

SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET

Ivan Konstantinović

**Procjena kortikalnog perioda tišine laringealnog mišića
podražajem primarne motoričke kore transkranijском
magnetskom stimulacijom**

Doktorski rad

Akadska godina: 2025./2026.

Mentor:

dr. sc. Maja Rogić Vidaković, viši znanstveni suradnik

Split, 2025.

Ova doktorska disertacija zasnovana je na jedinstvenoj studiji iz područja biomedicinskih znanosti, polja temeljnih medicinskih znanosti, grane neuroznanosti i po prvi put na egzaktan način pokazuje kortikalni period tišine laringalnog krikotiroidnog mišića. Istraživanje za ovu doktorsku disertaciju provedeno je u Laboratoriju za humanu i eksperimentalnu neurofiziologiju Zavoda za neuroznanost pri Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Splitu te u Kliničkom bolničkom centru Split. Voditeljica je istraživanja dr.sc. Maja Rogić Vidaković, viši znanstveni suradnik.

Znanstveno istraživanje na kojem se temelji doktorska disertacija:

The Cortical Silent Period in the Cricothyroid Muscle as a Neurophysiologic Feature for Dystonia Observation: E-Field-Navigated Transcranial Magnetic (TMS) Study. Konstantinović I, Bošković B, Šoda J, Dolić K, Đogaš Z, Lapčić M, Ledenko V, Vrgoč T, Rogić Vidaković M. Biomedicines. 2023; 11: 1373

ZAHVALA

"If I have seen further, it is by standing on the shoulders of giants."“

Sir Isaac Newton, 1675.

Ova doktorska disertacija nastavak je rada mentorice dr.sc. Maje Rogić Vidaković, kao i njezinih prijašnjih radova s prof. V. Deletisom u na polju neuroelektrofiziologije.

Svesrdno hvala mentorice na ukazanom povjerenju, bezrezervnom strpljenju, korisnim savjetima i smjernicama, kao i na nesebično prenesenom znanju. Hvala Vam što ste me uveli u polje neurofiziologije.

Zahvaljujem svim suradnicima koji su sudjelovali u nastajanju disertacije te kolegama iz Zavoda za neurokirurgiju Kliničkog bolničkog centra Split i Kliničke bolnice Dubrava. Hvala na prijateljstvu i zabavno provedenom vremenu, hvala na konstruktivnim savjetima i prijedlozima.

Hvala prof. dr. sc. Damiru Sapunaru i prof. dr. sc. Liviji Puljak na potpori i motivaciji u radu na poslijediplomskom studiju.

Želim zahvaliti i VD prijateljima koji su uz mene proteklih dvadeset godina.

Hvala mojim roditeljima, Radoslavu i Editi na svemu što ste mi pružili.

Na kraju, želim zahvaliti Rozi i Oliveru te posebno mojoj Izabeli što mi dajete smisao.

Sadržaj

1. UVOD.....	2
1.1. Neuroanatomija govora	3
1.1.1. Prilog iz anatomije laringealne regije.....	3
1.1.2. Prilog iz anatomije i fiziologije mozga	4
1.2. Transkranijaska magnetska stimulacija	14
1.3. Neuroelektrofiziološki princip rada TMS-a	19
1.4. Motorički evocirani potencijal	22
1.5. Kortikalni period tišine.....	25
2. CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA.....	29
2.1. Cilj istraživanja	30
2.2. Ustroj istraživanja	30
2.3. Hipoteze	31
3. METODE I MATERIJALI (ispitanci i postupci).....	32
3.1. Odobrenje etičkog povjerenstva.....	33
3.2. Ispitanici	33
3.3. Postupci	33
3.3.1. MRI snimka mozga	33
3.3.2. Postupak postavljanja elektroda	34
3.3.3. Priprema kože.....	35
3.3.4. Procjena područja šake.....	35
3.3.5. Procjena laringealnog područja.....	36
3.3.6. nTMS postupak mapiranja M1 regije za reprezentaciju šake i LMC-a	37
3.4. Statistička analiza.....	39
3.4.1. Statistička snaga studije	39
3.4.2. Neurofiziološke mjere i statistička obrada	39
3.4.3. Analiza podataka	39
3.4.4. Analizirane mjere	40
3.5. Metodologija	40
3.5.1. Obrada podataka i statistički postupci.....	40
4. REZULTATI.....	41
5. RASPRAVA.....	49
5.1. Prikaz CSP parametra u neurološkim bolestima	52

5.2. Prikaz CSP parametra u studijama s laringealnom distonijom	53
5.3. Primjena CSP iz CT mišića kod pacijenta s laringealnom distonijom	55
5.4. Očekivani znanstveni doprinos	59
6. ZAKLJUČCI	60
7. LITERATURA.....	62
8. SAŽETAK	72
9.SAŽETAK ZA LAIKE	75
10. SUMMARY	77
11. LAY SUMMARY	80
12. ŽIVOTOPIS	82

Popis kratica

LMC - laringealna motorička kora

M1 - primarna motorička kora

MEP - motorički evocirani potencijal

CoMEP - kortikonuklearni motorički evocirani potencijal

CSP - kortikalni period tišine

TMS - transkranijska magnetska stimulacija

nTMS - navigacijska transkranijska magnetska stimulacija

rTMS - repetitivna transkranijska magnetska stimulacija

ISI - interstimulus interval

SICI - intrakortikalna inhibicija kratkog intervala

ICF - intrakortikalna facilitacija

ICI - intrakortikalna inhibicija

SSEP - somatosenzorički evocirani potencijal

BAEP - auditivni potencijal moždanog debla

EEG - elektroencefalografija

EMG - elektromiografija

CT - krikotiroidni mišić

TA - tiroaritenoidni mišić

MT - motorički prag podražljivosti

rMT - motorički prag podražljivosti u mirovanju

GABA - gama-aminomaslačna kiselina

TBS - theta-rafalna stimulacija

iTBS - intermitentna theta-rafalna stimulacija

cTBS - kontinuirana theta-rafalna stimulacija

dTMS - duboka transkranijska magnetska stimulacija

DBS - duboka mozgovna stimulacija

MRI - magnetna rezonancija

fMRI - funkcionalna magnetna rezonancija

PET - pozitronska emisijska tomografija

1. UVOD

Razumijevanje intrakortikalnih procesa mozga koji se odvijaju u podlozi interakcije neurona i dalje predstavlja popriličan izazov. Spoznajom načina intrakortikalne komunikacije moći ćemo u potpunosti razumjeti interakciju mozga s ostalim organskim sustavima. Ova doktorska disertacija daje prilog spoznaji inhibicijskih intrakortikalnih i intraspinalnih procesa kojima mozak kontrolira organske sustave i prikazuje dio neuroelektrofizioloških inhibicijskih procesa na relaciji mozak – laringealna muskulatura pri fonaciji.

Neuroelektrofiziologija je disciplina koja se razvija u 18. stoljeću otkrićem električne aktivnosti neurona (1). Najprije kao eksperimentalna tehnika iz koje se razvija terapijska metoda u liječenju različitih bolesti mozga, a zatim i kao intraoperacijska tehnika za praćenje signala u sklopu protekcije zdravoga moždanog tkiva pri ablaciji tumorskih ekspanzivnih tvorbi. Prvaci neuroelektrofiziologije, Penfield i Boldrey, kreirali su prve mape kortikospinalnih puteva senzoričke i motoričke kore za korištenje u svakodnevnoj neurokirurškoj praksi (2). Korištenje intraoperacijskog neuromonitoringa radi prevencije neurološkog deficita temelji se na tvrdnji da su promjene funkcija neuronske strukture mjerljive prije nego što dovedu do trajnog oštećenja. Razvijene su metodologije za praćenje elektrofiziološkog signala koje uključuju somatosenzoričke evocirane potencijale (eng. *somatosensory evoked potentials, SSEP*), motoričke evocirane potencijale (eng. *motor evoked potentials, MEP*), auditivne potencijale moždanog debla (eng. *brain auditory evoked potentials. BAEP*), elektroencefalografiju (eng. *electroencephalography, EEG*) te elektromiografiju (eng. *electromyography, EMG*) (3).

Razvojem neinvazivnih neuroelektrofizioloških metoda za istraživanje električne aktivnosti mozga poput transkranijске magnetske stimulacije (eng. *transcranial magnetic stimulation, TMS*) stvorila se dodatna mogućnost za procjenu provođenja silaznih kortikonuklearnih i kortikospinalnih veza, kao i uzlaznih spinotalamičkih puteva. Neurofiziološke mjere, kao što su motorički prag podražljivosti (eng. *motor threshold, MT*), amplituda i latencija motoričkoga evociranog potencijala, latencija ili trajanje kortikalnog perioda tišine (eng. *cortical silent period, CSP*), mogu se koristiti za pružanje dokaza o promjenama u motoričkoj kortikalnoj kontroli ili kortikospinalnom izlazu koje su povezane s bolestima kod pacijenata (4,5). Indukcijom CSPa prikazan je neinvazivni uvid u funkciju inhibicijskog puta motoričke kore generiranjem električne struje u određenom području mozga, čime to postaje vrijedno sredstvo za mjerenje intrakortikalne inhibicije u motoričkoj kori mozga i otkrivanje promjena u kortikalnoj ekscitabilnosti kod stanja kao što su epilepsija, distonija, multipla skleroza i moždane ishemijske atake. Do danas su razvijene metodologije za mapiranje motoričke kore

pomoću TMS-a (6,7) i intraoperativno tehnikama električne stimulacije za snimanje kortikospinalnih i kortikonuklearnih puteva (3).

Cilj ove doktorske disertacije je po prvi put navigacijskom transkranijalnom magnetskom stimulacijom (eng. *navigated transcranial magnetic stimulation, nTMS*) motoričkih područja kore mozga za govor pružiti neurofiziološko objašnjenje ovog inhibicijskog fenomena na krikotiroidnom mišiću laringealne muskulature. Do sada je provedeno svega nekoliko studija koje su istraživale CSP iz laringealnih mišića čovjeka u bolesnim stanjima i na zdravim ispitanicima (4,8,9)

Može se očekivati primjena razvijene metodologije u daljnjem istraživanju i mapiranju radi očuvanja motoričkih područja kore mozga, a cilj je očuvanje mozga za govor te u planiranju i određivanju maladaptivne dinamike u različitim bolestima i stanjima što vodi do spoznaje o intrakortikalnim procesima mozga.

1.1. Neuroanatomija govora

1.1.1. Prilog iz anatomije laringealne regije

Produkcija glasa, u fiziološkom smislu, odnosi se na zvuk koji nastaje kompleksnom interakcijom laringealne motoričke kore (eng. *laryngeal motor cortex, LMC*), mišića usne šupljine, grkljana (lat. *larynx*), mišića prsišta i dijafragme (10). Poznato je preko 100 mišića koji sudjeluju u kontroli i preciznom podešavanju pokreta prifonaciji (11). Preciznost pokreta uključuje ekscitaciju i inhibiciju mišića, koja je nužna za artikulaciju zvuka, u kojem je koaktivacija mišića intrinzičnih grkljanskih mišića iznimno značajna u regulaciji duljine glasnice i samoj fonaciji. Anatomski prikazi grkljana opisuju hrskavični kostur sastavljen od epiglotisa, tiroidne i krikoidne hrskavice te tri manje parne aritenoidne, kornikulatne i kuneiformne hrskavice koje su povezane mišićima i ligamentima. Nadalje, mišići se dijele na intrinzične koji sudjeluju u nastanku glasa te ekstrinzične koji povezuju grkljan s drugim strukturama vrata. Abdukcija ili adukcija glasnice dovest će nastanka glasa pri čemu aktivacija krikotiroidnog mišića (lat. m. *cricothyroideus, CT*) dovodi do fonacije višeg tona. Mišić se sastoji od ravnog (lat. *pars recta*) i kosog (lat. *pars oblique*) dijela mišića koji povezuju krikoidnu i tiroidnu hrskavicu (12). On uz komplementarni stražnji krikoaritenoidni mišić (lat. m. *cricoarythenoideus posterior*) vrši abdukciju, odnosno otvara glasnice te djeluje

kao antagonist parnim lateralnim i prednjim krikaritenoidnim (lat. *m. cricoarytenoideus lateralis et anterior*), tireoaritenoidnim (lat. *m. thyroarytenoideus, TA*), ariepiglotidnim (lat. *m. aryepiglotticus*) te poprečnom aritenoidnom mišiću (lat. *m. arytenoideus transversus*). Oni aduciraju glasnice te omogućavaju fonaciju dubljeg tona. Antagonizam mišića kasnije su potvrdile EMG studije(13,14).

Inervacija mišića grkljana dolazi od dva različita živca: donjeg ili povratnog laringealnog živca (lat. *n. laryngeus recurrens*) i gornjeg laringealnog živca (lat. *n. laryngeus superior*). Gornji laringealni živac grana je vagalnog živca (lat. *n. vagus*) koja se odvaja iz donjeg ganglija *n. vagusa*. Ovaj živac također prima vlakna iz gornjeg cervikalnog ganglija simpatičkog živčanog sustava, prolazi između karotidnih arterija i ždrijela te stiže do grkljana neposredno ispod podjezične kosti (lat. *os hyoideum*), gdje se dijeli na unutarnju i vanjsku granu. Vanjska grana inervira CT, dok unutarnja grana prati gornju laringealnu arteriju (lat. *a. laryngea superior*) prema tirohioidnoj membrani (lat. *membrana thyreohyoidea*), opskrbljujući sluznicu oko ulaza u grkljan i epiglotis.

Povratni laringealni živac inervira sve intrinzične mišiće grkljana osim spomenutog CT mišića. Lijeva grana živca spušta se u prsni koš, obilazi luk aorte, dok desna grana živca obilazi arteriju subklaviju (lat. *a. subclavia*). Zatim se obje grane protežu kranijalno, uzduž traheje i jednjaka te ulaze u grkljan. Unutarnji i donji laringealni živci obično se spajaju u strukturi poznatoj kao Galenova anastomoza (15).

1.1.2. Prilog iz anatomije i fiziologije mozga

Embriologija opisuje razvoj mozga iz triju primarnih moždanih mjehura: prednjeg (lat. *prosencephalon*), srednjeg (lat. *mesencephalon*) i stražnjeg (lat. *rhombencephalon*), koji se kasnije diferenciraju u pet sekundarnih mjehura iz kojih se dalje razvija mozak: telencephalon, diencephalon, mesencephalon, metencephalon i myelencephalon.

Daljnja anatomska podjela dijeli mozak na veliki mozak (lat. *telencephalon*), međumozak (lat. *diencephalon*), mali mozak (lat. *cerebellum*) i moždano deblo (lat. *truncus encephali*). Veliki mozak sastoji se od dviju hemisfera povezanih corpusom callosumom, dok svaku hemisferu čine frontalni, parijetalni, temporalni i okcipitalni režanj (16,17).

Površinu mozga prekriva moždana kora (lat. *cortex cerebri*), struktura sive tvari podijeljena u šest slojeva s različitim histološkim osobinama unutar koje se nalaze milijarde neurona specijaliziranih za različitu obradu informacija. Takva struktura ostaje konzistentna uz razlike u količini prisutnosti pojedinog sloja s obzirom na ulogu u mozgovnoj funkciji. Primjerice, u motoričkoj kori jače je izražen sloj IV, dok je u senzornoj kori najizraženiji sloj V. Svaki od šest slojevima ima specifičnu ulogu u obradi informacija.

Prvi sloj koji se nalazi neposredno ispod površine moždane kore poznat je kao molekularni sloj. U njemu su dominantni dendriti stanica dubljih slojeva s manjom količinom vlastitih neurona. Sloj ima ulogu integracije aktivnosti iz različitih područja. Odražava poveznicu u koju se sinaptički povezuju i moduliraju različite kortikalne informacije.

Drugi sloj vanjski je granularni sloj koji se sastoji od gustog snopa horizontalno raspoređenih malih granularnih stanica koje imaju integracijsku i posredničku ulogu lokalnih kortikalnih kurgova tako što podržavaju lateralnu komunikaciju unutar kore. Također, stanice drugog sloja primaju aferentne informacije i šalju kratke projekcije dendrita prema trećem sloju.

Treći sloj naziva se vanjskim piramidalnim slojem, u kojemu se nalaze velike piramidalne stanice čiji aksoni čine asocijacijska i komisuralna vlakna, a njihova je uloga u tome da su poveznica između funkcionalnih regija mozga i tvore, između ostalog, i vlakna corpusa callosa koji povezuje dvije hemisfere. Treći sloj zaslužan je za sinkronizaciju kognitivnih i senzorno-motornih funkcija.

Unutarnji granularni sloj četvrti je sloj kore mozga koji tvore male, zrnaste stanice koje obrađuju aferentne projekcije uz talamusa, primarno zadužene za obradu osjeta. U senzornim regijama mozgovne kore ovaj je sloj najzastupljeniji, dok je u motoričkoj kori slabo razvijen, što utječe na razlike u funkciji pojedinih dijelova kore.

Peti je sloj unutarnji piramidalni sloj u kojem se nalaze Betzove stanice, velike piramidalne stanice koje su glavni eferentni neuroni s projekcijama vlakana prema subkortikalnim strukturama. Ovi piramidalni neuroni čine kortikospinalne, kortikonuklearne i druge eferentne puteve koji imaju ključnu ulogu u motoričkoj koordinaciji i upravljaju voljnim pokretima.

Multiformni je sloj najdublji, šesti sloj, koji čine različiti tipovi neurona čija regulatorna funkcija uspostavlja mehanizam komunikacije prema talamusu i pruža povratnu modulatornu prilagodbu osjetilne obrade i pažnje.

Ovih šest slojeva moždane kore čini osnovnu strukturalnu jedinicu unutar koje se odvijaju procesi integracije, sinteze motoričkog i senzoričkog odgovora (18,19). Svaki od navedenih slojeva doprinosi obradi signala različitih regija. Treba istaknuti Betzove stanice, koje je prvi opisao Vladimir Aleksejvič Betz 1874. godine (19). One predstavljaju najkrupnije stanice ljudskog mozga, čija veličina doseže i do 100 mikrometara, a karakterizira ih veliki trokutasti somatski oblik, dugi apikalni dendriti te aksoni koji daju projekcije sve do prednjih rogova kralježničke moždine, odnosno do nucleusa ambiguusa produljene moždine gdje stvaraju sinapse s alfa-motoneuronima. Zaslužne su za izrazito brzi, precizan prijenos signala, a služe kao integracijsko mjesto signala premotoričke, senzoričke kore, malog mozga te dubokih mozgovnih struktura.

Njihova se važnost ističe u kliničkom kontekstu. Naime, njihovo oštećenje bez obzira na to je li riječ o traumatskom oštećenju, cerebrovaskularnom inzultu ili o neurodegenerativnoj bolesti kao što je laringealna distonija, imat će za posljedicu slabost motoričke kontrole, paralizu i spastičnost koje dovode do neurološkog deficita. Proučavanje neurona i slojeva mozgovne kore i njihove komunikacije s dubljim strukturama mozga kao što je, primjerice, talamus daje osnovu za razvoj znanja o funkcionalnom integritetu ljudskog mozga (19).

U istraživanju moždane kore važno je istaknuti njemačkog neurologa Korbiniana Brodmanna koji je 1909. godine razvio mapu mozgovne kore na temelju citoarhitektonskih razlika (20). Njegova podjela postaje jedan od najvažnijih referentnih okvira svim disciplinama koje proučavaju mozak. Korbinian Brodmann otkrio je da se različiti dijelovi moždane kore razlikuju u svojoj mikroskopskoj građi, odnosno citoarhitektonici i da razlike ovise o funkciji. Analizom rasporeda, gustoće, veličine i oblika neurona primata i čovjeka utvrdio je razlike u slojevitosti, kao i razlike u međusobnim odnosima pojedinih dijelova mozgovne kore. Opisao je 52 različita područja čija se razlika temelji na morfologiji. Daljnja istraživanja otkrila su i funkcionalne korelacije, tako primjerice, područje 4 u Brodmannovoj podjeli odgovara primarnoj motoričkoj kori, dok područja 1, 2 i 3 obuhvaćaju primarnu somatosenzoričku koru, područje 17 identificirano je kao primarna vizualna kora, a područja 41 i 42 povezana su sa slušnom percepcijom. Područja 44 i 45 poznata su kao Brocova zona, ključna za produkciju govora, dok je Wernickeova zona smještena u područjima 22 i dijelovima 21 i 39, a ona je odgovorna za razumijevanje jezika. Time njegova mapa postaje temeljem funkcionalne neuroanatomije (21). Obrasci koje je Brodmann uočio kasnije su potvrdile

suvremene metode poput funkcionalne magnetske rezonancije (eng. functional magnetic resonance imaging, fMRI) ili pozitronske emisijske tomografije (eng. positron emitted tomography, PET) te elektroencefalografije (EEG) i TMS-a (22–24). Ove su metode znanstvenicima omogućile to da izravno povežu specifične Brodmannova područja sa senzorničkim, motoričkim i kognitivnim funkcijama. Današnje tehnike, uključujući optogenetiku, funkcionalnu neurovizualizaciju, TMS i genetske markere produbljuju znanje o funkcioniranju sveza između šest slojeva moždane kore, kao i njihovu interakciju s dubokim mozgovnim strukturama. S obzirom na ekstenzivnu istraženost Betzovih stanica nastao je model za proučavanje neurodegeneracije i neuroplastičnosti. Uloga Betzovih stanica i njihova interakcija s neuronima talamusa i drugim bazalnim ganglijima, neuronima moždanog debla te malim mozgom u maladaptivnim promjenama kortikalnih i intrakortikalnih signalnih puteva kod različitih bolesti, primjerice laringealne distonije i moždanog udara, otvara vrata novim metodama u neurorehabilitaciji (19,23).

U nastavku se prikazuju ostali modulacijski dijelovi mozga koji su ključni za nastanak CSP-a i daje anatomska podloga za ovaj elektrofiziološki fenomen.

Modulacijska struktura ljudskog mozga koja je ključna za integraciju, prijenos i obradu signala različitih dijelova mozga prije svega je talamus. Anatomski lokaliziran u međumozgu, talamus je parna struktura jajolikog oblika, po jedan u svakoj hemisferi. povezani su masom intermediom, spletom glijalnih stanica i komisuralnih vlakana, a posjeduju izuzetno složenu unutarnju organizaciju i funkcionalnu važnost što talamus čini jednim od najvažnijih središta moždane komunikacije. Morfološki se sastoji od više jezgara koji se mogu klasificirati u nekoliko osnovnih skupina: prednje, medijalne, lateralne, intralaminarne i retikularne jezgre koje se međusobno razlikuju prema vrsti informacija i različitim svezama s drugim kortikalnim i subkortikalnim strukturama. Primarna je funkcija talamusa to da je on prijenosno središte za osjetne, motoričke signale između ostatka središnjeg živčanog sustava i perifernog živčanog sustava. Karakterizira ga dvosmjerna povezanost, odnosno postojanje kortikotalamičkih i talamokortikalnih veza, što omogućuje talamusu utjecaj na aktivnu selekciju, modulaciju i integraciju signala, čime oblikuje svijest, pažnju, emocije, pamćenje i različite aspekte ponašanja. Svi osjeti, osim mirisa, prolaze kroz talamus prije nego što budu obrađeni u kori. Preko lateralne i medijalne genikulatne jezgre talamus obrađuje informacije

vida i sluha, dok ventroposterolateralne i ventroposteromedijalne jezgre obrađuju osjet prije prijenosa u somatosenzoričku koru. Intralaminarne jezgre uključene su u nespecifičnu aktivaciju moždane kore i važan su dio retikularnog aktivacijskog sustava, koji podržava stanje budnosti, održava razinu pažnje i omogućuje svjesno percipiranje podražaja iz vanjske sredine. Talamus je također usko povezan s emocionalnim i kognitivnim procesima putem mediodorzalne jezgre koja komunicira s prefrontalnom korom i limbičkim sustavom (25).

Za izdvojiti je ulogu u motoričkoj kontroli putem ventralne anteriorne i ventralne lateralne jezgre koje primaju ulazne signale iz bazalnih ganglija i malog mozga te ih prosljeđuju premotoričkoj i motoričkoj kori. Funkcionalne petlje talamusa, kore mozga, bazalnih ganglija i malog mozga čine sustav povratnih inhibicijsko-ekscitacijskih petlji koje omogućuju finu modulaciju motoričkih procesa. Ova mreža informacija ključna je za preciznu regulaciju pokreta, koordinaciju, intenzitet, vremensku sinkronizaciju, ali i inhibiciju neželjenih pokreta. Uloga je talamusa, dakle, u pažnji i selekciji informacija, čime omogućuje učinkovito procesuiranje kompleksne stvarnosti. Neurofiziološki mehanizmi uključuju theta-gama oscilacije, sinaptičku plastičnost, i interakciju između talamičkih stanica i inhibicijskih interneurona (25,26).

Oštećenje ovih talamičkih puteva dovodi do motoričkih pokreta u različiti neurološkim bolestima, primjerice u Parkinsonovoj bolesti, Huntingtonovoj bolesti, ali i distonijskim poremećajima kao što je laringealna distonija.

Zahvaljujući napretku tehnologije, talamus je sve više u središtu neuromodulacijskih istraživanja i kliničkih intervencija, uključujući duboku moždanu stimulaciju (eng. *deep brain stimulation, DBS*), koja se primjenjuje u liječenju Parkinsonove bolesti, esencijalnog tremora i drugih neuroloških poremećaja. Preciznim ciljanjem specifičnih talamičkih jezgara elektrodama moguće je modulirati njihovu aktivnost te posredno utjecati na povezane kortikalne i subkortikalne strukture. Na taj se način postiže poboljšanje motoričkih funkcija, redukcija tremora i povećanje kvalitete života u bolesnika kod kojih farmakološka terapija nije dostatno učinkovita. Ova terapijska praksa dodatno potvrđuje središnju ulogu talamusa u organizaciji, modulaciji i integraciji moždanih funkcija (27,28).

Talamus je centralna i duboko smještena struktura međumozga čija uloga nadilazi tradicionalni koncept „releja“. Osim što prenosi senzomotoričke informacije, aktivno oblikuje dinamiku njihova protoka kroz složene modulacijske mehanizme. Posebno je značajna njegova dvosmjerna povezanost s primarnom motoričkom korom, pri čemu

aferentni i eferentni putevi međusobno stvaraju povratne inhibicijske petlje. Ove petlje omogućuju talamusu da, ovisno o kontekstu i funkcionalnom stanju kore, selektivno filtrira i sinkronizira motoričke impulse (25,26,29).

Mali mozak (lat. *cerebellum*) je važan za finu motoričku koordinaciju, a prima motoričke informacije iz kore putem pontinih jezgri i šalje ih natrag u koru preko ventrolateralnih talamičkih jezgri. Ova petlja omogućava stalnu korekciju i prilagodbu pokreta, uključujući i one koji se odnose na govor i funkcioniranje larinksa. Osim što je uključen u koordinaciju pokreta, mali mozak regulira ritam, intenzitet i tok fonacije, što je vidljivo u poremećajima cerebelarne ataksije gdje se javlja dizartrija, nesuvislost govora i promuklost (30).

Mezencefalon ili srednji mozak sadrži važne jezgre za motoričku kontrolu kao što su nucleus ruber, substantia nigra i colliculi superiori i inferiori. Nucleus ruber ima ulogu u finoj motoričkoj regulaciji te preko rubrospinalnog trakta utječe na tonus mišića i koordinaciju pokreta. Substantia nigra pars compacta izvor je dopaminskih neurona koji reguliraju aktivnost bazalnih ganglija ključnih za motoričku kontrolu, a njezina degeneracija dovodi do Parkinsonove bolesti s motoričkim i govornim poremećajima. Colliculi sudjeluju u orijentacijskim pokretima glave i vrata koji su povezani s govornom motorikom (31,32).

Pons služi kao most između moždanog debla, kore i malog mozga. Sadrži važne jezgre poput nucleus pontis, koje primaju informacije iz motoričke i premotoričke kore te preko srednjeg pedunkula prenose te informacije u mali mozak. Na taj se način kortikopontocerebelarni trakt koristi kao kanal za dostavu planskih motoričkih naredbi malom mozgu. Retikularna formacija u ponsu dodatno modulira tonus mišića, disanje i glasovne funkcije te koordinira automatske i refleksne motoričke obrasce povezane s govorom. U ponsu su također smještene jezgre za kranijalne živce n. trigeminus, n. facialis i n. abducens, koji djelomično sudjeluju u motoričkoj kontroli orofacijalnih mišića i time indirektno utječu na govorne funkcije (33,34).

Produljena moždina (lat. *medulla oblongata*) sadrži nucleus ambiguus, primarnu motoričku jezgru n. vagusa, koja je esencijalna za inervaciju mišića ždrijela i larinksa te za izvođenje govora, gutanja i fonacije. Upravo je provođenje signala putem ogranaka vagalnog živca predmet ove doktorske disertacije. Osim toga, nucleus tractus solitarii u meduli prima visceralne senzorne informacije omogućujući refleksnu kontrolu disanja i gutanja, što je usko povezano s fonacijom. Donja olivarna jezgra važna je za motoričko učenje i koordinaciju jer svoje impulse šalje u mali mozak sudjelujući u temporalnoj organizaciji pokreta. Jezgra n. hypoglossusa upravlja pokretima jezika koji su nužni za artikulaciju (15,35).

U sustavu koji uključuje kortikalne, subkortikalne, talamičke i druge moždane strukture, komunikacija između neurona odvija se putem sinaptičkog prijenosa koji se temelji na neurotransmiterima. Svaka od uključenih moždanih regija koristi specifične neurotransmitere koji omogućuju preciznu modulaciju motoričkih signala (36).

Glutamat je primarni ekscitatorni neurotransmiter kore mozga i povezan je s većinom kortikospinalnih i kortikonuklearnih vlakana. Neuron piramidalnog sloja V u M1 koristi glutamat za prijenos impulsa prema motoričkim jezgrama u moždanom deblu i talamusu. U kortikotalamičkom putu glutamatergične projekcije iz M1 završavaju u talamičkim ventroanteriornim i ventrolateralnim jezgrama, gdje aktiviraju talamičke neurone koji potom također koriste glutamat za povratnu ekscitaciju motoričkoj i premotoričkoj kori. Tako se ostvaruje povratna petlja ekscitacije koja je ključna za motoričko planiranje i izvedbu (36,37).

U talamusu, kao i u subkortikalnim jezgrama bazalnih ganglija koje se preko talamusa povezuju s korom, značajnu ulogu ima i gama-aminomaslačna kiselina (eng. *gamma-aminobutyric acid*, *GABA*), glavni inhibitorni neurotransmiter u središnjem živčanom sustavu. GABA-ergične interneurone nalazimo u talamičkim jezgrama, gdje one reguliraju tok informacija i štite od prevelike ekscitacije. Isto tako, bazalni gangliji koriste GABA kao glavni neurotransmiter za inhibiciju, što je ključno za modulaciju i kontrolu pokreta. Balans između glutamatne ekscitacije i GABA-ergične inhibicije osigurava preciznu regulaciju motoričkih obrazaca i sprječava neželjene pokrete (36–38).

U moždanom deblu jezgre kao što je nucleus ambiguus sadrže motoneurone koji koriste acetilkolin kao glavni neurotransmiter za prijenos impulsa na mišiće larinksa i ždrijela. Acetilkolin se na postsinaptičkoj membrani mišićnih vlakana veže za nikotinske acetilkolinske receptore, što uzrokuje depolarizaciju i kontrakciju mišića. Slično se acetilkolin koristi i u jezgrama n. hypoglossusa za kontrolu pokreta jezika (35,39).

U sustavu malog mozga koji sudjeluje u finoj regulaciji motoričkih pokreta, ključnu ulogu imaju različite vrste neurotransmitera. Purkinje stanice, jedine izlazne stanice iz kore malog mozga, koriste GABA za inhibiciju neurona dubokih cerebelarnih jezgri (poput nucleus dentatus). Ova je inhibicija važna za preciznu kontrolu tonusa i koordinaciju pokreta. Aferentna vlakna koja dopiru u cerebellum koriste glutamat za ekscitaciju Purkinje stanica i drugih interneurona, omogućujući kompleksnu sinaptičku integraciju (38,40).

Dopamin, iako primarno poznat po ulozi u bazalnim ganglijima, također modulira motoričke funkcije putem svojih projekcija iz substantia nigre u mezencefalonu. Dopaminske sinapse koriste specifične dopaminske receptore (D1 i D2 podtipove) koji moduliraju aktivnost GABA-ergičkih i glutamatergičnih neurona, što utječe na inicijaciju i fluidnost pokreta. Nedostatak dopamina u Parkinsonovoj bolesti dovodi do poremećaja ove regulacije, a to dovodi do motoričkih i govorno-motoričkih teškoća (37,41).

Osim spomenutih, u retikularnoj formaciji i jezgrama moždanog debla nalaze se neuroni koji koriste serotonin i norepinefrin (noradrenalin), koji moduliraju pažnju, tonus mišića i respiratorne obrasce, sve važne za kontrolu govora i disanja (36).

Sve navedene neurotransmitterske funkcije omogućavaju da motoričke naredbe iz motoričke kore budu precizno prerađene, modulirane i provedene kroz složene subkortikalne strukture i moždano deblo, osiguravajući koordiniran i pravovremen govor te motoričku kontrolu grkljanskog sustava.

Jedan od ključnih fenomena koji proizlazi iz takve interakcije jest CSP. Taj fenomen, najčešće mjeren TMS-om, označava kratkotrajnu redukciju ekscitabilnosti kore koja slijedi nakon snažne motoričke aktivacije. Njegovo trajanje obično varira između 100 i 300 milisekundi, a smatra se da predstavlja mehanizam homeostatske regulacije neuronske mreže kojim se sprječava prekomjerna ekscitacija i osigurava precizna sekvencijalna kontrola pokreta. U neurofiziološkom smislu, kortikalni period tišine ne odražava pasivni prestanak aktivnosti, već koordinirani proces aktivne inhibicije, u kojem sudjeluju interneuronske mreže kore i povratne veze s talamusom (42,43).

Na razini neurotransmitera ulogu u ovom procesu imaju prije svega glutamat i GABA. Glutamat, kao glavni ekscitatorni neurotransmiter, prenosi signale unutar kortiko-talamičkih projekcija i omogućuje snažnu aktivaciju piramidnih neurona, uključujući Betzove stanice u sloju V primarne motoričke kore (19). Međutim, ta ekscitacija neposredno pokreće i aktivaciju GABA-ergičkih interneurona u kori, osobito parvalbumin-pozitivnih košarastih stanica i somatostatin-pozitivnih Martinotti stanica. Ovi interneuroni smanjuju ekscitabilnost piramidnih stanica i sinkronizirano induciraju fazu tišine. Paralelno, povratne projekcije iz kore prema retikularnoj jezgri talamusa, koja se gotovo u potpunosti sastoji od GABA-ergičkih neurona, posreduju inhibicijski tonus prema ventroanteriornoj i ventrolateralnoj jezgri talamusa (25,26). Time se smanjuje dotok ekscitacijskih signala prema motoričkoj kori i potiče stabilizacija neuronske aktivnosti. Dakle, CSP rezultat je složene glutamatergičko-

GABA-ergičke ravnoteže, u kojoj ekscitacija neposredno inducira vlastitu inhibicijsku regulaciju (42,44).

Ovaj fenomen posebno je važan u regulaciji govornih funkcija. Fonacija zahtijeva sinkroniziranu aktivaciju i inhibiciju antagonističkih mišićnih skupina grkljana. Kod zdrave osobe CSP omogućuje da nakon inicijalne aktivacije mišića za fonaciju uslijedi precizno tempirana inhibicija, koja sprječava produljenu ili nekontroliranu kontrakciju. Na taj način osigurava se jasna artikulacija i ritmična sekvencijalnost govora.

Kod laringealne distonije dolazi do poremećaja ove inhibicijske dinamike. Neurofiziološka mjerenja pokazala su skraćanje ili potpun izostanak CSP-a nakon TMS stimulacije motoričkih područja zaduženih za fonaciju. To implicira da je inhibicijski povratni mehanizam, bilo na razini kortikalnih interneurona, bilo na razini talamo-kortikalnih petlji, nedovoljno učinkovit. Posljedica toga je patološka, produžena kontrakcija laringealnih mišića, što se klinički očituje grčevima, ukočenošću glasa ili prekidom fonacije (45–47).

Laringealna distonija, poznata i kao spazmodična disfonija, specifičan je neurogeni poremećaj govora i tip fokalne distonije. Najčešće se razlikuju tri klinička tipa: adukcijski, abdukcijski i mješoviti. Adukcijaska varijanta, najčešća u kliničkoj praksi, obilježena je pretjeranom kontrakcijom adukcijskih mišića grkljana, što dovodi do napetog, isprekidanog i „stisnutog” glasa. Abdukcijska varijanta uključuje prekomjernu kontrakciju abdukcijskih mišića, što dovodi do pojave šapatnog glasa i prekida fonacije. Mješoviti oblik kombinira elemente objiju varijanti, čineći govor dodatno nepredvidljivim i otežanim (45,47).

Patofiziološka osnova poremećaja povezana je s disfunkcijom inhibicijske regulacije unutar kortiko-talamičko-bazalno-ganglijskog kruga. U normalnim okolnostima talamus, osobito ventroanteriorne i ventrolateralne jezgre, filtrira signale koji dolaze iz globus pallidusa internusa i cerebelarnih jezgara, sinkronizira ih s inhibicijskim tonusom retikularne jezgre i prenosi prema motoričkoj kori. U distoniji ovaj filter postaje disfunkcionalan: ekscitacijski impulsi prolaze bez adekvatne modulacije, dok je inhibicijski doprinos oslabljen. Time dolazi do asinkrone aktivacije agonističkih i antagonističkih mišića grkljana (45,48).

U ovom je kontekstu osobito značajna povezanost s malim mozgom. Mali mozak prima aferentne informacije iz pontinih jezgara, integrira proprioceptivne podatke o stanju laringealnih i respiratornih mišića te ih dentatotalamičkog putem projicira natrag prema ventrolateralnoj jezgri talamusa. Ova povratna petlja omogućuje fino ugađanje fonacije i

adaptivnu korekciju govornih pokreta. Disfunkcija cerebelarno-talamičkih veza može dovesti do gubitka temporalne preciznosti i pogoršati simptome distonije.

S druge strane, mezencefalon i pons posreduju u provedbi kortikalnih signala prema motoričkim jezgrama moždanog debla. Posebno važnu ulogu ima nucleus ambiguus, smješten u ventrolateralnom dijelu produžene moždine, koji sadrži motoneurone odgovorne za inervaciju intrinzičnih mišića grkljana putem n. vagusa. Normalna funkcija ovog kompleksa ovisi o integraciji signala iz motoričke kore, talamusa i malog mozga, kao i o doprinosu retikularne formacije ponsa i mezencefalona. Kod laringealne distonije dolazi do poremećene modulacije i na ovoj razini – motorički signali koji dolaze iz kore i talamusa nedovoljno su sinkronizirani s cerebelarnim korektivnim utjecajem, što dovodi do nesklada u aktivaciji motoneurona nucleus ambiguusa. Rezultat su neadekvatno tempirane kontrakcije laringealnih mišića, koje se klinički manifestiraju kao grčeviti prekidi glasa ili nemogućnost održavanja fonacije (15,34,45,46).

Neuroradiološke studije dodatno potvrđuju da je riječ o sistemskom, a ne lokalnom poremećaju. Funkcionalna magnetska rezonancija i difuzijsko tenzorsko snimanje pokazuju smanjenu povezanost između donjeg dijela Brodmannovog područja 4, odgovornog za fonaciju, i talamusa te narušenu integraciju talamusa s bazalnim ganglijima i malim mozgom. Poremećaji u dinamici CSP dodatno koreliraju s težinom kliničkih simptoma, što ovaj neurofiziološki fenomen čini potencijalnim biomarkerom bolesti (46,49).

Na neurotransmitterskoj razini najčešće se opisuje oslabljena GABA-ergička inhibicija i moguća hiperaktivnost dopaminergičkih projekcija unutar bazalnih ganglija, koje putem talamusa moduliraju motoričku koru. Nedostatna aktivacija retikularne jezgre talamusa dodatno oslabljuje inhibicijski tonus, dok se cerebelarne projekcije u VL jezgru pokazuju nedovoljno koordiniranim. Tako talamus, umjesto da djeluje kao precizni filter, postaje generator neuravnoteženih signala koji narušavaju fonacijsku kontrolu putem disfunkcionalne integracije s korom, malim mozgom i jezgrama moždanog debla (45,46,48).

U terapijskom smislu najčešće se primjenjuje botulinum toksin, kojim se periferno blokira neuromuskularna transmisija u zahvaćenim mišićima i omogućuje privremeno ublažavanje simptoma. Time se posredno smanjuje patološka ekscitacija i središnjim se inhibicijskim mehanizmima daje mogućnost djelomične obnove funkcionalne ravnoteže. Međutim, sve veći interes pobuđuju i centralno usmjerene metode poput transkranijalne magnetske stimulacije, kojima se nastoji produljiti kortikalni period tišine i obnoviti talamo-kortikalnu i

cerebelarno-talamičku inhibiciju. Ovi rezultati ukazuju na to da je upravo integracija kore, talamusa, malog mozga, mezencefalona, ponsa i nucleus ambiguusa ključna meta budućih terapijskih pristupa usmjerenih na liječenje laringealne distonije (24,45,48,50).

CSP stoga se može smatrati funkcionalnim markerom ravnoteže između ekscitacije i inhibicije u motoričkom sustavu. Njegova precizna regulacija ovisi o glutamatergičko-GABA-ergičkoj dinamici na razini kortikalnih, talamičkih i cerebelarnih mreža, kao i o sinkronizaciji sa silaznim putevima moždanog debla. Poremećaji u toj ravnoteži ne dovode samo do motoričkih disfunkcija nego posebno dolaze do izražaja u govornim poremećajima, gdje i minimalna desinkronizacija može uzrokovati ozbiljne smetnje fonacije. Razumijevanje ovih mehanizama omogućuje translaciju temeljnih neuroznanstvenih spoznaja u kliničku praksu i otvara mogućnost razvoja ciljane terapije – od neuromodulacijskih metoda poput TMS-a i DBS-a, preko farmakološke modulacije GABA-ergičkog i dopaminergičkog sustava, do personaliziranih neurorehabilitacijskih intervencija (42–44).

1.2. Transkranijska magnetska stimulacija

Transkranijska magnetska stimulacija (eng. *transcranial magnetic stimulation, TMS*) predstavlja neinvazivnu neurofiziološku tehniku koja koristi magnetska polja za modulaciju moždane aktivnosti. Nakon što je uvedena u osamdesetim godinama 20. stoljeća, TMS postaje nezamjenjivi dio u neurofiziologiji, kliničkoj neurologiji i neurokirurgiji zbog svoje sposobnosti da utječe na funkcionalnu organizaciju mozga, a koristi se i kao terapijska metoda za različite neuropsihijatrijske poremećaje (51). Ova tehnika temelji se na Faradayjevu zakonu elektromagnetske indukcije, pri čemu brzo promjenjivo magnetsko polje stvara električne struje u kortikalnim neuronima, što ima ekscitacijski ili inhibicijski rezultat (52).

U ovom dijelu ove doktorske disertacije cilj je prikazati princip rada TMS-a, njezine neurofiziološke temelje, kao i primjenu u istraživanju i kliničkoj praksi te izazove i perspektive razvoja ove tehnike.

Kratkotrajno generiranje jakog magnetskog impulsa putem zavojnice TMS-a inducirat će električnu struju u moždanoj kori. Standardni TMS uređaji koriste zavojnicu kroz koju prolazi struja visoke amplitude i kratkog trajanja, stvarajući magnetsko polje od nekoliko

tesla koje prodire kroz lubanju gotovo bez prigušenja (53). Postavivši zavojnicu iznad željenog mjesta na neurokraniju, magnetsko polje koje se stvara oko zavojnice inducira električni potencijal u neuronskim strukturama neposredno ispod te točke, što uzrokuje depolarizaciju neurona. Različiti parametri stimulacije, kao što su frekvencija, intenzitet, trajanje i obrazac impulsa, ekscitiraju ili inhibiraju moždanu aktivnost u ciljanim područjima (54). Najčešća primjena u neuroznanosti je nad motoričkom korom radi procjene motornih puteva, ali se tehnika pokazala izuzetno važnom za istraživanje i modulaciju drugih funkcija poput ispitivanja govorno-jezičnih puteva, kognicije, percepcije i emocionalnih stanja (55,56).

Neurofiziološki temelj TMS-a je mogućnost neposrednog utjecanja na neuronsku ekscitabilnost. Takva vrsta stimulacije aktivira piramidalne neurone i interneurone kore, izazivajući kaskadni slijed koji modulira lokalnu i udaljenu funkciju mozga (57). Primjerice, kod stimulacije primarne motoričke kore, električni impuls može inducirati pokretne potencijale u motoneuronima, što se može kvantificirati kao MEP zabilježen u ciljanim mišićima (58). Razlike u amplitudi i latenciji MEP-a mogu poslužiti kao mjera funkcionalnog stanja motoričkog puta i ekscitabilnosti kore mozga. Repetitivna TMS (eng. *repetitive transcranial magnetic stimulation, rTMS*) pokazala promjene u sinaptičkoj plastičnosti putem mehanizama potencijacije i (eng. *long term potentiation, LTP*) inhibicije (eng. *long-term depression, LTD*), što je temelj terapijskog učinka (59).

U znanstvenoj je praksi TMS omogućila značajan iskorak u razumijevanju funkcionalne organizacije mozga. Za razliku od funkcionalnih neuroradioloških snimki poput onih fMRI ili PET koje prate korelacije između moždane aktivnosti i ponašanja, TMS direktno utječe na moždanu aktivnost i promatra uzročno-posljedične efekte na funkciju i ponašanje (60). Primjerice, stimulirajući primarnu vidnu koru moguće je izazvati vizualne fenomene poput fosfena, praćenja svjetlosnih fenomena bez prisutnosti svijetla, što potvrđuje mogućnost korištenja TMS tehnike u obradi vizualnih podražaja (61). Također, TMS je moguće koristiti za privremenu inhibiciju ili aktiviranje specifičnih moždanih područja tijekom izvođenja zadataka, omogućavajući mapiranje funkcionalnih mreža i razumijevanje njihove uloge u kognitivnim procesima poput pažnje, memorije i govorno-jezičnih funkcija (62).

Klinička primjena TMS-a razvija se razumijevanjem neurobiološke osnove i sigurnosnog profila stimulacije. Najzastupljenija i najpriznatija indikacija je liječenje depresije, posebno kod pacijenata koji su rezistentni na farmakoterapiju. Središnji mehanizmi antidepresivnog

djelovanja rTMS-a još uvijek nisu istraženi do kraja, no pretpostavka je da uključuju modulaciju aktivacije prefrontalne kore čime utječu na regulaciju neurotransmitterskih sustava poput serotonina i dopamina te poboljšanje neuroplastičnosti (63). Kliničke studije i metaanalize potvrđuju efikasnost i sigurnost rTMS-a u smanjenju simptoma depresije, što je dovelo do odobrenja regulatornih tijela poput FDA (eng. *food and drug administration*) (64). Osim depresije, TMS je pokazala obećavajuće rezultate u liječenju anksioznog poremećaja, posttraumatskog stresnog poremećaja, shizofrenije, posebno u smanjenju pozitivnih simptoma poput halucinacija te kronične boli i Parkinsonove bolesti (65).

Međutim, primjena TMS-a nije bez ograničenja. Do napretka u neuronavigaciji preciznost ciljanja moždanih područja bila je ograničena zbog anatomske varijabilnosti između osoba i tehničkih izazova u lokalizaciji zavojnice (66). No kombinacijom neuronavigacije koja koristi individualne MRI snimke za precizno pozicioniranje i TMS-a, tzv. navigacijski TMS, znatno je unaprijeđena ciljana stimulacija (67). Klinički odgovor na TMS stimulaciju raznolik je i ovisan o različitim čimbenicima, uključujući individualne neurobiološke karakteristike, stanje moždane aktivnosti u trenutku stimulacije, kao i psihofiziološke parametre (68). Nuspojave TMS-a predstavljaju potencijalne rizike koji zahtijevaju strogu kontrolu i primjenu sigurnosnih protokola. Uključuju glavobolju, nelagodu u mjestu stimulacije, a opisan je razvoj epileptičkog napadaja kod osoba koje imaju od ranije poznatu bolest ili prilikom primjene rTMS-a (69).

Napredak u TMS tehnologiji uključuje poboljšanje tehnologije zavojnica radi bolje fokálnosti i prodornosti magnetskog polja, integraciju s drugim „neuroimaging” metodama za praćenje efekata stimulacije u stvarnom vremenu te razvoj individualnih protokola utemeljenih na biomarkerima i genetskim faktorima (65). U tijeku su istraživanja u kojima se TMS uparuje s drugim neuromodulacijskim tehnikama i stimulacijama, s kognitivnim treningom, i farmakoterapijom kako bi se povećao terapijskih učinak (70). Razvojem umjetne inteligencije i strojnog učenja u analizi podataka o moždanoj aktivnosti, vjerojatno će se dodatno unaprijediti preciznost i učinkovitost samog TMS-a (71).

U nastavku slijedi prikaz osnovnih modaliteta transkranijске magnetske stimulacije.

Različiti modaliteti stimulacije imaju drukčije učinke na moždanu koru. Glavne vrste TMS stimulacije su jednopulsni TMS (eng. *single-pulse TMS*), upareni pulsni TMS (eng. *paired-pulse TMS*), rTMS te specijalizirane forme kao što je theta-rafalna stimulacija (eng. *theta-burst stimulation, TBS*). Svaki od ovih modaliteta ima specifične karakteristike koje

omogućuju različite pristupe modulaciji kortikalne aktivnosti i istraživanju neurofizioloških mehanizama.

Jednopsni TMS najjednostavnija je i osnovna vrsta stimulacije, koristi se prvenstveno za istraživanje vremenskih i funkcionalnih svojstava kortikalnih područja. Na primjer, stimuliranjem M1 pojedinačnim pulsom moguće je mjeriti MEP kao pokazatelj ekscitabilnosti motoričke kore i integriteta piramidalnih puteva (58). Jednopsna TMS tehnika koristi se za određivanje vremenske dinamike sudjelovanja određenih moždanih regija u kognitivnim zadacima, gdje se stimulacija primjenjuje u različitim vremenskim intervalima u odnosu na zadatak kako bi se identificirala kritična vremenska točka njihove aktivacije (60).

Upareni pulsni TMS uključuje primjenu dvaju magnetskih impulsa u kratkim intervalima, što omogućuje istraživanje intrakortikalnih inhibicijskih i ekscitacijskih mehanizama. Različitim vremenskim intervalima između dvaju implusa (eng. *interstimulus interval, ISI*) može se uspostaviti intrakortikalna inhibicija (eng. *intracortical inhibition, ICI*) ili intrakortikalna facilitacija (eng. *intracortical facilitation, ICF*) (72). Ovim modalitetom posebno se proučava ravnoteža između inhibitornog GABA-ergičkog i ekscitatornog glutamatergičkog sustava u mozgu. Promjene u ICI i ICF koriste se kao biomarkeri za neurološke i psihijatrijske poremećaje, poput epilepsije, shizofrenije i depresije (68).

Repetitivna TMS stimulacija uključuje niz ponavljanih pulsova pri određenoj frekvenciji, najčešće u rasponu od 1 do 20 Hz. Ovisno o frekvenciji, rTMS ima facilitirajući ili inhibirajući učinak na ekscitabilnost moždane kore. Niska frekvencija rTMS-a (oko 1 Hz) obično ima inhibicijski učinak na neuronsku aktivnost, dok modalitet s visokom frekvencijom (≥ 5 Hz) uzrokuje povećanu ekscitabilnost (73). Ovi mehanizmi modulacije koriste se za terapijske intervencije u različitim poremećajima, pri čemu je cilj ponovno uspostavljanje ravnoteže u funkcionalnoj aktivnosti kortikalnih mreža. Primjerice, u liječenju depresije najčešće se koristi visokofrekventna stimulacija lijeve dorzolateralne prefrontalne (eng. *dorsolateral prefrontal cortex, DLPFC*) kore u svrhu povećanja aktivnosti, dok se kod posttraumatskog stresnog poremećaja ili anksioznog poremećaja koristi niskofrekventna stimulacija desnog DLPFC-a i smanjuje hiperaktivnosti (65).

Theta rafalna stimulacija predstavlja noviji oblik rTMS-a koji kratkotrajnim ponavljajućim naletima visokofrekventnih impulsa (50 Hz) u theta-ritmu (5 Hz) oponaša prirodne ritmičke obrasce moždane aktivnosti povezane s procesima učenja i memorije (59). Postoje dva

osnovna parametra TBS-a: intermitentni TBS (eng. *intermitent theta burst stimulation, iTBS*), koj ima facilitacijski učinak i primjenjuje se u kratkim pauzama te kontinuirani TBS (eng. *continuous theta burst stimulation, cTBS*), koji inducira inhibiciju i koristi se za trajnu supresiju aktivnosti u ciljanoj regiji. Prednost TBS-a je u kratkom trajanju tretmana, što omogućava efikasniju kliničku primjenu, kao i veću sposobnost induciranja plastičnih promjena u mozgu (74,75).

Osim navedenih, danas se sve višekoristi duboka transkranijaska magnetska stimulacija (eng. *deep transcranial magnetic stimulation, dTMS*), koja specijaliziranim zavojnicama dizajniranim za prodor magnetskog polja u dublje moždane strukture modulira aktivnosti subkortikalnih regija koje su tradicionalnim TMS tehnikama teško dostupne (76). Duboka TMS ima odobrenje za kliničku upotrebu za liječenje depresije, ovisnosti i opsesivno-kompulzivnog poremećaja, a neke studije ukazuju na njezinu veću efikasnost u određenim slučajevima u usporedbi s konvencionalnim rTMS-om (76,77)

Razumijevanje razlika između modaliteta rTMS-a, TBS-a i dTMS-a ključno je za pravilnu primjenu TMS-a, a samim tim i za razumijevanje neurofizioloških efekata, što omogućava razvoj personaliziranih terapijskih protokola zato što različiti parametri stimulacije moduliraju različite neurobiološke procese. Tako, primjerice, kod depresije koristi se visokofrekventna rTMS ili iTBS s ciljem pojačavanja aktivnosti suprimiranih regija, dok se kod poremećaja s hiperaktivacijom primjenjuje niskofrekventni ili cTBS za inhibiciju prekomjerne ekscitabilnosti (78).

Opisanim TMS tehnikama u velikoj je mjeri unaprijeđeno istraživanje plastičnosti moždane kore kao i neurobioloških mehanizama u pozadini pojedinih moždanih funkcija. Na primjer, studije su pokazale da se stimulacijom lijevog Brocina područja moduliraju jezične funkcije, čime se potvrđuje uloga u produkciji govora (55), dok stimulacija dorzalne parijetalne kore može selektivno povećati ili smanjiti vizualnu i prostornu pozornost (79).

1.3. Neuroelektrofiziološki princip rada TMS-a

TMS uređaj funkcionira na temelju prolaska električne struje kroz zavojnicu, koja je obično izrađena od bakrene žice, a sam oblik ovisi o namjeni stimulacije. Važan aspekt pri dizajnu zavojnica jest sposobnost fokusiranja magnetskog polja, a time i inducirana električnog polja, kako bi stimulacija bila što ciljanija i preciznija. Najčešći je tip zavojnice zavojnica oblika osmice (eng. *figure-8 coil*), koja se sastoji od dviju susjednih kružnih zavojnica, a omogućava precizniju i fokusiraniju stimulaciju jer se magnetsko polje koncentrira u području u kojem se dvije zavojnice dodiruju (80). Ona omogućava stimulaciju na površinskim kortikalnim strukturama s prostornom rezolucijom oko 1 - 2 cm, dok se kružne zavojnice koriste za širu aktivaciju, ali s manjom prostornom preciznošću (81). Za dTMS koriste se specijalizirane H-zavojnice ili druge konfiguracije koje omogućavaju prodor magnetskog polja i u subkortikalne regije, ali uz kompromis u prostornoj preciznosti (82).

Prolaskom struje visoke jakosti (u rasponu od nekoliko kiloampera) u kratkim impulsima (oko 100 – 300 mikrosekundi), u zavojnici se stvara brzo mijenjajuće magnetsko polje. Intenzitet magnetskog polja u blizini zavojnice može doseći vrijednosti do 3T (83). S obzirom na intenzitet, magnetsko polje prolazi kroz kosti lubanje gotovo bez prigušenja. Ulaskom magnetskog polja u moždano tkivo, inducira se električno polje u smjeru poprečnom na magnetsko polje. Tako inducirano električno polje generira lokalnu depolarizaciju neuronskih membrana ukoliko dostigne prag za aktivaciju (84).

Matematička osnova za prikaz rada TMS-uređaja opisuje se kroz Faradeyjev zakon za indukciju električnog polja E i magnetskog polja B :

$$\nabla \times E = - \partial B / \partial t$$

Brza promjena magnetskog polja $\partial B / \partial t$ uzrokuje rotirajuće električno polje koje inducira struju u tkivu. Intenzitet inducirana električnog polja ovisit će o obliku, veličini i položaju zavojnice, kao i o udaljenosti od površine mozga te o vodičkim svojstvima tkiva (85).

Naime, inducirano električno polje djeluje na membrane neurona, ekscitirajući ili inhibirajući njihov električni potencijal. Time se aktiviraju neuronske mreže povezane s područjem na koje je usmjerena stimulacija (86). Ovisno o parametrima stimulacije (intenzitet, frekvencija,

trajanje), može doći do kratkotrajne ekscitacije, inhibicije ili dugotrajnih plastičnih promjena sinaptičke učinkovitosti, što je osnova terapijskih i istraživačkih primjena TMS-a (27,76).

Pri neurofiziološkom ispitivanju motoričkih putova inducirano elektromagnetsko polje depolarizira neuronske membrane, pri čemu nastaju karakteristični valovi provođenja poznati kao D-valovi i I-valovi. D-val, (eng. *direct wave*), predstavlja najraniji oblik odgovora kortikospinalnog neurona, nastao je izravnom depolarizacijom aksona motornog neurona, obično u području inicijalnog segmenta ili proksimalnog aksona bez sinaptičkih posrednika. Nastaje kao posljedica neposrednog učinka induciranog električnog polja na membranski potencijal. Njegova vrlo kratka latencija i konzistentno vrijeme pojave čine ga stabilnim markerom izravne kortikospinalne aktivacije (3).

Za razliku od D-vala, I-valovi (eng. *indirect waves*) odražavaju sinaptičku aktivaciju kortikospinalnih neurona putem ekscitacijskih interneurona unutar motoričke kore. TMS češće generira I-valove nego D-val, a oni se javljaju u serijama razdvojenima intervalima od oko 1,5 milisekundi. Postojanje više I-valova, poput I1, I2 i I3, ukazuje na višekratnu regrutaciju istih kortikospinalnih neurona preko interneuronskih krugova. Oblik i amplituda MEP-a značajno ovise o zbroju doprinosa D-valova i I-valova, a promjene u njihovoj regrutaciji ili sinkronizaciji nastaju kao posljedica raznih farmakoloških intervencija, bolesti, ali i promjena u intrakortikalnoj ekscitaciji i inhibiciji. Posebno u kontekstu CSP-a, modulacija I-valova ima ključnu ulogu jer je CSP u velikoj mjeri odraz inhibicijskog djelovanja GABA-ergičkih interneurona na kortikalne eferentne neurone, čime se privremeno smanjuje ili prekida generiranje I-valova nakon inicijalnog MEP-a (87).

U razlikovanju kortikalne i spinalne komponente inhibicije od velikog značenje imaju F-val i H-refleks. F-val nastaje antidromnom aktivacijom alfa-motoneurona nakon supramaksimalne stimulacije perifernog motoričkog živca (88). Stimulacijom samog živca akcijski se potencijal širi prema mišiću (ortodromno), ali i prema kralježničnoj moždini (antidromno). Dolaskom do tijela motoneurona u prednjem rogu kralježničke moždine, dio neurona ponovno generira akcijski potencijal ortodromno prema mišiću, dajući F-val na elektromiografskoj snimci. Latencija F-vala ovisit će o duljini i brzini provođenja duž cijelog segmenta motoričkog puta, s obzirom na dvostruki put od mjesta stimulacije do kralježničke moždine i natrag (89,90). Tijekom CSP-a, promjene u prisutnosti ili amplitudi F-vala mogu odražavati inhibiciju na razini spinalnog segmenta; na primjer, njegov nestanak u ranom dijelu CSP-a sugerira dominantan spinalni mehanizam inhibicije (91).

H-refleks nastaje stimulacijom Ia aferentnih vlakana mišićnog vretena. Signal putuje senzornim aferentnim vlaknima do kralježnične moždine, gdje monosinaptički aktivira alfa-motoneurone, što dovodi do kontrakcije mišića. Ova mjerna paradigma posebno je osjetljiva na promjene spinalne ekscitabilnosti i koristi se za kvantificiranje inhibicijskih ili facilitacijskih promjena unutar segmentalnog refleksnog luka. Tijekom CSP-a inhibicija H-refleksa u početnom dijelu ukazuje na spinalnu inhibiciju, dok njegovo postupno vraćanje u prisutnosti trajnog prestanka voljne EMGaktivnosti upućuje na to da kortikalni mehanizmi održavaju preostali dio CSP-a. Kombinacija parametara MEP-a, F-vala i H-refleksa u istom protokolu omogućuje preciznu lokalizaciju i kvantifikaciju doprinosa kortikalnih i spinalnih struktura u oblikovanju CSP-a (42).

Prisutnost ovih parametara ukazuje na kompleksnu koordinaciju na relaciji mozak - kralježnička moždina pri generiranju impulsa i kasnijem moduliranju tog signala na spinalnoj razini, prikazujući signalni slijed u kojem se TMS-indukcijom D-valova i I-valova koji aktiviraju mišiće, tvori MEP, nakon kojeg slijedi razdoblje inhibicije u kojem je prisutan brzi spinalni odgovor F-valom i H-refleksom, ali i kasniji kortikalni odgovor izostankom I-valova (91,92). Dvostruki inhibicijski odgovor odražava funkcionalnu potrebu motoričkog sustava za kontrolom trajanja i intenziteta mišićne kontrakcije nakon inicijalnog pokreta, što je ključno u izvođenju preciznih, voljnih pokreta. Analizom D-valova i I-valova, kao i praćenjem spinalnih refleksnih odgovora, ne samo da je pružen uvid u osnovnu neurofiziologiju motoričkih putova nego i moguće sredstvo za ranu detekciju patoloških promjena u bolestima poput distonija, multiple skleroze, amiotrofične lateralne skleroze i drugih poremećaja gornjeg motoričkog neurona. Ovim su pristupom povezane kortikalne i spinalne komponente motorne kontrole u jedinstvenu dijagnostičku cjelinu, čime je otvoren prostor za preciznije terapijske intervencije (93,94).

Za razumijevanje principa funkcioniranja TMS-a važno je opisati i biološke promjene na staničnoj razini koje nastaju indukcijom električne struje. Membrane neurona sadrže ionske kanale koji su osjetljivi na promjene električnog potencijala, dovodeći do promjene polarizacije membrane i pokretanja akcijskog potencijala. U području stimulacije tim mehanizmom moguće je modulirati funkcionalne neuronske mreže (51).

Na molekularnoj razini dolazi do promjene u ekspresiji gena koji reguliraju sinaptičku plastičnost, neurotrofnih faktora poput BDNF-a (eng. *Brain-Derived Neurotrophic Factor*) i u moduliranju neuroinflamatornih procesa (95). Time je pružen dokaz dugoročnim učincima

TMS-a u neurorehabilitaciji i psihijatriji, koji nije ograničen samo na trenutno uzbuđenje nego uključuje i trajne promjene u funkciji neuronskih mreža (95).

Zaključno, sinteza fizikalnih principa, neurobioloških učinaka i tehnoloških inovacija čini TMS alatom za istraživanje i terapiju, s potencijalom za daljnje unapređenje interdisciplinarnim istraživanjima (96).

1.4. Motorički evocirani potencijal

MEP predstavlja električnu aktivnost mišića koja nastaje kao odgovor na stimulaciju M1. Njegova je indukcija pokazatelj integriteta kortikospinalnog puta i ima široku primjenu u neurofiziološkoj dijagnostici i istraživanju neuroloških funkcija (6).

Fiziološki, MEP nastaje nakon što stimulacija, koja je usmjerena na primarni motoričku koru, inducira električne struje koje depolariziraju kortikalne neurone, posebice piramidalne Betzove neurone. Ovi neuroni daju signal putem kortikospinalnog puta do alfa-motoneurona u kralježničkoj moždini. Nadalje, aktivacija alfa-motoneurona potom izaziva kontrakciju ciljnih mišića, što se može zabilježiti elektromiografijom (EMG) kao MEP (58) (Slika 1).

Proces indukcije MEP-a započinje u trenutku kada brzo promjenjivo magnetsko polje iz zavojnice inducira u moždanoj kori električno polje iznad MT, što dovodi do inicijacije akcijskih potencijala u motoričkoj kori. Vrijeme koje protekne od primjene TMS-impulsa do pojave MEP-a u mišiću, poznato kao latencija MEP-a, ovisi o brzini provođenja impulsa kroz kortikospinalni trakt i periferni živac, kao i o udaljenosti stimuliranog područja od mišića (4).

Mjerenje amplitude i latencije MEP-a omogućava procjenu funkcionalnog integriteta i ekscitabilnosti motornog sustava. Dakle, smanjena amplituda MEP-a ili produžena latencija mogu ukazivati na oštećenja kortikospinalnih putova (96).

Povećanje intenziteta stimulacije povećava i amplitudu MEP-a do zasićenja (73). Također, frekvencijska modulacija stimulacije može mijenjati ekscitabilnost kore mozga, što je važno za terapijske pristupe (73).

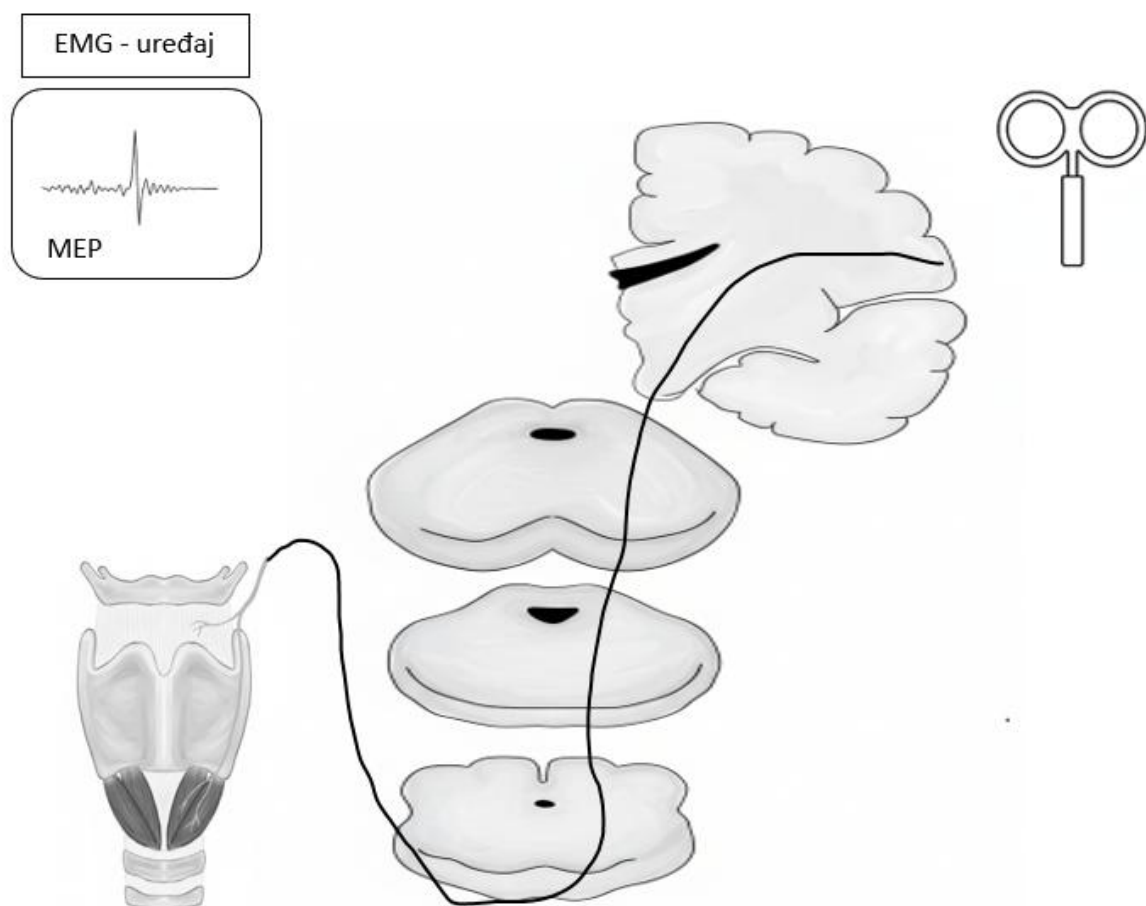
MEP također služi i za mapiranje motoričkih reprezentacija različitih mišićnih skupina u kori, što je korisno u preoperativnoj procjeni i neurokirurškoj navigaciji (7,97).

Kortikalna motorička reprezentacija laringealnog CT-mišića obrađena je u ranijim TMS-studijama, koje su pokazale bilateralnu reproducibilnost MEP-odgovora iz CT-mišića, s kontralateralim i ipsilateralnim stimulatornim točkama postavljenima u prosjeku na $7,5 \pm 1,4$ cm i $7,3 \pm 1,3$ cm, redom, duž interauralne linije. Ovi rezultati ukazuju da CT-mišić posjeduje izrazito medijalnu kortikalnu reprezentaciju, koja se razlikuje od reprezentacije za TA-mišić, koja se nalazi nešto lateralnije. Takva medijalizacija kortikalne zone može imati implikacije za preciznost intraoperativnog mapiranja i neurofiziološko razumijevanje fine kontrole fonacije (6,98).

Uz to, primijenjene su metodologije nTMS-a i TES-a za bilježenje kortikonuklearnih motoričkih evociranih potencijala (eng. *corticonuclear motor evoked potentials, CoMEP*) iz CT mišića. Kod zdravih ispitanika, u pet od jedanaest ispitanika zabilježeni su, kako kontralateralni, tako i ipsilateralni CoMEP-ovi. Takvi nalazi potvrđuju bilateralnu projekciju kortikonuklearnog sustava s dominacijom kontralateralne strane, što je ključno za razumijevanje rizika i očuvanje funkcije tijekom operacija u blizini govornih centara.

Metodološki aspekti intraoperacijskog i preoperacijskog snimanja CoMEP-ova iz CT mišića detaljnije su opisani u navigaciji nTMS-a. Kukaste žice - elektrode, umetnute u CT-mišić (promjer $76 \mu\text{m}$ kroz 27-g. iglu), korištene su za analizu latencije CoMEP-a koja je u zdravih ispitanika između $11,75 \pm 2,07$ ms i $12,66 \pm 1,09$ ms. Reprezentacija motoričke kore za CT mišić udaljena je oko $25,19 \pm 6,52$ mm lateralno od zone za APB mišić šake. Položaj igle određuje se palpacijom kontrahiranog mišića pri artikulaciji visokih tonova, s nagibom uvođenja $30\text{--}40^\circ$ prema krikotiroidnoj membrani (6,46,99).

Studije u kojima je stimuliran M1 i registriran CoMEP iz CT mišića doprinijele su uspostavi referentnih vrijednosti za latenciju i amplitudu MEP-potencijala. Podaci iz EMG-studija pokazuju da MEP kod CT mišića u zdravih ispitanika ima prosječnu latenciju od $5,1 \pm 0,26$ ms, s amplitudom od $144,24 \pm 45,79 \mu\text{V}$. Ti parametri mogu poslužiti kao komplementarni referentni okvir pri tumačenju MEP-ova i EMG-uzoraka u kliničkoj praksi (6,98)



Slika 1. Shematski prikaz stimulacije za facilitaciju MEP iz CT mišića. Prikaz mjesta stimulacije TMS zavojnicom na M1 regiji te kortikonuklearnog puta do završnog CT mišića. Prikaz MEP odgovora na EMG uređaju nakon stimulacije. Slika generirana korištenjem Perplexity AI. (2025). <https://www.perplexity.ai/>

1.5. Kortikalni period tišine

Kortikalni period tišine (eng. *cortical silent period, CSP*) je zatišje u EMG-zapisu nakon inicijalne ekscitacije izazvane TMS-om primarne motoričke kore, tijekom kojeg dolazi do privremene supresije mišićne aktivnosti unatoč kontinuiranoj voljnoj kontrakciji. Ovaj fenomen predstavlja inhibicijske mehanizme kortikalne ekscitabilnosti, posredovane GABA-ergičkim sustavima koristi se kao važan biomarker u neurofiziološkim istraživanjima i kliničkoj dijagnostici (9,42).

Dakle, CSP se verificira površinskim EMG-om na ciljanim mišićima tijekom voljne kontrakcije. Nakon TMS-impulsa na motoričku koru iznad MT-a, odmah se u EMG-signalu registrira MEP, koji odražava podražaj kortikospinalnog puta i inicijaciju mišićne kontrakcije. Nakon inicijalnog MEP-a slijedi razdoblje značajnog pada ili potpunog izostanka EMG-aktivnosti, tzv. CSP-a, čija se duljina kreće između 100 i 300 milisekundi, ovisno o parametrima stimulacije i osobnim varijacijama ispitanika te o lokalizaciji ciljnog mišića. Duljina, odnosno latencija CSP-a, računa se od početka MEP-a do povratka EMG-aktivnosti, što predstavlja vremenski okvir kortikalne inhibicije (9,42,47).

CSP je prvi put sustavno opisan 1980-ih kada su Merton i Morton koristili transkranijску električnu stimulaciju (TES) za proučavanje motoričke inhibicije tijekom voljne kontrakcije. Uvođenjem TMS-a sredinom 1980-ih, Barker i suradnici omogućili su neinvazivno i precizno mjerenje CSP-a, što je potaknulo niz istraživanja s ciljem razlučivanja osnovnih mehanizama TMS-a (52,100).

U nastavku su sistematizirani neurofiziološki mehanizmi nastanka CSP-a koji obuhvaćaju periferne i kortikalne inhibicijske procese.

Rani segment CSP-a, obično prvih 50 do 75 milisekundi, pripisuje se refleksnoj inhibiciji spinalnih motoneurona i antidromnoj aktivaciji aferentnih vlakana, dok kasniji segment CSP-a uglavnom potječe od kortikalnih inhibicijskih procesa. Ta dugotrajna kortikalna inhibicija prvenstveno je posredovana GABA-B receptorima, metabotropnim receptorima kojima se inducira hiperpolarizacija postsinaptičkih neurona i time smanjuje njihova ekscitabilnost. Osim navedenih, i GABA-A receptori, koji su odgovorni za brzu inhibiciju, sudjeluju u ranijim inhibicijskim fenomenima povezanim s TMS-om, kao što je kratki interval intrakortikalne inhibicije (eng. *Short-Interval Intracortical Inhibition, SICI*). Stoga CSP

odražava integrirani učinak inhibicijskih sustava, dajući uvid u ravnotežu ekscitacije i inhibicije u kori (42).

Metodološki, intenzitet TMS-impulsa uvelike utječe na duljinu CSP-a, pri čemu veći intenzitet stimulacije u pravilu produljuje CSP. Ispitanici izvode konstantnu voljnu kontrakciju, najčešće u rasponu od 10 do 30 posto maksimalne snage, što je važno za stabilno mjerenje. Iako se CSP može mjeriti u različitim mišićima, najčešće se koriste mišići ruke zbog njihove dostupnosti i jasnih motoričkih reprezentacija u kori. Varijabilnost CSP-a zahtijeva višestruka ponavljanja i statističku obradu kako bi se osigurala pouzdanost rezultata (9,42).

Klinička važnost CSP-a ogleda se u njegovoj sposobnosti da odražava funkcionalni integritet inhibicijskih neuronskih sustava. Skraćeni CSP može se registrirati kod različitih patoloških stanja s disfunkcijom GABA-ergičkih sustava, poput epilepsije, Parkinsonove bolesti i Touretteova sindroma, što ukazuje na smanjenu kortikalnu inhibiciju (42). Nasuprot tome, produljeni CSP može biti povezan s poremećajima karakteriziranim prekomjernom inhibicijom, uključujući određene oblike depresije i kronične boli. Osim dijagnostičke funkcije, CSP se koristi i u evaluaciji farmakoloških intervencija: agonisti GABA-B receptora, kao što je baklofen, produžuju CSP, dok lijekovi koji djeluju na GABA-A receptore mogu utjecati na početne faze inhibicije i time modulirati trajanje CSP-a. Činjenica da farmakološki lijekovi utječu na CSP verificira ulogu GABA-erigickog sustava u facilitaciji CSP-a (46,101).

Osim navedenih, na duljinu CSP-a utječu i različiti drugi faktori kao što su dob, spol, razina budnosti ispitanika, kao i točan položaj zavojnice tijekom stimulacije. Nadalje, studije koje su uparile TMS-a s fMRI-jem ili EEG-om pružile su dodatno objašnjenje mrežnih i vremenskih aspekata kortikalne inhibicije tijekom CSP-a (71,102,103).

Spinalni mehanizmi koji sudjeluju u CSP-u najizraženiji su u njegovu početnom dijelu, neposredno nakon MEP-a. Inicijalni post-MEP CSP, koji traje oko 50–75 ms, djelomično odgovara sumaciji refraktornih fazi motoričkih jedinica, hiperpolarizaciji alfa-motoneurona te aktivaciji inhibicijskih interneurona u prednjim rogovima leđne moždine. Ove interneuronske mreže, modulirane preko Ia i Ib aferentnih vlakana te descendentnih putova, imaju kratkotrajno inhibicijsko djelovanje na motoneuronsku ekscitabilnost. Dokazi za spinalnu komponentu dolaze iz eksperimenata u kojima su TMS nad spinalnim motoričkim strukturama ili izravna periferna živčana stimulacija izazvali kratka razdoblja tišine sličnog

početnog trajanja. Međutim, farmakološke studije s GABA-B agonistima pokazuju da produljenje CSP-a nastupa ponajprije zbog promjena u kortikalnim, a ne spinalnim mehanizmima, što odgovara hipotezi da je glavnina CSP-a kortikalnog podrijetla (42,101).

Kortikalni mehanizmi CSP-a uključuju povećanu aktivaciju intrakortikalnih inhibitornih mreža. Funkcionalne i farmakološke studije dosljedno pokazuju da trajanje CSP-a snažno korelira s GABA-B posredovanom inhibicijom, dok SICI ovisi o GABA-A receptorima. To znači da CSP mjeri pretežno sporodjelujuću, dugotrajnu inhibiciju u motoričkoj kori, koja može trajati stotinama milisekundi i nadilazi razdoblje spinalne refraktornosti (104). Intrakortikalna mreža uključuje horizontalne i vertikalne inhibicijske interneurone u od drugog do šestog sloja motoričke kore, koji putem projekcija na piramidne stanice moduliraju njihovu izlaznu aktivnost prema kortikospinalnim putevima. TMS dakle, koaktivira i ekscitacijske i inhibicijske intrakortikalne krugove, ali intenzitet i trajanje inhibicije ovise o razini voljne kontrakcije i prethodnom stanju kortikalne pobuđenosti.

Neuroelektrofiziološki mjereći F-val ili H-refleks tijekom CSP-a moguće je razlučiti spinalni od kortikalnog mehanizma. Naime, pad amplitude H-refleksa u ranom dijelu CSP-a ukazuje na spinalnu inhibiciju, dok njegov oporavak usred trajanja CSP-a, unatoč nastavku tišine na EMG-u, potvrđuje dominantno kortikalno podrijetlo kasnog dijela (105,106). Nadalje, stimulacija motoričke kore primjene blokatora natrijevih kanala ili GABA-ergičkih modulatora modulira trajanje CSP-a tako da je konzistentna s farmakološkim profilom ciljanih receptora (101).

Iako tradicionalna tumačenja CSP-a naglašavaju prvenstveno kortikalnih i spinalnih mehanizama, za izdvojiti i ulogu talamusa u inhibiciji tijekom CSP-a. Unutar ventrolateralnih i ventroanteriornih jezgara talamusa integriraju se aferentni signali iz malog mozga i bazalnih ganglija, a zatim projiciraju prema područjima motoričke kore (25,26). Tijekom CSP-a moguća je privremena modulacija talamokortikalnog prijenosa, pri čemu pojačana inhibicijska aktivnost iz retikularne jezgre talamusa putem GABA-ergičkih projekcija smanjuje ulaznu ekscitaciju motoričke kore. Ova kontrolna funkcija talamusa mogla bi pridonijeti održavanju tišine u kasnom dijelu CSP-a, osobito u uvjetima pojačane kortikalne inhibicije inducirane TMS-om (107).

Eksperimentalni podaci iz studija kod zdravih ispitanika korištenjem fMRI-ja i TMS-EEG korelacije pokazuju smanjenu funkcionalnu povezanost između talamusa i motoričke kore tijekom CSP-a, što implicira privremeno smanjenje ekscitacijskog outputa talamusa (71). U

patologijama poput distonije ili Huntingtonove bolesti, gdje su poznati poremećaji talamokortikalne dinamike, uočena su i odstupanja u trajanju i konzistenciji CSP-a, što dodatno potvrđuje važnost talamusa u finom podešavanju kortikalne inhibicije (47,108).

Važno je istaknuti i modulacijsku ulogu bazalnih ganglija, koje putem talamusa indirektno utječu na CSP. Inhibicijski izlaz iz globus pallidus internus i substantia nigra pars reticulata modulira talamične jezgre, a promjene u tim putovima mogu promijeniti trajanje CSP-a. Primjerice, u Parkinsonovoj bolesti, gdje je izlaz iz globus pallidus internus pojačan, trajanje CSP-a često je produženo, dok se u distoniji bilježi skraćanje, vjerojatno zbog smanjenog inhibicijskog outputa iz bazalnih ganglija prema talamusu (27,29,108).

CSP predstavlja neurofiziološki parametar za procjenu intrakortikalne inhibicije, a njegova izmjena zabilježena je u različitim poremećajima motoričke kontrole, uključujući laringealnu distoniju (4,42). Laringealna distonija, fokusni poremećaj pokreta koji zahvaća mišiće glasnica, karakterizira se nenamjernim, nevoljnim grčevima laringealnih mišića tijekom govora, što dovodi do promjena u kvaliteti glasa i govora. Razumijevanje kortikalnih mehanizama koji stoje iza ove disfunkcije od vitalne je važnosti za dijagnostiku i razvoj učinkovitih terapijskih strategija (45,46).

Prethodna istraživanja koja su koristila TMS pokazala su da smanjena inhibicija kortikalne i subkortikalne aktivnosti može biti karakteristična za laringealnu distoniju (12,15,19,22,23). Uz registraciju amplitude i latencije MEP-a iz laringealnih mišića (98,109), CSP je do sada istražen isključivo u TA mišiću kako bi se procijenila ekscitabilnost LMC regije (4,9). Prema dostupnim podacima, CSP u drugim laringealnim mišićima osim TA, još uvijek nije bio predmet istraživanja, što upućuje na važnost daljnjih studija kako bi se bolje razumjeli neurofiziološki mehanizmi LMC-a i mogućnosti primjene TMS-a u dijagnosticiranju i liječenju neuroloških poremećaja koji zahvaćaju laringealne mišiće. Razmatranje ovih aspekata moglo bi doprinijeti napretku u razumijevanju i terapiji laringealne distonije.

2. CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA

2.1. Cilj istraživanja

Glavni cilj istraživanja:

Glavni je cilj bio istražiti CSP u CT mišiću nakon primjene navigacijskog TMS-a iznad primarne motoričke kore - za reprezentaciju laringealne muskulature kod zdravih ispitanika te time pružiti norme za duljinu trajanja CSP-odgovora registriranih iz CT mišića kod zdravih ispitanika.

Sekundarni cilj istraživanja:

Sekundarni je cilj bio pružiti osnovu za usporedbu s nalazima kod laringealne distonije i uvid u maladaptivnu kortikalnu kontrolu funkcije tijekom fonacije.

2.2. Ustroj istraživanja

Ova je studija presjek podataka analize studija neurofizioloških podataka središnjeg živčanog sustava, uključujući motoričku evaluaciju kortikospinalnih i kortikonuklearnih puteva snimanjem MEP-ova i CSP-a pomoću TMS-a, a provodila se u Kliničkoj bolnici Split i Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Splitu. Najprije je su ispitanici dobili upitnik kako bi se provjerili eventualni prethodni neurološki poremećaji i potpisala suglasnost za sudjelovanje u studiji. Potom se napravio MRI mozga ispitanika, a zatim u 3D obliku rekonstruirao za potrebe TMS-a. Radiolozi su evaluaciju MRI-ja radili u Kliničkom zavodu za radiologiju Kliničkog bolničkog centra Split. Ispitanik se udobno smjestio, MRI se koregistrirao s glavom ispitanika pomoću sustava za neuronavigaciju. Nakon TMS-mjerenja, MEP-a i CSP-a iz pojedinog CT mišića registrirani su za svakog ispitanika. Prikupljeni podaci su analizirani metodom MATLAB 2022a (MathWorks, SAD) (110). Mjerenja i procjena podataka provodila se na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Splitu pri Zavodu za neuroznanost, u Laboratoriju za humanu i eksperimentalnu neurofiziologiju (voditeljica dr. sc. Maja Rogić Vidaković). Specijalist otorinolaringolog konzultiran je kako bi se pravilno postavile

elektroda za snimanje (Hookwire IOM-elektrode, jednokratne subdermalne iglene elektrode, 0,4 x 13 mm, SGM d.o.o, G. Novaka 22 a, 21000 Split, Hrvatska) u CT mišić.

2.3. Hipoteze

Pri izradi plana za znanstveno istraživanje i ovu doktorsku disertacije iznijesene su sljedeće hipoteze:

Ne postoji razlika u duljini trajanja CSP-a registriranog iz CT mišića stimulacijom kontralateralne i ipsilateralne primarne motoričke kore za reprezentaciju laringealne muskulature.

Ne postoji razlika u intenzitetu stimulacije kontralateralne i ipsilateralne primarne motoričke kore kojima se izaziva CSP iz CT mišića.

Nema značajnih razlika u intenzitetu stimulacije kontralateralne i ipsilateralne LMC hemisfere.

3. METODE I MATERIJALI (ispitanci i postupci)

3.1. Odobrenje etičkog povjerenstva

Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu (Klasa: 003-08/22-03/0003, Ur. br.:2181-198-03-04-22-0005 (14. 2. 2022.) i nadopunjeno od strane Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu (Klasa: 00-08/23-03/0015, Ur. br. 2181-198-03-04-23-0064) (25. 7. 2023). Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra Split (Klasa: 500-03/21-01/184, Ur. br. 2181-147/01/06/M. S.-21-02) (22.12.2021) i nadopunjeno od strane Kliničkog bolničkog centra Split (Klasa: 500-03/21-01/184, Ur. br. 2181-147/01/06/LJ. Z.-23-04) (11. 7.2023.). Prije početka istraživanja ispitanici su potpisali informirani pristanak o sudjelovanju. Studija je prijavljena na ClinicalTrials.gov, identifikacijski broj NCT05580302.

3.2. Ispitanici

U istraživanju je sudjelovalo 19 zdravih ispitanika, s prosječnom dobi od $35,63 \pm 8,08$ godina i rasponom dobi od 24 do 53 godine. Nadalje, 47,36 % sudionika bile su žene, 89,47 % ispitanika bili su dešnjaci, s normalnim prosječnim indeksom tjelesne mase $24,03 \text{ kg/m}^2$.

3.3. Postupci

3.3.1. MRI snimka mozga

Anatomska MRI provedena je najmanje 24 sata prije TMS-eksperimenta. Pacijent se polegao u supinacijski položaj, glava u medijanoj liniji, bez angulacije ili rotacije. MRI mozga izveden je pomoću uređaja Siemens Magnetom Avanto 1,5 T (Siemens Healthcare GmbH) prema preporučenim postavkama za TMS rekonstrukciju:

sagitalne T1WI MPRAGE snimke,

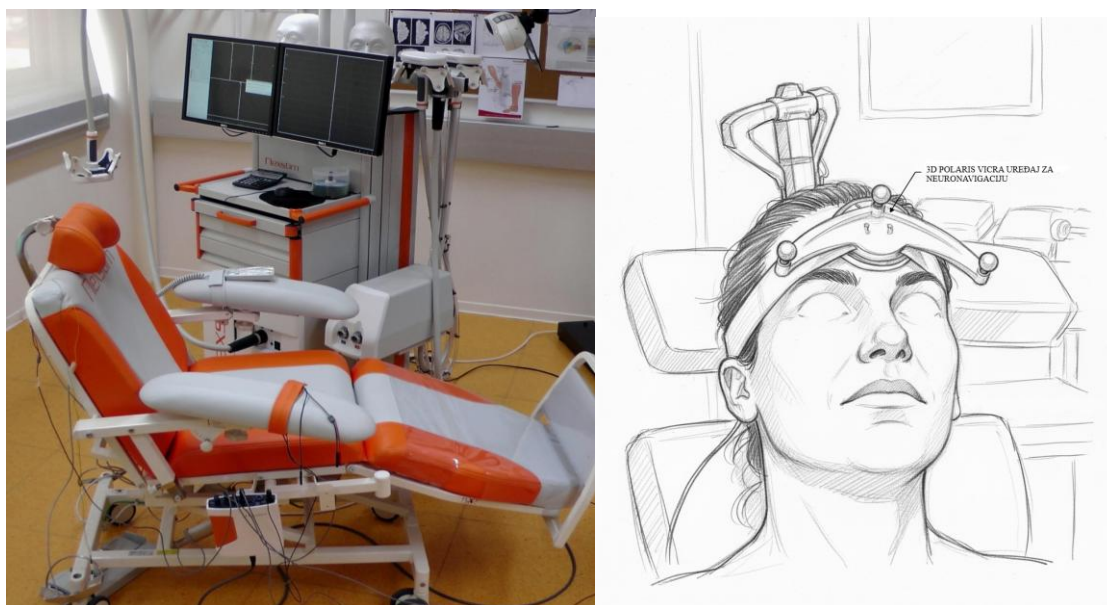
Voxel size 1mm x 1mm x 1mm, sekvencijalno skeniranje debljine 1 mm, bez razmaka između slojeva,

TR 8000, TE 92.2370.000000, FA 150, matrix size 256x224, FOV 201x230.

Korišten DICOM format za TMS rekonstrukciju, MRI slike su 3D-rekonstruirane prema individualnoj anatomiji mozga (3D optička jedinica za praćenje Polaris® Vicra).

3.3.2. Postupak postavljanja elektroda

Ispitanici su udobno sjedili u elektronički podesivoj stolici s tragačem za glavu pričvršćenim na čelo, a kao dio sustava za navigaciju e-poljem bezokvirne stereotaktičke TMS stimulacije (Nexstim NBS System 4, proizvođač Nexstim Plc., Helsinki, Finska) (Slika 2.). Mapiranje M1 za prikaz mišića ruke provedeno je prije mapiranja LMC-a.



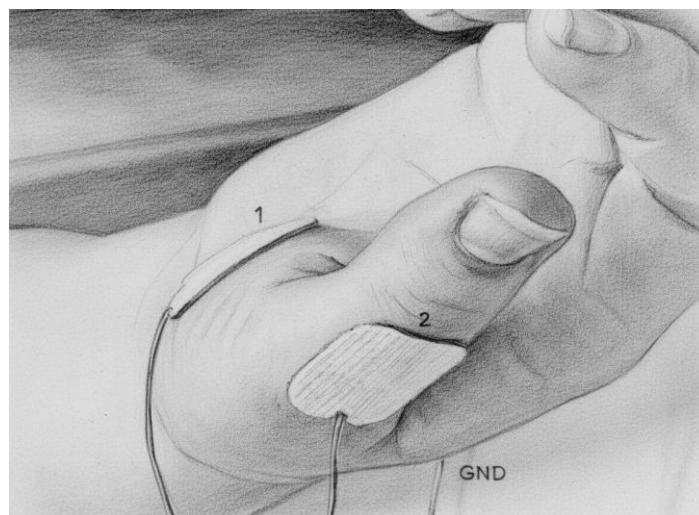
Slika 2. Uređaji za transkranijalnu magnetsku stimulaciju i neuronavigaciju. Lijevo prikaz TMS uređaja Nexstim NBS System 4, proizvođača Nexstim Plc., Helsinki, Finska, koji je korišten za izradu znanstvenog članka. Desno: ilustracija ispitanice s postavljenim neuronavigacijskim uređajem, 3D optička jedinica Polaris® Vicra. Slika desno generirana korištenjem Perplexity AI. (2025). <https://www.perplexity.ai/>

3.3.3. Priprema kože

Koža na ruci očišćena je acetonom s kalcijevim kloridom, a površinski sloj kože nježno je očišćen finim brusnim papirom. Koža oko laringealne izbočine očišćena je oktenidinom dihidrokloridom i 2-fenoksietanolom (Octenisept, Schülke & Mayr). Lidokain hidroklorid (Dolokain; 20 mg/g gel), lokalni anestetik iz skupine amidnih spojeva, nanesen je na očišćeno područje.

3.3.4. Procjena područja šake

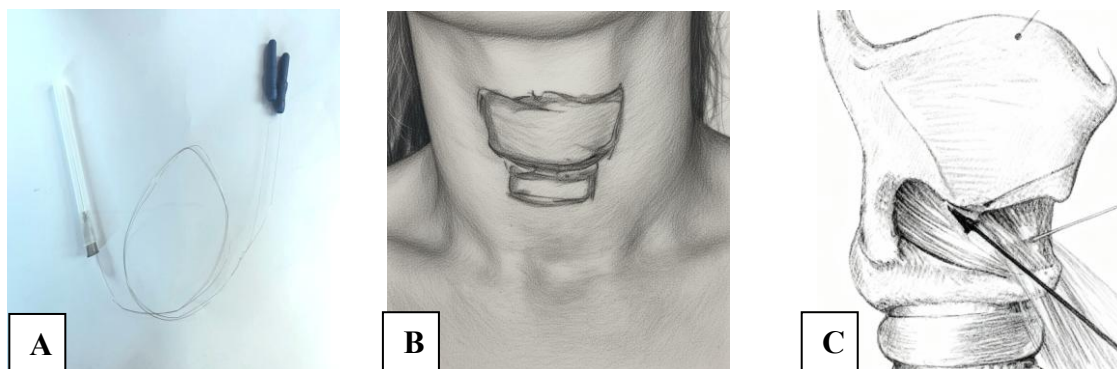
MEP-ovi su bilježeni iz APB-a mišića šake parom samoljepljivih površinskih elektroda (Ambu® Blue Sensor BR, BR-50-K/12, proizvođač Ambu A/S) u montažnom rasporedu trbuh-tetiva (Slika 3.). Elektrode su bile spojene na elektrodu kabel Nexstim elektromiografskog (EMG) aparata s 1,5 mm ženskim sigurnosnim konektorom (DIN 42-802) spojenim na 6-kanalni EMG i EMG pojačalo (vanjski modul) sa sklopom za uklanjanje TMS-artefakata. EMG je bio integrirani dio uređaja TMS s navigacijom električnog polja.



Slika 3. Na slici je predstavljen način postavljanja samoljepljivih površinskih elektroda. Broj 1 predstavlja elektrodu za m. APB, dok broj 2 na slici predstavlja elektrodu koja služi za uzemljenje (eng. ground, GND). Za izradu slike korišten je Perplexity AI. (2025). <https://www.perplexity.ai/>

3.3.5. Procjena laringealnog područja

Za bilježenje kortikonuklearnih MEP-ova i CSP-a iz CT mišića korištene su jednokratne parne elektrode s kukastom žicom (IOM elektrode) (SGM d.o.o., Split, Hrvatska). Nakon umetanja žice u CT mišić, hipodermalna igla je povučena, a fleksibilna elektroda fiksirana u mišiću (Slika 4.). Korištene su igle duljine 50 mm i promjera 7 mm (22 G), s duljinom žice od 0,40 mm te dvije PTFE izolirane žice od nehrđajućeg čelika s plavim sigurnosnim priključkom. Metoda umetanja elektroda s kukastom žicom u CT mišić bila je slična prethodno opisanom u ranijim istraživanjima (98,109,111). Najprije su na koži sudionika nacrtane anatomske oznake. Točka umetanja označena je na razini krikotiroidnog ureza, pet milimetara lateralno od središnje linije. Igla je umetnuta tangencijalnim pokretom prema krikotiroidnoj membrani (oko 50°) dok elektroda nije postavljena u mišić. Za potvrdu ispravnog položaja elektroda sudionike se zamolilo da foniraju glas /i/ u niskom tonu i lagano povise ton. Kod ispravnog postavljanja elektroda EMG aktivnost se naglo povećavala, a interferencijski uzorci postali su gusti. Pokret sternohioidnog mišića provjeravao se podizanjem glave sudionika ili pritiskanjem prstima na njegovo/njezino čelo. U slučaju EMG aktivnosti, igla je ponovno umetnuta (ako je bila u infrahoidnom mišiću). Tijekom umetanja, elektrode su bile spojene na EMG kabel radi praćenja mišićne aktivnosti u stvarnom vremenu. Iskusni otorinolaringolog postavio je elektrode u CT mišić. Kod četiriju sudionika elektrode su umetnute u desni CT mišić, a kod petnaest u lijevi. Kontralateralni i ipsilateralni MEP-ovi i CSP-ovi zabilježeni su kod trinaest ispitanika, samo kontralateralni kod pet, a samo ipsilateralni kod jednog sudionika.



Slika 4. Prikaz postavljanja kukasta žica-elektrode u CT mišić. A - izgled kukasta žica-elektrode (SGM d.o.o., Split, Hrvatska); B - na koži ocrtane margine krikoidne i tireodne hrskavice te dvije točke kao mjesto insercije elektrode; C - shematski prikaz smjera insercije elektrode u CT mišić u kojem je strijelica smjer kretanja igle prilikom insercije. Slike B i C generirane korištenjem Perplexity AI. (2025). <https://www.perplexity.ai/>

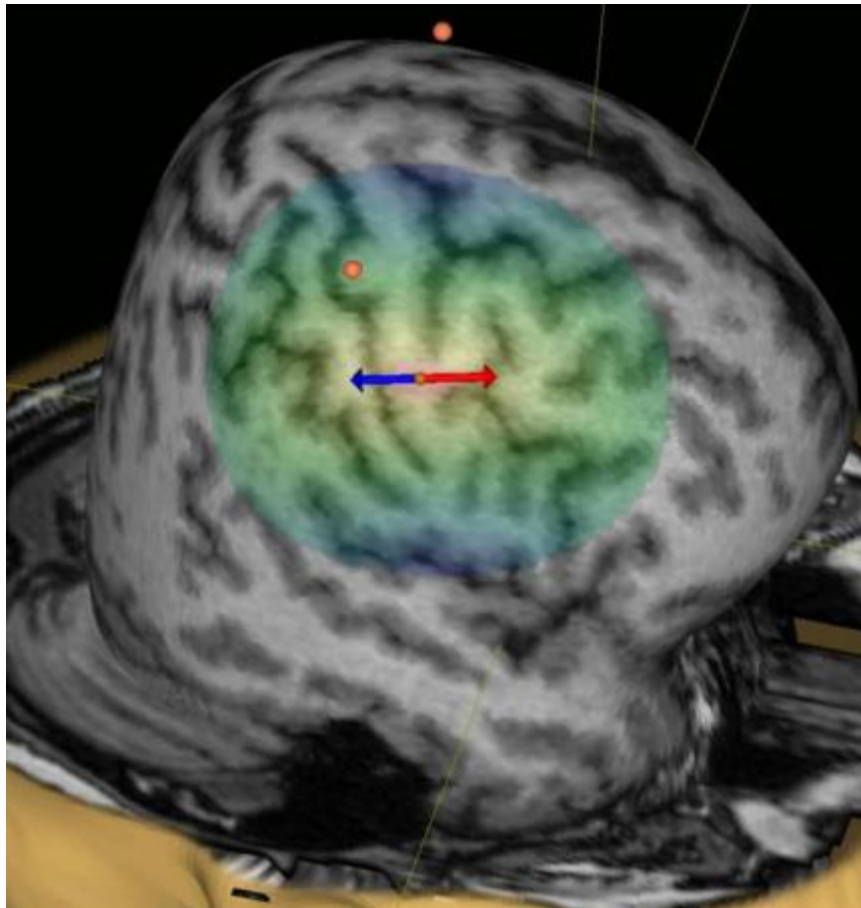
3.3.6. nTMS postupak mapiranja M1 regije za reprezentaciju šake i LMC-a

Korištena je magnetska zavojnica oblika osmice koja generira dvofazni impuls duljine 289 μ s. Zavojnica unutarnjeg promjera 50 mm i vanjskog 70 mm postavljena je tangencijalno u stražnje-donjem smjeru prema lubanji ispitanika iznad M1 (Slika 5.). Maksimalno električno polje iznosilo je 172 V/m ispod fokalne zavojnice u modelu sfernog vodiča koji predstavlja ljudsku glavu. MRI snimka je učitana u Nexstim NBS System 4 kako bi se lokalizirao LMC unutar M1.

Podražljivost regije šake / M1 kore procijenjena je površinskim elektrodama na APB mišiću kako bi se odredio prag motoričkog odgovora u mirovanju (eng. *resting motor threshold*, *RMT*). RMT je definiran kao najniža stimulacija koja izaziva najmanje 5 pozitivnih MEP odgovora od 10 pokušaja s amplitudom većom od 50 μ V (112).

Podražljivost LMC-a procijenjena je prema prethodno objavljenim protokolima, bilježenjem MEP-ova iz CT mišića. Nakon određivanja RMT-a za APB mišić, zavojnica je pomaknuta lateralno i tangencijalno prema središnjem sulku iznad LMC regije, otprilike $25,19 \pm 6,51$ mm lateralno od „vruće točke” APB mišića (111). Intenzitet za izazivanje CSP-a definiran je

kao ona jačina TMS-a koja izaziva CSP u 5 od 10 uzastopnih pokušaja. Jednopsne kortikalne stimulacije primijenjene su tijekom visokofrekventne vokalizacije glasa /i/. Puls je primijenjen 1 – 2 sekunde nakon početka kontinuirane vokalizacije. MEP i CSP odgovori su prikupljeni stimulacijom kontralateralne i ipsilateralne hemisfere. Intenzitet stimulacije za detekciju cSP-a iz CT mišića bio je oko 130–150 % RMT-a za prikaz mišića šake.



Slika 5. Prikaz mapiranja M1 regije za reprezentaciju šake i LMC-a kod ispitanika.

Točke označavaju referentnu točku za reprezentaciju šake, dok je plavo- crvena strelica predstavlja usmjerenje TMS zavojnice i točku vrška stimulacije koja je pozicionirana iznad M1 regije za reprezentaciju LMC. Zeleno označena regija je polje stimulacije TMS uređajem Slika preuzeta i prilagođena prema Rogić Vidaković i sur., 2022. (46) prema licenci CC BY 4.0.

3.4. Statistička analiza

3.4.1. Statistička snaga studije

Za otkrivanje značajnih razlika između kontralateralne i ipsilateralne duljine trajanja CSP-a, naša studija treba uključivati najmanje 10 sudionika. Minimalna veličina uzorka izračunala se na temelju usporedbe srednjih vrijednosti (t-test) za snagu studije od 80 % uz razinu značajnosti od 0.05. U izračunu su korištene srednje vrijednosti duljine trajanja CSP-a za lijevu ($M = 13.1$ ms) i desnu hemisferu ($M = 15.5$ ms) te vrijednosti standardne devijacije za obje hemisfere ($SD = 2.1$ ms) iz istraživanja Chen i sur. (113).

3.4.2. Neurofiziološke mjere i statistička obrada

Ishodni parametri uključivali su RMT intenzitet za APB mišić, latenciju i amplitudu MEP-a pri RMT intenzitetu. Parametri za CT mišić uključivali su: intenzitet stimulacije (izražen kao postotak maksimalne snage stimulatora) potreban za izazivanje CSP-a, trajanje CSP-a i amplitudu MEP-a koji prethodi CSP-u. Budući da se CSP bilježio iz CT mišića tijekom vokalizacije (tj. pre-EMG aktivacija prethodila je MEP odgovoru), latencija MEP-a iz CT mišića nije procjenjivana. Latencije su prethodno prijavljene primjenom drugih protokola (6,98,111).

Početak CSP-a definiran je kao trenutak TMS impulsa (nulto vrijeme na slici 10). Trajanje CSP-a izračunalo se kao razlika između početka i kraja CSP-a (Slika 10)(3). Amplituda i latencija MEP-a iz APB-a, amplituda MEP-a iz CT mišića i CSP analizirani su prilagođenim Matlab skriptom (R2021a) (58). MEP iz CT mišića detektiran je unutar vremenskog prozora 10 – 30 ms nakon artefakta stimulacije, dok je za APB bio u rasponu 18 – 30 ms (99). Automatski algoritam izračunao je MEP iz CT mišića, dok je kraj trajanja CSP-a određen ručno. Za analizu se uzelo minimalno 5 do 10 pokušaja.

3.4.3. Analiza podataka

Korištena je parametarska statistika jer parametri kosine i zaobljenosti nisu ukazivali na značajna odstupanja od normalne raspodjele. Karakteristike sudionika prikazane su deskriptivnim statistikama. Također, prethodna istraživanja nisu pokazala značajne razlike u

latenciji MEP-a i trajanju CSP-a u TA mišićima u odnosu na stimulaciju lijeve ili desne hemisfere (9). Budući da je kod većine sudionika (petnaest) stimulirana lijeva hemisfera, podaci o trajanju CSP-a i amplitudi MEP-a u CT mišićima prikazani su kao kontralateralni i ipsilateralni odgovori. Grupe su uspoređene Studentovim t-testom za nezavisne uzorke. Jednakost varijanci između grupa procijenjena je Leveneovim testom. Vrijednost $p < 0,05$ smatrana je statistički značajnom. Za analizu podataka korišten je softver Statistica 12.

3.4.4. Analizirane mjere

MEP latencija (izražena u milisekundama) u mišiću šake

MEP amplituda (izražena u mikrovoltima) u mišiću šake

Intenzitet stimulacije (izražen u postotku maks. izlaza stimulatora) za izazivanje MEP-a odgovora u mišiću šake

MEP amplituda (izražena u mikrovoltima) u CT mišiću

CSP duljina trajanja (izražena u milisekundama) u CT mišiću

Intenzitet stimulacije (izražen u postotku maks. izlaza stimulatora) za izazivanje CSP-a u CT mišiću

3.5. Metodologija

3.5.1. Obrada podataka i statistički postupci

Matlab R2021a (latencija i amplituda MEP odgovora, duljina trajanja CSP-a) Student t-test za nezavisne uzorke

Jednakost varijanci između grupa - Leveneov test ($p < 0,05$)

Statistička analiza podataka - softver Statistica 12.

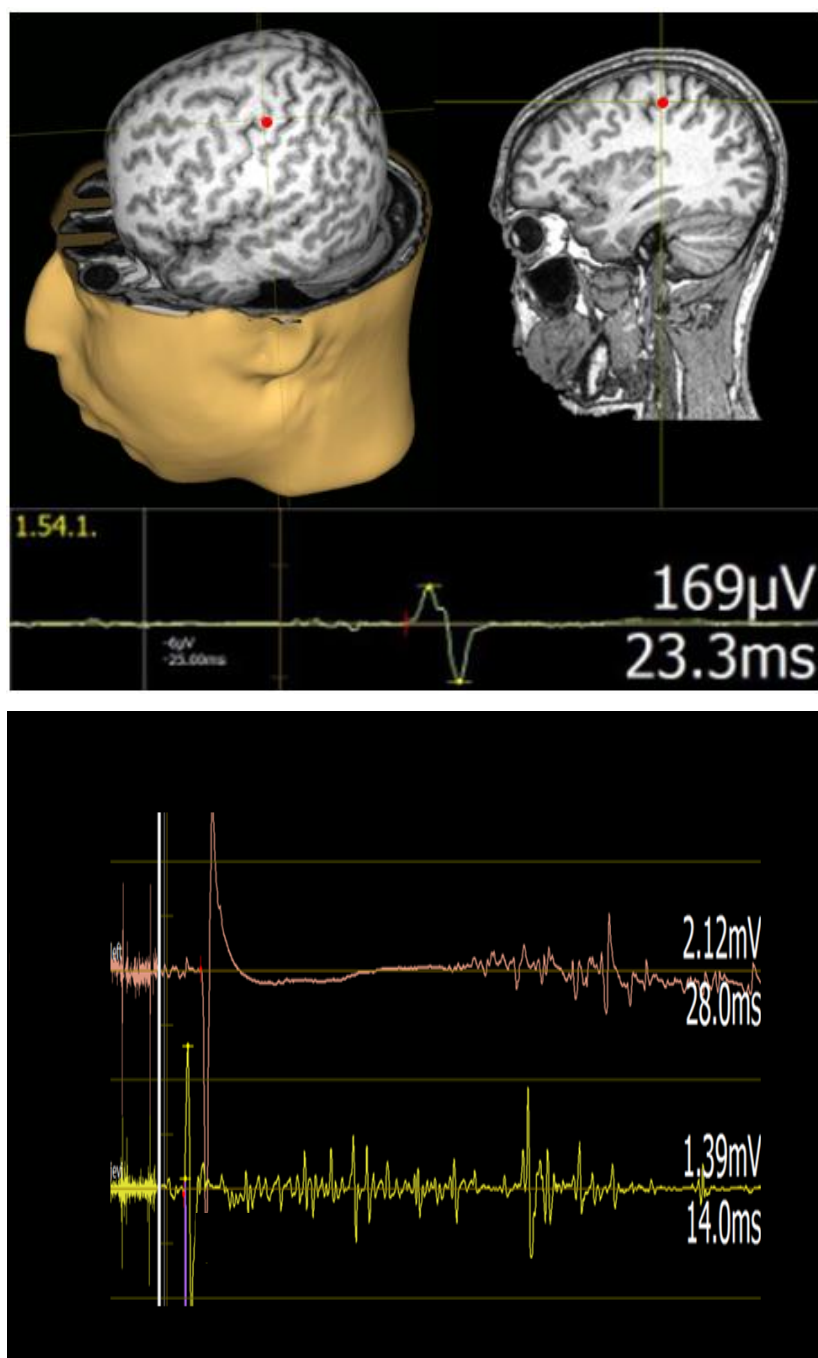
Usporedba dobivenih podataka duljine trajanja CSP-a iz CT mišića u našoj studiji s prethodno objavljenim podacima za duljinu trajanja CSP-a iz TA mišića (9).

4. REZULTATI

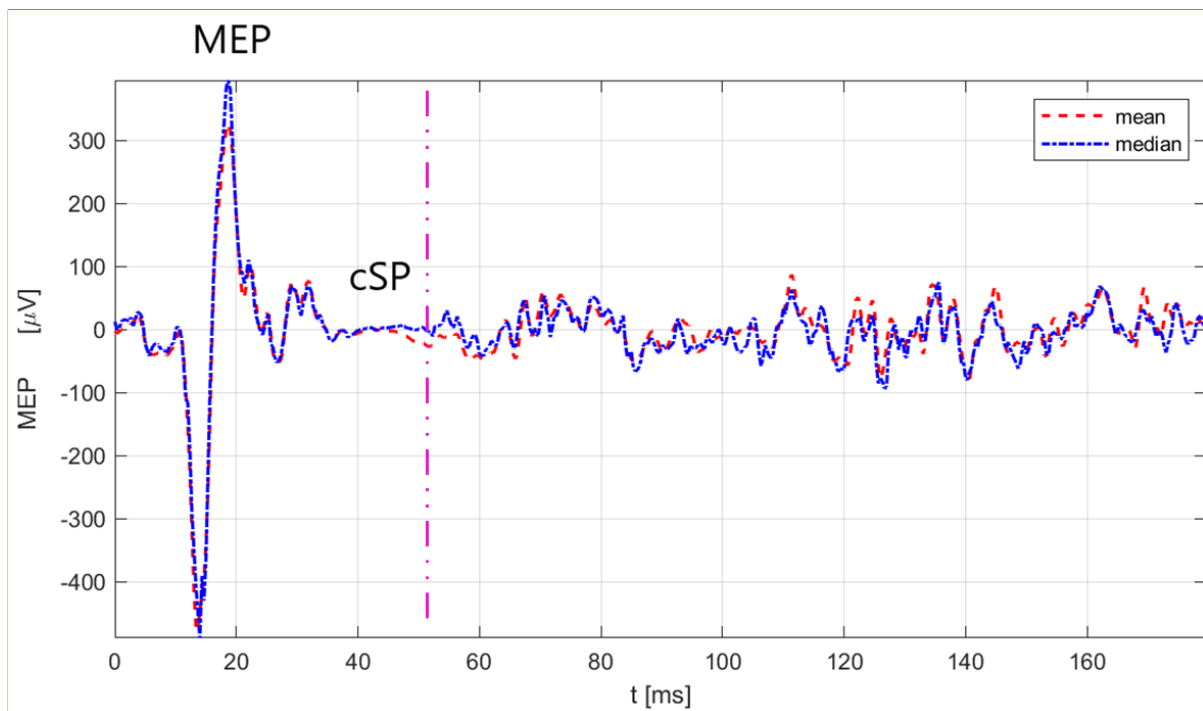
Rezultati istraživanja pokazali su da su analizirani parametri CSP CT u mišiću kod 19 zdravih ispitanika mogli biti pouzdano kvantificirani primjenom nTMS. Ova metodologija omogućila je visoku preciznost u lokalizaciji LMC te bilježenje elektrofizioloških odgovora pomoću intramuskularnih elektroda. Procijenjeni parametri obuhvaćali su trajanje CSP-a, amplitudu MEP i intenzitet stimulacije izražen u postotku praga RMT.

Amplituda MEP-a je analizirana kako bi se procijenila pouzdanost regrutacije mišića te odnos između ekscitacije i inhibicije. Vrijednosti amplitude bile su stabilne između ispitanika, iako se uočila prirodna interindividualna varijabilnost, što je u skladu s poznatim podacima o TMS-induciranim MEP-ovima za mišiće šake i LMC. Amplituda MEP-a u CT mišiću ne doseže razine zabilježene u distalnim mišićima ruke poput APB, što se može objasniti različitim udaljenostima kortikalne reprezentacije i anatomskim osobitostima kortikonuklearnih projekcija (Slika 6).

Trajanje CSP u ovoj studiji pokazalo je vrijednosti u rasponu između približno 40 i 65 milisekundi (Slika 7). Rezultati dobiveni za kontralateralnu i ipsilateralnu stimulaciju pokazali vrlo slične vrijednosti, bez statistički značajnih razlika između dvije strane, čime je pokazana na simetrična organizacija kortikalne inhibicije za CT mišić i sugerira da se kod zdravih ispitanika mehanizmi kortikalne inhibicije odvijaju ujednačeno, neovisno o hemisferi stimulacije. Stoga, je potvrđeno da se CT mišić, iako anatomski i funkcionalno jedinstven u odnosu na druge laringealne mišiće, uklapa u obrasce bilateralne kortikalne kontrole.



Slika 6. Stimulacija TMS uređajem te facilitacija MEP i CSP odgovora za APB i CT mišiće. Na slici gore je prikazan 3D prikaz T1W1 MRI snimke ispitanika integrirane u nTMS, crvena točka predstavlja reprezentaciju motoričke kore za šaku, dok zapis prikazuje EMG zapis s MEP-om iznad RMT-a. Na slici dolje je prikazana promjena u EMG zapisu prije statističke obrade: paralelno su prikazani MEP i CSP za mišić šake, kao i za CT mišić, izražene vrijednosti u mV i ms označavaju amplitudu i latenciju MEP-a.



Slika 7. MEP odgovori i detekcija CSP-a iz laringealnog CT mišića. Prikazano je šest pojedinačnih pokušaja s označenom srednjom vrijednošću (iscrtkana crvena linija) i medijanom (iscrtkana plava linija) za muškog ispitanika (br. 9). Ružičasta iscrtkana okomita linija označava kraj CSP odgovora, dok početak magnetske stimulacije označava nulto vrijeme. Vrijeme na osi x izraženo je u milisekundama (ms), a amplituda MEP-a na osi y u mikrovoltima (μV).

Intenzitet stimulacije potreban za izazivanje MEP-a i CSP-a izražen je kao postotak RMT-a. Vrijednosti su pokazale konzistenciju između hemisfera. Nismo uočili ni izračunali značajnu razliku u intenzitetu RMT-a ($t(31) = 0,98$; $p = 0,33$) između stimulacije lijeve i desne hemisfere za prikaz APB-a, ni u latenciji MEP-a ($t(31) = 0,94$; $p = 0,35$) ni u amplitudi MEP-a ($t(31) = 0,86$; $p = 0,39$) između lijevog i desnog APB-a (Tablica 1.) iz čega proizlazi da prag podražaja za aktivaciju LMC-a i indukciju inhibicijskog odgovora u CT mišiću je bihemisferalno stabilan neurofiziološki prag, što dodatno potvrđuje valjanost metodologije.

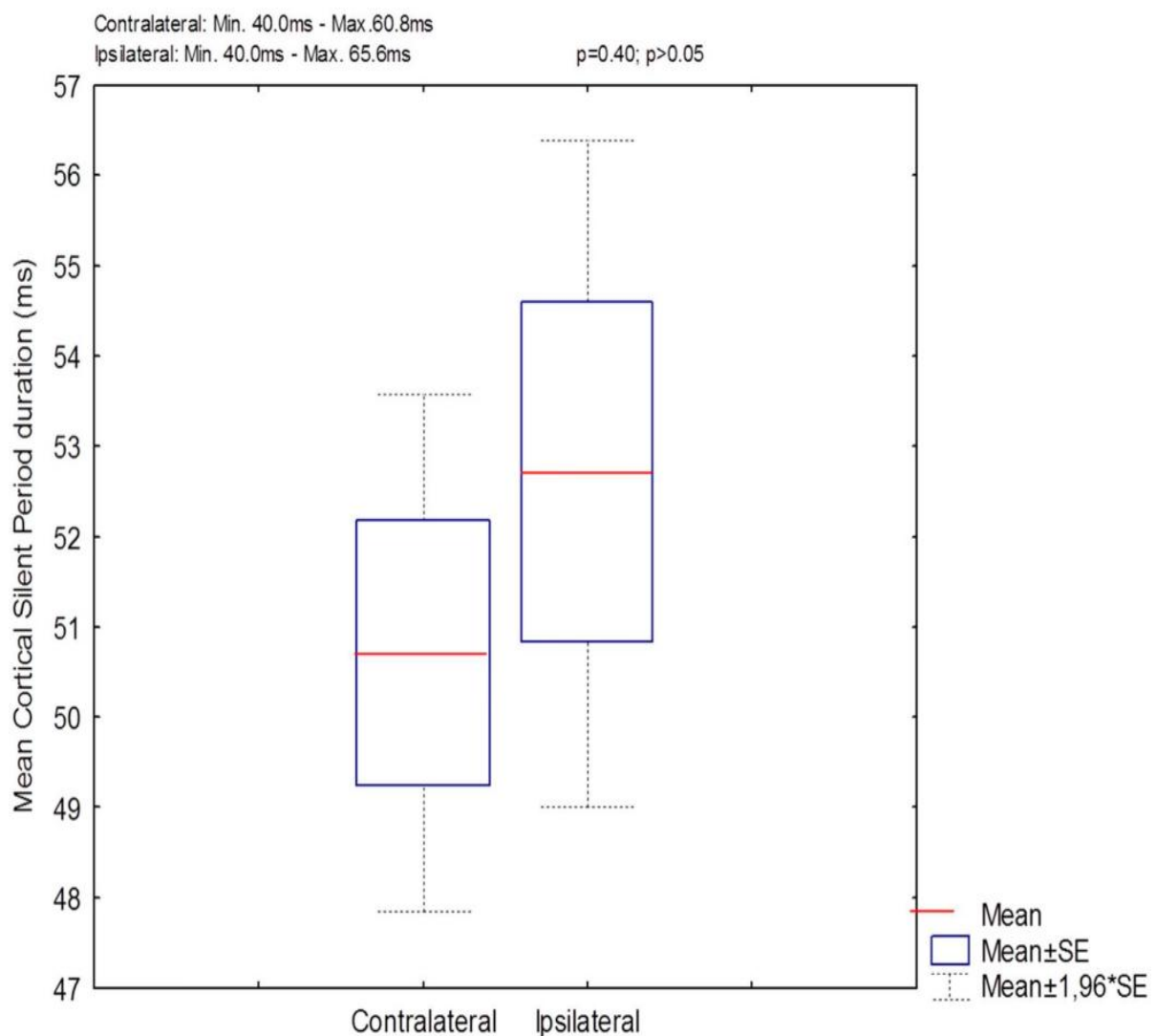
Također, nije pronađena značajna razlika između kontralateralnog i ipsilateralnog trajanja CSP-a (Slika 8.) ($t(30) = 0,85$; $p = 0,40$), amplitude MEP-a u CT-u ($t(30) = 0,91$; $p = 0,36$) niti intenziteta LMC-a ($t(30) = 1,20$; $p = 0,23$) (Tablica 1). Raspon kontralateralnog CSP-a u CT-u iznosio je 40 – 60,8 ms, a ipsilateralnog 40 – 65,6 ms. Slika 9. prikazuje ponovljivost CSP-a u CT-u kod jednog ispitanika. Osim toga, nije pronađena značajna razlika u kontralateralnom trajanju CSP-a između lijevog i desnog CT-a ($t(16) = -0,93$; $p = 0,36$).

Prikazani rezultati predstavljaju prvi pouzdan set normativnih podataka za CSP u CT mišiću kod zdravih ljudi. Time je ispunjena važna praznina u neurofiziološkoj literaturi jer su do sada slična mjerenja uglavnom bila ograničena na udove, dok je laringealna muskulatura ostajala relativno neistražena.

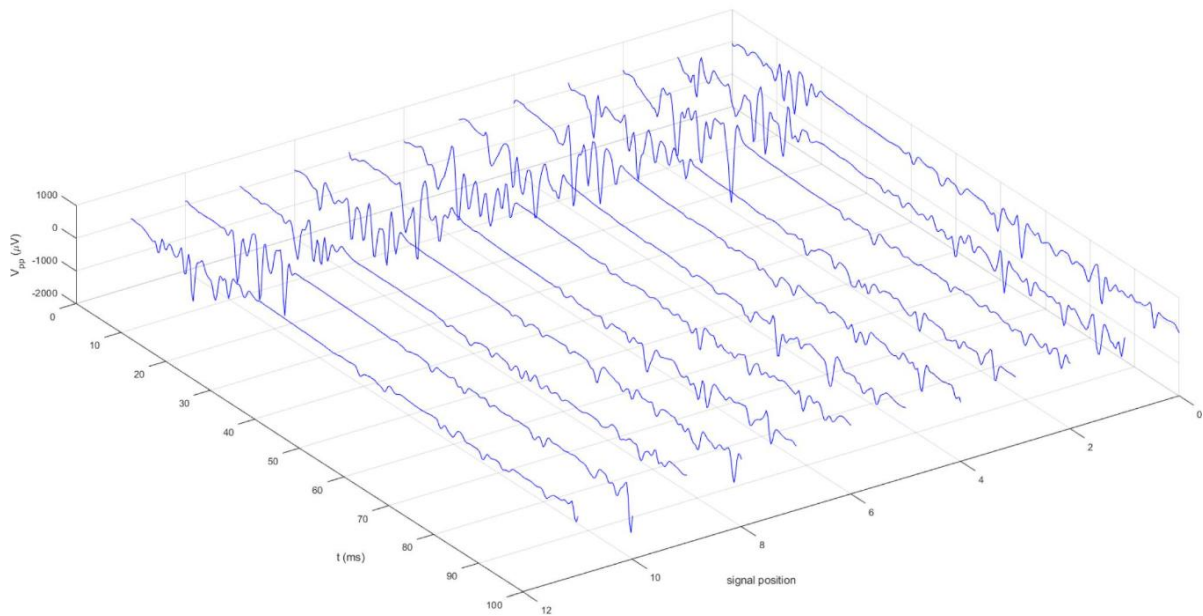
Tablica 1. Razlike u motoričkom kortikalnom mapiranju za APB i CT mišiće.

	Srednja vrijednost $\pm$ SD (ms)	t-test	p-vrijednost
RMT intenzitet za APB (%)		t = 0,98	0,33
Desna hemisfera	33,66 $\pm$ 5,40		
Lijeva hemisfera	35,83 $\pm$ 6,91		
MEP latencija APB (ms)		t = 0,94	0,35
Desna ruka	23,53 $\pm$ 1,71		
Lijeva ruka	22,91 $\pm$ 2,10		
MEP amplituda APB (μV)		t = 0,86	0,39
Desna ruka	298,05 $\pm$ 221,83		
Lijeva ruka	238,93 $\pm$ 155,88		
CSP trajanje CT (ms)		t = -0,85	0,40
Kontralateralno	50,71 $\pm$ 6,19		
Ipsilateralno	52,70 $\pm$ 7,04		
MEP amplituda CT (μV)		t = -0,91	0,36
Kontralateralno	972,70 $\pm$ 656,47		
Ipsilateralno	1234,34 $\pm$ 961,88		
LMC intenzitet (%)		t = 1,20	0,23
Kontralateralno	55,76 $\pm$ 10,62		
Ipsilateralno	51,50 $\pm$ 8,83		

Legenda: SD: standardna devijacija; RMT: prag motoričke podražljivosti u mirovanju; APB: m. abductor pollicis brevis; CSP: kortikalni period tišine; CT: m. cricothyroideus; LMC: laringealna motorička kora; μV : mikrovolt; ms: milisekunde; %: postotak.



Slika 8. Grafički prikaz trajanja CSP-a za kontralateralne i ipsilateralne odgovore. Središnja crvena linija označuje medijan i srednju vrijednost, dok donji i gornji rubovi okvira prikazuju 25. i 75. percentil. „Brkovi” predstavljaju srednju vrijednost $\pm 1.96 \cdot \text{SE}$. $p > 0.05$. SE: standardna pogreška srednje vrijednosti.



Slika 9. 3D prikaz ponovljivosti CSP-a u CT mišiću kod jednog ispitanika (br. 13). Na osi x prikazano je vrijeme u milisekundama, a na osi y „Vpp” predstavlja amplitudu MEP-a u mikrovoltima. Prikazano je dvanaest pojedinačnih pokušaja s MEP-ovima u CT-u praćenima CSP-om; pre-EMG aktivnost zabilježena je prije MEP-a i nakon CSP-a.

5. RASPRAVA

Studija je procjenjivala kortikonuklearnu podražljivost LMC-a korištenjem mjere CSP s intramuskularnim elektrodama postavljenim u CT mišiće kod zdravih ispitanika. MEP odgovori izazvani nTMS-om potvrđeni su kao kortikalnog podrijetla, zahvaljujući obostranim odgovorima nakon magnetske kortikalne stimulacije (3,6,109,111). Rezultati studije sugeriraju da se CSP može koristiti kao neurofiziološka mjera kortikonuklearne podražljivosti za LMC, uz postojeće mjere latencije i amplitude MEP-a te je tim potvrđena prvotna hipoteza.

CSP su prvotno opisali Merton i Morton 1980. godine kao razdoblje električne tišine zabilježeno u EMG signalu nakon MEP odgovora, kada se električna ili magnetska stimulacija primjenjuje na M1 tijekom tonične kontrakcije mišića (5,52,99,100,112). Prethodna istraživanja također sugeriraju da i spinalni i kortikalni mehanizmi mogu utjecati na trajanje CSP-a, uključujući subkortikalne i kortiko-subkortikalne interakcije (101), no opći konsenzus je da intrakortikalni inhibicijski procesi igraju dominantnu ulogu u nastanku CSP-a (42,103,112).

Prilikom mapiranja M1 za reprezentaciju mišića šake korištenjem stimulacije iznad RMT-a, CSP se može izazvati u kontralateralnom mišiću šake i može trajati 100–300 ms nakon MEP-a, pri čemu razina kontrakcije ne utječe na njegovo trajanje (46). Dodatno, studije koje su istraživale CSP mapiranjem M1 za mišiće lica i jezika izvijestile su o trajanju CSP-a 69 – 169 ms u mišiću triangularis, 68–111 ms u m. orbicularis oculi i 64.2 ± 4.5 ms u jeziku (114–116). Nedavno istraživanje Chena i sur. pokazalo je da trajanje CSP-a u laringealnim TA mišićima iznosi od 41.7 do 66.4 ms kod zdravih ispitanika (9). Također, Chen i sur. izvijestili su o značajnom skraćanju trajanja CSP-a u TA mišićima kod pacijenata s laringalnom distonijom (4).

Trajanje kontralateralnih i ipsilateralnih CSP-a u CT mišićima zabilježeno u ovoj studiji bilo je slično onome u TA mišićima, kako su izvijestili Chen i sur. (9). Vrijednosti trajanja CSP-a prikupljene iz lijevih i desnih TA mišića bile su slične bez obzira na hemisferu stimulacije, a podaci ove studije podržavaju te nalaze i za CT mišiće. Važno je naglasiti da u istraživanju nije provedena analiza trajanja ipsilateralnog CSP-a između lijevog i desnog CT mišića jer je ipsilateralni CSP zabilježen samo u desnom CT mišiću jednog ispitanika.

Amplituda MEP-a koja prethodi CSP-u nije se mijenjala s promjenama intenziteta TMS-a tijekom zadatka vokalizacije, što je u skladu s nalazima Chena i sur. (9). Nadalje, prilikom mapiranja LMC-a za CT mišiće nTMS-om kod zdravih ispitanika (u mirovanju) i

transkranijском električnom stimulacijom (TES) kod pacijenata pod općom anestezijom, MEP amplitude bile su značajno veće u kontralateralnim nego u ipsilateralnim odgovorima. Više amplitude u kontralateralnim CT mišićima tijekom mirovanja (bez vokalizacije) objašnjavaju se bilateralnom prirodom CT mišića i prevagom kontralateralnih projekcija (98,109). Međutim, tijekom tonične voljne aktivacije CT mišića vokalizacijom, nije bilo razlika u amplitudama MEP-a između kontralateralnih i ipsilateralnih odgovora koji su prethodili CSP-u.

Moguće ograničenje studije odnosi se na činjenicu da kukasta žica - elektrode nisu bile umetnute u lijevi i desni CT mišić kod svih ispitanika. Ipak, s obzirom na prethodna istraživanja koja nisu pokazala značajne razlike u trajanju CSP-a između lijevih i desnih intrinzičnih laringealnih mišića [11,14], vjerujemo da je to ograničenje zanemarivo. Nadalje, studija je uključila zdrave ispitanike prosječne dobi 35 ± 8.08 godina, s velikim rasponom dobi (24 – 53 godine), što se također može smatrati ograničenjem. Za usporedbu, Chen i sur. (9) uključili su 11 ispitanika (prosječna dob 54 ± 7.4 godina), bez navođenja raspona dobi, dok su u drugoj studiji (4) uključili 16 ispitanika prosječne dobi 51.5 ± 7.7 godina, također bez podataka o rasponu. Stoga nije moguće komentirati potencijalne razlike u dobi u kontekstu istraživanja CSP-a u CT mišićima.

Za istaknuti je prednost ove studije korištenjem nTMS-a, za razliku od Chen i sur. (4,9), koji su koristili linearnu navigaciju. Preporuka za korištenje e-polje navigacije proizlazi iz potrebe za smanjenjem tehničkih pogrešaka, osobito kada se zavojnica ne postavlja stalno i tangentno na površinu glave. Smatra se da je maksimalna aktivacija locirana na liniji koja prolazi kroz središte zavojnice i okomita je na njezinu donju površinu, što znači da bi minimalni nagib zavojnice mogao uzrokovati pogreške u procjeni maksimalne stimulacije (80).

Sollmann i sur. izvijestili su o razlikama u kliničkoj primjenjivosti, radnom toku i rezultatima mapiranja M1 između e-polje i linearno navigiranog TMS-a kod pacijenata s tumorima mozga (117). Omjer pozitivnih motoričkih točaka bio je značajno veći kod e-polje navigacije TMS-a, a udaljenosti kortikalnih motoričkih žarišta bile su 8.3 ± 4.4 mm ipsilateralno i 8.6 ± 4.5 mm kontralateralno. Prednosti e-polje navigacije uključuju kraće vrijeme po stimulaciji, veći broj pozitivnih odgovora i brže mapiranje (80,117). Također, prijavljene su različite prostorne distribucije motoričkih mapa gornjih i donjih ekstremiteta uz djelomična preklapanja dviju metoda navigacije.

5.1. Prikaz CSP parametra u neurološkim bolestima

Metaanaliza koja je obuhvatila više podtipova fokalne distonije izvijestila je o skraćenom CSP zajedno sa smanjenim SICI i aferentno induciranom inhibicijom, čime se potvrdila teza o globalnom poremećaju GABA posredovane inhibicije u motoričkoj kori oboljelih (42). Klinički, skraćen CSP predstavlja potencijalni marker u dijagnostici i praćenju učinka intervencija koje ciljaju inhibicijske krugove (42,99,114).

Za razliku od distonija, u epilepsijama je metaanaliza pokazala produljen CSP, osobito u idiopatskim generaliziranim epilepsijama. Ovaj nalaz interpretira se kao mogući kompenzacijski mehanizam GABA-B-posredovane inhibicije između napadaja, u kojem produljeni CSP označava pokušaj kore mozga da suzbije sljedeći iktus. Varijabilnost između sindroma pritom je naglašena i upućuje na heterogenost epileptogeneze, što naglašava potrebu za fenotipski preciznim podskupinama u budućim istraživanjima (5).

U multiploj sklerozi sustavni pregledi ističu nedosljednosti nalaza CSP-a, dijelom zbog metodoloških razlika i heterogenosti uzoraka (stadij bolesti, prisutnost relapsa, terapija). Ipak, ukupna slika sugerira da promjene u CSP-u korespondiraju s kliničkim obilježjima, uključujući zamor te da je CSP osjetljiv na fiziološke modulatore poput kardiorespiratorne spremnosti. Ovi podaci govore u prilog tome da CSP u multiploj sklerozi nije uniformno poremećen, nego odražava dinamičnu ravnotežu ove bolesti i kompenzacijskih mehanizama inhibicije (94). Važan korak prema kliničkoj primjeni je povezivanje CSP-a s drugim TMS biomarkerima (npr. LICI kao dodatni GABA-B indeks) i s višemodalnim mjerama (TMS-EEG, strukturni i funkcionalni MRI) (5,71). Sustavni pregledi ističu da kombiniranje CSP-a s drugim mjerama intrakortikalne facilitacije/inhibicije i mrežnih oscilacija može povećati dijagnostičku točnost i osjetljivost na promjene uzrokovane terapijom. Ujedno se naglašava potreba za daljnjim izvještavanjem o veličini učinka, pouzdanosti i minimalnoj klinički važnoj promjeni kako bi CSP mogao služiti kao biomarker u ispitivanjima ciljane neuromodulacije i rehabilitacije (42,65,95).

Zaključno, dokazi pruženi iz metaanaliza i sustavnih pregleda u proteklih petnaest godina podupiru validitet CSP-a kao mjere kortikalne inhibicije osjetljive na patofiziološke specifičnosti bolesti: skraćen u distoniji kao znak deficitarne inhibicije, produljen u idiopatskim generaliziranim epilepsijama kao mogući kompenzacijski fenomen te promjenjiv

u multiploj sklerozi (99). Daljnji napredak zahtijeva standardizaciju mjerenja, predregistrirane protokole i longitudinalne studije koji će odrediti prognostičku vrijednost CSP-a i njegovu primjenu.

5.2. Prikaz CSP parametra u studijama s laringealnom distonijom

Laringealnu distoniju prvotno je opisao Traube 1871. kao kroničnu fokalnu bolest s prisutnim poremećajem pri izvođenju određenih kretnji primarno zahvaćajući strukture esencijalne za produkciju glasa (45). Istraživanja iz 60-ih godina 20. stoljeća s pacijentima s laringealnom distonijom prikazala su poremećaj u EEG zapisu u temporalnoj regiji te promijenile paradigmu i prikazale bolest kao neurološki poremećaj (14). Iako do danas točna patofiziologija bolesti ostaje nepoznata, današnja istraživanja naglašavaju promjene u neurofiziološkim odnosima intrakortikalnih i subkortikalnih struktura mozga. Gubitak kortikalne inhibicije daje važan doprinos razvoju bolesti.

Studije Hillela i suradnika pokazale su promjene u EMG aktivnosti u svim intrinzičnim laringealnim mišićima pacijenata s laringealnom distonijom (113). Navode produljenu latenciju prije početka fonacije te povećanu učestalost postfonatorne aktivnosti. Slični EMG nalazi između abdukcijskog i adukcijskog podtipa stanja ukazuju na to da bilo koji od intrinzičnih laringealnih mišića može biti zahvaćen u obama podtipovima (113).

Slične rezultate prikazuju i studija u kojoj je uočena i povezanost između EMG zapisa i učinkovitosti botulinum toksina, standardne terapije za laringealnu distoniju (118).

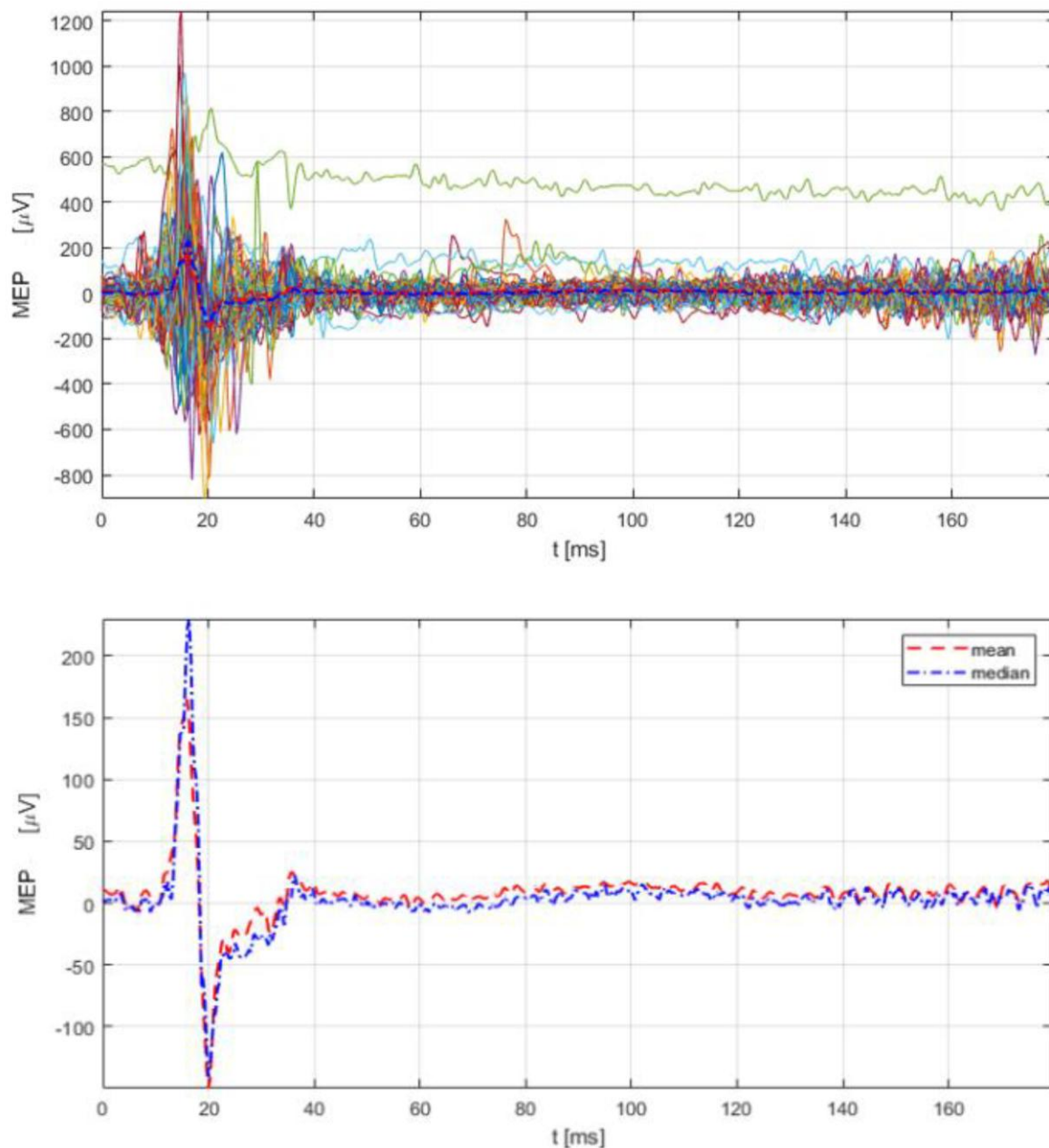
Jedna od važnih kliničkih studija koja je ispitala CSP u laringealnoj distoniji rad je Chen i suradnika (4). U toj su studiji uspoređivani CSP i MEP za TA mišić kod pacijenata s laringealnom distonijom i zdravih kontrola. Rezultati su pokazali značajno skraćanje CSP-a kod bolesnika, što je ukazivalo na smanjenu intrakortikalnu inhibiciju u motoričkoj kori. Autori su ovaj nalaz interpretirali kao potvrdu disbalansa između ekscitatornih i inhibitornih mehanizama, pri čemu smanjena GABA-ergička inhibicija može biti ključni patofiziološki čimbenik u razvoju laringealne distonije. Nadalje, skraćeni CSP korelirao je s težinom simptoma, što sugerira da CSP može poslužiti kao biomarker za evaluaciju težine bolesti.

U studiji Simonyan i Ludlow korištena je kombinacija TMS-a i fMRI kako bi se dublje razumjeli moždani mehanizmi laringealne distonije (103). CSP je korišten kao marker kortikalne inhibicije, a njihovi su rezultati dodatno potvrdili disfunkciju GABAergičkog sustava u motornoj kori i povezanim mrežama. Osim skraćenog CSP-a, uočene su i abnormalne aktivacije u somatosenzoričkim i motoričkim područjima koje su dodatno potkrijepile hipotezu o složenoj centralnoj patofiziologiji bolesti (4, 103).

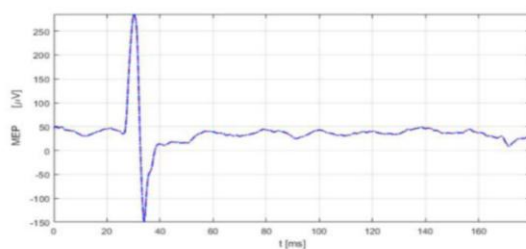
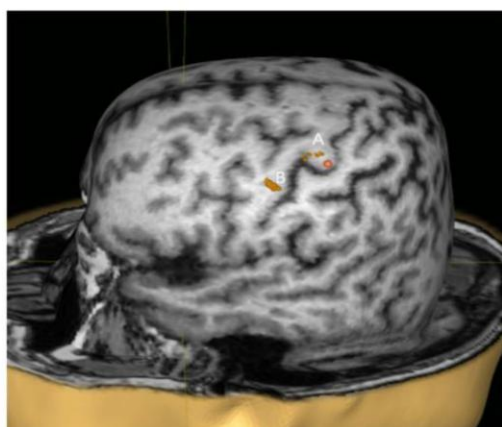
5.3. Primjena CSP iz CT mišića kod pacijenta s laringealnom distonijom ¹

Za sada nisu utvrđeni uvjerljivi i pouzdani dokazi o promjenama u drugim neurofiziološkim parametrima, poput RMT ili aktivnog motoričkog praga kod laringealne distonije te je nedostatan broj studija koje primjenjuju TMS na bolesnicima s laringealnom distonijom, a koje bi omogućile analizu neurofizioloških mjera osim CSP (104,119). Studija Rogić Vidaković i sur. iz 2022. godine pokazala je kliničku primjenu nTMS nad LMC za reprezentaciju CT mišića (46). Rezultati upućuju kako poremećaji kortikalne inhibicije i ekscitabilnosti mogu oblikovati kliničku prezentaciju laringealne distonije. Opisana dva slučaja s različitim podtipovima laringealne distonije. Kod pacijentice s adukcijskom distonijom CSP se nije uspio registrirati, čak ni pri visokom intenzitetu stimulacije (Slika 10.). Pacijent s abdukcijskom laringealnom distonijom pokazao je različit CSP kod lijevog i desnog CT mišića. Na zahvaćenom lijevom CT mišiću trajanje CSP bilo je prolongirano dok je na desnoj strani, trajanje CSP slično trajanju CSP kod zdravih ispitanika (Slika 11.) Rezultati s adukcijskom laringealnom distonijom koreliraju s rezultatima Chen i sur. na TA mišiću (4,46).

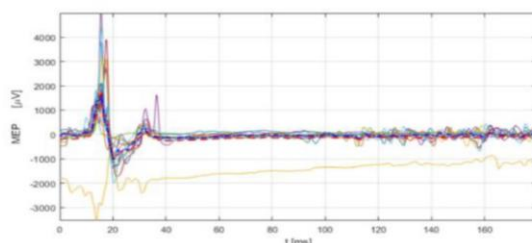
¹ Doprinos doktorskoj disertaciji autora kroz prethodno objavljene znanstvene radove.



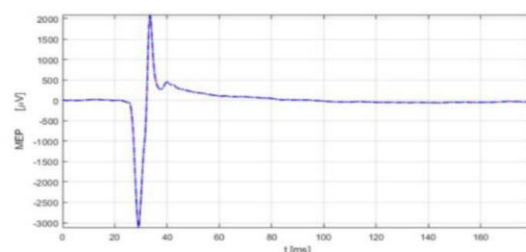
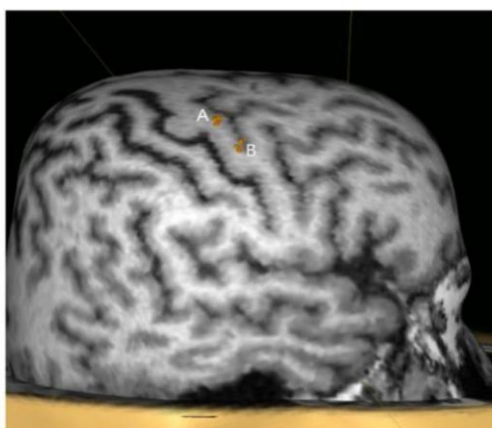
Slika 10. Prikaz MEP i CSP iz CT mišića kod pacijenta s adukcijskom laringealnom distonijom. Mapiranje LMC-a (desna hemisfera) i bilježenje CoMEP iz CT mišića pri intenzitetima od 60–80% maksimalnog izlaza stimulatora, s latencijom MEP-a od 11,3 ms. Na gornjem dijelu slike prikazani su preklopljeni MEP-ovi, a na donjem dijelu srednja vrijednost i medijan tih odgovora. CSP nije bilo moguće zabilježiti. Slika preuzeta i prilagođena prema Rogić Vidaković i sur., 2022. (46) prema licenci CC BY 4.0.



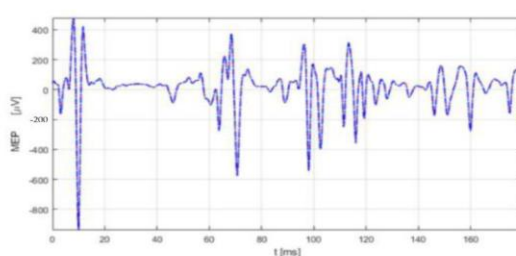
A



B



A



B

Slika 11. Prikaz MEP i CSP i z CT mišića kod pacijenta s abdukcijskom laringealnom distonijom. TMS M1 za mišiće gornjih ekstremiteta i larinksa. (Gore) TMS mapiranje lijeve M1 za reprezentaciju mišića šake (APB) i reprezentaciju CT mišića, uz bilježenje MEP iz mišića desne šake (A) i CoMEP iz desnog CT mišića (B). Latencija MEP iz mišića šake iznosi 23,61 ms s vršno-vršnom amplitudom od 603,07 μV. Srednja latencija CoMEP iznosi $11,67 \pm 1,7$ ms, a trajanje CSP $89,54 \pm 21,9$ ms. (Dolje) TMS mapiranje desne M1 za reprezentaciju mišića šake (APB) i reprezentaciju CT mišića, uz bilježenje MEP iz mišića lijeve šake (A) i CoMEP iz lijevog CT mišića (B). Latencija MEP iz mišića šake iznosi 22,79 ms s vršno-vršnom amplitudom od 106,07 μV. Srednja latencija CoMEP iznosi $11,67 \pm 1,7$ ms, a trajanje CSP $44,78 \pm 6,9$ ms. Slika preuzeta i prilagođena iz Rogić Vidaković i sur., 2022. (46) prema licenci CC BY 4.0.

Rogić Vidaković i sur. u studiji iz 2023. godine potvrđuju promjene u kortikalnoj inhibiciji kod abdukcijske laringealne distonije (47). Autori su pokazali da se u i ovoj skupini bolesnika bilježe značajne abnormalnosti CSP, pri čemu su izmjerene vrijednosti bile izmijenjene u usporedbi sa zdravim ispitanicima. Takav nalaz sugerira da abdukcijska distonija uključuje izmijenjenu kortikalnu inhibiciju na kortikonuklearnoj razini. Ovi rezultati ističu važnost mjerenja CSP-a kod CT mišića kao dijagnostičkog markera koji može potencijalno diferencirati tipove laringealne distonije i poslužiti kao objektivan alat za praćenje učinaka terapije.

Zaključno, brojni klinički dokazi ukazuju na to da je skraćeni CSP u laringealnoj distoniji izrazito važan pokazatelj izmijenjene intrakortikalne inhibicije, koja je vjerojatno posredovana disfunkcijom GABA-B receptora u motoričkoj kori. Ova saznanja ne samo da produbljuju razumijevanje neurofiziološke osnove laringealne distonije nego i usmjeravaju razvoj novih dijagnostičkih i terapijskih strategija.

5.4. Očekivani znanstveni doprinos

1. Doprinos u razumijevanju CSP laringealne muskulature primjenom nTMS-a kod zdravih ispitanika.
2. Doprinos u razumijevanju CSP-a u CT mišiću inerviranog n. laryngeus superior.
3. Dobiveni će podaci poslužiti u razumijevanju neurofizioloških mehanizama (inhibicijskih intrakortikalnih procesa) u patološkim stanjima kao što su laringealna ili cervikalna distonija.
4. Razumijevanje neurofizioloških mehanizama CSP-a u laringealnoj muskulaturi može voditi razvoju terapijskih procedura (rTMS).

6. ZAKLJUČCI

Studija je istraživala kortikonuklearnu podražljivost LMC-a korištenjem nTMS-a kojom su izazvan CSP u CT mišićima kod zdravih ispitanika. Parametri trajanja CSP-a bili su usklađeni s parametrima zabilježenima u TA mišićima. Budući da postoje izvješća o značajnom skraćanju trajanja CSP-a u TA mišićima kod pacijenata s adukcijskom laringealnom distonijom, mjerenje CSP-a u CT mišiću predstavlja dodatnu neurofiziološku značajku za proučavanje intrakortikalnih inhibitornih fenomena u bolesnim stanjima poput laringalne distonije. Temelji se na činjenici da su TA i CT mišići inervirani različitim ograncima kranijalnog vagusnog živca - rekurentni laringealni živac inervira TA mišić, dok gornji laringealni živac inervira CT mišić.

Može se zaključiti da je procjena kortikonuklearne podražljivosti LMC-a pomoću nTMS-a i mjerenja CSP-a u CT mišićima uspješno provedena kod zdravih ispitanika. Korištenje intramuskularnih kukastih žica-elektroda za mjerenje CSP-a u LMC-u omogućilo je dodatni alat za procjenu inhibicijskog procesa posredovanog GABA receptorima u reprezentaciji CT mišića. Stoga se CSP iz CT mišića može primjenjivati u budućim istraživanjima kao neurofiziološki pokazatelj bolesti laringealnih mišića, poput laringalne distonije.

Dodatno, terapijske intervencije koje koriste TMS radi produženja CSP-a pokazale su određeni potencijal u smanjenju simptoma laringalne distonije. U eksperimentalnim protokolima rehabilitacijska primjena TMS-a nad LMC pokazala je da kod pacijenata kojima se nakon stimulacije CSP približi normalnim vrijednostima dolazi i do subjektivnog poboljšanja fonacije, što ukazuje na to da inhibicijska povratna sprega nije samo patofiziološki marker već i potencijalni terapijski cilj. Razumijevanje ove dinamike omogućuje ne samo bolju dijagnostiku nego i otvara vrata ciljanim intervencijama — kao što su TMS, farmakološka modulacija inhibicije ili neurofeedback trening — usmjerenim na ponovno uspostavljanje funkcionalne inhibicije.

Zaključno, ova doktorska disertacija, predstavljajući neurofiziološki parametar CSP-a u CT mišiću, daje prilog za unaprjeđenje metode mjerenja, razumijevanje mehanizama i kliničkih implikacija sveukupnog CSP-a, a to pridonosi daljnjem razvoju neuroznanosti i kliničke neurologije.

7. LITERATURA

1. Collura TF. History and evolution of electroencephalographic instruments and techniques: J Clin Neurophysiol. 1993;10:476–504.
2. Penfield W, Boldrey E. Somatic motor and sensory representation in the cerebral cortex of man as studied by electrical stimulation. Brain. 1937;60:389–443.
3. Deletis V, Fernández-Conejero I, Ulkatan S, Rogić M, Carbó EL, Hiltzik D. Methodology for intra-operative recording of the corticobulbar motor evoked potentials from cricothyroid muscles. Clin Neurophysiol. 2011;122:1883–9.
4. Chen M, Summers RLS, Prudente CN, Goding GS, Samargia-Grivette S, Ludlow CL, i sur. Transcranial magnetic stimulation and functional magnet resonance imaging evaluation of adductor spasmodic dysphonia during phonation. Brain Stimulat. 2020;13:908–15.
5. Cicinelli P, Mattia D, Spanedda F, Traversa R, Marciani MG, Pasqualetti P, i sur. Transcranial magnetic stimulation reveals an interhemispheric asymmetry of cortical inhibition in focal epilepsy. NeuroReport. 2000;11:701–7.
6. Espadaler J, Rogić M, Deletis V, Leon A, Quijada C, Conesa G. Representation of cricothyroid muscles at the primary motor cortex (M1) in healthy subjects, mapped by navigated transcranial magnetic stimulation (nTMS). Clin Neurophysiol. 2012;123: 2205–11.
7. Wassermann EM, Peterchev AV, Ziemann U, Lisanby SH, Siebner HR, Walsh V. [Internet] The oxford handbook of transcranial stimulation. 2. izdanje. Oxford University Press; 2024 [citirano 30. kolovoza 2025]. Dostupno na: <https://academic.oup.com/edited-volume/35468>
8. Chen R, Lozano AM, Ashby P. Mechanism of the silent period following transcranial magnetic stimulation. Exp Brain Res. 1999;128:539–42..
9. Chen M, Summers RLS, Goding GS, Samargia S, Ludlow CL, Prudente CN, i sur. Evaluation of the cortical silent period of the laryngeal motor cortex in healthy individuals. Front Neurosci. 2017;11:88.
10. Jürgens U. The neural control of vocalization in mammals: a review. J Voice Off J Voice Found. 2009;23:1–10.
11. Ackermann H, Riecker A. The contribution of the insula to motor aspects of speech production: a review and a hypothesis. Brain Lang. 2004;89:320–8.
12. Hong KH, Ye M, Kim YM, Kevorkian KF, Kreiman J, Berke GS. Functional differences between the two bellies of the cricothyroid muscle. Otolaryngol Head Neck Surg. 1998;118:714–22.
13. Lin YH, Cheng LY, Li XY, Hu R, Xu W. Quantitative analysis on characteristics of electromyography and evoked potential in normal laryngeal muscles. Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi. 2024;59:1279–85.

14. Xu X, Yang P, Zhuang P, Yanchao J, Yanli M, Schrof C, i sur. Study on normal laryngeal electromyography of thyroarytenoid muscle, cricothyroid muscle, and posterior cricoarytenoid muscle. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2018;127:806–11.
15. Kenny BJ, Bordoni B. Neuroanatomy, Cranial Nerve 10 (Vagus Nerve). [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 [citirano 6. rujna 2025]. Dostupno na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537171/>
16. Darnell D, Gilbert SF. Neuroembryology. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*. 2017;6:10.1002/wdev.215.
17. Maldonado KA, Alsayouri K. Physiology, Brain. [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 [citirano 16.9.2025]. Dostupno na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551718/>
18. Miyashita Y. Operating principles of the cerebral cortex as a six-layered network in primates: beyond the classic canonical circuit model. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*. 2022;98:93–111.
19. Nolan M, Scott C, Hof PatrickR, Ansorge O. Betz cells of the primary motor cortex. *J Comp Neurol*. 2024;532:e25567.
20. Brodmann K. Description of individual brain maps. In: Brodmann's Localisation in the cerebral cortex: the principles of comparative localisation in the cerebral cortex based on cytoarchitectonics [Internet]. Boston, MA: Springer US; 2006 [citirano 16. rujna 2025]. p. 105–70. Dostupno na: https://doi.org/10.1007/0-387-26919-3_5
21. Amunts K, Zilles K. Architectonic Mapping of the Human Brain beyond Brodmann. *Neuron*. 2015 Dec 16;88(6):1086–107.
22. Yousry TA, Schmid UD, Alkadhi H, Schmidt D, Peraud A, Buettner A, i sur. Localization of the motor hand area to a knob on the precentral gyrus. A new landmark. *Brain J Neurol*. 1997;120:141–57.
23. Rivara CB, Sherwood CC, Bouras C, Hof PR. Stereologic characterization and spatial distribution patterns of Betz cells in the human primary motor cortex. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*. 2003;270A:137–51.
24. Boroojerdi B, Foltys H, Krings T, Spetzger U, Thron A, Töpper R. Localization of the motor hand area using transcranial magnetic stimulation and functional magnetic resonance imaging. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 1999;110:699–704.
25. Marcuse LV, Langan M, Hof PR, Panov F, Saez I, Jimenez-Shahed J, i sur. The thalamus: Structure, function, and neurotherapeutics. *Neurother J Am Soc Exp Neurother*. 2025;22:e00550.
26. Sommer MA. The role of the thalamus in motor control. *Curr Opin Neurobiol*. 2003;13:663–70.

27. Putzke JD, Wharen RE, Wszolek ZK, Turk MF, Strongosky AJ, Uitti RJ. Thalamic deep brain stimulation for tremor-predominant Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2003;10:81–8.
28. He S, West TO, Plazas FR, Wehmeyer L, Pogosyan A, Deli A, i sur. Cortico-thalamic tremor circuits and their associations with deep brain stimulation effects in essential tremor. *Brain J Neurol.* 2025;148:2093–107.
29. Varela C. Thalamic neuromodulation and its implications for executive networks. *Front Neural Circuits.* 2014;8:69.
30. Runnqvist E, Bonnard M, Gauvin HS, Attarian S, Trébuchon A, Hartsuiker RJ, i sur. Internal modeling of upcoming speech: A causal role of the right posterior cerebellum in non-motor aspects of language production. *Cortex J Devoted Study Nerv Syst Behav.* 2016;81:203–14.
31. Crocker AD. The regulation of motor control: an evaluation of the role of dopamine receptors in the substantia nigra. *Rev Neurosci.* 1997;8:55–76.
32. Basile GA, Quartu M, Bertino S, Serra MP, Boi M, Bramanti A, i sur. Red nucleus structure and function: from anatomy to clinical neurosciences. *Brain Struct Funct.* 2021;226:69–91.
33. Kalia M, Sullivan JM. Brainstem projections of sensory and motor components of the vagus nerve in the rat. *J Comp Neurol.* 1982;211:248–65..
34. Nagao S. Pontine nuclei-mediated cerebello-cerebral interactions and its functional role. *Cerebellum Lond Engl.* 2004;3:11–5.
35. Petko B, Tadi P. Neuroanatomy, Nucleus Ambiguus. [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 [citirano 17. rujna 2025]. Dostupno na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547744/>
36. Teleanu RI, Niculescu AG, Roza E, Vladâcenco O, Grumezescu AM, Teleanu DM. Neurotransmitters—key factors in neurological and neurodegenerative disorders of the central nervous system. *Int J Mol Sci.* 2022;23:5954.
37. Young CB, Reddy V, Sonne J. Neuroanatomy, Basal Ganglia. [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 [citirano 17. rujna 2025]. Dostupno na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537141/>
38. Kiemes A, Davies C, Kempton MJ, Lukow PB, Bennallick C, Stone JM,i sur. GABA, glutamate and neural activity: a systematic review with meta-analysis of multimodal 1h-MRS-fMRI studies. *Front Psychiatry.* 2021;12:644315.
39. Bautista TG, Sun QJ, Zhao WJ, Pilowsky PM. Cholinergic inputs to laryngeal motoneurons functionally identified in vivo in rat: a combined electrophysiological and microscopic study. *J Comp Neurol.* 2010;518:4903–16.
40. Neuroanatomy, Dentate Nucleus [Internet.- StatPearls - NCBI Bookshelf. [citirano 17. rujna 2025]. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554381/>

41. Dopamine signaling in substantia nigra and its impact on locomotor function—not a new concept, but neglected reality - PMC [Internet]. [citirano 17. rujna 2025]. Dostupno na: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10815979/>
42. Zeugin D, Ionta S. Anatomic-functional origins of the cortical silent period: spotlight on the basal ganglia. *Brain Sci.* 2021;11:705.
43. Paci M, Di Cosmo G, Perrucci MG, Ferri F, Costantini M. Cortical silent period reflects individual differences in action stopping performance. *Sci Rep.* 2021;11:15158.
44. Hupfeld KE, Swanson CW, Fling BW, Seidler RD. TMS-induced silent periods: A review of methods and call for consistency. *J Neurosci Methods.* 2020;346:108950.
45. Simonyan K, Barkmeier-Kraemer J, Blitzer A, Hallett M, Houde JF, Jacobson Kimberley T, i sur. Laryngeal Dystonia. *Neurology.* 2021;96:989–1001.
46. Rogić Vidaković M, Gunjača I, Bukić J, Košta V, Šoda J, Konstantinović I, i sur. The patho-neurophysiological basis and treatment of focal laryngeal dystonia: a narrative review and two case reports applying tms over the laryngeal motor cortex. *J Clin Med.* 2022;11:3453.
47. Rogić Vidaković M, Konstantinović I, Bošković B, Šoda J. Corticobulbar excitability in abductor laryngeal dystonia disease: the diagnostic role of transcranial magnetic stimulation. *QJM Int J Med.* 2023;116:569–71.
48. Berardelli A. The pathophysiology of primary dystonia. *Brain.* 1998;121:1195–212.
49. Rogić Vidaković M, Šoda J, Kuluva JE, Bošković B, Dolić K, Gunjača I. Exploring neurophysiological mechanisms and treatment efficacies in laryngeal dystonia: a transcranial magnetic stimulation approach. *Brain Sci.* 2023;13:1591.
50. Gill JS, Nguyen MX, Hull M, van der Heijden ME, Nguyen K, Thomas SP, i sur. Function and dysfunction of the dystonia network: an exploration of neural circuits that underlie the acquired and isolated dystonias. *Dystonia.* 2023;2:11805.
51. Hallett M. Transcranial magnetic stimulation: a primer. *Neuron.* 2007;55:187–99.
52. Barker AT, Jalinous R, Freeston IL. Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet Lond Engl.* 1985;1:1106–7.
53. Roth BJ, Saypol JM, Hallett M, Cohen LG. A theoretical calculation of the electric field induced in the cortex during magnetic stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1991;81:47–56.
54. Wassermann EM, Zimmermann T. Transcranial magnetic brain stimulation: therapeutic promises and scientific gaps. *Pharmacol Ther.* 2012;133:98–107.
55. Pascual-Leone A, Walsh V, Rothwell J. Transcranial magnetic stimulation in cognitive neuroscience--virtual lesion, chronometry, and functional connectivity. *Curr Opin Neurobiol.* 2000;10:232–7.

56. Vucic S, Stanley Chen KH, Kiernan MC, Hallett M, Benninger DH, Di Lazzaro V, i sur. Clinical diagnostic utility of transcranial magnetic stimulation in neurological disorders. Updated report of an IFCN committee. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2023;150:131–75.
57. Day BL, Dressler D, Maertens de Noordhout A, Marsden CD, Nakashima K, Rothwell JC, i sur. Electric and magnetic stimulation of human motor cortex: surface EMG and single motor unit responses. *J Physiol*. 1989;412:449–73.
58. Rossini PM, Barker AT, Berardelli A, Caramia MD, Caruso G, Cracco RQ, i sur. Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord and roots: basic principles and procedures for routine clinical application. Report of an IFCN committee. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1994;91:79–92.
59. Huang YZ, Edwards MJ, Rounis E, Bhatia KP, Rothwell JC. Theta burst stimulation of the human motor cortex. *Neuron*. 2005;45:201–6.
60. Walsh V, Cowey A. Transcranial magnetic stimulation and cognitive neuroscience. *Nat Rev Neurosci*. 2000;1:73–9.
61. Marg E, Rudiak D. Phosphenes induced by magnetic stimulation over the occipital brain: description and probable site of stimulation. *Optom Vis Sci Off Publ Am Acad Optom*. 1994;71:301–11.
62. Fitzgerald PB, Fountain S, Daskalakis ZJ. A comprehensive review of the effects of rTMS on motor cortical excitability and inhibition. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2006;117:2584–96.
63. George MS, Lisanby SH, Avery D, McDonald WM, Durkalski V, Pavlicova M, i sur. Daily left prefrontal transcranial magnetic stimulation therapy for major depressive disorder: a sham-controlled randomized trial. *Arch Gen Psychiatry*. 2010;67:507–16.
64. Perera T, George MS, Grammer G, Janicak PG, Pascual-Leone A, Wirecki TS. The Clinical TMS Society Consensus Review and Treatment Recommendations for TMS Therapy for Major Depressive Disorder. *Brain Stimulat*. 2016;9(3):336–46.
65. Lefaucheur JP, Aleman A, Baeken C, Benninger DH, Brunelin J, Di Lazzaro V, i sur. Evidence-based guidelines on the therapeutic use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS): An update (2014-2018). *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2020;131:474–528.
66. Thielscher A, Antunes A, Saturnino GB. Field modeling for transcranial magnetic stimulation: A useful tool to understand the physiological effects of TMS? *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc IEEE Eng Med Biol Soc Annu Int Conf*. 2015;2015:222–5.
67. Sparing R, Mottaghy FM. Noninvasive brain stimulation with transcranial magnetic or direct current stimulation (TMS/tDCS)-From insights into human memory to therapy of its dysfunction. *Methods San Diego Calif*. 2008;44:329–37.
68. Ziemann U. TMS and drugs. *Clin Neurophysiol*. 2004;115:1717–29.

69. Rossi S, Hallett M, Rossini PM, Pascual-Leone A, Safety of TMS Consensus Group. Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2009;120:2008–39.
70. George MS, Aston-Jones G. Noninvasive techniques for probing neurocircuitry and treating illness: vagus nerve stimulation (VNS), transcranial magnetic stimulation (TMS) and transcranial direct current stimulation (tDCS). *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol*. 2010;35:301–16.
71. Zrenner C, Desideri D, Belardinelli P, Ziemann U. Real-time EEG-defined excitability states determine efficacy of TMS-induced plasticity in human motor cortex. *Brain Stimulat*. 2018;11:374–89.
72. Kujirai T, Caramia MD, Rothwell JC, Day BL, Thompson PD, Ferbert A, *i sur*. Corticocortical inhibition in human motor cortex. *J Physiol*. 1993;471:501–19.
73. Chen R, Classen J, Gerloff C, Celnik P, Wassermann EM, Hallett M, *i sur*. Depression of motor cortex excitability by low-frequency transcranial magnetic stimulation. *Neurology*. 1997;48:1398–403.
74. Benali A, Trippe J, Weiler E, Mix A, Petrasch-Parwez E, Girzalsky W, *i sur*. Theta-burst transcranial magnetic stimulation alters cortical inhibition. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2011;31:1193–203.
75. Huang YZ, Rothwell JC, Lu CS, Wang J, Weng YH, Lai SC, *i sur*. The effect of continuous theta burst stimulation over premotor cortex on circuits in primary motor cortex and spinal cord. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2009;120:796–801.
76. Paganin W, Contini LM. Comparison of therapeutic efficacy in depression between repetitive TMS and deep TMS. *J Neural Transm (Vienna)*. 2025;132:1113–1124.
77. Pell GS, Harmelech T, Zibman S, Roth Y, Tendler A, Zangen A. Efficacy of deep tms with the H1 coil for anxious depression. *J Clin Med*. 2022;11:1015
78. Aleman A. Use of repetitive transcranial magnetic stimulation for treatment in psychiatry. *Clin Psychopharmacol Neurosci*. 2013;11:53–9.
79. Hilgetag CC, Théoret H, Pascual-Leone A. Enhanced visual spatial attention ipsilateral to rTMS-induced “virtual lesions” of human parietal cortex. *Nat Neurosci*. 2001;4:953–
80. Thielscher A, Kammer T. Electric field properties of two commercial figure-8 coils in TMS: calculation of focality and efficiency. *Clin Neurophysiol*. 2004;115:1697–708.
81. Wagner T, Eden U, Fregni F, Valero-Cabre A, Ramos-Estebanez C, Pronio-Stelluto V, *i sur*. Transcranial magnetic stimulation and brain atrophy: a computer-based human brain model study. *Exp Brain Res Exp Hirnforsch Exp Cerebrale*. 2008;186:539–50.
82. Roth Y, Amir A, Levkovitz Y, Zangen A. Three-dimensional distribution of the electric field induced in the brain by transcranial magnetic stimulation using figure-8 and deep H-coils. *J Clin Neurophysiol Off Publ Am Electroencephalogr Soc*. 2007;24:31–8

83. Bijsterbosch JD, Barker AT, Lee KH, Woodruff PWR. Where does transcranial magnetic stimulation (TMS) stimulate? Modelling of induced field maps for some common cortical and cerebellar targets. *Med Biol Eng Comput.* 2012;50:671–81.
84. Day BL, Rothwell JC, Thompson PD, Maertens de Noordhout A, Nakashima K, Shannon K, i sur. Delay in the execution of voluntary movement by electrical or magnetic brain stimulation in intact man. Evidence for the storage of motor programs in the brain. *Brain J Neurol.* 1989;112:649–63.
85. Opitz A, Windhoff M, Heidemann RM, Turner R, Thielscher A. How the brain tissue shapes the electric field induced by transcranial magnetic stimulation. *NeuroImage.* 2011;58:849–59.
86. Silvanto J, Pascual-Leone A. State-dependency of transcranial magnetic stimulation. *Brain Topogr.* 2008;21:1–10.
87. Trompetto C, Buccolieri A, Marinelli L, Abbruzzese G. Differential modulation of motor evoked potential and silent period by activation of intracortical inhibitory circuits. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol.* 2001;112:1822–7.
88. Jerath N, Kimura J. F wave, A wave, H reflex, and blink reflex. *Handb Clin Neurol.* 2019;160:225–39.
89. Hoffmann P. Beitrag zur Kenntnis der menschlichen Reflexe mit besonderer Berücksichtigung der elektrischen Erscheinungen. *Arch Anat Physiol.* 1910;1:223–246.
90. Burke D. Clinical uses of H reflexes of upper and lower limb muscles. *Clin Neurophysiol Pract.* 2016;1:9–17.
91. Niemann N, Wiegel P, Kurz A, Rothwell JC, Leukel C. Assessing TMS-induced D and I waves with spinal H-reflexes. *J Neurophysiol.* 2018;119:933–43.
92. Petersen N, Christensen LOD, Nielsen J. The effect of transcranial magnetic stimulation on the soleus H reflex during human walking. *J Physiol.* 1998;513:599–610.
93. Benito Penalva J, Opisso E, Medina J, Corrons M, Kumru H, Vidal J, i sur. H reflex modulation by transcranial magnetic stimulation in spinal cord injury subjects after gait training with electromechanical systems. *Spinal Cord.* 2010;48:400–6.
94. Šoda J, Pavelin S, Vujović I, Rogić Vidaković M. Assessment of Motor Evoked Potentials in Multiple Sclerosis. *Sensors.* 2023;23:497.
95. Sharbafshaaer M, Cirillo G, Esposito F, Tedeschi G, Trojsi F. Harnessing Brain Plasticity: The Therapeutic Power of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation (rTMS) and Theta Burst Stimulation (TBS) in Neurotransmitter Modulation, Receptor Dynamics, and Neuroimaging for Neurological Innovations. *Biomedicines.* 2024;12:2506.
96. Roth Y, Zangen A, Hallett M. A coil design for transcranial magnetic stimulation of deep brain regions. *J Clin Neurophysiol Off Publ Am Electroencephalogr Soc.* 2002;19:361–70.

97. Sala F, Krzan MJ, Deletis V. Intraoperative neurophysiological monitoring in pediatric neurosurgery: why, when, how? *Childs Nerv Syst ChNS Off J Int Soc Pediatr Neurosurg.* 2002;18:264–87..
98. Deletis V, Rogić M, Fernández-Conejero I, Gabarrós A, Jerončić A. Neurophysiologic markers in laryngeal muscles indicate functional anatomy of laryngeal primary motor cortex and premotor cortex in the caudal opercular part of inferior frontal gyrus. *Clin Neurophysiol.* 2014;125:1912–22..
99. Rossini PM, Burke D, Chen R, Cohen LG, Daskalakis Z, Di Iorio R, i sur. Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord, roots and peripheral nerves: Basic principles and procedures for routine clinical and research application. An updated report from an I.F.C.N. Committee. *Clin Neurophysiol.* 2015;126:1071–107
100. Merton PA, Morton HB. Stimulation of the cerebral cortex in the intact human subject. *Nature.* 1980;285:227–227.
101. Stetkarova I, Kofler M. Differential effect of baclofen on cortical and spinal inhibitory circuits. *Clin Neurophysiol.* 2013;124:339–45.
102. Haslinger B, Erhard P, Dresel C, Castrop F, Roettinger M, Ceballos-Baumann AO. “Silent event-related” fMRI reveals reduced sensorimotor activation in laryngeal dystonia. *Neurology.* 2005;65:1562–9.
103. Simonyan K, Ludlow CL. Abnormal Activation of the Primary Somatosensory Cortex in Spasmodic Dysphonia: An fMRI Study. *Cereb Cortex.* 2010;20:2749–59.
104. Di Lazzaro V, Pilato F, Dileone M, Profice P, Ranieri F, Ricci V, i sur. Segregating two inhibitory circuits in human motor cortex at the level of GABAA receptor subtypes: a TMS study. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol.* 2007;118:2207–14.
105. Fuhr P, Agostino R, Hallett M. Spinal motor neuron excitability during the silent period after cortical stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Potentials Sect.* 1991;81:257–62.
106. Cantello R, Gianelli M, Civardi C, Mutani R. Magnetic brain stimulation: the silent period after the motor evoked potential. *Neurology.* 1992;42:1951–9.
107. Faig J, Busse O. Silent period evoked by transcranial magnetic stimulation in unilateral thalamic infarcts. *J Neurol Sci.* 1996 ;142:85–92..
108. Priori A, Berardelli A, Inghilleri M, Accornero N, Manfredi M. Motor cortical inhibition and the dopaminergic system. Pharmacological changes in the silent period after transcranial brain stimulation in normal subjects, patients with Parkinson’s disease and drug-induced parkinsonism. *Brain J Neurol.* 1994;117:317–23.
109. Deletis V, Fernandez-Conejero I, Ulkatan S, Costantino P. Methodology for intraoperatively eliciting motor evoked potentials in the vocal muscles by electrical stimulation of the corticobulbar tract. *Clin Neurophysiol.* 2009;120:336–41.
110. Soda J, Vidakovic MR, Lorincz J, Jerkovic A, Vujovic I. A novel latency estimation algorithm of motor evoked potential signals. *IEEE Access.* 2020;8:193356–74.

111. Rödel RMW, Olthoff A, Tergau F, Simonyan K, Kraemer D, Markus H, i sur. Human cortical motor representation of the larynx as assessed by transcranial magnetic stimulation (TMS). *The Laryngoscope*. 2004;114:918–22.
112. Pierrot-Deseilligny E, Bussel B, Held JP, Katz R. Excitability of human motoneurons after discharge in a conditioning reflex. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1976;40:279–87.
113. Hillel AD. The study of laryngeal muscle activity in normal human subjects and in patients with laryngeal dystonia using multiple fine-wire electromyography. *The Laryngoscope*. 2001;111:1–47.
114. Currà A, Romaniello A, Berardelli A, Cruccu G, Manfredi M. Shortened cortical silent period in facial muscles of patients with cranial dystonia. *Neurology*. 2000;54:130–5.
115. Cruccu G, Inghilleri M, Berardelli A, Romaniello A, Manfredi M. Cortical mechanisms mediating the inhibitory period after magnetic stimulation of the facial motor area. *Muscle Nerve*. 1997;20:418–24.
116. Curra A, Pierelli F, Coppola G, Barbanti P, Buzzi MG, Galeotti F, et al. Shortened cortical silent period in facial muscles of patients with migraine. *Pain*. 2007;132:124–31.
117. Sollmann N, Goblirsch-Kolb MF, Ille S, Butenschoen VM, Boeckh-Behrens T, Meyer B, i sur. Comparison between electric-field-navigated and line-navigated TMS for cortical motor mapping in patients with brain tumors. *Acta Neurochir (Wien)*. 2016;158:2277–89.
118. Blitzer A, Brin MF, Stewart C, Aviv JE, Fahn S. Abductor laryngeal dystonia: a series treated with botulinum toxin. *The Laryngoscope*. 1992;102:163–7.
119. Turco CV, El-Sayes J, Locke MB, Chen R, Baker S, Nelson AJ. Effects of lorazepam and baclofen on short- and long-latency afferent inhibition. *J Physiol*. 2018;596:5267–80.

8. SAŽETAK

Ciljevi:

Cilj istraživanja bio je razviti pouzdanu metodologiju za kvantifikaciju kortikalnog perioda tišine (CSP) u krikotiroidnom (CT) mišiću kao modelu za proučavanje inhibicijskih mehanizama u kortikalnoj kontroli fonacije korištenjem navigicijske transkranijske magnetske stimulacije (nTMS). Razumijevanje funkcionalne povezanosti između moždane inhibicije i kontrole tonusa intrinzične laringealne muskulature ključno je za objašnjenje patofizioloških procesa kod poremećaja poput laringealne distonije. Cilj rada bio je potvrditi izvedivost, reproducibilnost i referentne vrijednosti CSP-a u zdravoj populaciji.

Materijali i metode:

Istraživanje je provedeno na skupini zdravih ispitanika bez povijesti glasovnih poremećaja. Primijenjena je nTMS metoda koja kombinira anatomske podatke dobivene magnetskom rezonancijom s neuronavigacijom, omogućujući preciznu lokalizaciju područja motoričke kore odgovornih za aktivaciju laringealnih mišića. Stimulacija je provedena zavojnicom orijentiranom prema motoričkoj kori zaduženom za reprezentaciju CT mišića. Na prethodno postavljenim intramuskularnim kukastim žicama-elektrodama smještenima u CT mišić, elektromiografska registracija zabilježila je motoričke evocirane potencijale (MEP) i CSP tijekom tonusne kontrakcije, uz standardizirane protokole određivanja amplitude, latencije i trajanja inhibicijskog intervala. Analiza je obuhvatila usporedbu odgovora pri kontralateralnoj i ipsilateralnoj stimulaciji te provjeru unutar ispitne pouzdanosti nalaza.

Rezultati:

Rezultati na 19 zdravih ispitanika su potvrdili da je CSP u CT mišiću moguće reproducibilno izazvati i kvantificirati primjenom navigacijske TMS stimulacije. Uočeno prosječno trajanje CSP-a kretalo se između 40 i 65 milisekundi, uz stabilne amplitude i latencije MEP-ova. Nisu nađene statistički značajne razlike u duljini CSP-a između lijeve i desne hemisferne stimulacije, što upućuje na bilateralno uravnoteženu kortikalnu kontrolu laringealnih motoričkih jedinica. Analiza varijabilnosti unutar ispitanika pokazala je visoku dosljednost mjerenja, potvrđujući metodološku robusnost protokola. Dobiveni podaci predstavljaju referentne vrijednosti normalne inhibicijske funkcije u laringealnoj muskulaturi.

Zaključci:

Istraživanje je prvi put izmjerilo i kvantitativno potvrdilo izvedivost i pouzdanost mjerenja CSP-a u CT mišiću korištenjem nTMS tehnologije. Ovaj pristup omogućuje neposredno praćenje GABA-ovisnih inhibicijskih procesa unutar kortikalnonuklearnih motoričkih puteva koji reguliraju fonaciju. Dobiveni rezultati pružaju osnovu za buduća klinička istraživanja poremećaja glasa, posebice laringealne distonije, u kojima se pretpostavlja disfunkcija inhibicijskih mehanizama. Uspostavljene referentne vrijednosti CSP-a u zdravoj populaciji omogućuju usporednu procjenu patoloških odstupanja i mogu poslužiti u razvoju novih dijagnostičkih i terapijskih paradigmi u neurofiziologiji govora. Ova metodološka validacija predstavlja važan korak prema razumijevanju inhibicijske dinamike motoričke kontrole i njezine kliničke primjene u fonijatriji i neurološkoj rehabilitaciji.

9.SAŽETAK ZA LAIKE

Ciljevi:

Cilj istraživanja bio je razumjeti kako mozak upravlja mišićima koji sudjeluju u stvaranju glasa, osobito krikotiroidnim mišićem. Taj je mišić važan za pravilno napinjanje glasnica i kontrolu visine glasa. Bolesti poput laringealne distonije uzrokuju nevoljne grčeve u mišićima grkljana, što otežava govor i remeti glas. Razumijevanje načina na koji mozak putem inhibicijskih mehanizama kontrolira ove mišiće može pomoći u ranijem prepoznavanju i boljem liječenju poremećaja glasa.

Materijali i metode:

U istraživanju je korištena navigacijska transkranijska magnetska stimulacija (nTMS) — metoda koja omogućuje precizno i neinvazivno ispitivanje dijelova mozga odgovornih za govor i pokrete glasnica. Mjerenja su provedena na zdravim dobrovoljcima, a tanke elektrode postavljene su u krikotiroidni mišić radi bilježenja električne aktivnosti. Promatrao se motorički odgovor i kortikalni period tišine (CSP) — kratko razdoblje nakon stimulacije tijekom kojeg se aktivnost mišića smanjuje, što odražava razinu inhibicije u mozgu.

Rezultati:

Pokazano je da se CSP u krikotiroidnom mišiću može pouzdano izmjeriti, s prosječnim trajanjem između 40 i 65 milisekundi. Rezultati su bili slični za lijevu i desnu stranu, što ukazuje na uravnoteženu moždanu kontrolu mišića glasnica. Dobiveni podaci potvrđuju da su metode mjerenja reproducibilne te da CSP može služiti kao referentna vrijednost za procjenu normalne funkcije motoričkih područja mozga.

Zaključci:

Kraći ili odsutni CSP povezan je s neurološkim poremećajima poput laringealne distonije, u kojima mozak ima smanjenu sposobnost inhibicije motorne aktivnosti. Ova mjerenja mogu poslužiti kao biomarker za dijagnozu i praćenje bolesti. Istraživanje pruža temelje za razvoj preciznijih dijagnostičkih metoda i personaliziranih terapijskih pristupa koji bi mogli poboljšati liječenje pacijenata s poremećajima glasa.

10. SUMMARY

Title: Assessment of the cortical silent period of the laryngeal muscle elicited by transcranial magnetic stimulation of the primary motor cortex

Objectives

The primary aim of this investigation was to devise a reliable methodology for the quantification of the cortical silent period (CSP) in the cricothyroid (CT) muscle, serving as a model for probing inhibitory mechanisms within cortical phonation control via navigated transcranial magnetic stimulation (nTMS). Establishing such a model is essential for characterizing how intracortical inhibitory processes modulate the activity of intrinsic laryngeal musculature during voice production. A key conceptual focus was the functional relationship between cortical inhibition and the regulation of muscle tone in intrinsic laryngeal muscles, given that disturbances in this balance are thought to underlie phonatory disorders such as laryngeal dystonia. Primary aim was to provide the feasibility, reproducibility, and normative reference values of CSP measurements in a healthy cohort, in healthy people for comparing against patients with inhibition disorders. Such normative benchmarks are pivotal for advancing diagnostic precision in voice pathology, where altered GABAergic inhibition is increasingly implicated in clinical phenotypes.

Materials and Methods

The study was executed on a cohort of healthy participants without of any voice pathology, Navigated TMS (nTMS) combined MRI brain images with neuronavigation to precisely locate cortical areas controlling laryngeal muscle activation. Stimulation was administered employing a figure-of-eight coil, oriented toward the laryngeal motor cortex for representation for CT muscle innervation, with parameters tuned to evoke supramaximal responses without participant discomfort. Electromyographic (EMG) acquisition transpired via pre-positioned intramuscular hook-wire electrodes embedded within the CT muscle, capturing motor evoked potentials (MEPs) and CSP during sustained tonic contraction. Standard protocols measured MEP amplitude, latency, and CSP duration (defined as the EMG silence right after the MEP, reflecting brain inhibition). We compared contralateral vs. ipsilateral stimulation, tested reliability with repeat measurements, and used intraclass correlation coefficients to assess variability and confirm method consistency.

Results

Results in 19 subjects showed that CSP within the CT muscle can be reproducibly induced and quantified using nTMS protocols. Mean CSP durations last between 40 to 65 milliseconds with stable MEP amplitudes and latencies across repeated tests. Statistical analysis showed no significant differences in CSP prolongation between left- and right-hemispheric stimulation ($p > 0.05$), suggesting bilaterally balanced cortical control of laryngeal motor units. Intra-participant variability was low, confirming reliable measurements. These results provide normal reference values for laryngeal muscle inhibition, useful for identifying abnormalities in voice disorders..

Conclusions

This study provides the first quantitative evidence that cortical silent period (CSP) measurements in the CT muscle are reliable using nTMS. The method allows clear monitoring of GABAergic inhibition in pathways controlling voice production. Results establish baseline CSP values in healthy people, enabling comparisons with voice disorders like laryngeal dystonia where inhibition is disrupted. These norms support new diagnostic tools and therapies in speech neurophysiology.

11. LAY SUMMARY

Introduction

Understanding how the brain controls muscle movements, especially those involved in speech, is essential for studying disorders such as laryngeal dystonia. This condition causes involuntary muscle spasms in the throat that disrupt normal voice function. The dissertation focuses on measuring inhibitory processes that regulate the vocal muscles, particularly the cricothyroid muscle, using advanced brain stimulation techniques.

Methods and Materials

The study employed modern navigated transcranial magnetic stimulation (nTMS) to precisely target the brain's motor areas responsible for voice production. Measurements were taken from healthy volunteers using fine electrodes inserted into the cricothyroid muscle. Researchers monitored motor potentials and the cortical silent period (CSP), a brief pause in the electrical activity following stimulation, which provides insight into the balance between excitation and inhibition in the brain during vocal muscle activity.

Results

The study demonstrated on 19 healthy subjects that CSP in the cricothyroid muscle can be reliably measured, with an average duration ranging from 40 to 65 milliseconds. No significant differences were found between the left and right sides. These findings confirm that CSP measurement is reproducible and can serve as an important reference for future research and disease monitoring.

Conclusions

A shortened or absent CSP is linked with neurological disorders like laryngeal dystonia, indicating disrupted inhibitory mechanisms in the brain. This change may serve as a valuable biomarker for diagnosing and tracking the progression of the disease. Our results show that measuring the function of the cricothyroid muscle can improve understanding and diagnosis of laryngeal dystonia. This disorder is associated with brain problems that impair normal muscle inhibition, which is evident in the measurements. Differences in inhibitory control between laryngeal muscles and other muscles further explain the specific nature of this condition. This research lays the foundation for more accurate diagnostic methods and better disease monitoring for conditions like laryngeal dystonia, potentially leading to more effective treatments.

12. ŽIVOTOPIS

OSOBNİ PODATCI

Ime i prezime: Ivan Konstantinović

Adresa: Vinogradska 61, 21000 Split

Telefon: + 385 91 111 8988

Elektronička pošta: ivan.konstan@gmail.com

Državljanstvo: Hrvatsko

Datum i mjesto rođenja: 1. 11. 1988., Split, Hrvatska

IZOBRAZBA

TRIBE – doktorski studij, Medicinski fakultet, Sveučilište u Splitu, 2022. - danas

Specijalizant neurokirurgije pri Zavodu za neurokirurgiju Kliničkog bolničkog centra Split
2019. - danas

Medicinski fakultet, Sveučilište u Splitu, 2007. - 2014.

III. gimnazija, Split, 2003. - 2007.

Osnovna škola „Trstenik”, 1998. - 2003.

Osnovna škola „Sućidar”, 1997. - 1998.

Osnovna škola „Trstenik”, 1995. - 1996

RADNO ISKUSTVO

Zavod za neurokirurgiju, Klinički bolnički centar Split, Hrvatska

kol. 2019. - Specijalizant neurokirurgije

BMI – St. Edmunds – NES Healthcare , Ujedinjeno Kraljevstvo

pros. 2019. - kol 2019. – Resident medical officer

Zavod za hitnu medicinu Splitsko dalmatinske županije, Hrvatska

svib. 2018. – sij 2019. Liječnik u helikopterskom timu hitne medicinske službe

Zavod za hitnu medicinu Zadarske županije, Hrvatska

velj. 2017. – svib. 2018 – Liječnik u timu hitne medicinske službe

Dom zdravlja Splitsko dalmatinske županije, Hrvatska

pros. 2016. – sij. 2017. – Liječnik obiteljske medicine

Zavod za hitnu medicinu Splitsko dalmatinske županije, Hrvatska

ožuj. 2016. – List. 2016. - Liječnik u timu hitne medicinske službe

Katedra za medicinsku biologiju, Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet, Hrvatska

list. 2015. – ožuj. 2016. - Asistent pri Katedri za biologiju

Ambulance Aicher München, Njemačka

ruj. 2015. - Rad s izbjeglicama u medicinskim kampovima

Liječnik obiteljske medicine Z. Šeremet, Vrgorac, Hrvatska

kol. 2015. – ruj. 2015. - Liječnik obiteljske medicine

Klinički bolnički centar Split, Hrvatska

siječanj 2015. - lipanj 2015. - Stažist

MATERINSKI JEZIK

Hrvatski jezik

OSTALI JEZICI

Engleski jezik (IELTS Academic certifikat)

DODATNO OBRAZOVANJE

Certificate ALS, European Resuscitation Council-UK 06/2018

Certificate EPALS, European Resuscitation Council – UK 06/2018 Certificate ILS, European Resuscitation Council - UK 06/2018 Certificate ALS, European Resuscitation Council 10/2016

Spinal Step I Hands on course, 05/2022 - The European Association of Neurosurgical Societies - Geneva 2022

Cranial Step I Hands on course, 05/2022 - The European Association of Neurosurgical Societies Brno 2023

Open Medical Institute Brain course- Salzburg 2025

ČLANSTVA

Hrvatska liječnička komora – srpanj 2014.

General Medical Council - listopad 2018.

European Association of neurological societies – 2021.

European Society for Stereotactic and Functional Neurosurgery -2025.

NAGRADE

Nexstim Young Investigator Award 2021

PUBLIKACIJE

1. Tomac D, Konstantinović I, Tomasović-Lončarić Č, Maraković J, Kaštelančić A, Orešković D, i sur. Brain metastases of the mucoepidermoid lung carcinoma: a case report. *J Surg Case Rep.* 2024; 2024:rjae413.
2. Orešković D, Madero Pohlen A, Cvitković I, Alen JF, Álvarez-Sala de la Cuadra A, Bazarra Castro GJ, i sur. Glycemia and Coagulation in Patients with Glioblastomas. *World Neurosurg.* 2024; S1878-8750(24)01200-2.
3. Orešković D, Madero Pohlen A, Cvitković I, Alen JF, Raguž M, Álvarez-Sala de la Cuadra A, i sur. Chronic hyperglycemia and intracranial meningiomas. *BMC Cancer.* 2024;24:488.
4. Orešković D, Blažević A, Kaštelančić A, Konstantinović I, Lakić M, Murn F, i sur. Radiographic predictors of peritumoral brain edema in intracranial meningiomas: a review of current controversies and illustrative cases. *Chin Neurosurg J.* 2024;10:31.
5. Rogić Vidaković M, Konstantinović I, Bošković B, Šoda J. Corticobulbar excitability in abductor laryngeal dystonia disease: the diagnostic role of transcranial magnetic stimulation. *QJM.* 2023;116:569-571.
6. Konstantinović I, Bošković B, Šoda J, Dolić K, Đogaš Z, Lapčić M, i sur The Cortical Silent Period in the Cricothyroid Muscle as a Neurophysiologic Feature for Dystonia Observation: E-Field-Navigated Transcranial Magnetic (TMS) Study. *Biomedicines.* 2023;11:1373.
7. Rogić Vidaković M, Gunjača I, Bukić J, Košta V, Šoda J, Konstantinović I, i sur The Patho-Neurophysiological Basis and Treatment of Focal Laryngeal Dystonia: A Narrative Review and Two Case Reports Applying TMS over the Laryngeal Motor Cortex. *J Clin Med.* 2022;11:3453.
8. Boljat A, Gunjača I, Konstantinović I, Vidan N, Boraska Perica V, i sur. Environmental Risk Factors for Type 1 Diabetes Mellitus Development. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2017; 125:563-570.

9. Pogorelić Z, Konstantinović I, i sur. Outcomes of Oesophageal atresia treatment in newborns in University Hospital Split from 1991. - 2014. Paediatr Croat. 2016;60:51-7.