

Zmiany czynności kory ruchowej mózgu po leczeniu botuliną u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym i spazmem kończyn dolnych

Changes in motor cortex activation after botulinum toxin treatment in MS patients with leg spasticity

Klinika Neurologiczna, Wydział Lekarski, Uniwersytet Palackiego w Olomouci, Szpital Uniwersytecki w Olomouci

Adres do korespondencji: Neurologická klinika, Fakultní nemocnice Olomouc, I. P. Pavlova 6, 779 00 Olomouc,

tel.: +420 585 853 401, faks: +420 585 844 201, e-mail: neurologie@fnol.cz, http://fmri.upol.cz

Praca finansowana przez Ministerstwo Zdrowia RC, nr NS9920-4/2008

Praca została uprzednio wygłoszona podczas 43. Konferencji Studenckich Prac Naukowych Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Palackiego w Olomouci (43. konference studentských vědeckých odborných prací Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci) (2010), podczas konkursu o Nagrodę im. Alberta Schweitzera Ambasady Republiki Francuskiej w Pradze (Cena Alberta Schweitzera Francouzského velvyslanectví v Praze) (2011) oraz Konkursu na najciekawszą pracę naukową Polskiego Towarzystwa Medycznego w RC (PTM) (2011) w ramach obchodów XX-lecia samodzielności PTM.

Podziękowania:

Składam podziękowania prof. MUDr. Ing. Petrowi Hlušíkowi, Ph.D. (Oddział Neurologiczny, Wydział Lekarski, Uniwersytet Palackiego w Olomouci) za merytoryczną pomoc podczas badań. Dziękuję także Polskiemu Towarzystwu Medycznemu w RC za poparcie zgłoszenia tej pracy do opublikowania.

Streszczenie

Miejscowe skurcze toniczne to powszechnie spotykany objaw stwardnienia rozsianego (łac. *sclerosis multiplex*, SM). Do ich zwalczania coraz częściej stosowany jest zastrzyk domięśniowy botuliny typu A. Do analizy statystycznej zaakceptowaliśmy 4 z 10 badanych pacjentów z SM i spastycznością kończyn dolnych oraz 5 zdrowych wolontariuszy. Pacjenci zostali poddani badaniu fMRI trzykrotnie: w tygodniu przed zastrzykiem botuliny A, a następnie w 4. i 12. tygodniu po iniekcji. Podczas badań fMRI probanci wykonywali zginanie i prostowanie stawu kolanowego według planu blokowego, przy czym faza czynna zamieniała się z fazą spoczynku w 15-sekundowych odstępach. Obraz przeciętnej aktywacji pacjentów podczas pierwszej sesji wskazywał, w porównaniu z grupą kontrolną, na istotny wzrost aktywacji obustronnej kory czuciowo-ruchowej płatu czołowego i ciemieniowego. Podczas drugiej sesji w 4. tygodniu aktywacja zmalała do tego stopnia, że statystycznie nie różniła się od zdrowej kontroli. Z kolei w obrazach trzeciej sesji po 12 tygodniach odnotowano w związku z wygaśnięciem efektu botuliny A ponowny wzrost aktywacji niemal do objętości pierwotnej. **Wnioski:** Stwierdzamy, że aktywacja kory ruchowej odzwierciedla zmiany w obwodowym układzie nerwowym zachodzące podczas leczenia za pomocą botuliny A, w czym prawdopodobnie pośredniczą zmiany w aferencji. Jest to nowe odkrycie, aczkolwiek nie wykracza poza stwierdzenia podobnych badań przeprowadzonych innymi metodami.

Słowa kluczowe: funkcjonalny rezonans magnetyczny, kora ruchowa, stwardnienie rozsiane, spastyczność, botulina A

Summary

Local administration of botulinum neurotoxin type A (BoNT-A) is becoming the preferred treatment for focal spasticity, a movement disorder commonly occurring in multiple sclerosis (MS). In this study, 4 out of 10 enrolled MS patients with leg spasticity and 5 healthy controls (HCs) were included. In the patient group, the fMRI examination was performed three times: before the BoNT-A administration and at the week 4 and week 12 visits after injection. During all the examinations, subjects performed blocks of repeated knee extension-flexion alternating with rest blocks, each 15 seconds long. The patient group mean images at the week 0 examination showed significant compensatory spatial enlargement of bilateral frontoparietal sensorimotor cortices when compared to controls, whereas the results of the second examination showed significant contraction of previously activated areas with no significant difference from HCs. At the final examination, the activation areas expanded back close to their original volume, in association with the disappearance

of the BoNT-A effect on spasticity. **Conclusion:** We conclude that motor cortex engagement reflects the BoNT-A treatment-related changes in the periphery, likely indirectly mediated by altered afferentation. This is a novel observation, although consistent with the conclusions of other studies using different methods and paradigms.

Key words: fMRI, motor cortex, multiple sclerosis, muscle spasticity, botulinum A toxin

WSTĘP I CEL PRACY

Stwardnienie rozsiane (łac. *sclerosis multiplex*, SM) to przewlekłe schorzenie demielinizacyjne ośrodkowego układu nerwowego (OUN) wykrywane najczęściej u osób w trzeciej i czwartej dekadzie życia, przy czym kobiety chorują na nie niemal dwa razy częściej od mężczyzn⁽¹⁾. Objawy SM są bardzo zróżnicowane, jednak prędzej czy później u zdecydowanej większości pacjentów pojawia się spastyeczność (szacuje się, że występuje ona u 75-90%)⁽¹⁾. Charakterystyczną formą spastyeczności są miejscowe toniczne skurcze mięśniowe kończyn dolnych, m.in. przywodzicieli, zginaczy i prostowników uda⁽²⁾, co istotnie wpływa na możliwości swobodnego poruszania się, samodzielność i higienę pacjenta^(3,4). Toniczne skurcze mięśniowe można zdefiniować jako wzmożone napięcie mięśniowe wskutek nasilenia odruchów rozciągania. Chodzi o bezpośredni efekt zaburzenia integracji sygnału w dośrodkowych drogach proprioceptyjnych. Spastyeczność wchodzi w skład bardziej złożonego zespołu, tzw. zespołu uszkodzenia górnego neuronu ruchowego (*upper motor neuron syndrome*)⁽⁴⁾.

Do powszechnie używanych metod leczenia skurczów tonicznych należą: fizjoterapia i leczenie ortopedyczne, zabiegi chirurgiczne, spazmolityki oraz miejscowa aplikacja botuliny typu A (*botulinum neurotoxin type A*, BoNT-A)^(5,6). Wszystkie wymienione metody mają pewne ograniczenia lub powodują poważne efekty uboczne. Z uwagi na zróżnicowany przebieg SM nie ustalono dotychczas jednoznacznych ogólnych zaleceń terapeutycznych⁽⁶⁾. Zastosowanie botuliny A zostało jednak wskazane szczególnie w przypadku miejscowych skurczów kończyn dolnych^(3,5,6). Botulina A powoduje inhibicję uwalniania acetylocholino z neuronu presynaptycznego, co prowadzi do zaburzeń przewodzenia synapsy nerwowo-mięśniowej i do obniżenia napięcia mięśniowego^(5,6). Miejscowy zastrzyk botuliny A do mięśni ogarniętych spazmem powoduje ich rozkurcz, korzystnie wpływa na funkcję spastyecznej kończyny i przez 10-12 tygodni poprawia stan chorego^(3,7), co według różnych badań OUN może wpływać także na struktury na różnych poziomach układu czuciowo-ruchowego^(8,9).

Badania w obrazowaniu funkcjonalnego rezonansu magnetycznego (*functional magnetic resonance imaging*, fMRI) przeprowadzone u pacjentów cierpiących na SM wskazują na wzmożoną aktywację układu czuciowo-ruchowego, która pojawia się prawdopodobnie wskutek częściowej kompensacji uszkodzenia odśrodkowych dróg ruchowych⁽¹⁰⁾. W niedawnych badaniach pacjentów z udarem mózgu i spastyecznością kończyny górnej stwierdzono, że terapia botuliną A prowadzi w okresie największej poprawy objawów klinicznych do istotnego obniżenia kompensacyjnej aktywacji kory ruchowej w obrazach fMRI⁽⁹⁾.

Zakładamy więc, że botulina A powoduje spadek aktywacji również u pacjentów chorujących na SM z miejscowymi skurczami tonicznymi kończyn dolnych. Jak dotąd nie przeprowadzono takich badań w obrazowaniu fMRI.

Głównym celem naszych badań było potwierdzenie hipotezy, że domięśniowy zastrzyk botuliny A wpływa na czynność kory ruchowej podczas ruchu dowolnego upośledzoną kończyną. Dodatkowym celem było ustalenie różnicy pomiędzy danymi pacjentów a wyjściową fizjologiczną czynnością kory ruchowej grupy kontrolnej złożonej ze zdrowych osób.

MATERIAŁ I METODY

DANE KLINICZNE I DEMOGRAFIA

W badaniu wzięło udział 10 pacjentów chorujących na klinicznie pewne SM z miejscowymi skurczami tonicznymi kończyn dolnych i 5 zdrowych wolontariuszy wchodzących w skład grupy kontrolnej. Do diagnostyki SM użyto kryteriów wg McDonalda. Stopień niewydolności ruchowej na skali EDSS wynosił $\leq 6,5$. Efekt leczenia i spastyeczność kończyn dolnych zostały ocenione na podstawie zmodyfikowanej skali wg Ashwortha, w przypadku mięśni przywodzicieli uda na podstawie skali Snowa⁽⁷⁾. Z badania zostali wykluczeni pacjenci z wyraźnym zaburzeniem funkcji kognitywnych (MMSE <26), pacjenci cierpiący na depresję wg skali Zunga oraz pacjenci, którzy w ciągu ostatniego miesiąca zostali poddani leczeniu wysokimi dawkami kortykosteroidów, leków immunosupresyjnych lub cytostatycznych. Wszyscy zaakceptowani pacjenci byli w stanie wykonywać nasze polecenia i pisemnie wyrazili zgodę na udział w badaniu. Pięciu pacjentów nie dokończyło kompletnego protokołu badania, jako powód podając sprawy osobiste lub nie podając wyjaśnienia. Następnie jedna pacjentka została wykluczona z analizy statystycznej z powodu wystąpienia artefaktów w danych fMRI uniemożliwiających przeprowadzenie obliczeń. Grupę pacjentów (GP) ostatecznie zaakceptowanych do analizy tworzyły 4 osoby, w tym 3 kobiety i 1 mężczyzna, średnia wieku wynosiła 46,5 roku. Objawy spastyeczne były u wszystkich pacjentów bardziej nasilone w prawo. Grupę kontrolną (GK) o średniej wieku 21,6 roku tworzyli 4 mężczyźni i 1 kobieta. Dane demograficzne grupy pacjentów i efekt leczenia przedstawia tabela 1.

TERAPIA

Pacjenci (GP) zostali w tygodniu 0. poddani leczeniu spastyeczności mięśni kończyn dolnych za pomocą komercyjnego preparatu botuliny A (BOTOX®, Allergan, Irvine, CA, USA) w postaci zastrzyku domięśniowego. Pojedynczy zastrzyk

Subjekt	Płeć	Wiek	Postać MS	Zmiana skali Snowa
1	M	43	WP**	2
2	Ż	48	NR***	1
3	Ż	42	NR***	1
4	Ż	53	WP**	1
Średnia		46,50		1,25
OS*		5,07		0,50

* OS – odchylenie standardowe;
 ** WP – wtórnice postępująca;
 *** NR – nawracająco-remitująca.

Tabela 1. Demografia i dane kliniczne

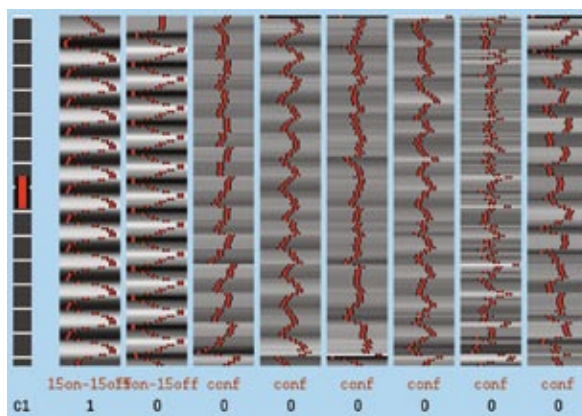
zawierał 50 U botuliny A. Pacjenci z dominującą spastycznością przywodzicieli uda otrzymali zgodnie dwa zastrzyki do obu mięśni przywodzicieli wielkich, razem 200 U. Pacjenci z dominującą spastycznością prostowników uda otrzymali po jednym zastrzyku do obu mięśni dwugłowych uda, mięśni półścięgniastych oraz do przyśrodkowych głów mięśni brzuchatych łydek, razem 300 U. Grupa kontrolna nie została poddana żadnemu leczeniu.

ZADANIE

Probandzi mieli za zadanie przez 6 minut wykonywać w pozycji leżącej zginanie i prostowanie stawu kolanowego, podnosząc piętę do wysokości 10-15 cm. Zgodnie z blokowym planem badań fMRI faza ruchu (faza czynna) występowała naprzemiennie z fazą spokoju, przy czym obie trwały zgodnie 15 sekund. Probandzi powtórzyli zadanie kolejno 4 razy (2 razy dla każdej kończyny) i wykonywali je ze średnią szybkością 34 zgięć na minutę. Probandzi mieli podczas badania zamknięte oczy i otrzymywali polecenia przez słuchawki kompatybilne ze skanerem rezonansu magnetycznego. Wszyscy pacjenci (GP) zostali poddani badaniu fMRI trzykrotnie. Pierwsza sesja odbyła się przed terapią botuliną A (tydzień 0.), druga 4 tygodnie po terapii botuliną A (tydzień nr 4), a ostatnia po upływie 3 miesięcy, czyli po zupełnym wygaśnięciu efektu botuliny A (tydzień nr 12). Grupa kontrolna została zbadana tylko raz.

OBRAZOWANIE

Podczas badań fMRI odczytywaliśmy sygnał BOLD istoty szarej (tzn. sygnału zależnego od poziomu natlenienia krwi, *blood oxygen level-dependent*) za pomocą sekwencji EPI (*echo planar imaging*) w skanerze marki Siemens Avanto o indukcji magnetycznej 1,5 T. Dane odczytywaliśmy z całej objętości mózgu w 30 warstwach poziomych o grubości 5 mm. Pozostałe parametry pomiaru były następujące: TR (*repeat time* – czas repetycji) = 2,5 s, TE (*echo time* – czas echa) = 50 ms, FOV (*field of view* – obszar zainteresowania) = 220 mm, rozdzielczość przestrzenna: 3,4×3,4×5 mm. Podczas każdego wykonywanego



Rys. 1. Graficzne przedstawienie analizy pierwszego rzędu z krzywą idealnej odpowiedzi hemodynamicznej i korekcją ruchu

zadania w ciągu 6 minut zostały zapisane 144 objętości mózgu. Jako odniesienie do anatomii patologicznej pacjentów uzyskano również obrazy FLAIR (*fluid attenuated inversion recovery*) i obrazy T1-zależne o wysokiej rozdzielczości.

ANALIZA DANYCH

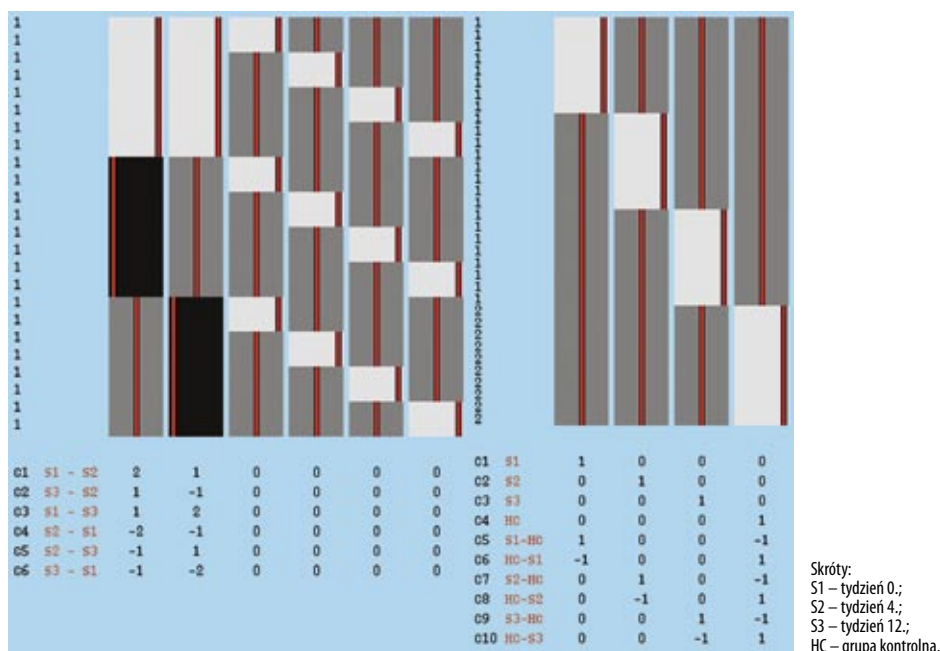
Dane fMRI przeanalizowaliśmy statystycznie za pomocą narzędzia FEAT (*fMRI Expert Analysis Tool*) w wersji 5.98 należącego do pakietu FMRIB Software Library (FSL, www.fmrib.ox.ac.uk/fsl). Obrazy zostały skorygowane wobec ruchów głowy przy użyciu programu MCFLIRT⁽¹¹⁾ i przestrzenie wygładzone za pomocą filtra Gaussa o szerokości 8 mm. Analizę statystyczną pierwszego rzędu przeprowadzono za pomocą ulepszonego modelu liniowego FMRIB (*FMRIB's Improved Linear Model*, FILM). Dane zostały znormalizowane wg szablonu MNI (Montreal Neurological Institute) za pomocą programu FLIRT (*FMRIB's Linear Image Registration Tool*)^(11,12). Model przedstawia rys. 1.

Analizę danych grupowych fMRI przeprowadzono za pomocą programu FLAME (*FMRIB's Local Analysis of Mixed Effects*)⁽¹³⁻¹⁵⁾. Rezultatem analizy statystycznej są obrazy (wartość p hipotezy alternatywnej <0,05) z wyznaczoną przeciętną aktywacją podczas każdej sesji i różnicami pomiędzy sesjami, włącznie z porównaniem z grupą kontrolną⁽¹⁶⁾. Struktury anatomiczne określono za pomocą narzędzia *Harvard-Oxford Cortical Structural Atlas*. Rys. 2 przedstawia model analizy drugiego rzędu.

WYNIKI

WYNIKI KLINICZNE

Terapia za pomocą botuliny A obniżyła stopień nasilenia spazmów tonicznych kończyn dolnych (średnia zmiany skali Snowa wynosiła 1,25 przy odchyleniu standardowym 0,50), patrz tabela 1. Efekt ten wygasł zupełnie po 12 tygodniach u wszystkich obserwowanych pacjentów. Podczas leczenia nie odnotowano żadnych efektów ubocznych. Żaden pacjent nie

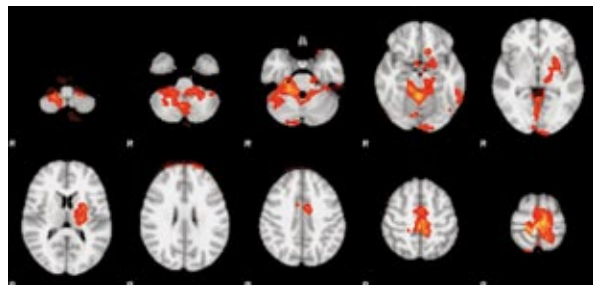


Rys. 2. Graficzne przedstawienie analizy 2. rzędu

prezentował objawów depresji (wg Zunga) ani zaburzenia funkcji kognitywnych (wg MMSE).

OBRAZOWANIE

Obrazy przeciętnej czynności mózgu pacjentów (GP) w tygodniu 0. (rys. 4 i 7) pokazują, w porównaniu z grupą kontrolną, istotny wzrost objętości aktywowanej w obustronnej pierwszorzędowej korze ruchowej (pole 4. wg Brodmanna), pierwszorzędowej korze czuciowej (pola 1., 2. i 3. wg Brodmanna) i dodatkowym polu ruchowym (*supplementary motor area*, SMA, pole 6. wg Brodmanna). Podczas maksymalnego efektu terapii botuliną A w tygodniu nr 4 (rys. 5 i 7) odnotowaliśmy zmniejszenie objętości aktywowanej zbliżające się do obrazu czynności fizjologicznej (przeciwny zakręt przedśrodkowy, pola 4. i 6. wg Brodmanna) bez statystycznie istotnej różnicy pomiędzy pacjentami i grupą kontrolną (rys. 3 i 7). Po upływie trzech miesięcy (tydzień 12.; rys. 6 i 7) aktywacja ponownie wzrosła niemal do poziomów pierwotnych, zgodnie z powrotem spastyczności i zaburzeń ruchu kończyn dolnych. Obrazy statystyczne nie wskazywały na istotną różnicę pomiędzy



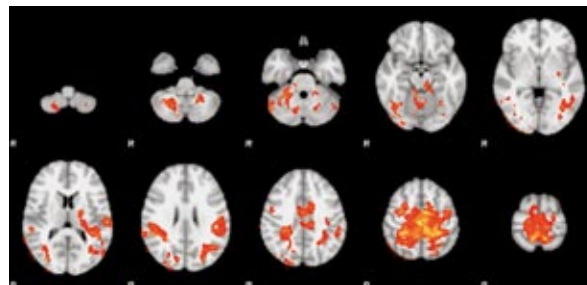
254 Rys. 3. Średnia grupy kontrolnej

czynnością kory w tygodniu 0. i w tygodniu 12. Zestawienie przeciętnej aktywacji i kontrastów statystycznych ($p < 0,05$) przedstawia rys. 7.

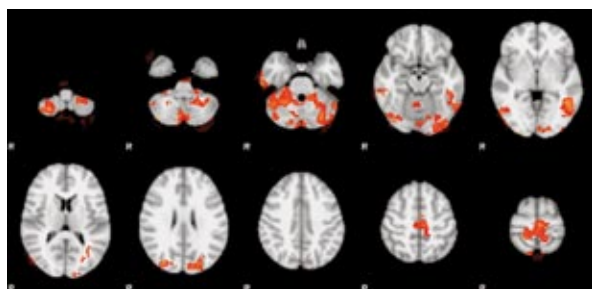
OMÓWIENIE

Nadmierna czynność kory ruchowej u pacjentów przed terapią botuliną A potwierdza w naszych badaniach hipotezę kompensacji uszkodzenia dróg ośrodkowych i stratę tkanki istoty szarej sugerowaną przez innych autorów⁽¹⁰⁾. Wyraźny spadek aktywacji po terapii może odzwierciedlać obniżenie aferentacji z mięśni⁽⁹⁾, co sugeruje, że nadmierna aktywacja kory mózgowej może być przynajmniej częściowo skutkiem spastyczności, prawdopodobnie właśnie za pośrednictwem nasilonej aferentacji. Obniżenie aktywacji korowej po terapii może być też jednym z bezpośrednich czynników wpływających na poprawę funkcji; innymi słowy – w efekcie botuliny A mogą częściowo pośredniczyć także ośrodki ruchowe wyższego rzędu.

Stwierdzenia te w przyszłości mogą nam pomóc zrozumieć zależności pomiędzy układem czuciowo-ruchowym a efektem



Rys. 4. Średnia pacjentów przed podaniem BoNT-A (tydzień 0.)



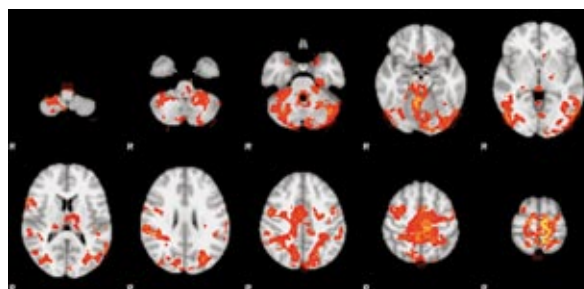
Rys. 5. Średnia pacjentów po podaniu BoNT-A (tydzień 4.)

botuliny A. Kontynuacja badań może prowadzić do nowych odkryć dotyczących aktywacji kompensacyjnej w stwardnieniu rozsianym i jej związku ze spastycznością. Dokładne poznanie tych mechanizmów pozwoliłoby przewidzieć, jak pacjent zareaguje na leczenie.

Celem następnych badań będzie porównanie zmian zachodzących w korze ruchowej grupy leczonej odmiennymi metodami (fizjoterapia, spazmolityki) i ustalenie stopnia korelacji pomiędzy zmianami czynności kory mózgowej a poprawą funkcji kończyny spastycznej.

WNIOSKI

Podsumowując, stwierdzamy, że czynność kory ruchowej odzwierciedla zmiany obwodowe spowodowane terapią botuliną A, co zachodzi prawdopodobnie za pośrednictwem zmiany aferencji. Jest to nowe odkrycie, które jednak pozostaje w zgodzie z wnioskami innych badań używających innych metod i paradygmatów.

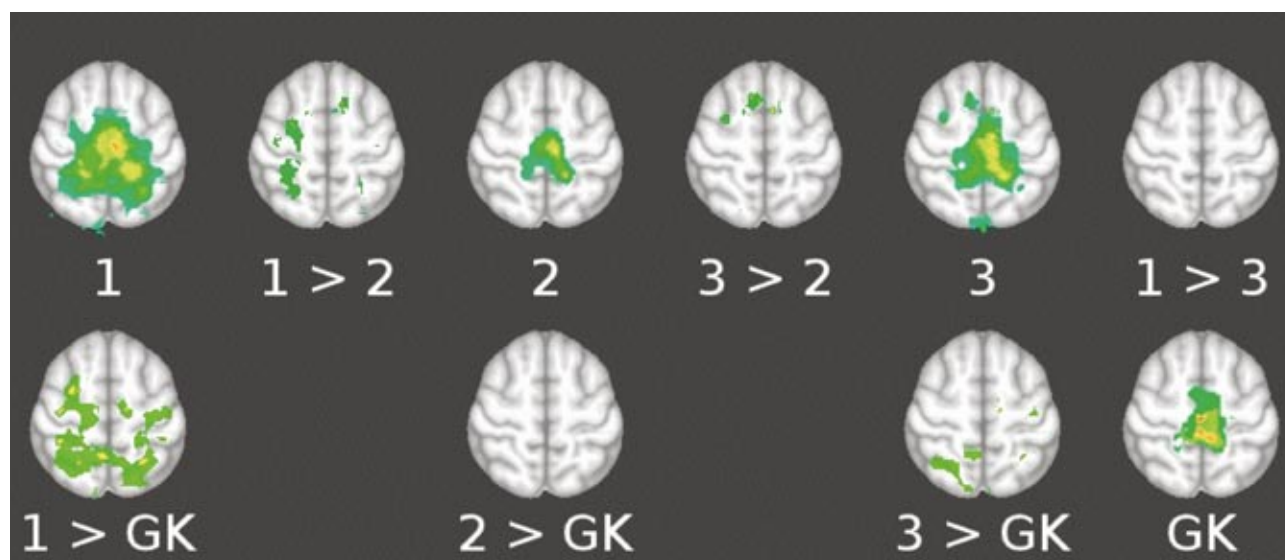


Rys. 6. Średnia pacjentów po upływie 3 miesięcy (tydzień 12.)

PIŚMIENNICTWO:

BIBLIOGRAPHY:

1. Barten L.J., Allington D.R., Procacci K.A., Rivey M.P.: New approaches in the management of multiple sclerosis. *Drug Des. Devel. Ther.* 2010; 24: 343-366.
2. Kabus C., Hecht M., Japp G. i wsp.: Botulinum toxin in patients with multiple sclerosis. *J. Neurol.* 2006; 253 (supl. 1): I26-I28.
3. Henze T.: Managing specific symptoms in people with multiple sclerosis. *Int. MS J.* 2005; 12: 60-68.
4. Habek M., Karni A., Balash Y., Gurevich T.: The place of the botulinum toxin in the management of multiple sclerosis. *Clin. Neurol. Neurosurg.* 2010; 112: 592-596.
5. Davis E.C., Barnes M.P.: Botulinum toxins and spasticity. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 2000; 69: 143-147.
6. Hyman N., Barnes M., Bhakta B. i wsp.: Botulinum toxin (Dysport) treatment of hip adductor spasticity in multiple sclerosis: a prospective, randomised, double blind, placebo controlled, dose ranging study. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 2000; 68: 707-712.
7. Snow B.J., Tsui J.K., Bhatt M.H. i wsp.: Treatment of spasticity with botulinum toxin: a double-blind study. *Ann. Neurol.* 1990; 28: 512-515.



Rys. 7. Kontrasty i średnie w pojedynczej warstwie o współrzędnej Z=58 mm. Średnia: 1 – pacjenci – tydzień 0. 2 – pacjenci – tydzień 4. 3 – pacjenci – tydzień 12. GK – grupa kontrolna – dane wyjściowe. Kontrasty: 1>2 – spadek aktywacji w tygodniu 4. 3>2 – wzrost aktywacji w tygodniu 12. 1>3 – zerowa różnica pomiędzy obrazami 1. i 3. 1>GK – aktywacja przed podaniem BoNT-A w porównaniu z GK. 2>GK – zerowa różnica pomiędzy GK i obrazem nr 2. 3>GK – aktywacja po upływie 12 tygodni w porównaniu z GK. Obrazy uzyskane za pomocą programu AFNI⁽¹⁷⁾

8. Park E.S., Park C.I., Kim D.Y., Kim Y.R.: The effect of spasticity on cortical somatosensory-evoked potentials: changes of cortical somatosensory-evoked potentials after botulinum toxin type A injection. *Arch. Phys. Med. Rehab.* 2002; 83: 1592-1596.
9. Šenkárová Z., Hlušík P., Otruba P. i wsp.: Modulation of Cortical Activity in Patients Suffering from Upper Arm Spasticity following Stroke and Treated with Botulinum Toxin A: An fMRI Study. *J. Neuroimaging* 2010; 20: 9-15.
10. Pantano P. i wsp.: Functional brain reorganization in multiple sclerosis: evidence from fMRI studies. *J. Neuroimaging* 2006; 16: 104-114.
11. Jenkinson M., Bannister P., Brady M., Smith S.: Improved optimisation for the robust and accurate linear registration and motion correction of brain images. *Neuroimage* 2002; 17: 825-841.
12. Jenkinson M., Smith S.M.: A Global Optimisation Method for Robust Affine Registration of Brain Images. *Med. Image Anal.* 2001; 5: 143-156.
13. Beckmann C., Jenkinson M., Smith S.M.: General multi-level linear modelling for group analysis in FMRI. *Neuroimage* 2003; 20: 1052-1063.
14. Woolrich M.W., Behrens T.E.J., Beckmann C.F. i wsp.: Multi-level linear modelling for FMRI group analysis using Bayesian inference. *Neuroimage* 2004; 21: 1732-1747.
15. Woolrich M.W.: Robust Group Analysis Using Outlier Inference. *Neuroimage* 2008; 41: 286-301.
16. Worsley K.J.: Statistical analysis of activation images. Rozdział 14. W: Jezzard P., Matthews P.M., Smith S.M. (red.): *Functional MRI: An Introduction to Methods*. OUP, USA, 2001.
17. Cox R.W.: AFNI: Software for analysis and visualization of functional magnetic resonance neuroimages. *Comput. Biomed. Res.* 1996; 29: 162-173.