Kasess CH, Windischberger C, Cunnington R, Lanzenberger R, Pezawas L, Moser E. The suppressive influence of SMA on M1 in motor imagery revealed by fMRI and dynamic causal modeling. *Neuroimage* 2008; 40: 828-37.
- Katchen M, Duvoisin RC. Parkinsonism following dystonia in three patients. *Mov Disord* 1986; 1: 151-7.
- Katz RT, Williams C. Focal dystonia following soft tissue injury: three case reports with long-term outcome. *Arch Phys Med Rehabil* 1990; 71: 345-9.
- Khedr EM, Hamed E, Said A, Basahi J. Handedness and language cerebral lateralization. *Eur J Appl Physiol* 2002; 87: 469-73.
- Killackey HP, Gould HJ, 3rd, Cusick CG, Pons TP, Kaas JH. The relation of corpus callosum connections to architectonic fields and body surface maps in sensorimotor cortex of new and old world monkeys. *J Comp Neurol* 1983; 219: 384-419.
- Knecht S, Ellger T, Breitenstein C, Bernd Ringelstein E, Henningsen H. Changing cortical excitability with low-frequency transcranial magnetic stimulation can induce sustained disruption of tactile perception. *Biol Psychiatry* 2003; 53: 175-9.
- Knecht S, Kunesch E, Schnitzler A. Parallel and serial processing of haptic information in man: effects of parietal lesions on sensorimotor hand function. *Neuropsychologia* 1996; 34: 669-87.
- Koehler CM, Leuenberger D, Merchant S, Renold A, Junne T, Schatz G. Human deafness dystonia syndrome is a mitochondrial disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 2141-6.
- Kosel M, Sturm V, Frick C, Lenartz D, Zeidler G, Brodesser D, et al. Mood improvement after deep brain stimulation of the internal globus pallidus for tardive dyskinesia in a patient suffering from major depression. *J Psychiatr Res* 2007; 41: 801-3.
- Krause M, Fogel W, Tronnier V, Pohle S, Hortnagel K, Thyen U, et al. Long-term benefit to pallidal deep brain stimulation in a case of dystonia secondary to pantothenate kinase-associated neurodegeneration. *Mov Disord* 2006; 21: 2255-7.
- Krauss JK. Deep brain stimulation for dystonia in adults. Overview and developments. *Stereotact Funct Neurosurg* 2002; 78: 168-82.
- Krauss JK, Pohle T, Weber S, Ozdoba C, Burgunder JM. Bilateral stimulation of globus pallidus internus for treatment of cervical dystonia. *Lancet* 1999; 354: 837-8.
- Kreisel SH, Binder J, Wöhrle JC, Krauss JK, Hofmann S, Bauer MF, et al. Dystonia in the Mohr-Tranebjaerg syndrome responds to GABAergic substances. *Mov Disord* 2004; 19: 1241-3.
- Kupsch A, Benecke R, Müller J, Trottenberg T, Schneider GH, Poewe W, et al. Pallidal deep-brain stimulation in primary generalized or segmental dystonia. *N Engl J Med* 2006; 355: 1978-90.
- Kurtis MM, San Luciano M, Yu Q, Goodman RR, Ford B, Raymond D, et al. Clinical and neurophysiological improvement of SGCE myoclonus-dystonia with GPi deep brain stimulation. *Clin Neurol Neurosurg* 2010; 112: 149-52.
- Lee JY, Deogaonkar M, Rezai A. Deep brain stimulation of globus pallidus internus for dystonia. *Parkinsonism Relat Disord* 2007; 13: 261-5.

- Lefaucheur JP. The use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in chronic neuropathic pain. *Neurophysiol Clin* 2006; 36: 117-24.
- Lefaucheur JP. Use of repetitive transcranial magnetic stimulation in pain relief. *Expert Rev Neurother* 2008; 8: 799-808.
- Leo RJ, Latif T. Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in experimentally induced and chronic neuropathic pain: a review. *J Pain* 2007; 8: 453-9.
- 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.
- Levy LM, Hallett M. Impaired brain GABA in focal dystonia. *Ann Neurol* 2002; 51: 93-101.
- Lundquist P, Backlund EO, Sjoqvist L, Thoumas KA, Wigstrom L, Brismar T. Clinical application of functional magnetic resonance imaging (fMRI) to surgery in the brain. *J Neuroimaging* 1997; 7: 131-3.
- Mantovani A, Lisanby SH, Pieraccini F, Olivelli M, Castrogiovanni P, Rossi S. Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in the treatment of obsessive-compulsive disorder (OCD) and Tourette's syndrome (TS). *Int J Neuropsychopharmacol* 2006; 9: 95-100.
- Marsden CD, Sheehy MP. Writer's cramp. *Trends Neurosci* 1990; 13: 148-53.
- McAllister SM, Rothwell JC, Ridding MC. Selective modulation of intracortical inhibition by low-intensity Theta Burst Stimulation. *Clin Neurophysiol* 2009; 120: 820-6.
- 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; quiz 182.
- Meunier S, Garnero L, Ducorps A, Mazieres L, Lehericy S, du Montcel ST, et al. Human brain mapping in dystonia reveals both endophenotypic traits and adaptive reorganization. *Ann Neurol* 2001; 50: 521-7.
- Mima T, Sadato N, Yazawa S, Hanakawa T, Fukuyama H, Yonekura Y, et al. Brain structures related to active and passive finger movements in man. *Brain* 1999; 122 ( Pt 10): 1989-97.
- Mohr J, Mageroy K. Sex-linked deafness of a possibly new type. *Acta Genet Stat Med* 1960; 10: 54-62.
- Muller J, Wissel J, Masuhr F, Ebersbach G, Wenning GK, Poewe W. Clinical characteristics of the geste antagoniste in cervical dystonia. *J Neurol* 2001; 248: 478-82.
- Murase N, Kaji R, Shimazu H, Katayama-Hirota M, Ikeda A, Kohara N, et al. Abnormal premovement gating of somatosensory input in writer's cramp. *Brain* 2000; 123 ( Pt 9): 1813-29.
- 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; 128: 104-15.
- Nachev P, Kennard C, Husain M. Functional role of the supplementary and pre-supplementary motor areas. *Nat Rev Neurosci* 2008; 9: 856-69.
- 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; 112 ( Pt 3): 681-97.
- Nelson AJ, Blake DT, Chen R. Digit-specific aberrations in the primary somatosensory cortex in Writer's cramp. *Ann Neurol* 2009; 66: 146-54.

- Newton JM, Sunderland A, Gowland PA. fMRI signal decreases in ipsilateral primary motor cortex during unilateral hand movements are related to duration and side of movement. *Neuroimage* 2005; 24: 1080-7.
- Odergren T, Stone-Elander S, Ingvar M. Cerebral and cerebellar activation in correlation to the action-induced dystonia in writer's cramp. *Mov Disord* 1998; 13: 497-508.
- Oga T, Honda M, Toma K, Murase N, Okada T, Hanakawa T, et al. Abnormal cortical mechanisms of voluntary muscle relaxation in patients with writer's cramp: an fMRI study. *Brain* 2002; 125: 895-903.
- Ogawa S, Lee TM, Kay AR, Tank DW. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87: 9868-72.
- Panizza ME, Hallett M, Nilsson J. Reciprocal inhibition in patients with hand cramps. *Neurology* 1989; 39: 85-9.
- Parkin S, Aziz T, Gregory R, Bain P. Bilateral internal globus pallidus stimulation for the treatment of spasmodic torticollis. *Mov Disord* 2001; 16: 489-93.
- Paus T. Primate anterior cingulate cortex: where motor control, drive and cognition interface. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2: 417-24.
- Peller M, Zeuner KE, Munchau A, Quartarone A, Weiss M, Knutzen A, et al. The basal ganglia are hyperactive during the discrimination of tactile stimuli in writer's cramp. *Brain* 2006; 129: 2697-708.
- Penny WD, Stephan KE, Mechelli A, Friston KJ. Comparing dynamic causal models. *Neuroimage* 2004; 22: 1157-72.
- Pillon B, Ardouin C, Dujardin K, Vittini P, Pelissolo A, Cottencin O, et al. Preservation of cognitive function in dystonia treated by pallidal stimulation. *Neurology* 2006; 66: 1556-8.
- Pizzuti A, Fabbrini G, Salehi L, Vacca L, Inghilleri M, Dallapiccola B, et al. Focal dystonia caused by Mohr-Tranebjaerg syndrome with complete deletion of the DDP1 gene. *Neurology* 2004; 62: 1021-2.
- Pleger B, Blankenburg F, Bestmann S, Ruff CC, Wiech K, Stephan KE, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation-induced changes in sensorimotor coupling parallel improvements of somatosensation in humans. *J Neurosci* 2006; 26: 1945-52.
- Pohl C, Happe J, Klockgether T. Cooling improves the writing performance of patients with writer's cramp. *Mov Disord* 2002; 17: 1341-4.
- Pons TP, Kaas JH. Corticocortical connections of area 2 of somatosensory cortex in macaque monkeys: a correlative anatomical and electrophysiological study. *J Comp Neurol* 1986; 248: 313-35.
- 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: 10-7.
- Procaccio V, Salazar G, Ono S, Styers ML, Gearing M, Davila A, et al. A mutation of beta - actin that alters depolymerization dynamics is associated with autosomal dominant developmental malformations, deafness, and dystonia. *Am J Hum Genet* 2006; 78: 947-60.
- Prodoehl J, Corcos DM, Vaillancourt DE. Effects of focal hand dystonia on visually guided and internally guided force control. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006; 77: 909-14.
- Pujol J, Roset-Llobet J, Rosines-Cubells D, Deus J, Narberhaus B, Valls-Sole J, et al. Brain cortical activation during guitar-induced hand dystonia studied by functional MRI. *Neuroimage* 2000; 12: 257-67.
- Quartarone A, Morgante F, Sant'angelo A, Rizzo V, Bagnato S, Terranova C, et al. Abnormal plasticity of sensorimotor circuits extends beyond the affected body part in focal dystonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008; 79: 985-90.

- Quartarone A, Rizzo V, Bagnato S, Morgante F, Sant'Angelo A, Romano M, et al. Homeostatic-like plasticity of the primary motor hand area is impaired in focal hand dystonia. *Brain* 2005; 128: 1943-50.
- Quartarone A, Siebner HR, Rothwell JC. Task-specific hand dystonia: can too much plasticity be bad for you? *Trends Neurosci* 2006; 29: 192-9.
- Ragert P, Becker M, Tegenthoff M, Pleger B, Dinse HR. Sustained increase of somatosensory cortex excitability by 5 Hz repetitive transcranial magnetic stimulation studied by paired median nerve stimulation in humans. *Neurosci Lett* 2004; 356: 91-4.
- Reddy H, Floyer A, Donaghy M, Matthews PM. Altered cortical activation with finger movement after peripheral denervation: comparison of active and passive tasks. *Exp Brain Res* 2001; 138: 484-91.
- Reilly JA, Hallett M, Cohen LG, Tarkka IM, Dang N. The N30 component of somatosensory evoked potentials in patients with dystonia. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1992; 84: 243-7.
- 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.
- Ritz K, Groen JL, Kruisdijk JJ, Baas F, Koelman JH, Tijssen MA. Screening for dystonia genes DYT1, 11 and 16 in patients with writer's cramp. *Mov Disord* 2009; 24: 1390-2.
- Roesch K, Curran SP, Tranebjaerg L, Koehler CM. Human deafness dystonia syndrome is caused by a defect in assembly of the DDP1/TIMM8a-TIMM13 complex. *Hum Mol Genet* 2002; 11: 477-86.
- Rosenbaum F, Jankovic J. Focal task-specific tremor and dystonia: categorization of occupational movement disorders. *Neurology* 1988; 38: 522-7.
- Rosenkranz K, Williamon A, Butler K, Cordivari C, Lees AJ, Rothwell JC. Pathophysiological differences between musician's dystonia and writer's cramp. *Brain* 2005; 128: 918-31.
- Rossi S, De Capua A, Olivelli M, Bartalini S, Falzarano V, Filippone G, et al. Effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on chronic tinnitus: a randomised, crossover, double blind, placebo controlled study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2007; 78: 857-63.
- Rossi S, Hallett M, Rossini PM, Pascual-Leone A. Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. *Clin Neurophysiol* 2009; 120: 2008-39.
- Rossi S, Miniussi C, Pasqualetti P, Babiloni C, Rossini PM, Cappa SF. Age-related functional changes of prefrontal cortex in long-term memory: a repetitive transcranial magnetic stimulation study. *J Neurosci* 2004; 24: 7939-44.
- Roze E, Navarro S, Cornu P, Welter ML, Vidailhet M. Deep brain stimulation of the globus pallidus for generalized dystonia in GM1 Type 3 gangliosidosis: technical case report. *Neurosurgery* 2006; 59: E1340; discussion E1340.
- Roze E, Soumare A, Pironneau I, Sangla S, de Cock VC, Teixeira A, et al. Case-control study of writer's cramp. *Brain* 2009; 132: 756-64.
- Rutten GJ, Ramsey NF, van Rijen PC, Alpherts WC, van Veelen CW. FMRI-determined language lateralization in patients with unilateral or mixed language dominance according to the Wada test. *Neuroimage* 2002; 17: 447-60.
- Růžička E, Roth J, Kaňovský P. Extrapiramidová onemocnění. 1, Parkinsonova nemoc a parkinsonské syndromy. Praha: Galén, 2000.
- Sandrini M, Cappa SF, Rossi S, Rossini PM, Miniussi C. The role of prefrontal cortex in verbal episodic memory: rTMS evidence. *J Cogn Neurosci* 2003; 15: 855-61.

- Sanger TD, Pascual-Leone A, Tarsy D, Schlaug G. Nonlinear sensory cortex response to simultaneous tactile stimuli in writer's cramp. *Mov Disord* 2002; 17: 105-11.
- Sanger TD, Tarsy D, Pascual-Leone A. Abnormalities of spatial and temporal sensory discrimination in writer's cramp. *Mov Disord* 2001; 16: 94-9.
- Sanghera MK, Grossman RG, Kalthorn CG, Hamilton WJ, Ondo WG, Jankovic J. Basal ganglia neuronal discharge in primary and secondary dystonia in patients undergoing pallidotomy. *Neurosurgery* 2003; 52: 1358-70; discussion 1370-3.
- Satow T, Mima T, Yamamoto J, Oga T, Begum T, Aso T, et al. Short-lasting impairment of tactile perception by 0.9Hz-rTMS of the sensorimotor cortex. *Neurology* 2003; 60: 1045-7.
- Sediva A, Smith CI, Asplund AC, Hadac J, Janda A, Zeman J, et al. Contiguous X-chromosome deletion syndrome encompassing the BTK, TIMM8A, TAF7L, and DRP2 genes. *J Clin Immunol* 2007; 27: 640-6.
- Sheehy MP, Marsden CD. Writers' cramp-a focal dystonia. *Brain* 1982; 105 (Pt 3): 461-80.
- Schneider AS, Baur B, Furholzer W, Jasper I, Marquardt C, Hermsdorfer J. Writing kinematics and pen forces in writer's cramp: effects of task and clinical subtype. *Clin Neurophysiol* 2010; 121: 1898-907.
- Schneider SA, Bhatia KP. Dystonia in the Woodhouse Sakati syndrome: A new family and literature review. *Mov Disord* 2008; 23: 592-6.
- Siebner HR, Filipovic SR, Rowe JB, Cordivari C, Gerschlager W, Rothwell JC, et al. Patients with focal arm dystonia have increased sensitivity to slow-frequency repetitive TMS of the dorsal premotor cortex. *Brain* 2003; 126: 2710-25.
- Siebner HR, Tormos JM, Ceballos-Baumann AO, Auer C, Catala MD, Conrad B, et al. Low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation of the motor cortex in writer's cramp. *Neurology* 1999; 52: 529-37.
- Sitburana O, Jankovic J. Focal hand dystonia, mirror dystonia and motor overflow. *J Neurol Sci* 2008; 266: 31-3.
- Sitburana O, Wu LJ, Sheffield JK, Davidson A, Jankovic J. Motor overflow and mirror dystonia. *Parkinsonism Relat Disord* 2009; 15: 758-61.
- Sohn YH, Jung HY, Kaelin-Lang A, Hallett M. Excitability of the ipsilateral motor cortex during phasic voluntary hand movement. *Exp Brain Res* 2003; 148: 176-85.
- Starr PA, Turner RS, Rau G, Lindsey N, Heath S, Volz M, et al. Microelectrode-guided implantation of deep brain stimulators into the globus pallidus internus for dystonia: techniques, electrode locations, and outcomes. *Neurosurg Focus* 2004; 17: E4.
- Stinear CM, Byblow WD. Impaired modulation of corticospinal excitability following subthreshold rTMS in focal hand dystonia. *Hum Mov Sci* 2004; 23: 527-38.
- Swerdlow RH, Wooten GF. A novel deafness/dystonia peptide gene mutation that causes dystonia in female carriers of Mohr-Tranebjaerg syndrome. *Ann Neurol* 2001; 50: 537-40.
- Tanji J. Sequential organization of multiple movements: involvement of cortical motor areas. *Annu Rev Neurosci* 2001; 24: 631-51.
- Tarsy D. Deep-brain stimulation for dystonia: new twists in assessment. *Lancet Neurol* 2007; 6: 201-2.
- Tarsy D. Deep brain stimulation in neurological and psychiatric disorders. Totowa, NJ: Humana Press, 2008.
- Teepker M, Hotzel J, Timmesfeld N, Reis J, Mylius V, Haag A, et al. Low-frequency rTMS of the vertex in the prophylactic treatment of migraine. *Cephalalgia* 2009.
- Tegenthoff M, Ragert P, Pleger B, Schwenkreis P, Forster AF, Nicolas V, et al. Improvement of tactile discrimination performance and enlargement of cortical somatosensory maps after 5 Hz rTMS. *PLoS Biol* 2005; 3: e362.

- Tempel LW, Perlmutter JS. Abnormal cortical responses in patients with writer's cramp. *Neurology* 1993; 43: 2252-7.
- Tinazzi M, Farina S, Bhatia K, Fiaschi A, Moretto G, Bertolasi L, et al. TENS for the treatment of writer's cramp dystonia: a randomized, placebo-controlled study. *Neurology* 2005; 64: 1946-8.
- Tinazzi M, Priori A, Bertolasi L, Frasson E, Mauguiere F, Fiaschi A. Abnormal central integration of a dual somatosensory input in dystonia. Evidence for sensory overflow. *Brain* 2000; 123 ( Pt 1): 42-50.
- Tinazzi M, Rosso T, Fiaschi A. Role of the somatosensory system in primary dystonia. *Mov Disord* 2003; 18: 605-22.
- Tranebjaerg L, Hamel BC, Gabreels FJ, Renier WO, Van Ghelue M. A de novo missense mutation in a critical domain of the X-linked DDP gene causes the typical deafness-dystonia-optic atrophy syndrome. *Eur J Hum Genet* 2000a; 8: 464-7.
- Tranebjaerg L, Jensen PK, van Ghelue M. X-linked recessive deafness-dystonia syndrome (Mohr-Tranebjaerg syndrome). *Adv Otorhinolaryngol* 2000b; 56: 176-80.
- Tranebjaerg L, Schwartz C, Eriksen H, Andreasson S, Ponjavic V, Dahl A, et al. A new X linked recessive deafness syndrome with blindness, dystonia, fractures, and mental deficiency is linked to Xq22. *J Med Genet* 1995; 32: 257-63.
- Treede RD, Kenshalo DR, Gracely RH, Jones AK. The cortical representation of pain. *Pain* 1999; 79: 105-11.
- Tsakiris M, Hesse MD, Boy C, Haggard P, Fink GR. Neural signatures of body ownership: a sensory network for bodily self-consciousness. *Cereb Cortex* 2007; 17: 2235-44.
- Tsui JKC, Calne DB. *Handbook of dystonia*. New York [etc.]: Marcel Dekker, 1995.
- Ujike H, Tanabe Y, Takehisa Y, Hayabara T, Kuroda S. A family with X-linked dystonia-deafness syndrome with a novel mutation of the DDP gene. *Arch Neurol* 2001; 58: 1004-7.
- Umemura A, Jaggi JL, Dolinskas CA, Stern MB, Baltuch GH. Pallidal deep brain stimulation for longstanding severe generalized dystonia in Hallervorden-Spatz syndrome. Case report. *J Neurosurg* 2004; 100: 706-9.
- van den Bos M, Marotta R, Goldup S, Chataway T, Firgaira F, Thyagarajan D. Writer's cramp in an Australian pedigree with DYT1 dystonia. *J Clin Neurosci* 2004; 11: 537-9.
- Van Gerpen JA, Ledoux MS, Wszolek ZK. Adult-onset leg dystonia due to a missense mutation in THAP1. *Mov Disord* 2010; 25: 1306-7.
- Vidailhet M, Grabli D, Roze E. Pathophysiology of dystonia. *Curr Opin Neurol* 2009; 22: 406-13.
- Vidailhet M, Vercueil L, Houeto JL, Krystkowiak P, Benabid AL, Cornu P, et al. Bilateral deep-brain stimulation of the globus pallidus in primary generalized dystonia. *N Engl J Med* 2005; 352: 459-67.
- Vidailhet M, Vercueil L, Houeto JL, Krystkowiak P, Lagrange C, Yelnik J, et al. Bilateral, pallidal, deep-brain stimulation in primary generalised dystonia: a prospective 3 year follow-up study. *Lancet Neurol* 2007; 6: 223-9.
- Vitek JL. Pathophysiology of dystonia: a neuronal model. *Mov Disord* 2002; 17 Suppl 3: S49-62.
- Vitek JL, Zhang J, Evatt M, Mewes K, DeLong MR, Hashimoto T, et al. GPi pallidotomy for dystonia: clinical outcome and neuronal activity. *Adv Neurol* 1998; 78: 211-9.
- Volkman J, Benecke R. Deep brain stimulation for dystonia: patient selection and evaluation. *Mov Disord* 2002; 17 Suppl 3: S112-5.
- Weiller C, Juptner M, Fellows S, Rijntjes M, Leonhardt G, Kiebel S, et al. Brain representation of active and passive movements. *Neuroimage* 1996; 4: 105-10.



- 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 ( Pt 2): 591-7.
- Wu CC, Fairhall SL, McNair NA, Hamm JP, Kirk IJ, Cunnington R, et al. Impaired sensorimotor integration in focal hand dystonia patients in the absence of symptoms. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009.
- Zeuner KE, Bara-Jimenez W, Noguchi PS, Goldstein SR, Dambrosia JM, Hallett M. Sensory training for patients with focal hand dystonia. *Ann Neurol* 2002; 51: 593-8.
- Zeuner KE, Hallett M. Sensory training as treatment for focal hand dystonia: a 1-year follow-up. *Mov Disord* 2003; 18: 1044-7.
- Zeuner KE, Peller M, Knutzen A, Hallett M, Deuschl G, Siebner HR. Motor re-training does not need to be task specific to improve writer's cramp. *Mov Disord* 2008; 23: 2319-27.
- Zeuner KE, Shill HA, Sohn YH, Molloy FM, Thornton BC, Dambrosia JM, et al. Motor training as treatment in focal hand dystonia. *Mov Disord* 2005; 20: 335-41.
- Zittel S, Moll CK, Bruggemann N, Tadic V, Hamel W, Kasten M, et al. Clinical neuroimaging and electrophysiological assessment of three DYT6 dystonia families. *Mov Disord* 2010.