

UNIVERZITET U BEOGRADU
FAKULTET SPORTA I FIZIČKOG VASPITANJA

Milan B. Jelić

**UTICAJ NEINVAZIVNE
NEUROMODULACIJE MOTORNOG
KORTEKSA NA MOTORNO UČENJE**

doktorska disertacija

Beograd, 2013

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF SPORT AND PHYSICAL EDUCATION

Milan B. Jelić

**THE EFFECTS OF NONINVASIVE
NEUROMODULATION OF MOTOR
CORTEX ON MOTOR LEARNING**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2013

MENTOR:

Dr Saša Filipović,

- naučni savetnik (Univerzitet u Beogradu, Institut za medicinska istraživanja)
- vanredni profesor (Državni univerzitet u Novom Pazaru)

ČLANOVI KOMISIJE:

1. Dr Aleksandar Nedeljković,
 - vanredni profesor (Univerzitet u Beogradu, Fakultet sporta i fizičkog vaspitanja)
2. Dr Dragan Mirkov,
 - vanredni profesor (Univerzitet u Beogradu, Fakultet sporta i fizičkog vaspitanja)
3. Dr Slađan Milanović,
 - viši naučni saradnik (Univerzitet u Beogradu, Institut za medicinska istraživanja)

Datum odbrane

Zahvaljujem se,

Mentoru naučnom savetniku dr Saši Filipoviću i članu komisije višem naučnom saradniku dr Slađanu Milanoviću na pruženoj pomoći tokom svih faza izrade ove disertacije.

Kolegi Vuku Stevanoviću za pomoć u prikupljanju podataka i realizaciji eksperimenata.

Članovima komisije prof. dr Aleksandru Nedeljkoviću i prof. dr Draganu Mirkovu, svojim profesorima sa Fakulteta sporta i fizičkog vaspitanja i kolegama sa Instituta za medicinska istraživanja, na prenetim znanjima i konstruktivnim savetima koji su učinili ovaj rad kvalitetnijim.

Porodici i prijateljima na pruženoj podršci.

Autor

Doktorska disertacija je urađena u okviru projekta pod nazivom „*Neinvazivna modulacija kortikalne ekscitabilnosti i plasticiteta – Razvoj metoda neinvazivne neuromodulacije centralnog nervnog sistema u ispitivanju fizioloških mehanizama, dijagnostici i terapiji*” (broj IO175012, rukovodilac projekta dr Saša Filipović, naučni savetnik), finansiranog od strane Ministarstva prosvete i nauke, Republike Srbije.

Istraživanje je sprovedeno u Laboratoriji za neurofiziologiju Instituta za medicinska istraživanja Univerziteta u Beogradu.

Materijal izložen u ovoj disertaciji jednim delom je zasnovan na rezultatima koji su objavljeni u vrhunskom časopisu od međunarodnog značaja ili prezentovani na međunarodnim konferencijama:

1. **Jelic MB**, Stevanovic VB, Milanovic SD, Ljubisavljevic MR, Filipovic SR, (2013). *Transcranial magnetic stimulation has no placebo effect on motor learning*. Clin Neurophysiol, Apr 4. pii: S1388-2457 (13) 00125-9. (Epub ahead of print).
2. **Jelic MB**, Stevanovic VB, Milanovic SD, Filipovic SR, (2013). *Bilateral Sequential motor cortex stimulation improves skilled task learning*. 5th International Conference on Non-Invasive Brain Stimulation; Leipzig, Germany. (Meeting Abstract).
3. Filipovic SR, **Jelic MB**, StevanovicVB, Kacar A, Konstantinovic Lj, Milanovic SD, (2013). *Modulation of motor cortex excitability and skilled task learning*. 5th International Conference on Non-Invasive Brain Stimulation; Leipzig, Germany. (Meeting Abstract).
4. **Jelic M**, Stevanovic V, Milanovic S, Filipovic SR, (2012). *Speed of Skilled Task Learning and Changes in Motor Cortex Excitability - Effects of Transcranial magnetic Stimulation Protocols*. Motor Control Summer School - IX; Tihany, Hungary. (Meeting Abstract).
5. **Jelic M**, Milanovic S, Kacar A, Filipovic SR, (2011). *Increased Motor Cortex Excitability Improves Skilled Task Learning – Effects of Intermittent Theta Burst Stimulation*. Eur J Neurol, 18: 154-154. (Meeting Abstract).

NASLOV DOKTORSKE DISERTACIJE:

Uticaj neinvazivne neuromodulacije motornog korteksa na motorno učenje

REZIME

Cilj rada: Cilj istraživanja je ispitivanje uloge primarnog motornog korteksa (M1) u motornom učenju. Radi ostvarivanja ovog cilja evaluirani su efekti nekoliko različitih metoda i protokola neinvazivne neuromodulacije pomoću transkranijalne magnetne stimulacije (TMS) primenjenih na M1 oblast. Namera je bila da se pokaže da li, kako i koliko pojedini protokoli TMS-a putem izazivanja promena ekscitabilnosti M1 ubrzavaju ili usporavaju motorno učenje.

Metode: Ukupno je učestvovalo 84 zdrava desnoruka ispitanika starosti 26 ± 3 godine (46 M i 38 Ž). U svim eksperimentima TMS se aplikovao pomoću „Magstim Rapid“ stimulatora (Magstim Ltd) sa kalemom u obliku broja osam i krilima prečnika 70mm. Elektromiografski signal je registrovan pomoću površinskih elektroda, sa prvog dorzalnog interosalnog mišića (1DI). Kao mera ekscitabilnosti M1 korišćena je amplituda motornih evociranih potencijala (MEP), izazvanih pojedinačnim stimulusima TMS-a iznad reprezentacije 1DI-a. Za procenu motornog učenja korišćeni su rezultati na jednom jednostavnom zadatku - vreme reakcije na zvučni signal (VR), i jednom složenom zadatku - *purdue pegboard* test (PPT). Na VR zadatku ispitanici su izvodili 10 brzih, jakih i kratkotrajnih kontrakcija 1DI mišića, kao reakciju na zvučni signal, a na PPT-u se merio broj postavljenih klinova u niz rupica na posebno dizajniranoj tabli tokom 30s. Primenjivano je nekoliko različitih metoda neinvazivne neuromodulacije TMS-om sa različitim fiziološkim efektima: 10Hz repetitivna TMS (rTMS) i intermitentna stimulacija teta nizovima (intermitentna “Theta burst” stimulacija – iTBS) za koje se očekivalo da dovedu do povišenja ekscitabilnosti, i nasuprot njima kontinuirana “Theta burst” stimulacija – cTBS za koju se očekivalo da dovede do snižavanja ekscitabilnosti. Koja od ovih metoda je korišćena kao eksperimentalna intervencija zavisilo je od eksperimenta, ali se uvek primenjivala u vidu stvarne ili placebo (lažne) TMS intervencije, s tim što ispitanik nije znao koju od ove dve intervencije je dobijao. Merenje amplituda MEP-a i izvođenje VR-a i PPT-a obavljano je pre intervencije, odmah posle intervencije i 30 minuta nakon intervencije.

Rezultati: Rezultati istraživanja su pokazali da različitim metodama TMS-a možemo modulirati kortikalnu ekscitabilnost i menjati funkcionalni plasticitet mozga. Modulacijom kortikalne aktivnosti nije se promenilo izvođenje VR-a, ali se u svim eksperimentima menjao prirodni tok motornog učenja na PPT-u. Ekscitatornim metodama stimulacije iznad M1 oblasti izazvane su promene u vidu povećanja ekscitabilnosti, što je korespondiralo sa menjanjem obrasca i/ili ubrzavanjem motornog učenja. S druge strane, inhibitornim metodama stimulacije iznad M1 oblasti izazvane su promene u vidu snižavanja ekscitabilnosti što je korespondiralo sa usporavanjem motornog učenja. Takođe, pokazano je da nijedna placebo TMS metoda ne izaziva značajan placebo efekat na motorno učenje.

Zaključak: Veličina efekta neuromodulacije M1 na motorno učenje zavisi od primenjene metode TMS-a, ali i od vrste korišćenog motornog zadatka i njegove složenosti. Može se zaključiti da nivo ekscitabilnosti M1 nije od presudnog značaja za motorno učenje koliko sama promena ekscitabilnosti (tzv. funkcionalni plasticitet M1), koja onda služi kao inicijator za operacije koje se izvode u drugim kortikalnim i subkortikalnim regionima mozga zaduženim za motorno učenje. Značaj dobijenih rezultata se ogleda u promociji i primeni TMS-a u neurorehabilitaciji i sportu.

KLJUČNE REČI: motorno učenje, transkranijalna magnetna stimulacija, primarna motorna oblast, *purdue pegboard*, vreme reakcije, ekscitabilnost, plasticitet.

NAUČNA OBLAST: Fizičko vaspitanje i sport

UŽA NAUČNA OBLAST: Opšta motorika čoveka

UDK BROJ: 796.012.1:612.766(043.3)

TITLE OF DOCTORAL DISSERTATION

The Effects of Noninvasive Neuromodulation of Motor Cortex on Motor Learning

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to examine the role of the primary motor cortex (M1) in motor learning. To achieve this aim, the effects of several different non-invasive neuromodulatory methods and protocols based on transcranial magnetic stimulation (TMS) and applied over the M1 area were evaluated. The goal was to show whether, how, and how much various TMS protocols accelerate or decelerate motor learning, by causing changes in M1 excitability.

Methods: A total of 84 healthy right-handed subjects (age 26 ± 3 years; 46 M and 38 F) involved in the study. In all experiments, TMS was applied by using the „Magstim Rapid” stimulator (Magstim Ltd) with a 70mm figure eight coil. The electromyographic signal was recorded from the first dorsal interosseus muscle (FDI), by using the surface electrodes. The amplitudes of motor evoked potentials (MEP) induced by individual TMS stimuli over the FDI representation were used as a measure of the M1 excitability. For the motor learning assessment results on a simple task – The reaction time to the buzzer (RT) and a complex task – Purdue pegboard test (PPT) were used. The RT test consisted of 10 rapid, strong, and short FDI muscle contractions in response to the buzzer. In the PPT, the number of the set pins (in the series of the holes on the board, during the 30 seconds) was measured. Several different TMS based non-invasive neuromodulatory methods with different physiological effects were used: 10Hz repetitive TMS (rTMS) and intermittent theta burst stimulation (iTBS), expected to increase the M1 excitability, and in contrast, continuous theta burst stimulation (cTBS), expected to diminish M1 excitability. The exact type of the intervention depended on the experiment, but was always given in the form of either real or placebo (sham) TMS intervention, while subjects did not know which intervention they had received. Measuring the amplitudes of the MEP, and RT and PPT performances were before, immediately after, and 30 minutes after the intervention.

Results: The results of the study showed that different TMS methods could modulate cortical excitability and alter functional plasticity of the brain. Modulation of cortical

activity did not change the performance in RT, but in all the experiments, natural course of the motor learning in the PPT had changed. Excitatory stimulation methods over M1 area induced increase in excitability, which corresponded with the alterations of the pattern and/or acceleration of motor learning. On the other hand, inhibitory stimulation methods over M1 area caused reduction of excitability which corresponded with the slowdown in motor learning. Also, it is shown that no placebo TMS methods caused a significant placebo effect in motor learning.

Conclusions: The magnitude of M1 neuromodulation effects on motor learning depends on the applied TMS method, but also on the type of motor task used and its complexity. It can be concluded that the mere level of M1 excitability is not crucial for motor learning, but rather changes in excitability level (so called functional plasticity of M1 area), which then serves as an initiator for the operations performed in the other cortical and subcortical regions of the brain, responsible for motor learning. The significance of the results is reflected in the promotion and application of TMS in neurorehabilitation and sport.

KEYWORDS: motor learning, transcranial magnetic stimulation, primary motor cortex, purdue pegboard, reaction time, excitability, plasticity.

SCIENTIFIC AREA: Physical Education and Sport

CLOSE SCIENTIFIC FIELD: Human Kinesiology

UDK NUMBER: 796.012.1:612.766(043.3)

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. CENTRALNI NERVNI SISTEM I KONTROLA POKRETA.....	2
1.1.1. <i>Anatomska građa CNS-a</i>	2
1.1.2. <i>Strukture CNS-a uključene u kontroli pokreta</i>	3
1.2. PLASTICITET MOZGA	6
1.2.1. <i>Funkcionalni plasticitet</i>	7
1.2.2. <i>Strukturalni plasticitet</i>	8
1.2.3. <i>Regulatorni mehanizmi plastičnosti</i>	9
1.3. MOTORNO UČENJE.....	10
1.3.1. <i>Aktivnost moždanih regiona tokom faza motornog učenja</i>	11
1.4. KONTROLISANO INTERVENTNO IZAZIVANJE PLASTIČNIH PROMENA KORE VELIKOG MOZGA.....	12
1.4.1. <i>Neinvazivna stimulacija mozga</i>	12
1.4.2. <i>Fiziološki odgovor na transkranijalni magnetni stimulus</i>	14
1.4.3. <i>TMS metode za izazivanje sinaptičke plastičnosti</i>	17
1.4.3.1. <i>Repetitivna transkranijalna magnetna stimulacija (rTMS)</i>	17
1.4.3.2. <i>“Theta burst” stimulacija (TBS)</i>	19
1.4.3.3. <i>Uparena asocijativna stimulacija</i>	20
1.4.4. <i>Mere opreza pri korišćenju TMS-a</i>	21
1.5. TMS I MOTORNO UČENJE	22
2. PROBLEM, PREDMET I CILJ ISTRAŽIVANJA	26
3. METODE KORIŠĆENE U ISTRAŽIVANJIMA	27
3.1. ISPITANICI.....	27
3.2. MERENJE EKSCITABILNOSTI.....	27
3.1. TMS INTERVENCIJE	29
3.1.1. <i>Intermitentna TBS</i>	29
3.1.2. <i>Kontinuirana TBS</i>	30
3.1.3. <i>Repetitivna TMS od 10Hz</i>	30
3.1.4. <i>Placebo stimulacija</i>	30
3.2. MOTORNI ZADACI.....	30
3.2.1. <i>Veme reakcije</i>	31
3.2.2. <i>Purdue pegboard test</i>	32
3.3. EKSPERIMENTALNI DIZAJN.....	34
3.4. STATISTIČKA ANALIZA	34
4. EFEKAT FACILITIRAJUĆE INTERMITENTNE TBS PRIMENJENE IZNAD OBLASTI MOTORNOG KORTEKSA NA UBRZAVANJE MOTORNOG UČENJA	36
4.1. UVOD.....	36
4.2. CILJEVI I HIPOTEZE.....	36
4.3. METODE.....	37

4.3.1.	<i>Ispitanici</i>	37
4.3.2.	<i>Merenje ekscitabilnosti</i>	37
4.3.3.	<i>Motorni zadaci</i>	37
4.3.4.	<i>Intervencija</i>	37
4.3.5.	<i>Eksperimentalni dizajn</i>	38
4.3.6.	<i>Statistička analiza</i>	38
4.4.	REZULTATI	38
4.4.1.	<i>Ekscitabilnost</i>	39
4.4.2.	<i>Motorni zadaci</i>	40
4.5.	DISKUSIJA	41
5. EFEKAT INHIBITORNE KONTINUIRANE TBS PRIMENJENE IZNAD OBLASTI MOTORNOG KORTEKSA NA USPORAVANJE MOTORNOG UČENJA..		44
5.1.	UVOD.....	44
5.2.	CILJEVI I HIPOTEZE.....	44
5.3.	METODE.....	45
5.3.1.	<i>Ispitanici</i>	45
5.3.2.	<i>Merenje ekscitabilnosti</i>	45
5.3.3.	<i>Motorni zadaci</i>	45
5.3.4.	<i>Intervencija</i>	45
5.3.5.	<i>Eksperimentalni dizajn</i>	46
5.3.6.	<i>Statistička analiza</i>	46
5.4.	REZULTATI	46
5.4.1.	<i>Ekscitabilnost</i>	47
5.4.2.	<i>Motorni zadaci</i>	48
5.5.	DISKUSIJA	49
6. EFEKAT 10HZ REPETITIVNE TMS PRIMENJENE IZNAD MOTORNOG KORTEKSA NA UBRZAVANJE MOTORNOG UČENJA		52
6.1.	UVOD.....	52
6.2.	CILJEVI I HIPOTEZE.....	52
6.3.	METODE.....	53
6.3.1.	<i>Ispitanici</i>	53
6.3.2.	<i>Merenje ekscitabilnosti</i>	53
6.3.3.	<i>Motorni zadaci</i>	53
6.3.4.	<i>Intervencija</i>	54
6.3.5.	<i>Eksperimentalni dizajn</i>	54
6.3.6.	<i>Statistička analiza</i>	54
6.4.	REZULTATI	54
6.4.1.	<i>Uticaj pola</i>	56
6.4.1.1.	<i>Ekscitabilnost</i>	57

6.4.1.2. Motorni zadaci	59
6.5. DISKUSIJA	61
7. EFEKAT SEKVENCIJALNE BILATERALNE NEUROMODULACIJE PUTEM TBS PRIMENJENE IZNAD MOTORNOG KORTEKSA RAZLIČITIH HEMISFERA MOZGA NA MOTORNO UČENJE	65
7.1. UVOD.....	65
7.2. CILJEVI I HIPOTEZE.....	66
7.3. METODE.....	67
7.3.1. Ispitanici.....	67
7.3.2. Merenje ekscitabilnosti.....	67
7.3.3. Motorni zadaci	67
7.3.4. Intervencija.....	69
7.3.5. Eksperimentalni dizajn	69
7.3.6. Statistička analiza.....	71
7.3.6.1. Analiza placebo efekta TMS-a na motorno učenje.....	71
7.3.6.2. Analiza efekta cTBS/iTBS-M1 na motorno učenje	72
7.4. REZULTATI I DISKUSIJA ANALIZE PLACEBO EFEKTA TMS-A NA MOTORNO UČENJE.....	72
7.4.1. Rezultati.....	72
7.4.1.1. Efekat TBS placeba na motorno učenje.....	72
7.4.1.2. Razlike između placebo efekata dve TMS metode na motorno učenje	74
7.4.2. Diskusija.....	75
7.5. REZULTATI I DISKUSIJA ANALIZE EFEKTA cTBS/iTBS-M1 NA MOTORNO UČENJE.....	77
7.5.1. Rezultati.....	77
7.5.1.1. Ekscitabilnost.....	78
7.5.1.2. Motorni zadaci	79
7.5.2. Diskusija.....	81
8. GENERALNA DISKUSIJA	85
9. GENERALNI ZAKLJUČCI	93
10. ZNAČAJ ISTRAŽIVANJA	95
11. BUDUĆA ISTRAŽIVANJA	96
12. LITERATURA	97
PRILOZI.....	114
BIOGRAFIJA AUTORA	121
IZJAVA O AUTORSTVU.....	123
IZJAVA O ISTOVETNOSTI ŠTAMPANE I ELEKTRONSKE VERZIJE DOKTORSKOG RADA	124
IZJAVA O KORIŠĆENJU.....	125

SKRAĆENICE

1DI	Prvi dorzalni interosalni mišić
AMP	Aktivni motorni prag
AMPd	Aktivni motorni prag dominantne hemisfere
AMPn	Aktivni motorni prag nedominantne hemisfere
ANOVA	Univarijatna analiza varijanse
BG	Bazalne ganglije
C	Cerebelum (Mali mozak)
CNS	Centralni nervni sistem
cTBS	Protokol kontinuirane „ <i>theta burst</i> “ stimulacije
cTBS/iTBS-M1	Sekvencijalna bilateralna „ <i>theta burst</i> “ stimulacija primenjivana na M1 oblastima različitih hemisfera mozga
cTBS-M1	cTBS protokol primenjen na motorni korteks
DLPF	Dorzo-lateralni prefrontalni korteks
dPM	Dorzalna premotorna oblast
EMG	Elektromiografski snimak
F	Vrednost dobijena analizom varijanse
fMRI	Funkcionalna magnetna rezonanca
GABA	Neurotransmitter γ -aminobuterna kiselina
GRUPA_{cTBS}	Ekperimentalna grupa koja je bila podvrgnuta cTBS protokolu stimulacije
GRUPA_{cTBS/iTBS}	Ekperimentalna grupa koja je bila podvrgnuta sekvencijalnim bilateralnim „ <i>theta burst</i> “ protokolima stimulacije
GRUPA_{iTBS}	Ekperimentalna grupa koja je bila podvrgnuta intermitentnom „ <i>theta burst</i> “ protokolu stimulacije
GRUPA_{rTMS}	Ekperimentalna grupa koja je bila podvrgnuta repetitivnoj transkranijalnoj magnetnoj stimulaciji od 10 Hz
iTBS	Intermitentni protokol „ <i>theta burst</i> “ stimulacije
iTBS-M1	iTBS protokol primenjen na motorni korteks

KONTROLA_{ØTMS}	Kontrolna grupa koja nije imala tretman transkranijalnom magnetnom stimulacijom
KONTROLA_{rTMS}	Kontrolna grupa sa placebo repetitivnom transkranijalnom magnetnom stimulacijom
KONTROLA_{TBS}	Kontrolna grupa sa placebo „ <i>theta burst</i> “ stimulacijom
KONTROLA_{TBS+rTMS}	Kontrolna grupa sa placebo (TBS + rTMS) stimulacijom
LSD	Fišerov <i>post hoc</i> test (L east S ignificant D ifference)
LTD	Dugoročna depresija (L ong- T erm D epression)
LTP	Dugoročna potencijacija (L ong- T erm P otentiation)
M	Muški pol
M1	Oblast primarnog motornog korteksa
MEG	Magnetoencefalografija
MEP	Motorni evocirani potencijal
MEP_{T0}	Motorni evocirani potencijal meren pre intervencije
<i>p</i>	Verovatnoća
PAS	Uparena asocijativna stimulacija (P aired A sociative S timulation)
PET	Pozitronska emisiona tomografija
PF	Prefrontalni korteks
PM	Premotorna oblast
PMP	Pasivni motorni prag
PMPd	Pasivni motorni prag dominantne hemisfere
PMPn	Pasivni motorni prag nedominantne hemisfere
PPT	<i>Purdue pegboard test</i>
PPTd	<i>Purdue pegboard test</i> izvođen dominantnom rukom
PPTn	<i>Purdue pegboard test</i> izvođen nedominantnom rukom
PPTs	<i>Purdue pegboard test</i> sa sklapanjem različitih elemenata
RN	Crveno jedro (R ed N ucleus)

rTMS	Repetitivna transkranijalna magnetna stimulacija
rTMS_{10Hz}	Protokol repetitivne transkranijalne magnetne stimulacije od 10Hz
rTMS_{10Hz} – M1	rTMS _{10Hz} protokol primenjen na oblast motornog korteksa
S1	Primarni somatosenzorni korteks
SEM	Standardna greška (<i>Standard Error of the Mean</i>)
SMA	Suplementarna motorna oblast
T	Vrednost dobijena na T testu
T0	Vreme pre intervencije
T1	Vreme odmah nakon intervencije
T2	Vreme nakon 30 minuta od intervencije
TBS	„ <i>Theta burst</i> “ stimulacija
TBS-M1	„ <i>Theta burst</i> “ stimulacija primenjena na M1 oblast
TMS	Transkranijalna magnetna stimulacija
V1	Primarni vizuelni korteks
VR	Vreme reakcije na zvučni signal
VRd	Vreme reakcije na zvučni signal izvođeno dominantnom rukom
VRn	Vreme reakcije na zvučni signal izvođeno nedominantnom rukom
Ž	Ženski pol

1. UVOD

Nervni sistem obavlja veliki broj integrativnih funkcija u organizmu i jedinstven je po visokom stepenu složenosti mehanizama kojima upravlja. Jedan od osnovnih mehanizama kojima nervni sistem upravlja je kontrola pokreta i njihovo povezivanje u prostorno-vremenske šeme neophodne za efikasno, brzo i tačno izvođenje najrazličitijih aktivnosti, počevši od onih najprostijih svakodnevnih pa do najsloženijih visokoprofesionalnih. Međutim, izvođenje čak i najjednostavnijih pokreta prethodno mora da se nauči. Tokom celog života, novi pokreti se uče, a već naučeni usavršavaju, što nam govori da se bez motornog učenja ne može zamisliti normalan razvoj i život čoveka. Motorno učenje se može definisati kao skup procesa koji su u vezi sa fizičkim vežbanjem ili iskustvom, a koji dovode do relativno trajne promene sposobnosti vršenja neke motorne aktivnosti (Schmidt i Lee, 2005).

Strukture nervnog sistema koje su zadužene za izvođenje i učenje pokreta intenzivno se istražuju u poslednjih 250 godina. John Hughlings Jackson (1884) prvi je zaključio da su pokreti kontrolisani od strane jedne specifične strukture u kori velikog mozga, anatomske poznate kao precentralni girus. Njegov zaključak zasnovan je na ranijim studijama Fritsch-a i Hitzig-a (1870), koji su pokazali da električna struja koja prođe kroz površinu ove strukture inicira pokret (pogledati Monfils i sar., 2005). Ova hipoteza je potvrđena kasnijim detaljnim studijama kojima je pokazano da je invazivnom kortikalnom stimulacijom iznad precentralnog girusa moguće proizvesti konstantne i sistematične motorne odgovore (Penfield i Rasmussen, 1950; Woolsey i sar., 1952). Pronalaskom sofisticiranije intrakortikalne mikrostimulacione tehnike kojom je moglo invazivno da se stimuliše više različitih kortikalnih oblasti (Stoney i sar., 1968), došlo se do napretka u neurofiziološkim istraživanjima. Zapravo, ovom tehnikom je pokazano da je više kortikalnih oblasti uključeno u izvođenje pokreta. U svim gore navedenim studijama, ispitivanja i stimulisanja moždanih regiona su vršena invazivno (tj. na otvorenom mozgu sa hirurškim otvaranja lobanjske duplje).

Poseban napredak u istraživanju neurofiziologije motornog sistema vezuje se za 1985. godinu, kada su Barker i saradnici (1985) sa Sheffield Univerziteta u Engleskoj, konstruisali prvi magnetni stimulator kojim se mozak mogao stimulisati neinvazivno i bezbolno za ispitanika. Od tada sprovedeno je obilje studija na životinjama i ljudima u

kojima se koristila neinvazivna neurostimulacija pomoću transkranijalne magnetne stimulacije (TMS). Povezivanje TMS-a sa drugim fiziološkim dijagnostičkim metodama, a naročito sa metodama funkcionalnog neuroslikanja (eng. *neuroimaging*), kao što su pozitronska emisiona tomografija (PET), funkcionalno slikanje magnetnom rezonancom (fMRI) ili magnetoencefalografija (MEG) dalo je posebno korisne rezultate za bolje razumevanje fiziologije centralnog nervnog sistema. Studije koje su koristile TMS i/ili tehnike neuroslikanja u istraživanjima motorne kontrole i neurofiziologije, pokazale su da tokom učenja i izvođenja motornih veština dolazi do povezivanja kortikalnih i subkortikalnih moždanih struktura (Doyon, 1997; Hikosaka i sar., 2002).

Funkcionalno i strukturalno povezivanje moždanih struktura kao i promene u ovim vezama jednim imenom se nazivaju plasticitet mozga. Pomoću plastičnih promena mozga ljudi razvijaju, uče i ovladavaju novim ponašanjima, ali promene plasticiteta mogu biti i uzrok mnogih patoloških promena koje se sreću u kliničkim poremećajima nervnog sistema. U želji da se eksperimentalno kontrolisano modulišu navedene promene plasticiteta, istraživanjima se došlo do razvoja TMS metoda kojima se može brzo i relativno lako izazvati željena plastična promena. Naime, TMS metodama koje se sastoje od repetitivne primene TMS stimulusa, moguće je modulisati stepen ekscitacije i metaboličke aktivacije pojedinih regiona mozga (Pascual-Leone i sar., 2005; Cardenas-Morales i sar., 2010).

Mogućnost interventne kontrolisane neuromodulacije TMS-om otvara nam široko polje primene ove metode u cilju ubrzavanja ili usporavanja motornog učenja, što je od neprocenjivog značaja, kako za lečenje neuroloških bolesti, tako i za unapređenje rezultata u različitim sportskim aktivnostima.

1.1. CENTRALNI NERVNI SISTEM I KONTROLA POKRETA

1.1.1. Anatomska građa CNS-a

Centralni nervni sistem deo je nervnog sistema kojeg grade neuroni koncentrisani u nervnim centrima. Pruža se duž uzdužne ose tela i kod čoveka se sastoji od mozga i kičmene moždine.

Mozak je najznačajniji deo nervnog sistema. Smešten je u lobanjskoj jami i obavijen moždanim opnama: tvrdom (*dura mater*), paučinastom (*arachnoidea mater*) i

mekom (*pia mater*). Težina mozga odraslog čoveka iznosi oko 1.350g, ali intelektualne sposobnosti čoveka nisu srazmerne težini i veličini mozga. Osnovni delovi mozga su: produžena moždina (*medulla oblongata*), moždani most (Varolijev most), moždana greda, mali mozak (*cerebellum*), srednji mozak (*mesencephalon*), međumozak (*diencephalon*) i veliki mozak (*telencephalon*).

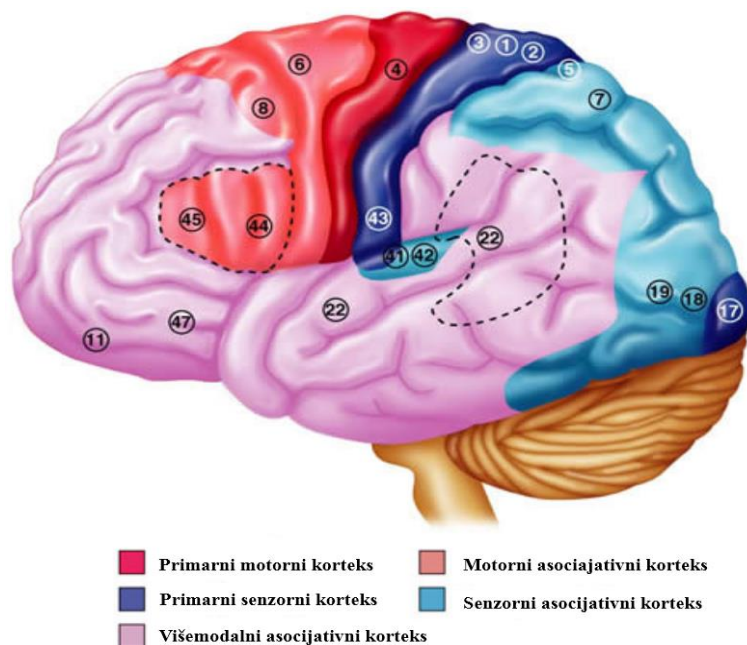
1.1.2. Strukture CNS-a uključene u kontroli pokreta

Glavni elementi CNS-a koji su uključeni u kontrolu ljudskih pokreta su kora velikog mozga, bazalne ganglije, mali mozak, talamus, moždano stablo i kičmena moždina.

Kora velikog mozga (korteks) kod čoveka predstavlja najveći deo mozga i kao padobran, prekriva druge niže cerebralne strukture. Podeljena je na dva, generalno simetrična dela (hemisfere). Izgled kore velikog mozga bi mogao da se zamisli kao par „padobrana“, platna debljine oko 2,5mm, ukupne površine oko 2 – 2,5m², ali „zgužvanih“ tako da prečnik svakog od njih ne prelazi više od oko 18cm (Barlow, 1999). Hemisfere su međusobno povezane masivnom strukturom (*corpus callosum*) sačinjenom od nervnih vlakana, kojima su ćelije jedne hemisfere povezane sa ćelijama druge. Pored ovih, milijarde vlakana pružaju se između kore i drugih moždanih struktura, senzornih organa i kičmene moždine, povezujući na taj način, korteks sa ostatkom tela. Kora, bazalne ganglije i diencefalon se zajedno označavaju kao proencefalon ili prednji mozak.

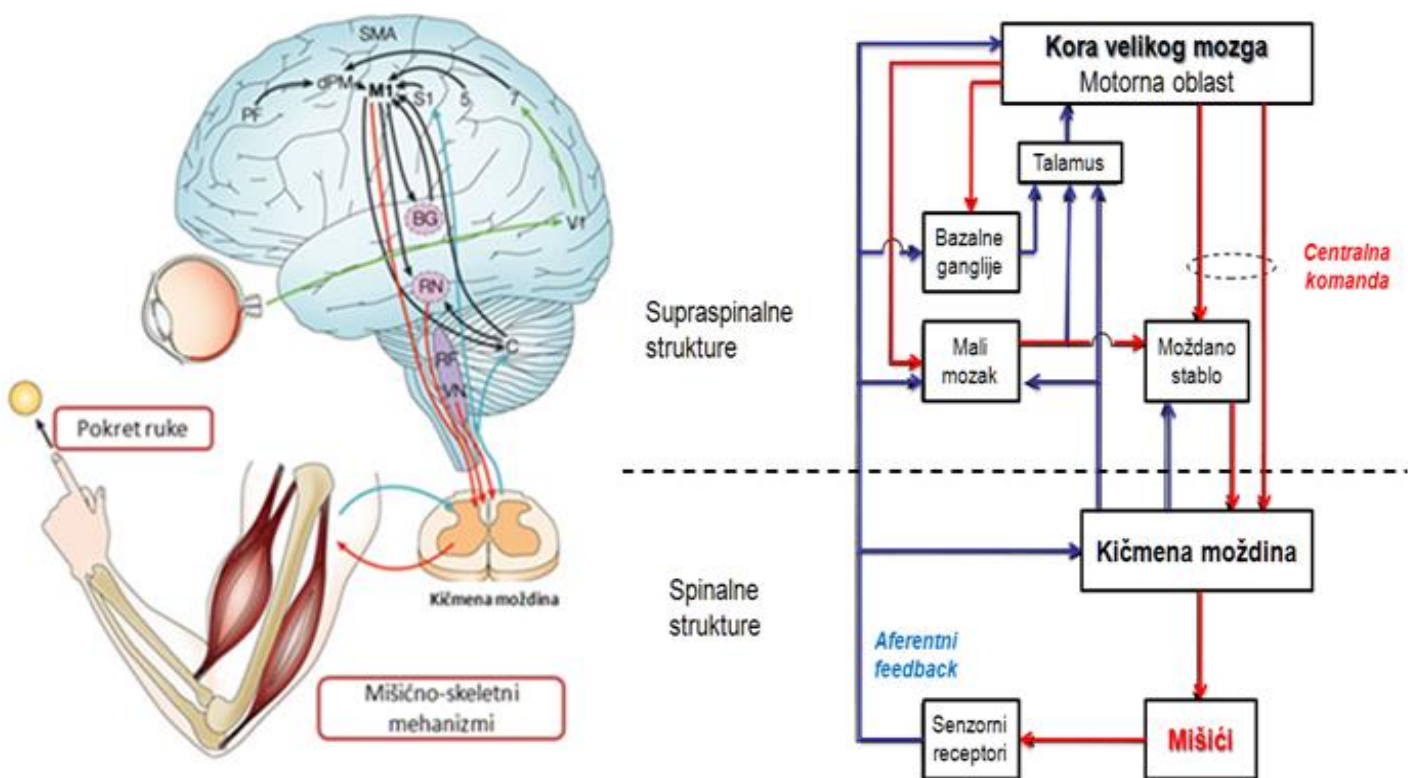
Najupadljivija karakteristika korteksa čoveka (kao i drugih viših sisara) je prisustvo vijuga (girusa) i brazdi (sulkusa). Izbrazdanost kore ima svrhu da omogući pakovanje što veće kortikalne površine na što manji prostor. Duboki žljebovi dele površinu svake hemisfere na četiri dela: čeonni režanj (*lobus frontalis*), potiljačni režanj (*lobus occipitalis*), slepoočni režanj (*lobus temporalis*) i temeni režanj (*lobus parietalis*).

Kora velikog mozga sastavljena je od dva tipa nervnih ćelija: piramidalnih i zvezdastih (granularnih) ćelija. Aksoni piramidalnih ćelija izlaze iz mozga ka periferiji, tako da se preko njih šalju centralne izlazne komande, dok su zvezdaste ćelije interneuroni, čiji se aksoni završavaju u moždanim strukturama i služe za komunikaciju između neurona (Latash, 2008).



Slika 1. Funkcionalne zone moždane kore. Brojevi na slici označavaju tzv. Brodmanove oblasti, oblasti kore velikog mozga sa specifičnom citoarhitekturom.

Funkcionalne zone (polja) moždane kore dele se na primarne, sekundarne i asocijativne (*Slika 1*). Primarne zone su odgovorne za elementarne motorne funkcije i za elementarne osete. Sekundarna polja se nalaze oko primarnih polja i njihova uloga se sastoji u tome da na osnovu iskustva omoguće prepoznavanje različitih oseta odnosno da omoguće koordinaciju jednostavnih mišićnih kontrakcija u smislene pokrete. Asocijativna polja su oblasti moždane kore u kojima se vrši složena obrada više različitih informacija koje dolaze iz raznih područja kore. Ona omogućavaju složene funkcije kao što su mišljenje, rasuđivanje, pamćenje, motivacija, emotivno ponašanje. Sva polja se nalaze i u levoj i u desnoj hemisferi, ali nemaju jednak funkcionalni značaj. Uglavnom je polje u jednoj hemisferi dominantno u odnosu na isto polje suprotne hemisfere, što se u literaturi označava kao lateralizacija funkcija kore velikog mozga.



Slika 2. Strukture CNS-a uključene u kontroli pokreta. Na shemi su plavom bojom prikazani aferentni putevi, a crvenom eferentni. M1 – primarna motorna oblast, S1- somatosenzorni korteks, SMA – suplementarna motorna oblast, PF – prefrontalni korteks, VI – primarni vizuelni korteks, 7–posterior parietalni korteks, dPM – dorzalni premotorni, BG – bazalne ganglije, RN - red nucleus (crveno jedro). Modifikovano prema Scott-u (2004).

Primarni motorni korteks (M1) najveći broj aksona šalje kroz kortikospinalni put (Slika 2), a dobija informacije od drugih kortikalnih regiona, koji se uglavnom koriste za motorno planiranje. Somatosenzorne informacije se obezbeđuju kroz primarni somatosenzorni korteks, parijetalnu kortikalnu oblast 5 i od cerebelarnih puteva. Bazalne ganglije i cerebelum takođe su važni za motornu funkciju koju ostvaruju preko veza sa M1 i drugim moždanim regionima. U kontroli pokreta učestvuju i talamus, moždano stablo i kičmena moždina. Na shemi prikazanoj u desnom delu slike 2, prikazani su aferentni (plave strelice) i eferentni putevi (crvene strelice) kuda prolaze informacije neophodne za kontrolu pokreta. Naime, može se videti da prilikom

izvođenja pokreta sve navedene strukture bilo spinalne ili supraspinalne, daju određene informacije i komande kako bi pokret bio energetski, vremenski i prostorno tačan.

1.2. PLASTICITET MOZGA

Nervni sistem kodira informacije pomoću složenog niza ćelijskih mehanizama preko kojih iskustvo može modifikovati karakteristike neuronskih kola. Taj skup funkcionalnih i strukturalnih promena koje se dešavaju unutar moždanih struktura pod uticajem aktivnosti čoveka i njegove interakcije sa spoljašnjom sredinom, naziva se plasticitet mozga. Funkcionalno najvažniji deo moždanog tkiva čine nervne ćelije, tako da se plasticitet mozga može posmatrati kao plasticitet nervnih ćelija (neurona) i njihovih veza (sinapsi). Prenos informacija kroz sinapse je kompleksan proces koji zavisi od presinaptičkog oslobađanja neurotransmitera, prenošenja do postsinaptičkih receptora i integracije mnogih sinaptičkih odgovora u niz akcionih potencijala preko kanala kalcijumovih jona (Turrigiano i Nelson, 2000). Promene na svakom od ovih nivoa mogu modifikovati karakteristike neuronskih kola.

Pokretači navedenih plastičnih promena mogu biti različiti oblici eksperimentalnih intervencija. Primarni značaj zauzimaju bihejvioralne manipulacije menjanjem priliva aferentnih ulaznih signala u senzomotorni korteks (poreklom bilo iz taktilnih ili proprioceptivnih projekcija) i manipulacije iskustvom vezanim za vršenje pokreta usmerenih ka sticanju motorne veštine (motorni trening ili motorno učenje), tzv. plasticitet podstaknut upotrebom (Ilic i Ilic, 2012). Međutim, pored navedenog, postoje i druge mogućnosti pokretanja kortikalnog plasticiteta kao što su: farmakološka modulacija plasticiteta primenom lekova sa specifičnim delovanjem na neurotransmiterske sisteme CNS-a; plasticitet podstaknut lezijama i patološkim procesima u okviru CNS-a i plasticitet podstaknut stimulacijom moždane kore (Ilic i Ilic, 2012).

Plastične promene koje se dešavaju u mozgu mogu biti funkcionalnog i strukturalnog karaktera.

1.2.1. Funkcionalni plasticitet

Mehanizme funkcionalnog plasticiteta prvi je sistematizovao kanadski neuro-psiholog Donald Olding Hebb u svojoj knjizi „Organizacija ponašanja“ („*The Organization Of Behavior*“) (Hebb, 1949). On je krenuo od ideje da je klasično psihološko uslovljeno ponašanje prisutno kod svih životinja, jer je ono svojstvo neurona. Ova ideja nije bila nova, ali ju je Hebb više razradio od prethodnika, predlažući određeni „zakon učenja za sinapse“, kasnije nazvan kao Hebb-ovo pravilo učenja. Po tom pravilu dva neurona ili dva sistema nervnih ćelija koji su stalno u isto vreme aktivni, imaju tendenciju da postanu povezani, kao i da aktivnost jednog neurona (ili jednog sistema nervnih ćelija) stimuliše aktivnost drugog. Pojačana stimulacija jednog neurona od strane drugog preko ostvarenih veza dovodi do fizioloških promena tih veza (sinapsi) kojim se prenosi stimulus, tako da raste veličina uticaja stimulišućeg neurona na stimulisani. Ovo pravilo važi i u obrnutom smeru, dva neurona ili dva sistema nervnih ćelija koji su pretežno aktivni u različitim vremenima (asinhrono), imaju tendenciju da postanu sve manje i manje povezani tako da aktivnost jednog neurona (ili jednog sistema nervnih ćelija) ima sve manji ili nikakav uticaj na aktivnost drugog, čak iako između njih postoji atomska veza. Ukoliko pojačana stimulacija jednog neurona od strane drugog povećava aktivnost stimulišućeg neurona, onda taj fenomen nazivamo facilitacijom, a ukoliko zbog smanjene stimulacije između neurona dođe do smanjenja neuronske aktivnosti, onda takav fenomen nazivamo inhibicijom. Naime, mehanizmima facilitacije ili inhibicije se menjaju jačine sinaptičkih veza unutar postojećih struktura neuronskih sistema, čime se ostvaruju promene ekscitabilnosti neuronskih sistema, označene kao funkcionalni plasticitet. Takav plasticitet može biti kratkotrajni (traje do nekoliko minuta) i dugotrajni (traje do nekoliko sati ili duže). Osnova kratkoročnog plasticiteta je trenutno povećanje sinaptičke efikasnosti koja nastaje zbog oslobađanja neurotransmitera u sinaptičku pukotinu i aktivnosti postsinaptičkih receptora. Sinaptička snaga ili sinaptička efikasnost definisana je promenom amplitude membranskog potencijala uslovljenom predhodnim presinaptičkim akcionim potencijalom. Dugoročni plasticitet podrazumeva dugoročnu promenu ekscitabilnosti neuronskih kola, gde razlikujemo dugoročnu potencijaciju ili povećanje ekscitabilnosti („*Long-term potentiation*“ – LTP) i dugoročnu depresiju ili dugoročno smanjenje ekscitabilnosti neuronskih kola („*Long-term depression*“ – LTD).

LTP je dugotrajno poboljšanje u komunikaciji između dva neurona koja rezultuje iz njihove simultane aktivacije, a LTD je dogotrajno pogoršanje u komunikaciji koja nastaje zbog asinhronne aktivacije dva neurona. LTP i LTD se smatraju glavnim ćelijskim mehanizmima koji obezbeđuju uspešno učenje i pamćenje.

1.2.2. Strukturalni plasticitet

Strukturalni plasticitet podrazumeva promene u broju sinapsi, promenu gustine aksonskih vlakana i šema grananja aksona i dendrita, zatim sinaptičko povezivanje tih novih mreža, pa čak i neurogenezu ili stvaranje novih nervnih ćelija (Butz i sar., 2009). Promene u sinaptičkom povezivanju šema neuronskih mreža proizilaze iz brisanja (Wolff i sar., 1989; Bastrokova i sar., 2008) i/ili stvaranja novih sinapsi (Kalisman i sar., 2005; Knott i sar., 2006). Promene u sinaptičkom vezivanju mogu biti i rezultat stvaranja novih dentritskih bodlji (Trachtenberg i sar., 2002) i preusmeravanja aksonskih grana unutar kortikalnih neuronskih kola (De Paola i sar., 2006). Nove sinaptičke veze se naročito intenzivno formiraju posle povreda delova nervnog sistema (Merzenich i sar., 1983; Darian-Smith i Gilbert, 1994, 1995), što je slučaj kod oporavka posle lezija nervnog sistema izazvanih moždanim udarom (Nudo, 2007).

Strukturalna plastičnost je u osnovi pod uticajem bioelektrične aktivnosti neurona. Depolarizacija i sinaptička transmisija povećavaju postsinaptičku intracelularnu koncentraciju kalcijuma, što predstavlja glavni preduslov za strukturalne promene. Tako da je strukturalna plastičnost direktna posledica funkcionalne plastičnosti nervnog sistema. Ovaj stav potvrđuju rezultati studije Toni-a i saradnika (1999), gde je pokazano da je nakon povećanja ekscitabilnosti neurona došlo do značajnog povećanja sinaptičkih izraštaja na dendritima i aksonima, koji su doveli do dupliranja postojećeg broja sinapsi. Povećanje broja sinapsi uočeno je i nakon motornog učenja (Derksen i sar., 2007), što znači da motorno učenje ne utiče samo na funkcionalne sinaptičke promene (LTP i LTD efekat), već i na strukturalne sinaptičke promene u smislu stvaranja novih ili brisanja već postojećih sinapsi.

1.2.3. *Regulatorni mehanizmi plastičnosti*

Postoje dva regulatorna mehanizma plastičnosti – sinaptičko skaliranje i metaplasticitet (Perez-Otano i Ehlers, 2005).

Sinaptičko skaliranje je mehanizam kojim neuron stabilizuje stepen ekscitacije i povećava selektivnost neuronske aktivacije na različite informacije i impulse. Nakon višestruke i produžene potencijacije dolazi do povećavanja amplituda malih postsinaptičkih potencijala što bi, ukoliko ne bi bilo na neki drugi način obuzdano, moglo dovesti do preterane i potencijalno štetne ekscitacije. Sinaptičko skaliranje selektivno smanjuje male postsinaptičke potencijale i na taj način omogućava održavanje sinaptičke efikasnosti, omogućava stabilnost snage svake sinapse, olakšava konkurenciju između sinapsi i štiti sistem od preterane reakcije. Na sličan način tokom dugotrajne inhibicije izazvane nekom modulatornom metodom ili drugim tipom uticaja, sinaptičko skaliranje selektivno povećava previše smanjene postsinaptičke potencijale. Ovaj efekt se događa postupno tokom nekoliko sati ili dana, a zasniva se na porastu broja NMDA receptora (*N-methyl-D-aspartate*) u sinapsama (Perez-Otano i Ehlers, 2005).

Metaplasticitet je sinonim za homeostatski plasticitet, jer funkcioniše po principima homeostaze, što znači ostati isti kroz procese promena. Homeostatska plastičnost se u oblasti neuronauka odnosi na sposobnost neurona da regulišu stepen sopstvene razdražljivosti u odnosu na celokupnu aktivnost neuronskih mreža čiji su deo. Ekscitatorni i inhibitorni fenomeni se stalno dešavaju pojedinačno na nivou svake sinapse. Nervni sistem teži da održi konstantan balans energije i stoga kada u nekom delu mozga dođe do povećanja ili smanjenja aktivacije i ekscitacije, aktiviraju se kontrolni mehanizmi koji sprečavaju da ta aktivacija previše poraste ili da se smanji toliko da naruši ravnotežu i stabilnost sistema. Metaplasticitet kao regulatorni mehanizam, viša je forma sinaptičke plastičnosti koja reguliše ekspresiju, bilo LTP ili LTD (Mockett i Hulme, 2008). Tako da, ukoliko se nekom metodom stimulacije mozga ili nekom fizičkom interakcijom sa spoljašnjom sredinom koja inače izaziva LTP efekat na ekscitabilnost mozga, deluje na već ekscitiranu regiju mozga, krajnji rezultat neće biti povećanje ekscitabilnosti, već smanjenje ekscitabilnosti (Ziemann i Siebner, 2008; Ragert i sar., 2009). Isti mehanizam važi i kada se inhibitornom metodom deluje na

inhibirani deo mozga. Ekscitabilnost se u tom slučaju povećava (Ziemann i Siebner, 2008).

Plasticitet, sinaptičko skaliranje i metaplasticitet predstavljaju mehanizme učenja i zaštite. S obzirom da dele zajedničke kontrolne mehanizme učenja, ovi oblici plasticiteta međusobnom interakcijom mogu doprineti stvaranju sinergija sinaptičkih promena prema Hebb-ovom pravilu. Takve sinaptičke promene predstavljaju preduslov za stvaranje motornih engrama i gotovih motornih programa tokom procesa motornog učenja (Campanac i Debanne, 2007; Ziemann i Siebner, 2008).

1.3. MOTORNO UČENJE

Motorno učenje predstavlja skup procesa koji su u vezi sa fizičkim vežbanjem ili iskustvom, a koji dovode do relativno trajne promene sposobnosti vršenja neke motorne aktivnosti (Schmidt i Lee, 2005). Motorne aktivnosti, veštine i navike karakteriše obavljanje pokreta u energetski racionalnoj prostorno-vremenskoj šemi, što omogućava brzo i tačno izvođenje aktivnosti. Motorno učenje počinje određivanjem željenog rezultata pokreta i odvija se u tri međusobno povezane faze: faza osnovne koordinacije pokreta ili rana faza brzog učenja, faza precizne koordinacije pokreta kada se sporije usavršavaju motorne veštine i faza stabilizacije pokreta u promenljivim i otežanim okolnostima (Mainel, 1960). U ranoj fazi se sposobnosti usvajaju brzo i nju karakteriše visok nivo pažnje pri izvođenju pokreta, za razliku od druge dve faze kada se zahtev za pažnjom smanjuje (Bernstein, 1996; Mitra i sar., 2005). U poslednjoj fazi motornog učenja dolazi do automatizacije motornog zadatka, kada se pokreti odvijaju po tačno definisanom redosledu aktivacije mišića, sa unapred definisanim ukupnim vremenom pokreta i ukupnom silom koja se razvija u mišićima (Schmidt i Lee, 2005).

U fazama motornog učenja treba razlikovati period učenja tokom izvođenja motornog zadatka (period akvizicije) i period učenja kada nema izvođenja, ali postoji povećana aktivnost moždanih regiona zaduženih za motorno učenje (period konsolidacije) (Tanaka i sar., 2011).

1.3.1. Aktivnost moždanih regiona tokom faza motornog učenja

Studije koje su koristile metode funkcionalnog neuroslikanja (eng. *neuroimaging*), kao što su pozitronska emisiona tomografija (PET), funkcionalno slikanje magnetnom rezonancom (fMRI) ili magnetoencefalografija (MEG), dale su nam informacije o obimu uključenih neuronskih mreža u različitim fazama motornog učenja, kao i detaljniju sliku o razumevanju plastičnih promena koje se dešavaju na ćelijskom nivou tokom motornog učenja. Tokom rane faze motornog učenja moždana aktivnost je široko rasprostranjena, a posebno u kortikalnim strukturama (Karni i sar., 1995; Hazeltine i sar., 1997; Toni i sar., 1998; Doyon i sar., 2002; Grafton i sar., 2002; Hlustik i sar., 2004; Floyer-Lea i Matthews, 2005; Park i sar., 2010). Kako se zahtevi za aktivnom pažnjom smanjuju i aktivnosti postaju sve više automatizovane, to su više aktivne subkortikalne strukture (dentato-talamo-strijatalno neuronsko kolo) (Eliassen i sar., 2001).

U studiji Parka i saradnika (2010) zabeleženo je povećanje aktivnosti primarne motorne oblasti (M1) u ranoj fazi motornog učenja (prvih nekoliko pokušaja) i smanjenje aktivnosti u daljem učenju. Ovakav obrazac menjanja aktivnosti M1 je ukazivao na povećanu analizu povratnih informacija u ranoj fazi učenja nepoznatih pokreta (Ackermann i sar., 1996). S obzirom da iz M1 oblasti polaze završne silazne komande prema mišićima i pri tom je M1 povezana sa svim ostalim kortikalnim i subkortikalnim oblastima, ukazuje da M1 igra jednu od ključnih uloga u motornom učenju. Takođe, nervne reprezentacije mišića se nalaze u M1 oblasti (*homunculus*), a prema zaključcima dosadašnjih istraživanja (detaljni pregledni radovi: Krakauer i Mazzoni, 2011; Shmuelof i Krakauer, 2011; Penhune i Steele, 2012), M1 je i mesto gde dolazi do stvaranja sinergija za brže i preciznije izvođenje pokreta. Premotorna oblast (PM) je kao i M1 aktivna u inicijalnom učenju, ali pokazuje aktivnost i u ponovljenim testovima, jer sadrži vizuomotorne asocijacije (Grafton i sar., 1992; Kurata i Hoffman, 1994; Petrides, 1997). Suplementarna motorna oblast (SMA) ima ulogu u ranoj fazi stvaranja motornog programa za izvođenje pokreta, kao i u fazi automatizma za planiranje pokreta (Tyszka i sar., 1994; Stephan i sar., 1995; Cunnington i sar., 2002). Zadnji parijetalni korteks pokazuje povećanu aktivnost u ranim i srednjim fazama učenja sekvenci vizuomotornog učenja pokreta. Odvajanje kortikalne aktivnosti od subkortikalne karakteristično je za fazu automatizacije. U ovoj fazi, aktivnost u M1 i

zadnjem parijetalnom koreksu se dramatično smanjuje, dok se povećava aktivnost u malom mozgu, talamusu i bazalnim ganglijama (Park i sar., 2010).

U istraživanjima promena aktivnosti neuronskih mreža tokom različitih oblika motornog učenja, Doyon i saradnici (2002; 2003) su zaključili da su u početnoj fazi kako u adaptacionom učenju tako i u učenju novih sekvenci pokreta aktivne kortiko-strijatalne i kortiko-cerebelarne strukture. Daljim učenjem motorne veštine, kada izvođenje novih sekvenci pokreta postaje automatsko, aktivna je samo kortiko-strijatalna neuronska mreža, dok je za automatske adaptacione pokrete zadužena kortiko-cerebelarna neuronska mreža (Doyon i Benali, 2005).

Rezultati navedenih i mnogobrojnih drugih studija omogućili su mnogo bolje poznavanje moždanih struktura koje učestvuju u raznim fazama motornog učenja, ali je to još uvek daleko od toga da bi se neurofiziologija motornog učenja u potpunosti poznavala. Promene plasticiteta suštinski su povezane sa procesima motornog učenja i zato postojanje mogućnosti za njihovo arteficiono moduliranje u kontrolisanim eksperimentalnim uslovima, tehnikama neinvazivne stimulacije mozga, pruža jedinstvenu priliku da se fiziologija plasticiteta mozga bolje upozna (Pascual-Leone i sar., 2005).

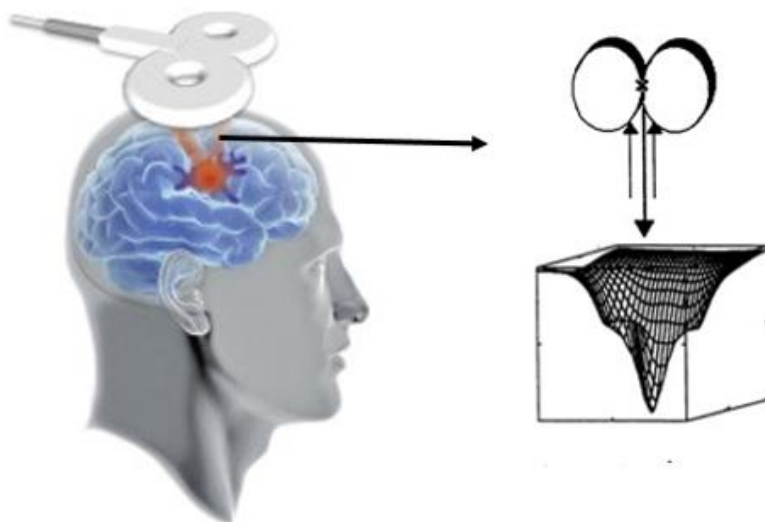
1.4. KONTROLISANO INTERVENTNO IZAZIVANJE PLASTIČNIH PROMENA KORE VELIKOG MOZGA

1.4.1. Neinvazivna stimulacija mozga

S ciljem da se omogući neinvazivni pristup istraživanju fiziologije kore velikog mozga, nalik onom koji se ostvaruje tokom neurohirurških operacija na otvorenom mozgu, Merton i Morton (1980) su prvi put uspešno izveli stimulaciju motornog korteksa preko intaktnih struktura poglavine (tj. bez hirurškog otvaranja lobanjske duplje). To su postigli stimulacijom ekstremno kratkim pulsevima električne struje jako visokog napona, pri čemu su dobili grč mišića ekstremiteta čiji su elektromiografski (EMG) zapis nazvali motorni evocirani potencijal (MEP). Metoda je otvorila novo područje istraživanja u neurofiziologiji, ali zbog nekomfortnosti, posebno bola usled nadražaja receptora za bol poglavine, nije mogla naći širu primenu. Nekoliko godina kasnije, Barker i saradnici (1985) sa Sheffield Univerziteta u Engleskoj konstruisali su

prvi magnetni stimulator kojim se mozak mogao stimulisati bezbolno i bezbedno. Od tada počinje ekstenzivno istraživanje neurofiziologije motornog sistema, a uporedo sa tim dolazi i do razvoja komercijalnih stimulatora sve boljih tehničkih mogućnosti.

Magnetni stimulator se sastoji od dva odvojena dela, generatora velikih struja čija struja pražnjenja prelazi 5kA i kalema za stimulisanje koji proizvodi magnetne impulse, čija jačina magnetnog polja dolazi i do 4T. Trajanje pulseva je između 100 μ s i 1ms u zavisnosti od vrste magnetnog stimulatora. Kroz kalem prolazi električna struja visokog napona koja indukuje snažno magnetno polje (Slika 3). Magnetni fluks nesmetano prolazi kroz visoko rezistentna tkiva poglavine i kosti lobanje, dok se moždano tkivo ponaša kao sekundarni kalem u kojem se indukuje električna struja (akcioni potencijal), koja dostižući prag nadražaja, pokreće bioelektričnu aktivnost kortikalnih interneurona (Zakon elektromagnetne indukcije - Faradej 1831.). Da bi došlo do elektromagnetne indukcije i stvaranja akcionog potencijala, neophodno je da postoji promena električnog polja, te se iz tog razloga koriste isključivo kratka električna pražnjenja u formi pulseva. Stimulacija kore velikog mozga ovom metodom naziva se transkranijalna magnetna stimulacija (TMS). Počev od 1985. godine pa do danas, TMS se razvio kao visoko sofisticirana metoda koja se može koristiti u medicini kao dijagnostičko i terapijsko sredstvo i u naučnim istraživanjima kao metoda neinvazivne neuromodulacije.



Slika 3. Prostiranje magnetnog polja koga proizvodi kalem za stimulisanje u obliku broja osam.

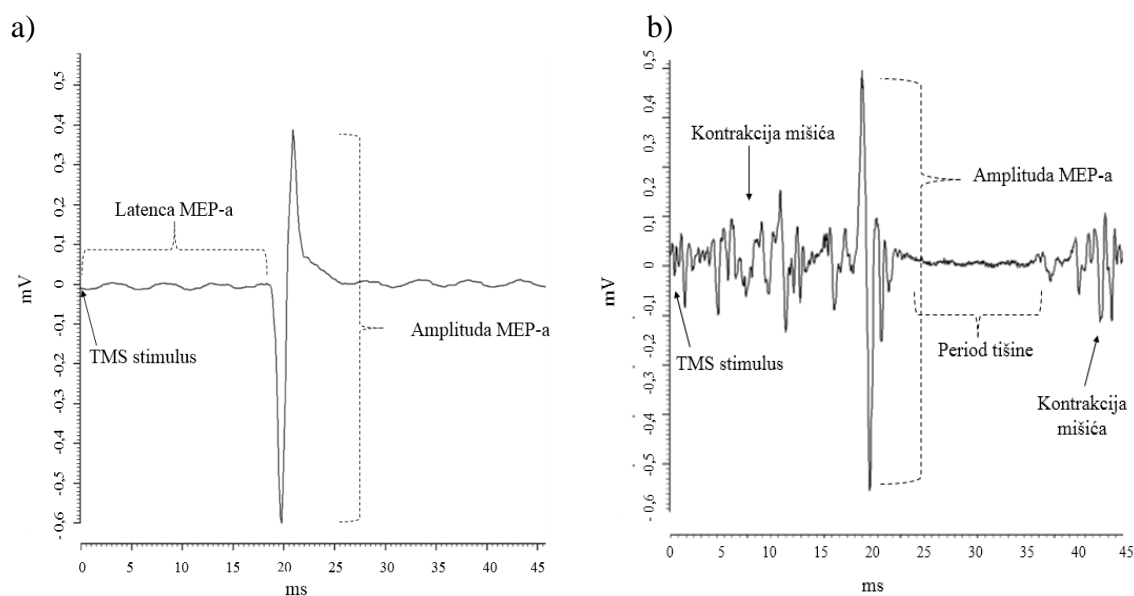
1.4.2. Fiziološki odgovor na transkranijalni magnetni stimulus

Kada jako magnetno polje propušteno kroz stimulišući kalem prođe kroz lobanju i visokorezistentna tkiva poglavine, u moždanim strukturama se indukuje struja u vidu akcionog potencijala. Jačina indukovane struje direktno zavisi od jačine magnetnog stimulusa. Pošto aksoni nervnih ćelija imaju najveću gustinu jonskih kanala, prvenstveno se u njima indukuje električna aktivnost. Kada ovako indukovani elektricitet dostigne određeni intenzitet („prag depolarizacije“) tada se u aksonu generiše akcioni potencijal koji dalje putuje nishodno do presinaptičkih terminalnih završetaka na kraju aksona izazivajući oslobađanje neurotransmitera u sinaptičku pukotinu. Vezivanje neurotransmitera za postsinaptičke receptore izaziva depolarizaciju postsinaptičkog neurona i tako se akcioni potencijal ponovo preko aksona postsinaptičkog neurona dalje širi. Većina kortikalnih neurona oslobađa neurotransmiter glutamat, pa se klasifikuju kao ekscitatorni neuroni, dok se manji deo neurona koji oslobađaju GABA neurotransmiter, klasifikuju kao inhibitorni neuroni (Huerta i Volpe, 2009). Električna struja indukovana TMS stimulusom neselektivno deluje i na jedne i na druge neurone te stoga čak i slab TMS stimulus uvek izaziva mešavinu ekscitatornih i inhibitornih efekata.

M1 predstavlja najviše ispitivani kortikalni region u pogledu uticaja TMS-a. Razlog tome je što čak i jedan slab TMS stimulus, aplikovan iznad M1 oblasti, može da izazove trzaj mišića. Ovakav odgovor CNS-a na primenjeni stimulus iznad M1 se naziva motorni evocirani potencijal (MEP) i beleži se elektromiografijom (EMG) (*Slika 4a*). Merenje motornih evociranih potencijala ima primenu u kliničkoj praksi za definisanje nivoa spinalnih i supraspinalnih oboljenja i utvrđivanje subkliničkih oštećenja piramidalnog trakta, kao i u istraživanjima za merenje CNS odgovora na uticaj različitih spoljašnjih draži. Najvažnije karakteristike MEP-a koje se koriste u istraživanjima i kliničkoj praksi su latenca, definisana kao vreme od TMS stimulusa do početka mišićnog odgovora, i amplituda, definisana kao razlika potencijala od maksimalnog negativnog vrha do maksimalnog pozitivnog vrha u MEP odgovoru (*Slika 4a*). Naime, merenjem amplituda MEP-a merimo nivo ekscitabilnosti M1 oblasti, koja je direktni pokazatelj nivoa aktivnosti M1. Pored MEP-a, kao pokazatelja ekscitatornih efekata TMS-a, inhibitorni efekti TMS-a mogu se registrovati kao tranzitorni izostanak aktivnosti mišića (izoelektrična linija na EMG zapisu) nakon pojedinačnog TMS

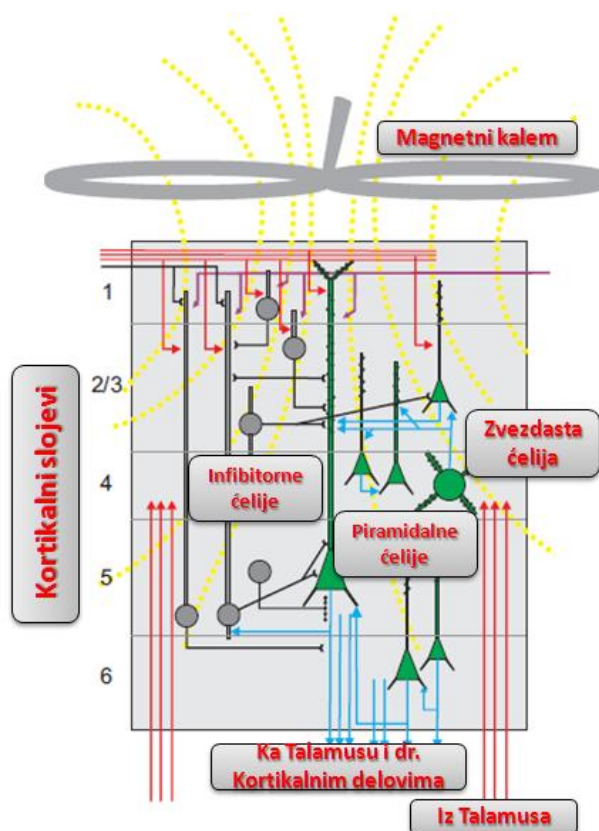
stimulusa u uslovima toničke umerene voljne kontrakcije mišića (Fuhr i sar., 1991; Fritz i sar., 1997) (Slika 4b). Ovaj fenomen se naziva periodom tišine ili inhibitornim periodom.

Važne neurofiziološke mere koje se, takođe, određuju zadavanjem pojedinačnih TMS stimulusa su pasivni i aktivni motorni pragovi. Vrednosti pragova govore o trenutnoj ekscitabilnosti i aktivnosti M1 oblasti i služe za određivanje izlazne jačine TMS stimulusa pri merenju motornih evociranih potencijala ili pri određivanju intenziteta TMS metoda za izazivanje sinaptičke plastičnosti o kojima će biti reči u nastavku teksta. Pasivni motorni prag (PMP) je definisan kao najmanji potrebni intenzitet stimulusa koji može da proizvede MEP amplitude $\geq 50 \mu\text{V}$ merene od pozitivnog do negativnog vrha MEP-a (Slika 4a) u 5 od 10 uzastopnih pokušaja (Rossini i sar., 1994). Aktivni motorni prag (AMP) se procenjuje tokom umerene voljne aktivacije mišića (Slika 4b) i definisan je kao najmanji potrebni intenzitet stimulusa koji može da proizvede MEP amplitude $\geq 100 \mu\text{V}$ merene od vrha do vrha MEP-a u 5 od 10 uzastopnih pokušaja (Rossini i sar., 1994).



Slika 4. Elektromiografski snimci trzaja mišića nakon pojedinačnog TMS stimulusa. a) TMS stimulus aplikovan je prilikom relaksiranog stanja mišića i dobijen je MEP – Motorni evocirani potencijal. Na slici su obeležene latenca i amplituda, kao najčešće mere MEP-a koje se koriste u istraživanjima; b) TMS stimulus aplikovan je pri umerenoj voljnoj kontrakciji mišića i dobijen je period tišine ili inhibitorni period nakon MEP-a. Period tišine mera je inhibicije M1 oblasti, a amplituda MEP-a mera je ekscitacije M1 oblasti, nakon pojedinačnog TMS stimulusa.

Magnetni stimulus aplikovan iznad M1 oblasti zapravo inicira lanac događaja, koji počinju pobuđivanjem aksona malih interneurona koji su rasprostranjeni u višim kortikalnim slojevima, 1. do 4. (Slika 5). Aksonska aktivnost ovih ćelija, od kojih neke imaju facilitirajuću a neke inhibirajuću ulogu, se dalje sinaptički integriše u kortikospinalnim piramidalnim neuronima, koji se nalaze u 5. i 6. kortikalnom sloju (Slika 5). Kada facilitirajući uticaji dostignu određeni prag, generiše se izlazni akcioni potencijal. Ovako generisan akcioni potencijal nastaje 5-10ms nakon TMS stimulusa (Groppa i sar., 2012). Ovaj akcioni potencijal se dalje nishodno spušta kortikospinalnim putevima i kada dođe do kičmene moždine, on aktivira sinapse na motornim neuronima u prednjim rogovima kičmene moždine, koji dalje prenose potencijal do neuromišićne sinapse, nakon čega sledi odgovor mišića. Odgovor mišića nastaje 20 ms nakon TMS stimulusa (Hallett, 2007; Huerta i Volpe, 2009; Groppa i sar., 2012) (Slika 4).



Slika 5. Šematski prikaz kore velikog mozga. Magnetni kalem se nalazi iznad korteksa i njegov stimulus indukuje struju u šestoslojnoj strukturi korteksa (obeleženi sa leve strane). Ekscitatorne ćelije (zelene sa plavim aksonima) i inhibitorne ćelije (sive sa crnim aksonima) imaju potencijal da budu aktivirane na nivou njihovih aksona koji imaju najveću gustinu jonskih kanala. Dolazni aksoni iz drugih kortikalnih oblasti i talamusa (obeleženi crvenom bojom), takođe se aktiviraju. Slika modifikovana prema Huerta-u i Volpe-u, (2009).

1.4.3. TMS metode za izazivanje sinaptičke plastičnosti

Pored opisanih efekata pojedinačnih TMS stimulusa pokazano je takođe da primena većeg broja TMS stimulusa u različito strukturiranim nizovima može dovesti do promena ekscitabilnosti kore mozga koje traju više desetina minuta po prestanku stimulacije, tj. mogu se promovisati plastične promene u kortiklanim sinapsama i sa njima povezanim neuronskim krugovima (Kujirai i sar., 1993; Pascual-Leone i sar., 1994; Chen i sar., 1997; Pascual-Leone i sar., 2002; Hallett, 2007; Wagner i sar., 2007). Ove promene ekscitabilnosti obično su praćene i povećanjem ili smanjenjem protoka krvi kroz odgovarajuće moždane strukture (Valero-Cabre i sar., 2005; Allen i sar., 2007).

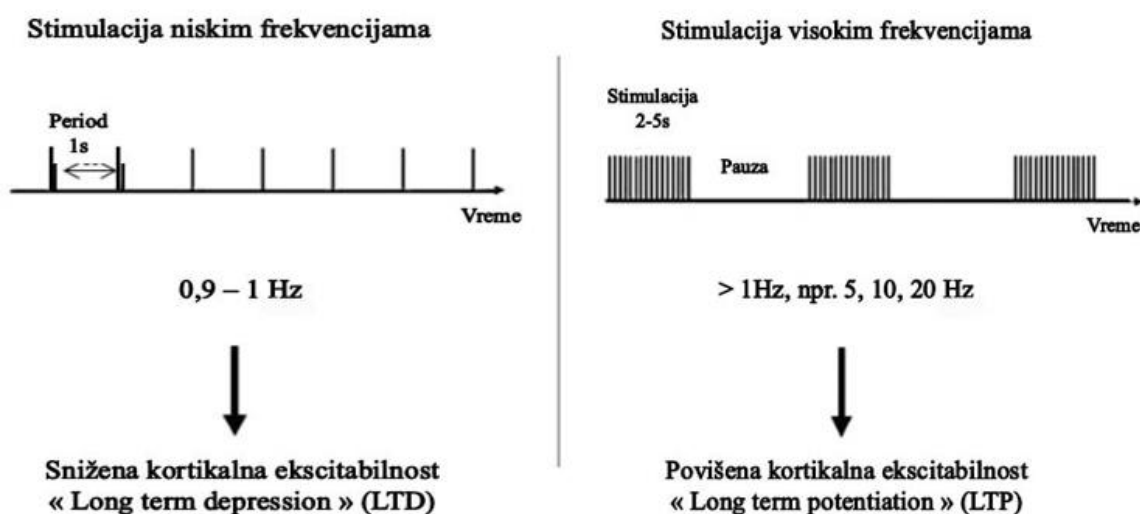
Najčešće istraživane metode TMS-a za izazivanje sinaptičke plastičnosti su repetitivna transkranijalna magnetna stimulacija (rTMS), „*theta burst*“ stimulacija (TBS) i uparena asocijativna stimulacija (*Paired associative stimulation* - PAS) (Ziemann i sar., 2008). Sve ove metode (biće opisane u nastavku teksta) mogu se primenjivati kako za izazivanje facilitacije tako i za izazivanje inhibicije kore velikog mozga, što se postiže variranjem parametara stimulacije. Razlike između samih metoda definisane su različitim modulatornim efektom, koji zavisi od intenziteta stimulacije, frekvencije stimulusa, obrasca po kome se emituju stimulusi, kao i ukupnog broja magnetnih stimulusa. U poslednjih 25 godina intenzivno se ispituju efekti različitih TMS metoda kako bi se došlo do najefikasnijih i najpouzdanijih za neuromodulaciju. Takođe, postoje brojna istraživanja koja ukazuju da TMS metode treba implementirati za kliničke svrhe u lečenju neuroloških oboljenja kao što su Parkinsonova bolest (npr. Filipovic i sar., 2010a, 2010b; Filipovic i sar., 2013), depresija (npr. George i sar., 2010; Vedeniapin i sar., 2010; Johnson i sar., 2013), distonija (npr. Huang i sar., 2004; Murase i sar., 2005) i moždani udar (npr. Papathanasiou i sar., 2003; Khedr i sar., 2005; Fregni i sar., 2006).

1.4.3.1. Repetitivna transkranijalna magnetna stimulacija (rTMS)

Ponavljanjem TMS stimulusa (rTMS) moguće je izazvati promene ekscitabilnosti motorne kore (korelat plastične reorganizacije) koje se održavaju izvesno vreme i nakon prestanka stimulacije (Ziemann i sar., 2008). Fiziološki mehanizmi aktivacije neuralnih struktura, u ovom slučaju, nisu ni približno jednostavni kao pri

primeni pojedinačnih stimulusa koji međusobno ne interferiraju. Budući da ponavljana stimulacija izaziva mešavinu ekscitatornih i inhibitornih efekata, a pored svega pojedini od aktiviranih neuralnih elemenata imaju projekcije ka daljim kortikalnim ili subkortikalnim strukturama, ostvarajući efekte i na udaljenim mestima.

U istraživanjima sa rTMS-om najviše je ispitivan efekat primene većeg broja TMS stimulusa učestalosti od 1 - 25Hz. Studije u kojima su se pratile promene amplitude MEP-a posle 20-30 min rTMS frekvencije 1Hz ili manje (*Slika 6*), pokazale su da ovakav tip stimulacije izaziva smanjenje ekscitabilnosti, odnosno smanjenje amplitude MEP-a, u trajanju od više minuta po okončanju stimulacije (Pascual-Leone i sar., 1994; Chen i sar., 1997; Ziemann i sar., 2008; Cardenas-Morales i sar., 2010). Nasuprot tome, rTMS frekvencije od 5-20Hz (*Slika 6*), dovodi do povećanja amplitude MEP-a, odnosno dovodi do povećanja ekscitabilnosti kore velikog mozga (Pascual-Leone i sar., 1994; Wassermann i sar., 1996; Chen i sar., 1997; Ziemann i sar., 2008; Cardenas-Morales i sar., 2010). Iz bezbednosnih razloga, ovakva stimulacija se primenjuje u kratkim nizovima trajanja 2-5s, sa intervalima između nizova do 1min (*Slika 6*). Smatra se da su mehanizmi modulacije kortikalne ekscitabilnosti do kojih se dolazi primenom rTMS-a najverovatnije u vezi sa ranije opisanim LTP i LTD fenomenima sinaptičke plastičnosti (Hoogendam i sar., 2010).



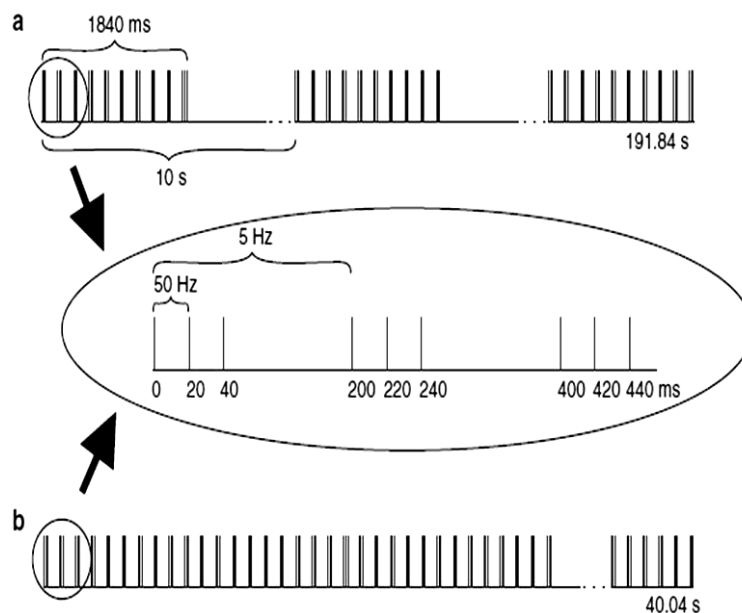
Slika 6. Protokoli repetitivne transkranijalne magnetne stimulacije.

1.4.3.2. “*Theta burst*” stimulacija (TBS)

Relativni nedostatak rTMS-a je relativno dugo trajanje aplikovanja metode. Iz tog razloga se pojavila potreba za novom metodom sa kojom bi se u veoma kratkom vremenskom intervalu mogao aplikovati veći broj stimulusa. Princip korišćenja TBS-a zasniva se na zapažanju da su tokom lokomocije i drugih vrsta motornih ponašanja kod životinja (glodara) i ljudi prisutne teta oscilacije u kortikalnim oblastima (Kahana, 2006). Pretpostavlja se da teta oscilacije moduliraju visoko frekventne gama oscilacije u čovekovom korteksu (Lisman i Idiart, 1995). Veza između teta i gama oscilacija koordinira aktivnost kortikalnih oblasti i sadrži mehanizam za efikasno obavljanje kognitivnih procesa kod ljudi (Canolty i sar., 2006). Ova činjenica je poslužila da se napravi metoda stimulacije u kojoj primena TMS stimulusa može da oponaša vezu između teta i gama oscilacija. Huang-a i Rothwell-a (2004) prvi su pokazali da je jedna kratka salva TMS stimulusa niskog intenziteta sa frekvencijom od 50Hz, bezbedna za stimulisanje ljudskog korteksa i da je pogodna za ciljanje specifične populacije neurona u motornom korteksu. Nakon toga, Huang-a i sar. (2005) definisali su novu metodu TMS-a u kojoj su se nizovi od 3-5 stimulusa učestalosti 50Hz (gama ritam) ponavljali na 5Hz (teta ritam). Navedena metoda nazvana je „*Theta burst*“ stimulacija (TBS), jer su nizovi impulsa ponavljani u teta ritmu.

TBS metoda ima dva osnovna protokola. Prvi intermitentni (iTBS) protokol izaziva ekscitaciju motorne kore. U ovom protokolu se tokom 2s, na svakih 200 ms, emituju salve od 3 TMS impulsa sa učestalošću od 50 Hz. Posle 8 sekundi pauze slede naredne 2s sa stimulacijom. Ovaj obrazac (2s stimulacija + 8s pauza) se ponavlja 20 puta, tako da se tokom protokola emituje ukupno 600 pulseva (*Slika 7a*). Drugi protokol TBS-a je kontinuirani (cTBS) protokol, koji izaziva inhibiciju motorne kore. Sastoji se u kontinuiranom ponavljanju salvi impulsa na svakih 200ms tokom 40 sekundi (*Slika 7b*).

Ukupan broj impulsa, intenzitet i trajanje efekata primenjenih stimulacija (rTMS i TBS) prikazani su u tabeli ispod (Tabela 1).



Slika 7. Protokoli „theta burst“ stimulacije, a) iTBS; b) cTBS.

Tabela 1. Uporedne analize parametara i efekata koje izazivaju rTMS metoda i TBS metoda stimulacije motorne kore.

Tip efekta stimulacije	rTMS		TBS	
	Ekscitacija ^a (5-20Hz)	Inhibicija ^b (0.9-1Hz)	Ekscitacija ^c (intermitentna)	Inhibicija ^d (kontinuirana)
Broj pulseva	20-1000	20-1600	600	300 ili 600
Intenzitet	85-150% PMP	85-120% PMP	80% AMP	80% AMP
Efekat stimulacije	3-120 min	15-120 min	15 min	20-60 min

^a, Pascual-Leone i sar., 1994; Chen i sar., 1997; Ziemann i sar.,(2008); Cardenas-Morales i sar., 2010;

^b Pascual-Leone i sar., 1994; Wassermann i sar., 1996; Chen i sar., 1997; Cardenas-Morales i sar., 2010; Fitzgerald i sar.,(2006).

^{c, d} Huang i sar.,(2005)

PMP - Pasivni motorni prag; AMP Aktivni motorni prag

1.4.3.3. Uparena asocijativna stimulacija

Ova metoda modulacije kortikalnog plasticiteta je razvijena iz studija na eksperimentalnim životinjama, koje su naglašavale važnost zajedničke aktivacije somatosenzornog korteksa i neuronskih kola motornih kortikalnih oblasti (Donoghue i sar., 1990; Nudo i Milliken, 1996; Nudo i sar., 1996). Somatosenzorne informacije

dolaze preko aferentnih nervnih vlakana do somatosenzornog korteksa, a preko kortiko-kortikalnih nervnih vlakana od somatosenzornog do motornog korteksa. Porter i saradnici (1990) su pokazali da se perifernom stimulacijom aferentnih somatosenzornih vlakana mogu aktivirati određena neuronska kola unutar motornog korteksa. Ukoliko ovu aktivaciju prati sinhronizovana aktivacija drugih neuronskih kola motornog korteksa (npr. izazvana TMS-om), dolazi do stvaranja ranije objašnjene Hebb-ove asocijativne plastičnosti (LTP). Hebb-ovo pravilo je kao bazični princip poslužilo da se napravi metoda uparene asocijativne stimulacije (*Paired associative stimulation* - PAS), koja predstavlja kombinaciju repetitivne niskofrekventne periferne aferentne električne stimulacije sa transkranijalnom magnetnom stimulacijom kontralateralne hemisfere motornog korteksa sa fiksnim interstimulusnim intervalima između perifernih električnih i TMS stimulusa (Stefan i sar., 2000). Ukoliko se TMS stimulus aplikuje istovremeno kada dolazi aferentni signal u motorni korteks (25ms nakon periferne električne stimulacije), signali se sabiraju i motorni odgovor je značajno veći. Ponavljanjem ovakvih uparenih stimulusa dolazi do značajnog povećanja ekscitabilnosti (Stefan i sar., 2000). S druge strane, ukoliko se TMS stimulus aplikuje ranije (1 - 5ms nakon periferne električne stimulacije), aferentni signal u motorni korteks dolazi u trenutku refraktornog perioda nastalog nakon TMS stimulusa. S obzirom da se time aktiviraju neuronska kola u različitim vremenskim trenucima, ponavljanjem ovakvih uparenih stimulusa, prema Hebb-ovom pravilu dolazi do smanjenja ekscitabilnosti (LTD) (Kujirai i sar., 1993). Najčešće primenjivana PAS metoda (Stefan i sar., 2000) podrazumeva 90 pari ovakvih stimulusa sa frekvencijom ponavljanja od 0,05 Hz, dok u nekim studijama se koristi i 225 pari stimulusa sa frekvencijom 0,25 Hz (Ziemann i sar., 2004; Ziemann i sar., 2008). Trajanje efekta stimulacije za oba protokola (ekscitatorni i inhibitorni) je 30 do 120 min, dok je vraćanje ekscitabilnosti na početni nivo za 24 h ili manje (Stefan i sar., 2000; Ziemann i sar., 2004).

1.4.4. Mere opreza pri korišćenju TMS-a

Ova tehnika se koristi bezbedno više od 25 godina. U potvrdu ovome govori i nedavno istraživanje Oberman-a i sar., (2011), koji su pregledali studije gde je korišćena TMS metoda na zdravim ispitanicima od maja 2004. do decembra 2009. godine. Autori su zaključili, na osnovu procene rizika, da je korišćena metoda bila

bezbedna i efikasna. Teorijski, postoji rizik od indukovanja epileptičnog napada, ali samo pod uslovom da se TMS upotrebi najvećim intenzitetima, dugog trajanja bez interstimulusnih perioda odmora.

TMS se ne sme primenjivati kod ljudi koji imaju metalne implantante u glavi, koji imaju ugrađen pejsmejker, kao i kod ljudi koji imaju neki drugi elektronski uređaj u telu a koji može doći na manje od 20cm od kalema; takođe, izbegava se primena TMS u trudnoći (Rossi i sar., 2009). Magnetni stimulator može oštetiti kreditne i telefonske kartice ukoliko se nalaze na manje od 50cm od stimulišućeg kalema. TMS se oprezno koristi kod pacijenata koji imaju istoriju epileptičnih napada, kao i kod osoba koje su pre stimulacije koristile neki lek koji može da snizi prag za nastajanje napada (Hovey i Jalinous, 2008). Takođe, pacijenti koji su već imali moždani udar, ili koji boluju od nekog neurološkog poremećaja, imaju snižen prag za nastajanje epileptičkog napada, tako da je i u tim slučajevima potrebna pažnja i predostrožnost (Anand i Hotson, 2002).

Upitnik o bezbednosnim i etičkim smernicama za korišćenje TMS-a, koji je razvila Međunarodna federacija za kliničku neurofiziologiju, prikazan je u prilogu 3 (Rossi i sar., 2009).

1.5. TMS I MOTORNO UČENJE

U poslednje dve decenije sprovedena su brojna istraživanja koja su proučavala neurofiziološke mehanizame odgovorne za motorno učenje što je doprinelo da se znanja o bihevioralnim promenama upotpune sa neurofiziološkim i time stvori bolja slika o principima motornog učenja. Pored metoda funkcionalnog neuroslikanja, TMS je jedna od najčešće primenjenih tehnika u ovim istraživanjima.

Studije koje su koristile metode funkcionalnog neuroslikanja pokazale su da se prilikom izvođenja motornih veština, najveća kortikalna aktivnost odvija unutar M1 oblasti (Karni i sar., 1995; Hazeltine i sar., 1997; Toni i sar., 1998; Doyon i sar., 2002; Grafton i sar., 2002; Hlustik i sar., 2004; Floyer-Lea i Matthews, 2005; Park i sar., 2010). Potvrdu ključne uloge M1 u ranom motornom učenju, dali su i rezultati studija na životinjama (Nudo i sar., 1996; Kleim i sar., 1998; Plautz i sar., 2000), koji su pokazali mikrostimulacionim tehnikama da je motorno učenje povezano sa reorganizacijom reprezentacije pokreta unutar M1. U skladu sa tim, a i zbog metodoloških pogodnosti, TMS studije su se takođe dominantno bavile ulogom M1 u

motornom učenju (Pascual-Leone i sar., 1995; Classen i sar., 1998; Muellbacher i sar., 2001). Tako je pokazano da postoji interakcija između motornog učenja i LTP i LTD efekta, kao i da se tokom učenja odvijaju sinaptičke plastične promene unutar M1 oblasti (Rioult-Pedotti i sar., 1998; Rioult-Pedotti i sar., 2000; Ziemann i sar., 2004; Iezzi i sar., 2008; Jung i Ziemann, 2009). Pored toga, kao što je ranije pokazano, TMS baziranim neuromodulatornim metodama se može efikasno indukovati LTP ili LTD efekat, čime se potencijalno može uticati na motorno izvođenje i učenje.

Prva studija koja se bavila uticajem TMS-a na motorno učenje je studija Muellbacher-a i sar. (2002). Oni su ispitivali inhibitorni uticaj 15-minutnog rTMS-a od 1Hz, primenjivanog između serija izvođenja brzih balističkih pokreta (stisci kažiprstom i palcem). Navedena metoda je značajno usporila motorno učenje u odnosu na kontrolnu grupu koja nije bila stimulirana. Interesantno je da u drugom eksperimentu ove studije, gde je rTMS primenjivan nakon 6 sati odmora posle početnog motornog izvođenja, nije bilo uticaja na konsolidaciju motornog učenja. Rezultati ove studije ukazuju da M1 oblast igra ključnu ulogu u početnoj fazi motornog učenja i ranoj konsolidaciji pokreta, ali ne i u kasnijoj konsolidaciji, kao i da rTMS-om možemo uspešno usporiti motorno učenje ukoliko se rTMS aplikuje u ranim fazama učenja. Slične nalaze potvrdile su i studije koje su ispitivale uticaj rTMS-a od 1Hz i cTBS-a na učenje brzih abdukcija kažiprsta (Baraduc i sar., 2004; Iezzi i sar., 2010). U svim navedenim studijama je za izvođenje korišćenih zadataka bila najbitnija brzina izvođenja, tako da su ispitanici bili fokusirani samo da što brže izvedu zadatak. Međutim, u literaturi nema studija koje su istraživale inhibitorni uticaj TMS-a na izvođenje složenijih zadataka, u kojima bi ostvareni skor na zadatku zavisio od kombinacije više fizičkih sposobnosti.

TMS može izazvati i povećanje kortikomotorne ekscitabilnosti (Pascual-Leone i sar., 1994; Berardelli i sar., 1998), kao i kortikalni plasticitet kod zdravih ispitanika (Butefisch i sar., 2004). Dosadašnja istraživanja koja su imala za cilj poboljšanje motornog učenja dala su kontradiktorne rezultate. Repetitivna TMS visokih frekvencija i iTBS primenjivani pre samog početka učenja motornog zadatka sa serijskim vremenom reakcija ili sa brzim abdukcijama palca, u poređenju sa placebo stimulacijom poboljšale su motorno učenje (Kim i sar., 2004; Teo i sar., 2011). Takođe, Rajji i saradnici (2011) pokazali su da je LTP indukovani efekat pomoću PAS metode poboljšao motorno učenje mereno nakon 45min od stimulacije. Stimulacija je

primenjena nakon početnog izvođenja motornog zadatka koji se sastojao u preciznom praćenju pokretne tačke na elektronskoj tabli („Rotary pursuit“). Međutim, Agostino i sar. (2007; 2008) su u svojim studijama pokazali da uprkos povećanju kortikomotorne ekscitabilnosti M1 oblasti, bilo 5Hz rTMS-om ili iTBS-om, nije došlo do promena u učenju sa izvođenjem brzih balističkih abdukcija kažiprsta. TMS metode primenjivane su između dve serije izvođenja pokreta. U istraživanju Sczesny-Kaiser i saradnika (2009), rTMS protokol od 5Hz je primenjivan neposredno pre motornog učenja, gde je motorni zadatak bio sinhronizacija kontrakcija m. abductor pollicis brevis-a i m. deltoideus-a. Slično prethodnoj, rezultati ove studije pokazuju da nije postojala razlika u motornom učenju između onih koji su dobili rTMS od 5Hz i onih koji su imali placebo stimulaciju.

U svim napred prikazanim studijama je pretpostavljeno da će sa povećanjem ekscitabilnosti M1, doći do poboljšanja motornog učenja. U nekim prikazanim studijama je do toga stvarno i došlo (Kim i sar., 2004; Rajji i sar., 2011; Teo i sar., 2011), dok u drugim nije (Agostino i sar., 2007; Agostino i sar., 2008; Sczesny-Kaiser i sar., 2009). Slično ovome, kontradiktorni rezultati dobijeni su i na složenijim zadacima (Kim i sar., 2004; Sczesny-Kaiser i sar., 2009; Rajji i sar., 2011). Ovo je u oštroj suprotnosti sa rezultatima istraživanja inhibitornog efekta TMS-a, koji su svi manje-više saglasni. Potrebno je međutim napomenuti da su u ispitivanjima inhibitornog efekta TMS-a na motorno učenje korišćeni samo jednostavni motorni zadaci.

Povećanje kortikomotorne ekscitabilnosti se može izazvati i inhibitornim rTMS metodama aplikovanim na suprotnoj hemisferi mozga (Schambra i sar., 2003; Kobayashi i sar., 2004). Povećanje ekscitabilnosti suprotne hemisfere ostvaruje se u ovim situacijama indirektno tako što se inhibicijom stimulisane hemisfere inhibira i interhemisferična inhibicija koju preko *corpus callosum-a* stimulisana hemisfera ostvaruje na suprotnu (ne-stimulisanu) hemisferu. Tako indukovano povećanje ekscitabilnosti može izazvati ubrzanje motornog učenja ipsilateralnom rukom u odnosu na stimulisanu hemisferu što je pokazano u dve studije (Kobayashi i sar., 2009; Kobayashi, 2010). Motorni zadatak koji je korišćen u obe studije je bio serijsko vreme reakcije. Ubrzavanje učenja je primećeno kada je rTMS metoda (1Hz rTMS) primenjena pre početka motornog učenja (Kobayashi i sar., 2009), ali i kada je

primenjena u trenutku rane konsolidacije motornog učenja (između serija izvođenja zadatka) (Kobayashi, 2010).

Zbog razlika u dizajnim eksperimenta između prikazanih studija (različit vremenski obrazac izvođenja motornih zadataka, različita ruka koja izvodi zadatak, različit trenutak primene stimulacije, različita metoda stimulacije, različita hemisfera koja se stimuliše), još uvek se ne može definisati generalni stav kako TMS metoda aplikovana iznad M1 utiče na složenije zadatke u odnosu na jednostavnije i koja od primenjenih metoda je najefikasnija. Takođe, ulogu M1 oblasti je teško definisati zbog mnogo nekontrolisanih faktora koji potiču iz razlika u dizajnim prikazanih eksperimenta. Zapravo, postoji potreba da se na sličnom dizajnu istraživanja (isti vremenski obrazac izvođenja motornih zadataka, ista ciljna ruka koja izvodi zadatak, isti trenutak primene stimulacije i ista hemisfera za stimulaciju), ispita efekat primene različitih metoda i protokola TMS-a na motorno učenje. Neophodno je da efekat tih različitih metoda stimulacija, bude uvek ispitivan na istom jednostavnom i istom složenom zadatku. Tako koncipirana istraživanja bi mogla dati jasniju sliku o mogućnostima ubrzavanja ili usporavanja motornog učenja. Takođe, omogućila bi bolje razumevanje uloge M1 oblasti u početnom motornom učenju zadataka različite složenosti izvođenja.

S obzirom da nedominantna ruka lošije izvodi motorne zadatke od dominantne, može se pretpostaviti i da je verovatnoća dostizanja zasićenja na krivi motornog učenja (plafon efekat) manja za nedominantnu nego za dominantnu ruku (Teo i sar., 2011). Shodno tome, može se pretpostaviti da neuromodulacija korteksa nedominantne ruke (kontralateralni nedominantni korteks) ima veću mogućnost da izazove efekat na motorno učenje nego modulacija motornog korteksa dominantne hemisfere. Na osnovu ovih pretpostavki, može se zaključiti da je motorno učenje nedominantnom rukom pogodniji model za predloženi tip istraživanja.

2. PROBLEM, PREDMET I CILJ ISTRAŽIVANJA

Problem istraživanja je ispitivanje uticaja neinvazivne neuromodulacije primenjene na oblast primarnog motornog korteksa (M1) na motorno učenje.

Predmet istraživanja je evaluacija efekata različitih metoda i protokola TMS-a primenjenih na M1 oblast: da li, kako i koliko pojedini protokoli TMS-a putem izazivanja promena ekscitabilnosti M1, ubrzavaju ili usporavaju motorno učenje.

Opšti cilj istraživanja je ispitivanje uloge M1 oblasti u ranim fazama motornog učenja na jednostavnom i složenom zadatku kod odraslih osoba.

Na osnovu opšteg cilja istraživanja, sprovedeni su sledeći eksperimenti:

1. Efekat facilitirajuće intermitentne „*theta burst*“ stimulacije (TBS), primenjene na M1 na ubrzavanje motornog učenja - TBS facilitacija učenja.
2. Efekat inhibitorne kontinuirane TBS primenjene na M1 na usporavanje motornog učenja –TBS inhibicija učenja.
3. Efekat 10Hz repetitivne transkranijalne magnetne stimulacije (rTMS) primenjene na M1 na ubrzavanje motornog učenja –rTMS facilitacija učenja.
4. Efekat sekvencijalne bilateralne neuromodulacije putem TBS primenjene na M1 različitih hemisfera mozga na motorno učenje –Sekvencijalna bilateralna TBS facilitacija učenja.

Pojedinačni ciljevi i hipoteze, specifična metodologija, rezultati i diskusija, opisani su u svakom eksperimentu posebno. Opšta metodologija koja je zajednička za sve eksperimente, opisana je u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“, strana 27.

3. METODE KORIŠĆENE U ISTRAŽIVANJIMA

3.1. ISPITANICI

Za potrebe istraživanja regrutovani su studenti Univerziteta u Beogradu. Svi ispitanici su bili zdravi bez istorije neuroloških oboljenja. Pre uključivanja u studiju, ispitanicima su date sve neophodne informacije, objašnjenja i odgovori na bitna pitanja u vezi sa istraživanjem. Nakon toga, pročitali su formular za saglasnost sa eksperimentalnom procedurom, napisan u skladu sa Helsinškom deklaracijom, koji je sadržavao detaljan opis TMS procedura, kao i potencijalne rizike i koristi od učešća u studiji (prilog 2). Protokol je odobren od strane Etičkog komiteta Fakulteta sporta i fizičkog vaspitanja, Univerziteta u Beogradu (prilog 3). Svi ispitanici su dali pisanu saglasnost za učešće u istraživanju. Kriterijumi uključivanja u studiju bili su da ispitanik nikada nije podvrgavan nekoj TMS neuromodulatornoj metodi i da nema iskustva sa motornim zadacima koji se koriste u studiji. Kriterijumi isključivanja iz studije definisani su upitnikom o bezbednosnim i etičkim smernicama za korišćenje TMS-a (prilog 4). Niko od ispitanika nije potvrdno odgovorio ni na jedno od pitanja iz ovog upitnika.

Pre početka eksperimenta, svi ispitanici su dobijali upitnik za procenu dominantne strane tela (Oldfield, 1971) (prilog 5).

3.2. MERENJE EKSCITABILNOSTI

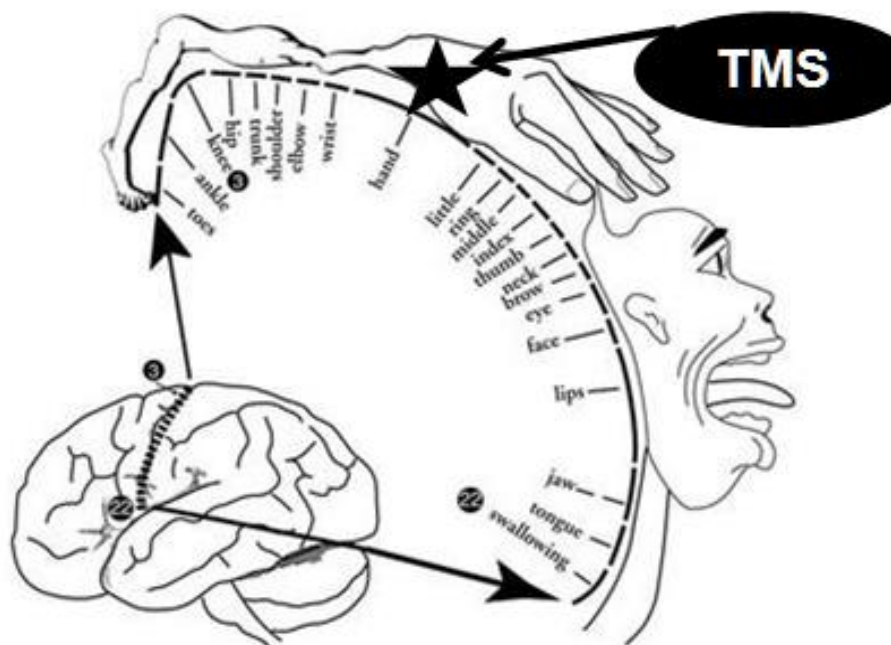
Ekscitabilnost je procenjivana na osnovu merenja veličine amplituda motornih evociranih potencijala (MEP) dobijenih pojedinačnim TMS stimulusima primarnog motornog korteksa (M1). Za ova merenja korišćen je mali mišić šake, prvi dorzalni interesalni mišić (1DI), koji je jedan od najviše angažovanih mišića u motornim zadacima koji su ispitivani.

Tokom eksperimenta ispitanici su sedeli u stolici. Sva ispitivanja izvođena su na nedominantnoj (levoj) ruci. Elektromiografska aktivnost (EMG) registrovana je sa 1DI mišića pomoću Ag-AgCl površinskih elektroda. Elektrode su montirane na mišić primenom tzv. „*belly – tendon*“ montaže koja podrazumeva postavljanje jedne elektrode na telo mišića, a druge na tetivu istog mišića. EMG aktivnost je pojačana (x

1000), filtrirana (1Hz do 1kHz), a zatim digitalizovana na 2kHz pomoću A/D konvertora CED 1401 (Cambridge Electrical Design, Cambridge, UK). Podaci su skladišteni u računaru za kasniju „*off-line*“ analizu.

Za stimulaciju je korišćen „*Magstim Rapid*“ stimulator (Magstim Ltd, UK) i 70mm kalem u obliku osmice. Kalem za stimulisanje inicijalno je postavljan lateralno od verteksa, sa centrom iznad tačke na razdaljini (od verteksa) koja je bila jednaka 20% ukupnog rastojanja između dve ušne školjke. To mesto na skalpu se nalazi direktno iznad reprezentacija mišića šake unutar M1 oblasti. Kalem je postavljan iskošeno tako da je drška kalema bila prema sagitalnoj ravni pod uglom od 45°, kako bi se magnetni talasi prostirali pod pravim uglom na centralni sulkus. Optimalna tačka za stimulaciju, ispod koje se nalazi reprezentacija 1DI mišića, određivana je pomeranjem kalema po skalpu u razmacima od 1cm, sve dok se ne pronađe odgovor 1DI mišića u vidu kratke abdukcije kažiprsta. Optimalna tačka za stimulaciju je bila definisana postojanjem konzistentnog trzaja praćenog postojanjem jasnog odgovora u EMG zapisu sa mišića.

Kada je identifikovana optimalna tačka za stimulaciju (*Slika 8*), pojedinačni TMS stimulusi su primenjivani iznad te lokacije za određivanje pasivnog motornog praga ili praga u miru (PMP) i aktivnog motornog praga (AMP). PMP je definisan kao najmanji potrebni intenzitet stimulusa koji može da proizvede MEP amplitude $\geq 50 \mu\text{V}$ merene od vrha do vrha MEP-a (*Slika 4a*) u 5 od 10 uzastopnih pokušaja (Rossini i sar., 1994). Aktivni motorni prag se procenjivao tokom slabe voljne aktivacije 1DI mišića (*Slika 4b*) i definisan je kao najmanji potrebni intenzitet stimulusa koji može da proizvede MEP amplitude $\geq 100 \mu\text{V}$ merene od vrha do vrha MEP-a u 5 od 10 uzastopnih pokušaja (Rossini i sar., 1994). Navedene procedure obavljane su samo jednom, na početku eksperimenta.



Slika 8. Mesto identifikacije optimalne tačke za stimulaciju ispod koje se nalazi reprezentacija 1DI mišića M1 oblasti kore velikog mozga.

Procena ekscitabilnosti motorne kore obavljena je merenjem amplituda MEP-ova od vrha do vrha, izazvanih pojedinačnim TMS stimulusima intenziteta 120% od PMP-a. MEP-ovi su mereni kada je mišić opušten, dok su pokušaji na kojima se primećivala EMG aktivnost izbacivani iz analize. Relaksiranost mišića se pratila na monitoru, odakle su i ispitanici dobijali vizuelnu povratnu informaciju njihovog EMG-a. Amplitude MEP-ova merile su se pre intervencije (T0), odmah nakon intervencije (T1) i 30 min nakon intervencije (T2). Deset MEP-ova snimljeno je u svakoj od vremenskih tačaka, a srednja vrednost deset amplituda uzeta je za dalju analizu.

3.1. TMS INTERVENCIJE

Na osnovu opšteg cilja istraživanja sprovedena su četiri eksperimenta u kojima su primenjivane različite TMS intervencije.

3.1.1. Intermittentna TBS

Stimulacija intermitentnom TBS, primenjivana je na nedominantnoj M1 oblasti (kontralateralna u odnosu na nedominantnu ruku). Intenzitet stimulacije bio je 80% od AMP-a. Korišćen je protokol iTBS-a gde se tokom 2s, na svakih 200 ms, emituju salve

od 3 TMS pulsa sa učestalošću od 50Hz. Interval između ovih grupa salvi je 8 sekundi, i protokol ima ukupno 600 pulseva (Huang i sar., 2005) (*Slika 7a*).

3.1.2. Kontinuirana TBS

Stimulacija kontinuiranom TBS, primenjivana je na nedominantnoj M1 oblasti. Intenzitet stimulacije bio je 80% od AMP-a. Korišćen je protokol cTBS kod koga se tokom 40s kontinuirano, na svakih 200ms (tj. sa učestalošću od 5Hz), emituju salve od po 3 TMS pulsa sa učestalošću od 50Hz. Protokol ima ukupno 600 pulseva (Huang i sar., 2005) (*Slika 7b*).

3.1.3. Repetitivna TMS od 10Hz

Stimulacija repetitivnom TMS od 10Hz primenjivana je na nedominantnoj M1 oblasti. Intenzitet stimulacije bio je 90% od PMP-a. Protokol stimulacije se sastoji u ponavljanom emitovanju nizova TMS stimulusa frekvencijom od 10Hz tokom 2s, sa intervalom između nizova od 58s. Protokol traje 20 minuta i ima ukupno 400 pulseva (prema Ziemann i sar., 2008) (*Slika 6*).

3.1.4. Placebo stimulacija

Placebo stimulacija je intervencija koja je korišćena u svim eksperimentima kod ispitanika kontrolnih grupa. Za ovu stimulaciju korišćen je placebo kalem za stimulisanje, koji je konstruisan tako da ne proizvodi magnetno polje dovoljne jačine da dosegne do kore mozga, ali su ostale karakteristike stimulacije identične primenjenoj TMS metodi (zvuk, vremenski obrasci). U zavisnosti od toga koja je metoda stimulacije primenjivana, korišćene su placebo TBS i placebo rTMS intervencije.

Kod svih TMS intervencija, mišićna aktivnost je praćena u realnom vremenu, na osnovu EMG zapisa, kako bi se potvrdilo relaksirano stanje pre i tokom stimulacije.

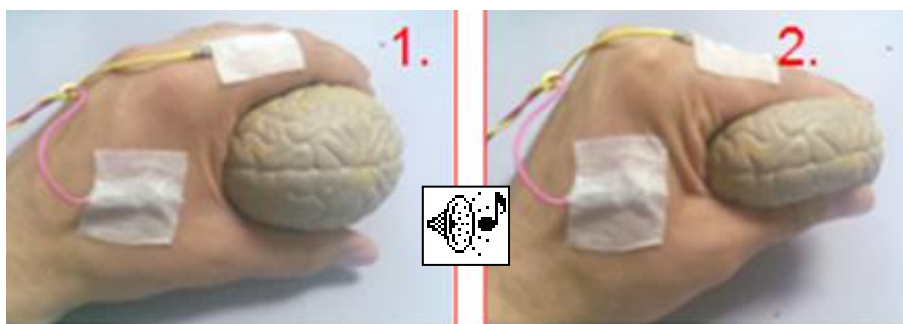
3.2. MOTORNI ZADACI

Za procenu motornog učenja koristili smo dva zadatka, koji su bili različiti po složenosti izvođenja i po dominantnoj fizičkoj sposobnosti koja preovladava tokom izvođenja zadatka. Prvi zadatak bio je vreme reakcije na zvučni signal (VR),

okarakterisan kao jednostavniji zadatak sa brzinom kao dominantnom fizičkom sposobnošću. Drugi korišćeni zadatak bio je *Purdue pegboard* test (PPT) koji je složeniji zadatak u kome je manuelna spretnost bila dominantna fizička sposobnost pri izvođenju.

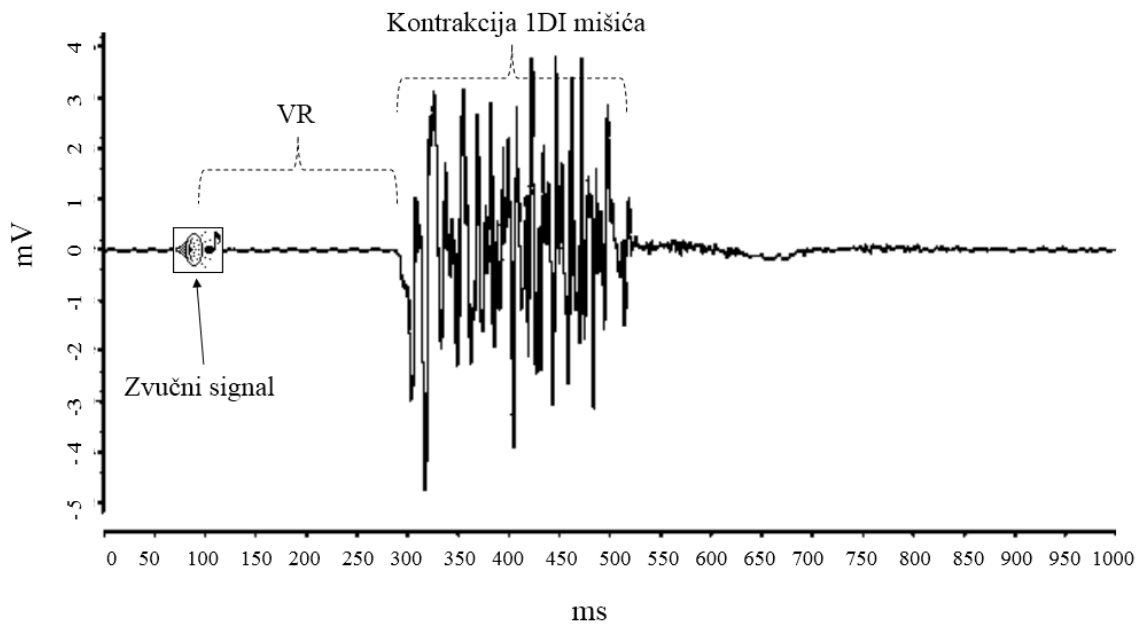
3.2.1. Vreme reakcije

Kao test brzine reagovanja korišćen je VR u kome je zvučni signal (bip) ponavljan je na svakih 6-10 sekundi; interval između stimulusa je varirao po slučajnom rasporedu. Ispitanici su imali zadatak da stisnu elastični gumeni elipsoidni predmet između palca i kažiprsta (kontrakcija 1DI mišića) odmah nakon zvučnog signala (*Slika 9*). Kontrakcije su bile brze, kratke i snažne, a neophodno je bilo da mišić bude relaksiran pre i posle kontrakcije.



Slika 9. Test za merenje VR-a

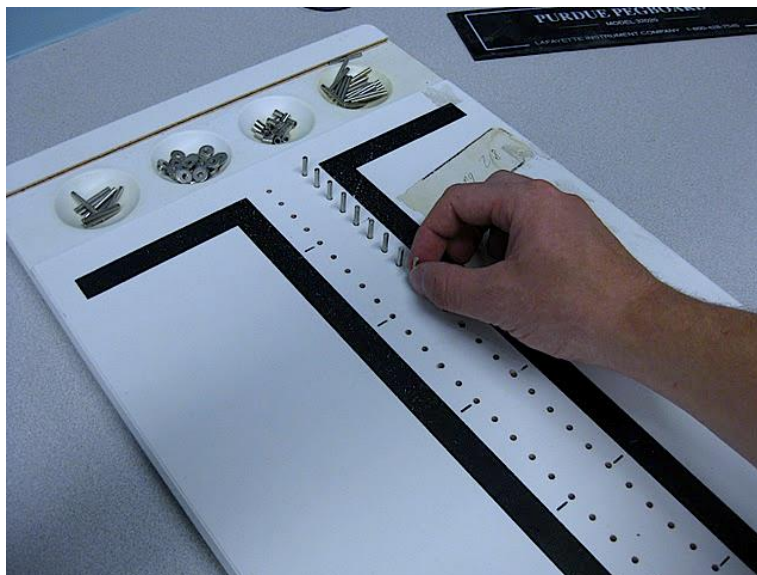
VR je mereno „*off-line*“ kao vreme od zvučnog stimulusa do početka kontrakcije u EMG zapisu sa 1DI-a (*Slika 10*). Deset EMG zapisa je snimano, a srednja vrednost deset pokušaja uzimana je za dalju statističku analizu. Merenje VR se izvodilo u T0, T1 i T2 vremenima. Ispitivač je pratio EMG zapis na monitoru radi kontrole ispravnosti odgovora i potvrde relaksiranog stanja mišića. Zapisi u kojima je identifikovano postojanje mišićne aktivnosti tokom perioda čekanja zvučnog stimulusa izbačeni su iz dalje analize.



Slika 10. EMG signal 1DI mišića. Vreme od početka zvučnog signala do početka kontrakcije predstavlja VR.

3.2.2. Purdue pegboard test

Za potrebe našeg istraživanja korišćen je originalni protokol PPT-a (Tiffin i Asher, 1948) (Slika 11). Test je inicijalno napravljen i korišćen u Americi za potrebe testiranja spretnosti radnika koji su zapošljavani u fabrikama oružja. Instrument je razvio Joseph Tiffin sa Purdue Univerziteta, koji je sa svojim kolegom E.J. Asherom uradio pouzdanost i validnost instrumenta i postavio norme za izvođenje (Tiffin i Asher, 1948). Dalja istraživanja potvrdila su da je *Purdue pegboard test* validan i pouzdan instrument za merenje manuelne spretnosti kod odraslih ispitanika (Buddenberg i Davis, 2000). Pokazano je takođe da ponavljanjem izvođenja PPT-a, ispitanici postižu sve bolje i bolje rezultate, čime je demonstrirano postojanje jasnog motornog učenja na ovom zadatku (Reddon i sar., 1988; Noguchi i sar., 2006).



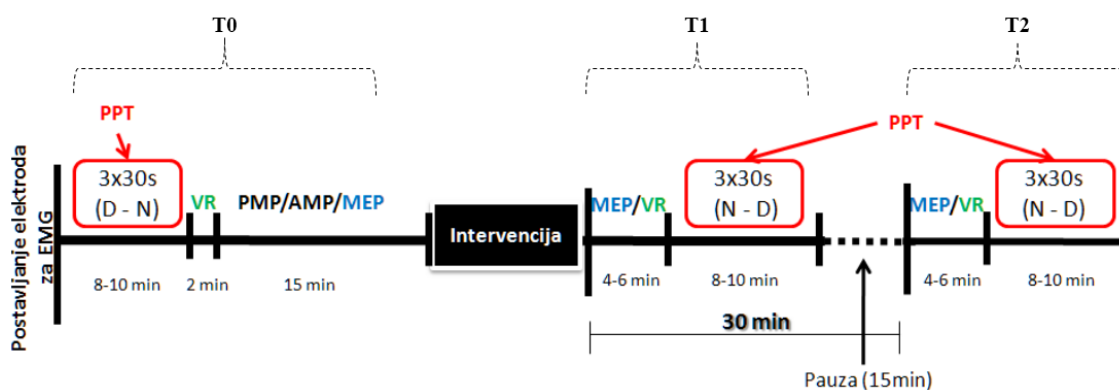
Slika 11. Purdue pegboard test

PPT je izvođen na standardizovanoj tabli (*Purdue pegboard*) (Lafayette Instruments model 32020, Lafayette, IN, USA). Korišćen je sledeći protokol izvođenja: Ispitanici su sedeli u stolici sa desnom i levom rukom udobno oslonjenom na tablu koja je bila čvrsto pričvršćena za sto. Visina stolice i pozicija *Purdue pegboard-a* prilagođeni su bili da dozvole udobno kretanje ruku preko cele površine table. PPT se sastojao u uzimanju pojedinačnih klinova iz udubljenja i ubacivanje istih u rupice na tabli. Rupice su imale prečnik za nijansu veći od prečnika klinova, tako da je bila neophodna preciznost prilikom postavljanja klinova u rupice. Izvođenje testa je bilo vremenski ograničeno na 30s. Postignuti skor na testu predstavljao je broj postavljenih klinova. Izvođeni su po tri pokušaja nedominantnom i tri pokušaja dominantnom rukom sa pauzom između pokušaja od oko 30s. Traženo je od ispitanika da uzimaju pojedinačne klinove pomoću palca i kažiprsta, kako bi 1DI mišić bio aktivan tokom izvođenja. Dominantne fizičke sposobnosti prilikom izvođenja ovog testa su manuelna koordinacija i preciznost. Koordinacija je potrebna za brzo uzimanje klinova iz udubljenja i rotaciju klinova između prstiju prilikom postavljanja u rupe, dok je preciznost bitna pri ubacivanju klinova u same rupe. Instrukcija koja se davala ispitanicima je bila da uvek u svakom pokušaju moraju da daju sve od sebe i da ubace što je moguće više klinova. Test se sprovodio u T0, T1 i T2 vremenskim trenucima.

3.3. EKSPERIMENTALNI DIZAJN

Eksperimentalni dizajn prikazan je na Slici 12. Na početku ispitivanja u vremenu označenom kao T0, urađene su sledeće procedure: ispitanici su izvodili PPT dominantnom i nedominantnom rukom, nakon čega su im mereni VR, PMP, AMP i MEP. Po završetku navedenih procedura, primenjivala se TMS intervencija. Karakteristike i tip TMS intervencije definisane su za svaki eksperiment posebno. U T1 i T2 vremenima, merili su se MEP, VR i PPT. Pauza između ove dve serije merenja bila je 15 minuta.

Kao što se može videti sa slike 12, u T0 vremenu je PPT zadatak prvo izvođen dominantnom pa nedominantnom rukom, dok je nakon stimulacije redosled bio obrnut. Razlog tako postavljenog dizajna je zbog eliminisanja mogućeg transfera učenja sa dominantne ruke na nedominantnu ruku (Kumar i Mandal, 2005). Naime, ukoliko bi pre intervencije dominantnom rukom izvodili PPT nakon nedominantne, postojao bi nekontrolisani faktor transfera učenja koji bi mogao da poveća ili smanji efekat intervencije (u zavisnosti od tipa primenjene intervencije). Na sličan način, izvođenje PPT-a dominantnom pa nedominantnom rukom nakon intervencije, takođe bi mogao da proizvede transfer učenja, što bi otežalo praćenje efekta intervencije na motorno učenje.



Slika 12. Eksperimentalni dizajn (*D* – dominantna ruka; *N* – nedominantna ruka; *PPT* – Purdue pegboard test; *VR* – vreme reakcije na zvučni signal; *PMP* – pasivni motorni prag; *AMP* – aktivni motorni prag; *MEP* – motorni evocirani potencijal).

3.4. STATISTIČKA ANALIZA

Za analizu početnih razlika između grupa, korišćen je T-test za nezavisne uzorke sa Bonferoni korekcijom za više poređenja. Poređene su početne apsolutne vrednosti

rezultata za varijable koje su testirane pre zadavanja planirane TMS intervencije. Statistički značajnim rezultatom smatran je onaj koji je bio manji od $0,05/\text{broj poređenja}$ (Bonferoni korekcija za više poređenja). Hi kvadrat test sa Jejtsovom korekcijom, korišćen je da ispita razlike između grupa po broju uključenih muškaraca i žena.

Za oba motorna zadatka (PPT, VR) i amplitude MEP-a, statistička analiza je rađena na relativnim vrednostima rezultata, koji su normalizovani u odnosu na rezultat testa u T0. Za svaki vremenski trenutak i za svaku ruku posebno korišćene su srednje vrednosti od tri pokušaja PPT-a. Takođe koristili smo srednje vrednosti amplitude MEP-a i srednje vrednosti VR-a za svaki vremenski trenutak. Grupne razlike i efekat primenjene intervencije, analiziran je pomoću kombinovane dvofaktorske analize varijanse sa ponovljenim merenjima sa faktorom „Vreme“ (T0, T1, T2) i faktorom „Grupa“ (GRUPA_{TMS} i Placebo). Za *post hoc* analizu korišćen je LSD *post hoc* test. Statistički značajnim rezultatom smatran je onaj gde je p vrednost bila manja od 0,05.

4. EFEKAT FACILITIRAJUĆE INTERMITENTNE TBS PRIMENJENE IZNAD OBLASTI MOTORNOG KORTEKSA NA UBRZAVANJE MOTORNOG UČENJA

4.1. UVOD

U ovom eksperimentu, primenjen je intermitentni TBS protokol (iTBS) za stimulaciju M1 oblasti kojim se izaziva povećanje ekscitabilnosti M1 oblasti (Huang i sar., 2005). Osnovni elemenat svih TBS protokola je regularno ponavljanje salvi TMS stimulusa, s tim što se unutar salvi TMS stimulusi isporučuju sa frekvencijom od 50Hz dok se salve ponavljaju u teta ritmu (5Hz). Kod iTBS stimulacija se odvija intermitentno, tj. u blokvima od 2 – 4s sa pauzama između blokova 8 – 10s. Stimulacija je primenjivana neposredno nakon izvođenja motornih zadataka u trenutku rane konsolidacije motornog učenja. Rezultati dobijeni izvođenjem motornih zadataka (VR i PPT) su korišćeni za ispitivanje efekta iTBS protokola primenjenog na M1 oblast (iTBS-M1).

4.2. CILJEVI I HIPOTEZE

Za ispitivanje efekta iTBS-M1 na motorno učenje, postavljena su tri cilja i četiri hipoteze.

- Cilj 1: Ispitivanje efekta iTBS-M1 na promenu ekscitabilnosti M1 oblasti.
 - Hipoteza 1: iTBS će povećati ekscitabilnost motorne kore.
- Cilj 2: Ispitivanje efekta iTBS-M1 na VR.
 - Hipoteza 2: iTBS će skratiti VR.
- Cilj 3: Ispitivanje efekta iTBS-M1 na motorno učenje na PPT-u nedominantnom (ciljnom) i dominantnom rukom.
 - Hipoteza 3.1: iTBS će ubrzati motorno učenje nedominantnom rukom.
 - Hipoteza 3.2: iTBS neće promeniti motorno učenje dominantnom rukom.

4.3. METODE

4.3.1. Ispitanici

U studiji je učestvovalo 24 zdrava ispitanika. Selekcija ispitanika i druge pripremne aktivnosti koje su obavljene sa ispitanicima pre početka eksperimenta, opisane su u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 27). Dva ispitanika (1M + 1Ž) su zbog odsustva očekivanog fiziološkog odgovora na iTBS (porast ekscitabilnosti M1), isključeni iz analize, tako da je analizirano 22 ispitanika starosti 25 ± 3 godine. Svi ispitanici su bili desnoruki sa stepenom lateralizovanosti L.Q. = 77.8 ± 10.3 (Oldfield, 1971). Ispitanici su podeljeni u dve grupe: eksperimentalna grupa koja je bila podvrgnuta iTBS protokolu (GRUPA_{iTBS}) sa 10 ispitanika (6 M i 4 Ž) i kontrolna grupa koja je bila podvrgnuta placebo TBS metodi (KONTROLA_{TBS}) sa 12 ispitanika (7 M i 5 Ž).

4.3.2. Merenje ekscitabilnosti

Ekscitabilnost M1 procenjavana je na osnovu amplituda MEP-a, na način opisan u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 27).

4.3.3. Motorni zadaci

Korišćena su dva motorna zadatka, VR i PPT, kao što je opisano u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 28). Praćeno je vreme reagovanja na zvučni signal (VR), kao i skorovi na PPT-u za dominantnu (PPTd) i nedominantnu ruku (PPTn).

4.3.4. Intervencija

Kod ispitanika eksperimentalne grupe korišćena je iTBS intervencija prikazana u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 29), dok je kod ispitanika kontrolne grupe korišćena placebo TBS intervencija, takođe prikazana u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 30).

4.3.5. Eksperimentalni dizajn

Korišćen je eksperimentalni dizajn prikazan u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 34).

4.3.6. Statistička analiza

Korišćeni su postupci statističke analize podataka kao što je opisano u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 34).

4.4. REZULTATI

Poređenjem grupa (GRUPA_{iTBS} i KONTROLA_{TBS}) po starosti ispitanika, stepenu lateralizovanosti, vrednosti PMP-a, početnoj ekscitabilnosti (MEP_{T0}), po vrednostima VR-a i skorovima na PPTn-u i PPTd-u pre intervencije pokazano je da nije bilo razlika između grupa (Tabela 2). Takođe, nije bilo razlike između polova u navedenim varijablama, kao ni u broju uključenih muškaraca i žena (Hi kvadrat test sa Jejtsovom korekcijom: $\chi^2 = 0,000$; $p = 1,000$).

Niko od ispitanika nije imao neprijatnih senzacija prilikom aplikovanja iTBS-a, ni neželjenih posledica (npr. glavobolja ili pospanost) nakon primene protokola.

Tabela 2. Početne vrednosti i značajnosti razlika između grupa (GRUPA_{iTBS} i KONTROLA_{TBS}) pre intervencije.

	Srednja vrednost \pm SD		T test	
	iTBS	Placebo	T (df = 20)	P
Starost (god)	25 \pm 3,4	26 \pm 1,9	0,706	0,488
Stepen lateralizovanosti	81 \pm 10,5	74 \pm 9,7	-1,155	0,273
PMP (%)	60 \pm 10,6	61 \pm 10,5	0,103	0,919
MEP _{T0}	1,7 \pm 1,7	1,8 \pm 1,7	0,155	0,878
VR (s)	0,20 \pm 0,01	0,21 \pm 0,03	0,667	0,512
PPTn	15 \pm 1,3	16 \pm 1,4	1,626	0,120
PPTd	16 \pm 1,3	17 \pm 1,2	0,864	0,398

Kriterijum značajnosti sa Bonferoni korekcijom je $p < 0,007$.

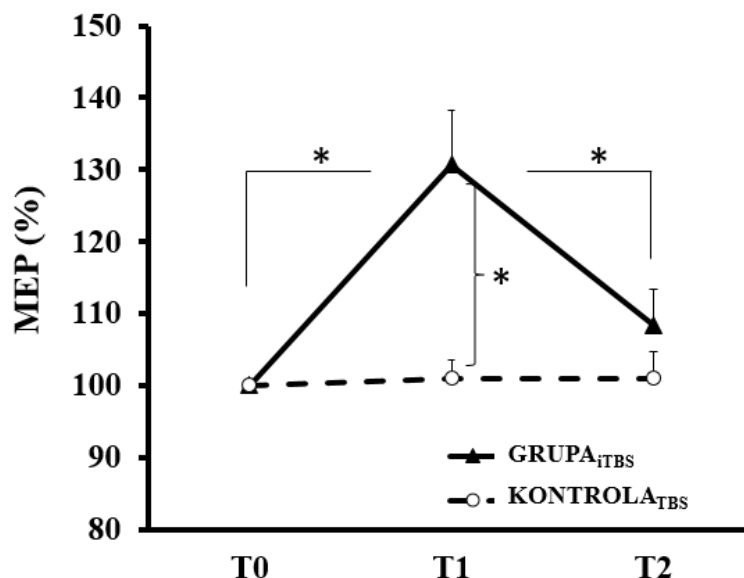
4.4.1. Ekscitabilnost

Rezultati analize normalizovanih amplituda MEP-a (ANOVA - Tabela 3), pokazali su značajan efekat faktora „Vreme“, efekat faktora „Grupa“ i efekat interakcije faktora „Vreme x Grupa“. *Post hoc* analizom amplituda MEP-a unutar grupa pokazano je da su kod ispitanika iz GRUPA_{TBS} amplitude u T1, značajno veće nego amplitude u T0 ($p = 0,003$) (Slika 13), dok se u vremenu T2 ekscitabilnost vraća na početni nivo tako da je veličina amplituda MEP-a u T2 slična amplitudama MEP-a u T0 ($p = 0,125$). Amplitude MEP-a ispitanika iz KONTROLA_{TBS} grupe nisu se značajno razlikovale između sva tri vremenska trenutka (za sva poređenja $p > 0,686$). *Post hoc* analiza razlika između grupa pokazala je značajno veću ekscitabilnost ispitanika iz GRUPA_{TBS} u odnosu na ispitanike iz KONTROLA_{TBS} grupe ($p = 0,001$) u vremenu T1 (Slika 13), dok u vremenu T2 nije bilo razlika između grupa ($p = 0,242$).

Tabela 3. Rezultati kombinovane ANOVE 3x2 (faktor „Vreme“ i faktor „Grupa“), za varijable MEP, VR, PPTn i PPTd.

	Vreme ($F_{(df, error df)}$)	Vreme x Grupa ($F_{(df, error df)}$)	Grupa ($F_{(df, error df)}$)
MEP	9,032** (2, 19)	7,728** (2, 19)	12,775** (1, 20)
VR	0,279 (2, 19)	0,124 (2, 19)	0,079 (1, 20)
PPTn	30,674** (2, 19)	4,462* (2, 19)	0,102 (1, 20)
PPTd	23,390** (2, 19)	0,709 (2, 19)	0,154 (1, 22)

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$



Slika 13. Promena ekscitabilnosti M1 oblasti tokom vremena kod GRUPA_{iTBS} i KONTROLA_{TBS} grupe. Prikazane su srednje vrednosti (normalizovane u odnosu na T0) \pm SEM. Puna linija označava grupu koja je imala iTBS stimulaciju, a isprekidana linija grupu koja je imala placebo stimulaciju. Zvezdica (*) označava nivo značajnosti od $p < 0,05$.

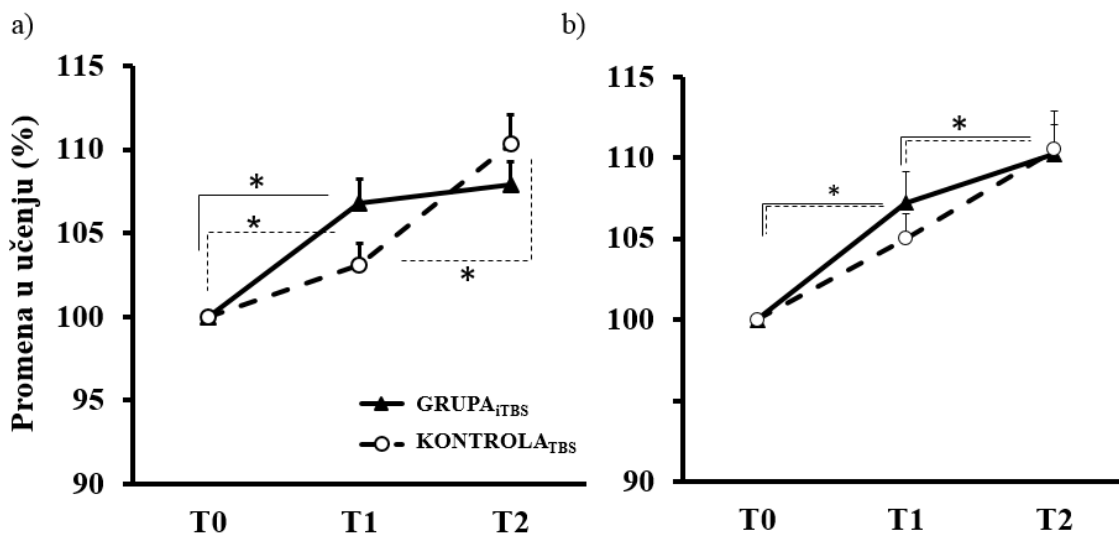
4.4.2. Motorni zadaci

Vrednosti VR-a se nisu značajno menjale tokom vremena i bile su slične kod ispitanika obe ispitivane grupe (Tabela 3).

Rezultati na PPT-u ukazuju na postojanje učenja kod ispitanika obe grupe za obe ruke (Slika 14). Za nedominantnu ruku bio je značajan efekat faktora „Vreme“, dok efekat faktora „Grupa“ nije bio značajan. Međutim, efekat interakcije faktora „Vreme x Grupa“ bio je značajan (Tabela 3). *Post hoc* analiza je pokazala da su ispitanici iz GRUPA_{iTBS} značajno naučili u T1 vremenu u odnosu na T0 ($p = 0,001$), dok se u T2 vremenu primećuje zastoj u učenju (T1 naspram T2; $p = 0,481$). Ispitanici KONTROLA_{TBS} grupe su isto pokazali značajan napredak u motornom učenju u T1 naspram T0 ($p = 0,029$), ali za razliku od GRUPA_{iTBS}, u T2 vremenu nastavljaju da uče, (T1 naspram T2; $p = 0,000$) (Slika 14a). Razlike u učenju između grupa u vremenu T1 ukazuje na trend ka boljem učenju ispitanika iz GRUPA_{iTBS}, ali razlika nije bila značajna ($p = 0,067$) (Slika 14a). U vremenu T2, motorno učenje ispitanika obe grupe nije se značajno razlikovalo ($p = 0,293$).

Analizom rezultata PPT-a za dominantnu ruku, pokazan je značajan efekat faktora „Vreme“, dok efekat faktora „Grupa“ i efekat interakcije faktora „Vreme x

Grupa“ nisu bili značajni (Tabela 3). Naime, ispitanici obe grupe su pokazali slično poboljšanje u učenju tokom vremena. Efekat učenja je bio značajan u vremenu T1 u odnosu na vreme T0 ($p = 0,000$), kao i u vremenu T2 u odnosu na vreme T1 ($p = 0,002$) (Slika 14b).



Slika 14. Promene u motornom učenju tokom izvođenja PPT-a, a) za nedominantnu ruku i b) za dominantnu ruku. Prikazane su srednje vrednosti (normalizovane u odnosu na T0) \pm SEM. Puna linija označava grupu koja je imala iTBS stimulaciju, a isprekidana linija grupu koja je imala placebo stimulaciju. Zvezdica (*) označava nivo značajnosti od $p < 0,05$.

4.5. DISKUSIJA

U ovom eksperimentu je ispitivan efekat iTBS-M1 na VR i rano motorno učenje na PPT-u. U skladu sa prvom hipotezom, pokazano je da iTBS podiže ekscitabilnost M1, dok se kod ispitanika KONTROLA_{TBS} grupe ekscitabilnost nije menjala tokom vremena. Porast ekscitabilnosti M1 nakon aplikovanja iTBS protokola u skladu je sa rezultatima drugih studija koje su se bavile ovom temom (Huang i sar., 2005; Agostino i sar., 2008; Teo i sar., 2011; Cardenas-Morales i sar., 2013).

Vrednosti VR-a se nisu značajno menjale tokom vremena i bile su slične kod ispitanika obe ispitivane grupe. Mogući razlog za nepostojanje efekta iTBS-M1 na VR može biti u jednostavnosti motornog zadatka. Kratko vreme izvođenja zadatka (≈ 200 ms) sugeriše da je VR jednostavan motorni zadatak za čije izvođenje je neophodna relativno mala aktivnost kortikalnih regiona. Bazni nivo aktivnosti motornog korteksa (PMP, MEP_{T0}) kod zdravih ljudi je očigledno dovoljan za optimalno izvođenje VR-a, tako da povećanje ekscitabilnosti motorne kore nije moglo da izazove značajne

promene u izvođenju, što se slaže i sa rezultatima studije Ragert-a i saradnika (2009). Oni su ispitivali efekat sekvencijalne bilateralne stimulacije M1 oblasti na motorno učenje zdravih ispitanika. Pratili su izvođenje i učenje VR-a nedominantnom rukom pre i posle bilateralne stimulacije. Jedan od više korišćenih protokola stimulacije u studiji, sastojao se u aplikovanju placebo rTMS metode na dominantnoj M1 oblasti nakon čega je aplikovan ekscitatorni iTBS protokol na nedominantnoj M1 oblasti. Slično rezultatima naše studije, dobili su povećanje ekscitabilnosti M1 oblasti (kontralateralne u odnosu na nedominantnu ruku), ali nije bilo promena u izvođenju VR-a. Međutim, za razliku od zdravih ispitanika, studije koje su rađene na pacijentima nakon moždanog udara su pokazale drugačije rezultate (Talelli i sar., 2007; Sung i sar., 2013). Povećanje ekscitabilnost M1 oblasti oštećene hemisfere pomoću TMS metoda dovodilo je do značajnog skraćenja VR-a. Može se pretpostaviti da kod ovakvih ispitanika bazalna aktivnost M1 i funkcionalno povezanih struktura nije na optimalnom nivou (tj. niža je nego kod zdravih ispitanika), te je samim tim i mogućnost menjanja VR-a veća.

Rezultati na složenijem motornom zadatku (PPT) su pokazali da je postojalo motorno učenje kod ispitanika obe grupe za obe ruke. Promena ekscitabilnosti kontralateralne M1 oblasti nije značajno ubrzala motorno učenje, ali je izazvala promenu prirodnog obrasca učenja nedominantnom rukom. Povećanje ekscitabilnosti M1, koincidiralo je sa trendom ka brzom početnom učenju nedominantnom rukom kod ispitanika iz GRUPA_{iTBS} (vreme T1, *Slika 14a*), made ne i značajno bržem u odnosu na ispitanike KONTROLA_{TBS} grupe. U vremenu T2 kod ispitanika iz GRUPA_{iTBS} dolazi do zastoja u učenju nedominantnom rukom, za razliku od ispitanika KONTROLA_{TBS} grupe koji nastavljaju da uče. Međutim, uprkos ovim razlikama krajnji napredak u učenju motornog zadatka je bio sličan za obe grupe.

Nemogućnost da se TMS-om ubrza učenje pokazana je i u studiji Agostino-a i saradnika (2008). Oni su ispitivali efekat iTBS-M1 na motorno učenje brzih pokreta abdukcije kažiprsta kontralateralne (desne) šake. Stimulacija je primenjivana između blokova izvođenja pokreta. Izabrana metoda stimulacije je izazvala povećanje ekscitabilnosti M1, ali nije bilo značajnih razlika u učenju između ispitanika koji su dobili iTBS protokol i ispitanika koji su dobili placebo stimulaciju. Interesantno je da nije bilo razlika ni kada je posle 30 minuta testirana retencija naučenog. Sa druge strane, studija Teo-a i saradnika (2011) je ispitivala efekat iTBS-M1 nedominantne hemisfere i

dala je drugačije rezultate. Motorno učenje nedominantnom rukom je poboljšano kod ispitanika koji su dobili iTBS protokol u odnosu na ispitanike koji su dobili placebo stimulaciju. Stimulacija je zadavana pre motornog učenja balističkih abdukcija palca šake, a kao varijablu motornog učenja pratili su maksimalno ubrzanje pokreta. Razlike između dobijenih rezultata u našoj studiji i studijama Agostino-a i saradnika (2008), s jedne strane, i Teo-a i saradnika (2011), s druge strane, najverovatnije su posledica različitih dizajna eksperimenata. U našoj studiji i studiji Agostino-a i saradnika (2008), iTBS protokol je primenjivan između blokova učenja zadatka u trenutku rane konsolidacije učenja, za razliku od studije Teo-a i sar. (2011) kada se iTBS protokol primenjivao pre bilo kakvog učenja. Iz ovog bi se moglo zaključiti da iTBS aplikovan pre motornog učenja poboljšava učenje, dok ukoliko se aplikuje u ranoj konsolidaciji učenja ne doprinosi poboljšanju.

Ako uporedimo obrazac promena amplituda MEP-a tokom vremena (*Slika 13*) i obrazac promene u motornom učenju nedominantnom rukom (*Slika 14a*) kod ispitanika iz GRUPA_{iTBS}, vidimo da značajna promena ekscitabilnosti (funkcionalni plasticitet) u smislu spuštanja na početni nivo (inhibitorna faza) koincidira sa zaustavljanjem procesa učenja (kriva T1 – T2). Na osnovu ovoga moglo bi se zaključiti da na motorno učenje utiče pre svega funkcionalni plasticitet u vidu promene ekscitabilnosti M1, a ne sama veličina ekscitabilnosti M1 u trenutku učenja.

Proces motornog učenja dominantnom rukom na PPT-u bio je sličan za obe ispitivane grupe. Odsustvo efekta iTBS-a na učenje ipsilateralnom rukom može se objasniti time, što je jedna od karakteristika TBS metode selektivna aktivacija ograničene sub-populacije interneurona u motornom korteksu (Huang i Rothwell, 2004), tako da najverovatnije ne dolazi do aktivacije interneuronskih struktura zaduženih za interhemisferiču interakciju, koja bi možda uticala na učenje ipsilateralnom rukom. U literaturi nema studija koje su se bavile uticajem iTBS protokola na učenje ipsilateralnom rukom, te ova studija predstavlja prvi pokušaj u tom pravcu.

5. EFEKAT INHIBITORNE KONTINUIRANE TBS PRIMENJENE IZNAD OBLASTI MOTORNOG KORTEKSA NA USPORAVANJE MOTORNOG UČENJA

5.1. UVOD

U ovom eksperimentu, primenjen je kontinuirani TBS protokol (cTBS) za stimulaciju M1 oblasti kojim se izaziva smanjenje ekscitabilnosti M1 oblasti (Huang i sar., 2005). U ovom protokolu salve TMS stimulusa se kontinuiranom ponavljanju u teta ritmu tokom celog trajanja stimulacije. Stimulacija je primenjivana neposredno nakon izvođenja motornih zadataka u trenutku rane konsolidacije motornog učenja. Rezultati dobijeni na dva motorna zadatka su korišćeni za ispitivanje efekta cTBS protokola primenjenog na M1 oblast (cTBS-M1): vreme reakcije na zvučni signal (VR) i *Purdue pegboard* test (PPT).

5.2. CILJEVI I HIPOTEZE

Za ispitivanje efekta cTBS-M1 na motorno učenje, postavljena su tri cilja i četiri hipoteze.

- Cilj 1: Ispitivanje efekta cTBS-M1 na promenu ekscitabilnosti M1 oblasti.
 - Hipoteza 1: cTBS će smanjiti ekscitabilnost M1 oblasti.
- Cilj 2: Ispitivanje efekta cTBS-a na VR.
 - Hipoteza 2: cTBS će produžiti VR.
- Cilj 3: Ispitivanje efekta cTBS-M1 na motorno učenje na PPT-u nedominantnom (ciljnom) i dominantnom rukom.
 - Hipoteza 3.1: cTBS će usporiti motorno učenje nedominantnom rukom.
 - Hipoteza 3.2: cTBS neće promeniti motorno učenje dominantnom rukom.

5.3. METODE

5.3.1. Ispitanici

U ovoj studiji je analizirano 24 zdrava ispitanika. Ispitanici su pripadali dvema grupama: eksperimentalna grupa koja je bila podvrgnuta cTBS protokolu (GRUPA_{cTBS}) sa 12 regrutovanih ispitanika (8 M i 4 Ž) i kontrolna grupa koja je bila podvrgnuta placebo TBS metodi (KONTROLA_{TBS}) sa 12 ispitanika (7 M i 5 Ž). Ispitanici kontrolne grupe su snimljeni u prvoj studiji „TBS facilitacija učenja“, tako da su njihovi rezultati korišćeni za analizu u ovom eksperimentu. Dva ispitanika iz eksperimentalne grupe (1M + 1Ž) su zbog odsustva očekivanog fiziološkog odgovora na cTBS protokol (smanjenje ekscitabilnosti M1), isključena iz analize, tako da su rezultati 22 ispitanika starosti 26 ± 2 godine korišćeni za analizu dobijenih podataka. Selekcija ispitanika i druge pripremne aktivnosti koje su obavljene sa ispitanicima pre početka eksperimenta, opisane su u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 27). Svi ispitanici su bili desnoruki sa stepenom lateralizovanosti $L.Q. = 75,8 \pm 11,8$ (Oldfield, 1971).

5.3.2. Merenje ekscitabilnosti

Ekscitabilnost M1 oblasti procenjivana je na osnovu amplituda MEP-a, na način opisan u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 27).

5.3.3. Motorni zadaci

Korišćena su dva motorna zadatka, VR i PPT, kao što je opisano u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 28). Praćene su vrednosti vremena reagovanja na zvučni signal (VR) i skorovi na PPT-u za dominantnu (PPTd) i nedominantnu ruku (PPTn).

5.3.4. Intervencija

Kod ispitanika eksperimentalne grupe korišćena je cTBS intervencija prikazana u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 30), dok je kod ispitanika kontrolne grupe korišćena placebo TBS intervencija, takođe prikazana u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 30).

5.3.5. Eksperimentalni dizajn

Korišćen je eksperimentalni dizajn prikazan u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 34).

5.3.6. Statistička analiza

Korišćeni su postupci statističke analize podataka kao što je opisano u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 34).

5.4. REZULTATI

Poređenjem grupa (GRUPA_{cTBS} i KONTROLA_{TBS}) po starosti ispitanika, stepenu lateralizovanosti, vrednosti PMP-a, početnoj ekscitabilnosti (MEP_{T0}), po vrednostima VR-a i skorovima na PPTn-u i PPTd-u pre intervencije pokazano je da nije bilo razlika između grupa (Tabela 4). Takođe, nije bilo razlike između polova u navedenim varijablama, kao ni u broju uključenih muškaraca i žena (Hi kvadrat test sa Jejtsovom korekcijom: $\chi^2 = 0,015$; $p = 0,675$).

Niko od ispitanika nije imao neprijatnih senzacija prilikom aplikovanja cTBS-a, ni neželjenih posledica (npr. glavobolja ili pospanost) nakon primene protokola.

Tabela 4. Početne vrednosti i značajnosti razlika između grupa (GRUPA_{cTBS} i KONTROLA_{TBS}) pre intervencije.

	Srednja vrednost \pm SD		T test	
	cTBS	Placebo	T (df = 20)	P
Starost (god)	26 \pm 2,5	26 \pm 1,9	-0,304	0,764
Stepen lateralizovanosti	77 \pm 14,3	74 \pm 9,7	-0,429	0,677
PMP (%)	61 \pm 10,9	61 \pm 10,5	-0,116	0,908
MEP _{T0}	1,3 \pm 0,5	1,8 \pm 1,7	0,867	0,396
VR (s)	0,22 \pm 0,02	0,21 \pm 0,03	-0,204	0,840
PPTn	17 \pm 1,7	16 \pm 1,4	-1,92	0,069
PPTd	18 \pm 1,4	17 \pm 1,2	-2,368	0,028

Kriterijum značajnosti sa Bonferoni korekcijom je $p < 0,007$.

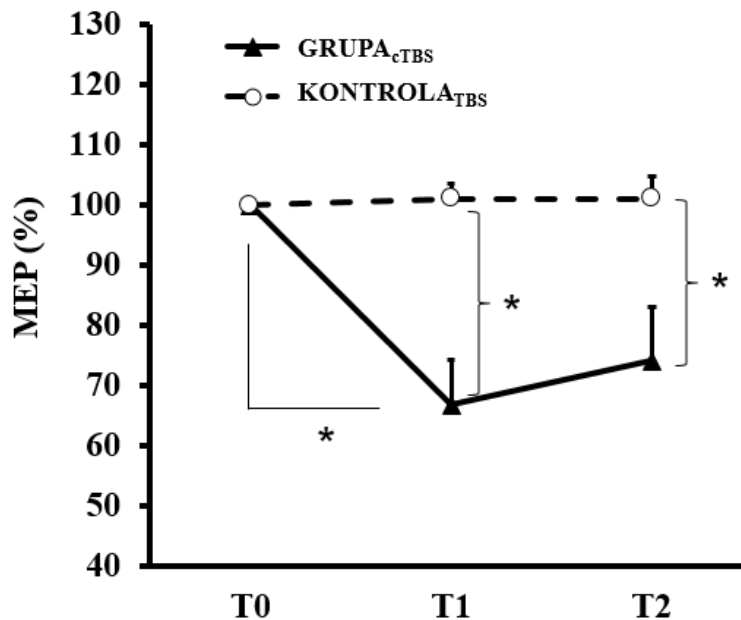
5.4.1. Ekscitabilnost

Rezultati analize normalizovanih amplituda MEP-a (ANOVA - Tabela 5), pokazali su značajan efekat faktora „Grupa“ i „Vreme“, kao i efekat interakcije faktora „Vreme x Grupa“. *Post hoc* analizom amplituda MEP-a unutar grupa pokazano je da su kod ispitanika iz GRUPA_{cTBS} izmerene, značajno manje amplitude u T1 i T2 vremenima nego u T0 (T0 naspram T1; $p = 0,002$ i T0 naspram T2; $p = 0,018$) (Slika 15). Kod ispitanika iz KONTROLA_{TBS} grupe, amplitude MEP-a nisu se razlikovale značajno između sva tri vremenska trenutka (za sva poređenja, $p > 0,686$). *Post hoc* analiza rezultata između grupa je pokazala postojanje značajnih razlika u ekscitabilnosti u vremenima T1 i T2, gde je značajno manja ekscitabilnost bila kod ispitanika iz GRUPA_{cTBS} u odnosu na ispitanike KONTROLA_{TBS} grupe (T1: $p = 0,000$; T2: $p = 0,008$) (Slika 15).

Tabela 5. Rezultati kombinovane ANOVE 3x2 (faktor „Vreme“ i faktor „Grupa“), za varijable MEP, VR, PPTn i PPTd.

	Vreme ($F_{(df, error\ df)}$)	Vreme x Grupa ($F_{(df, error\ df)}$)	Grupa ($F_{(df, error\ df)}$)
MEP	9,312** (2, 19)	10,540** (2, 19)	16,755** (1, 20)
VR	0,561 (2, 19)	0,356 (2, 19)	0,138 (1, 20)
PPTn	31,850** (2, 19)	3,894* (2, 19)	8,165** (1, 20)
PPTd	25,187** (2, 19)	2,048 (2, 19)	0,038 (1, 20)

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$



Slika 15. Promena ekscitabilnosti M1 tokom vremena kod GRUPA_{cTBS} i KONTROLA_{TBS} grupe. Prikazane su srednje vrednosti (normalizovane u odnosu na T0) \pm SEM. Puna linija označava grupu koja je imala cTBS stimulaciju, a isprekidana linija grupu koja je imala placebo stimulaciju. Zvezdica (*) označava nivo značajnosti od $p < 0,05$.

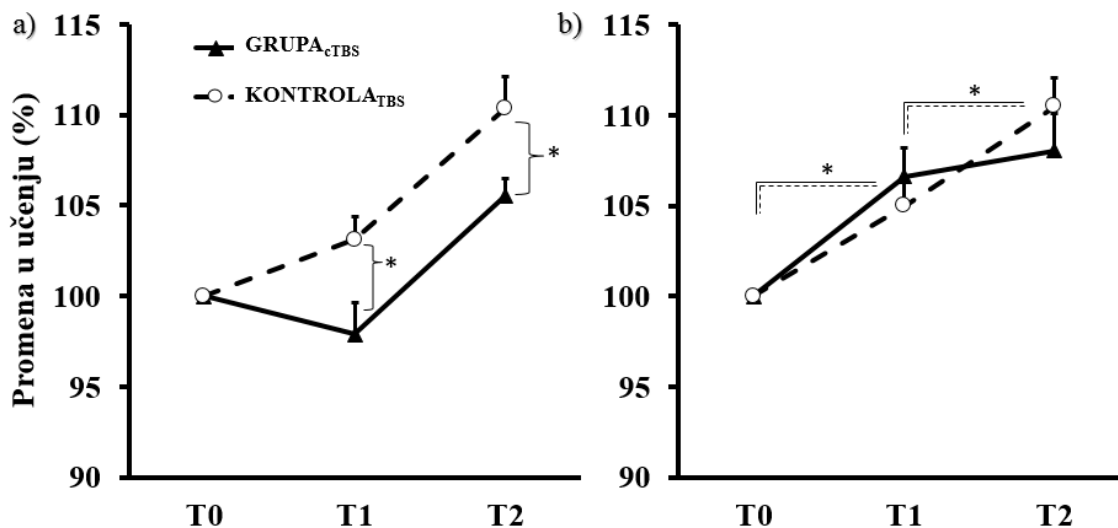
5.4.2. Motorni zadaci

Vrednosti VR-a se nisu značajno menjale tokom vremena i bile su slične kod ispitanika obe ispitivane grupe (Tabela 5).

Rezultati na PPT-u ukazuju na postojanje učenja kod ispitanika u obe grupe za obe ruke (Slika 16). Za nedominantnu ruku, postojali su značajni efekti faktora „Vreme“ i „Grupa“ i efekat interakcije faktora „Vreme x Grupa“ (Tabela 5). *Post hoc* analiza je pokazala da u vremenu T1 u odnosu na rezultat u T0 kod ispitanika iz GRUPA_{cTBS} ne dolazi do učenja ($p = 0,257$), dok su ispitanici KONTROLA_{TBS} grupe značajno učili ($p = 0,029$) (Slika 16a). U vremenu T2 ispitanici obe grupe su učili značajno u odnosu na prethodni vremenski period (GRUPA_{cTBS} - „T1 naspram T2; $p = 0,000$; KONTROLA_{TBS} - „T1 naspram T2; $p = 0,000$). Između grupa značajna razlika u motornom učenju postojala je u vremenima T1 i T2, gde su značajno manje naučili ispitanici iz GRUPA_{cTBS} u odnosu na ispitanike KONTROLA_{TBS} grupe (T1: $p = 0,021$; T2: $p = 0,032$).

Analizom rezultata PPT-a za dominantnu ruku, pokazan je značajan efekat faktora „Vreme“, dok efekat faktora „Grupa“ i efekat interakcije faktora „Vreme x

Grupa“ nije bio značajan (Tabela 5). Naime, ispitanici obe grupe su pokazali slično poboljšanje u učenju tokom vremena. Efekat učenja je bio značajan u vremenu T1 u odnosu na vreme T0 ($p = 0,000$), kao i u vremenu T2 u odnosu na vreme T1 ($p = 0,002$) (Slika 16b).



Slika 16. Promene u motornom učenju tokom izvođenja PPT-a, a) za nedominantnu ruku i b) za dominantnu ruku. Prikazane su srednje vrednosti (normalizovane u odnosu na T0) \pm SEM. Puna linija označava grupu koja je imala cTBS stimulaciju, a isprekidana linija grupu koja je imala placebo stimulaciju. Zvezdica (*) označava nivo značajnosti od $p < 0,05$.

5.5. DISKUSIJA

U ovom eksperimentu, cilj je bio ispitati uticaj cTBS-M1 na VR i uticaj na rano motorno učenje na PPT-u. Pokazano je da cTBS smanjuje ekscitabilnost M1, dok se kod ispitanika KONTROLA_{TBS} grupe ekscitabilnost nije menjala tokom vremena. Smanjenje ekscitabilnosti M1 nakon aplikovanja cTBS protokola je očekivano i u skladu je sa rezultatima drugih studija koje su se bavile ovom temom (Huang i sar., 2005; Iezzi i sar., 2010; Riek i sar., 2012).

Slično kao u eksperimentu „TBS facilitacija učenja“, cTBS-M1 nije uticao na VR. U našem eksperimentu cTBS protokolom smo smanjili nivo ekscitabilnosti M1, i indirektno nivo aktivacije, za 33%, ali ovo smanjenje nije bilo dovoljno da poremeti optimalno izvođenje VR-a kod zdravih ispitanika. Kao što je diskutovano u prethodnom eksperimentu, za optimalno izvođenje VR-a, usled relativne jednostavnosti zadatka, najverovatnije je potreban veoma mali stepen aktivacije primarne motorne kore, tako da

je „funkcionalna rezerva“ za obavljanje VR-a dovoljno velika da kompenzuje ovo smanjenje aktivacije.

Tokom vremena, ispitanici obe grupe učili su na PPT-u sa obe ruke, ali su postojale razlike kod učenja nedominantnom rukom. Smanjenje ekscitabilnosti M1 oblasti kod ispitanika iz GRUPA_{cTBS}, koincidiralo je sa lošijim motornim učenjem nedominantnom rukom na PPT-u, posmatrano u odnosu na ispitanike KONTROLA_{TBS} grupe. Slične nalaze našim mogu se videti u studiji Iezzi-a i saradnika (2010), u kojoj je ispitivan uticaj cTBS-M1 na motorno učenje kontralateralnom dominantnom rukom. Njihova studija se sastojala od dva eksperimenta učenja brzih abdukcija kažiprsta, gde su ispitivani amplituda pokreta, maksimalna brzina i maksimalno ubrzanje pokreta. U prvom eksperimentu se učenje sastojalo od 160 pokreta, a u drugom od 600 pokreta. Rezultati oba eksperimenta su pokazali da je cTBS značajno smanjila ekscitabilnost M1 oblasti što je uticalo na promenu motornog učenja. U prvom eksperimentu, usporeno je učenje u ranoj fazi sticanja veštine (faza akvizicije), ali i u ponovljenom testu (faza rane konsolidacije). Kod drugog eksperimenta, pogoršanje u učenju se vidi u ranoj fazi akvizicije i u ponovljenim testovima nakon 15 i 30 minuta. U testovima nakon 24 sata, gde je proveravano prisećanje naučenog, cTBS protokol nije pokazao neki uticaj. Dobijeni rezultati naše studije i studije Iezzi i saradnika (2010), ukazuju da cTBS protokol može da izazove pogoršanje učenja u ranoj fazi sticanja neke veštine.

Ako se posmatra obrazac promena amplituda MEP-a tokom vremena (*Slika 15*) i obrazac promena u motornom učenju nedominantnom rukom kod ispitanika iz GRUPA_{cTBS} (*Slika 16a*), vidi se da značajno smanjenje ekscitabilnosti koincidira sa značajnim usporavanjem učenja u odnosu na KONTROLA_{TBS} grupu (kriva T0 – T1, *Slika 16a*). Međutim, održavanje ekscitabilnosti na relativno istom nivou (kriva T1 – T2, GRUPA_{cTBS}, *Slika 15*), koincidira sa ponovnim uspostavljanjem procesa učenja koji po svojim karakteristikama (nagib krive učenja) odgovara onom kod ispitanika KONTROLA_{TBS} grupe (kriva T1 – T2, *Slika 16a*). U prilog zaključku da pad u ekscitabilnosti M1 dovodi do pogoršanja ranog motornog učenja ili pogoršanja rane konsolidacije, govore nam i rezultati studije Muellbacher-a i saradnika (2002) i studije Baraduc-a i saradnika (2004). Oni su ispitivali inhibitorni uticaj 15-minutnog rTMS-a od 1Hz, primenjivanog između serija izvođenja brzih balističkih pokreta (stisci kažiprstom i palcem u studiji Muellbacher-a i saradnika (2002) i abdukcije kažiprsta u

studiji Baraduc-a i saradnika (2004)). Navedena TMS metoda je u obe studije značajno usporila motorno učenje u odnosu na ispitanike kontrolnih grupa koji su dobili placebo stimulacije.

Proces motornog učenja dominantnom rukom na PPT-u je bio sličan za obe ispitivane grupe (*Slika 16*), isto kao u eksperimentu „TBS facilitacija učenja“. Odsustvo efekta cTBS-a na učenje ipsilateralnom rukom može se objasniti, isto kao kod prethodnog eskperimenta, relativnom selektivnosti TBS metode (Huang i Rothwell, 2004), kojom se najverovatnije ne aktiviraju interneuronska kola zadužena za interhemisferiču interakciju, a koja bi možda uticala na učenje ipsilateralnom rukom.

6. EFEKAT 10Hz REPETITIVNE TMS PRIMENJENE IZNAD MOTORNOG KORTEKSA NA UBRZAVANJE MOTORNOG UČENJA

6.1. UVOD

U ovom eksperimentu za stimulaciju M1 oblasti primenjivan je protokol repetitivne TMS sa učestalošću pulseva od 10Hz (rTMS_{10Hz}). Protokol izaziva povećanje ekscitabilnosti M1 oblasti (Ziemann i sar., 2008). Repetitivnu TMS karakteriše manji stepen specifičnosti aktiviranja interneuronskih populacija u odnosu na TBS metodu (Huang i sar., 2005), što znači da rTMS aktivira više različitih interneuronskih sistema čije interakcije mogu biti drugačije u odnosu na TBS metodu.

Stimulacija je primenjivana neposredno nakon izvođenja motornih zadataka u trenutku rane konsolidacije motornog učenja. Rezultati ostvareni na dva motorna zadatka su korišćeni za ispitivanje efekta rTMS_{10Hz} protokola primenjenog na M1 oblast (rTMS_{10Hz} - M1): vreme reakcije na zvučni signal (VR) i *Purdue pegboard test* (PPT).

6.2. CILJEVI I HIPOTEZE

Za ispitivanje efekta rTMS_{10Hz} - M1 na motorno učenje, postavljena su tri cilja i četiri hipoteze.

- Cilj 1: Ispitivanje efekta rTMS_{10Hz} - M1 na promenu ekscitabilnosti M1 oblasti.
 - Hipoteza 1: rTMS_{10Hz} će povećati ekscitabilnost M1 oblasti.
- Cilj 2: Ispitivanje efekta rTMS_{10Hz} - M1 na VR.
 - Hipoteza 2: rTMS_{10Hz} će skratiti VR.
- Cilj 3: Ispitivanje efekta rTMS_{10Hz} - M1 na motorno učenje na PPT-u nedominantnom (ciljnom) i dominantnom rukom.
 - Hipoteza 3.1: rTMS_{10Hz} će ubrzati motorno učenje nedominantnom rukom.

- Hipoteza 3.2: rTMS_{10Hz} će usporiti motorno učenje dominantnom rukom.

6.3. METODE

6.3.1. Ispitanici

U studiji je učestvovalo 36 zdravih ispitanika. Ispitanici su podeljeni u dve grupe: eksperimentalna grupa koja je bila podvrgnuta rTMS_{10Hz} protokolu (GRUPA_{rTMS}) sa 18 regrutovanih ispitanika (9 M i 9 Ž) i kontrolna grupa (KONTROLA_{TBS+rTMS}) koja je bila podvrgnuta placebo TMS metodama sa 18 ispitanika (10 M i 8 Ž). Ispitanike kontrolne grupe su činili 12 ispitanika KONTROLA_{TBS} grupe i novih 6 ispitanika koji su bili podvrgnuti placebo rTMS metodi. Rezultate ovih 6 novih ispitanika smo uporedili pomoću Kolmogorov-Smirnov testa sa rezultatima ispitanika KONTROLA_{TBS} grupe i pošto nije bilo značajnih razlika ni u jednoj testiranoj varijabli, ispitanici su spojeni u zajedničku kontrolnu grupu. Tri ispitanika iz eksperimentalne grupe (1M i 2Ž) su zbog odsustva očekivanog fiziološkog odgovora na rTMS_{10Hz} protokol (porast ekscitabilnosti M1), isključeni iz analize, tako da je analizirano 33 ispitanika starosti 26 ± 3 godine. Svi ispitanici su bili desnoruki sa stepenom lateralizovanosti L.Q. = $76,6 \pm 12,2$ (Oldfield, 1971).

6.3.2. Merenje ekscitabilnosti

Ekscitabilnost M1 oblasti procenjivana je na osnovu amplituda MEP-a, na način opisan u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 27).

6.3.3. Motorni zadaci

Korišćena su dva motorna zadatka, VR i PPT, kao što je opisano u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 28). Praćena su vremena reagovanja na zvučni signal (VR) i skorovi na PPT-u za dominantnu (PPTd) i nedominantnu ruku (PPTn).

6.3.4. Intervencija

Kod ispitanika eksperimentalne grupe korišćena je rTMS_{10Hz} intervencija prikazana u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 30), dok su kod ispitanika kontrolne grupe korišćene placebo TBS i placebo rTMS intervencije, takođe prikazane u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 30).

6.3.5. Eksperimentalni dizajn

Korišćen je eksperimentalni dizajn prikazan u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 34).

6.3.6. Statistička analiza

Korišćeni su postupci statističke analize podataka kao što je opisano u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 34).

6.4. REZULTATI

Poređenjem grupa (GRUPA_{rTMS} i KONTROLA_{TBS+rTMS}) po starosti ispitanika, stepenu lateralizovanosti, vrednostima u PMP-u, početnoj ekscitabilnosti (MEP_{T0}) po vrednostima VR-a i skorovima na PPTn-u i PPTd-u pre intervencije pokazano je da nije bilo razlika između grupa (Tabela 6). Takođe, nije bilo razlike u broju uključenih muškaraca i žena (Hi kvadrat test sa Jejtsovom korekcijom: $\chi^2 = 0,000$; $p = 1,000$).

Niko od ispitanika nije imao neprijatnih senzacija prilikom aplikovanja rTMS_{10Hz}, ni neželjenih posledica (npr. glavobolja ili pospanost) nakon primene protokola.

Rezultati analize normalizovanih amplituda MEP-a (ANOVA - Tabela 7), pokazala je značajne efekte faktora „Grupa“ i „Vreme“, kao i efekat interakcije faktora „Vreme x Grupa“. *Post hoc* analizom unutar grupa pokazano je da su kod ispitanika iz GRUPA_{rTMS} amplitude MEP-a izmerenog u T1 i T2, značajno veće nego amplitude MEP-a u T0 (T0 naspram T1; $p = 0,000$ i T0 naspram T2; $p = 0,000$). Amplitude MEP-a se kod ispitanika KONTROLA_{TBS+rTMS} grupe ne razlikuju značajno između sva tri vremenska trenutka (za sva poređenja $p > 0,343$). Analiza razlika između grupa pokazala je postojanje značajne razlike u ekscitabilnosti u vremenima T1 i T2, gde je

značajno veća ekscitabilnost bila kod ispitanika iz GRUPA_{rTMS} u odnosu na ispitanike KONTROLA_{TBS+rTMS} grupe (T1: $p = 0,000$; T2: $p = 0,000$).

Tabela 6. Početne vrednosti i značajnosti razlika između grupa (GRUPA_{rTMS} i KONTROLA_{TBS+rTMS}) pre intervencije.

	Srednja vrednost \pm SD		T test	
	GRUPA _{rTMS}	KONTROLA _{TBS+rTMS}	T (df = 31)	P
Starost (god)	27 \pm 3,1	26 \pm 2,1	-0,459	0,649
Stepen lateralizovanosti	78 \pm 15,9	75 \pm 8,8	-0,589	0,564
PMP (%)	53 \pm 7,1	60 \pm 9,6	2,208	0,035
MEP _{T0}	0,8 \pm 0,5	1,5 \pm 1,4	1,694	0,100
VR (s)	0,20 \pm 0,02	0,21 \pm 0,02	0,984	0,333
PPTn	16 \pm 1,3	16 \pm 1,4	0,031	0,975
PPTd	17 \pm 1,3	17 \pm 1,2	-0,406	0,687

Kriterijum značajnosti sa Bonferoni korekcijom je $p < 0,007$.

Vrednosti VR-a se nisu značajno menjale tokom vremena i bile su slične kod ispitanika obe ispitivane grupe (Tabela 7).

Analizom rezultata PPT-a za nedominantnu i dominantnu ruku, pokazan je značajan efekat faktora „Vreme“, dok efekat faktora „Grupa“ i efekat interakcije faktora „Vreme x Grupa“ nije bio značajan (Tabela 7). Naime, ispitanici obe grupe za obe ruke su pokazali slično poboljšanje u učenju tokom vremena.

Tabela 7. Rezultati kombinovane ANOVE 3x2 (faktor „Vreme“ i faktor „Grupa“), za varijable MEP, VR, PPTn i PPTd.

	Vreme ($F_{(df, error df)}$)	Vreme x Grupa ($F_{(df, error df)}$)	Grupa ($F_{(df, error df)}$)
MEP	23,745* (2, 30)	15,837* (2, 30)	29,028* (1, 31)
VR	0,755 (2, 30)	0,309 (2, 30)	0,005 (1, 31)
PPTn	36,276* (2, 30)	0,164 (2, 30)	0,258 (1, 31)
PPTd	25,409* (2, 30)	1,114 (2, 30)	1,593 (1, 31)

* $p < 0,001$

6.4.1. Uticaj pola

Pregledom pojedinačnih rezultata ispitanika iz GRUPA_{rTMS}, primećeno je da u zavisnosti od pola ispitanika nakon stimulacije dolazi do različitih obrazaca motornog učenja. Ovo se razlikovalo od nalaza kod ostalih eksperimenata gde su ispitanici eksperimentalne grupe imali slične rezultate za oba pola. Razlika u polu primećena je naročito u učenju na PPT-u u vremenu T1. Zbog ove razlike, urađena je na svim podacima statistička analiza sa dodatnim faktorom „Pol“ (trofaktorska ANOVA), a za analizu početnih razlika između grupa umesto T testa, korišćena je dvofaktorska analiza varijanse sa faktorom „Grupa“ i faktorom „Pol“.

Razlike između grupa (GRUPA_{rTMS} i KONTROLA_{TBS+rTMS}) i polova nisu postojale po stepenu lateralizovanosti, početnim amplitudama MEP-a (MEP_{T0}) i početnom VR-u (Tabela 8). S druge strane razlike su postojale kod starosti, PMP-a i početnih skorova na PPT-u. Kod starosti je bio značajan efekat faktora „Pol“ i interakcija faktora „Grupa x Pol“, dok efekat faktora „Grupa“ nije bio značajan (Tabela 8): muškarci su bili stariji od žena (M: 27,3 ± 2,3 god.; Ž: 25,8 ± 2,7 god.). *Post hoc* analiza je pokazala da se muškarci razlikuju od žena po starosti samo u GRUPA_{rTMS} ($p = 0,001$). Kod PMP-a, postojao je značajan efekat faktora „Grupa“ i efekat interakcije faktora „Grupa x Pol“, dok efekat faktora „Pol“ nije bio značajan (Tabela 8). Veće vrednosti PMP-a imali su ispitanici KONTROLA_{TBS+rTMS} grupe (59,7 ± 9,6) u odnosu na ispitanike iz GRUPA_{rTMS} (53,1 ± 7,1). *Post hoc* analiza je pokazala da se grupe razlikuju samo kod muškaraca ($p = 0,002$). Kod početnih skorova na PPT-u, kod obe ruke, bio je značajan efekat faktora Pol, dok efekti faktora „Grupa“ i interakcije faktora „Grupa x Pol“ nisu bili značajni (Tabela 8). Žene su, posmatrano za obe ruke, bile uspešnije od muškarca u početnom izvođenju PPT-a (PPTn: Ž = 16,5 ± 1,2; M = 15,2 ± 1,2 i PPTd: Ž = 17,4 ± 1,0; M = 16,5 ± 1,2).

Tabela 8. Početne razlike između grupa pre intervencije dobijeni 2x2 ANOVOM sa faktorom „Grupa“ (GRUPA_{rTMS} i KONTROLA_{TBS+rTMS}) i faktorom „Pol“ (M i Ž).

	Grupa ($F_{(df, error\ df)}$)	Grupa x Pol ($F_{(df, error\ df)}$)	Pol ($F_{(df, error\ df)}$)
Stepen lateralizovanosti	0,256 (1, 29)	0,281 (1, 29)	0,005 (1, 29)
Starost (god)	0,092 (1, 29)	10,660** (1, 29)	5,146* (1, 29)
PMP (%)	4,482* (1, 29)	5,829* (1, 29)	0,001 (1, 29)
MEP _{T0} (mV)	3,629 (1, 29)	2,354 (1, 29)	1,386 (1, 29)
VR (s)	0,915 (1, 29)	0,027 (1, 29)	0,461 (1, 29)
PPTn	0,005 (1, 29)	0,112 (1, 29)	9,117* (1, 29)
PPTd	0,090 (1, 29)	0,860 (1, 29)	5,026* (1, 29)

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

Zbog razlika u starosti ispitanika, urađena je korelaciona analiza između starosti i promena u učenju (T0-T1 i T1-T2) gde je za sve varijable bilo $|R| < 0.334$, a $p > 0,06$. Time je pokazano da početne razlike u starosti nisu povezane sa kasnijim motornim učenjem. Dobijene razlike u PMP-u, za koje je dobijena p vrednost bila blizu nivoa od 0,05, mogu se okarakterisati kao slučajne, jer se pokazalo da su amplitude MEP_{T0}, posmatrano između polova i grupa (MEP stimulus = 120% od PMP-a), bile slične. Kako bi se izbegao potencijalni efekat početnih razlika na PPT-u, statistička analiza rađena je na podacima koji su normalizovani u odnosu na rezultat testa u T0.

6.4.1.1. Ekscitabilnost

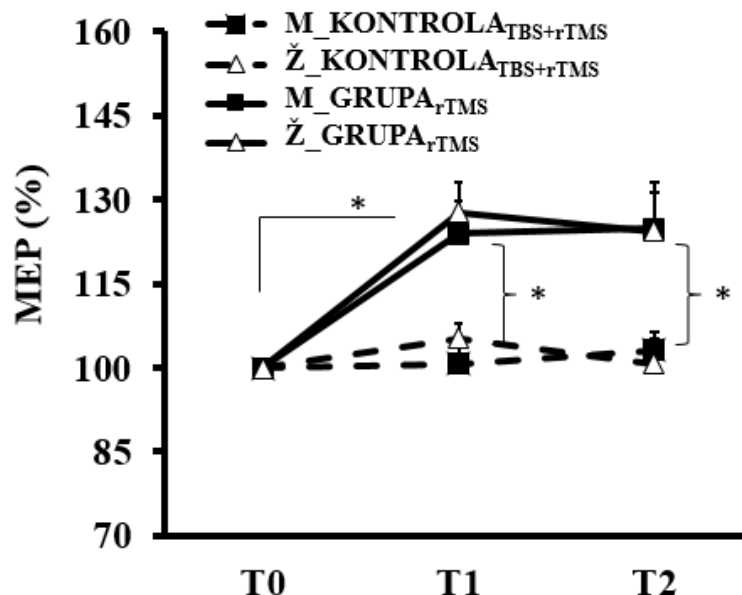
Kombinovana trofaktorska ANOVA sa ponovljenim merenjima (faktori „Vreme“, „Grupa“ i „Pol“), normalizovanih amplituda MEP-a, pokazala je značajan efekat faktora „Vreme“, efekat faktora „Grupa“ i efekat interakcije faktora „Vreme x Grupa“. Efekta faktora „Pol“ i efekti interakcija faktora, Vreme x Pol“, „Vreme x Grupa x Pol“ i „Grupa x Pol“ nisu bili značajni (Tabela 9).

Tabela 9. Rezultati kombinovane ANOVE 3x2x2 (faktor „Vreme“, faktor „Grupa“ i faktor „Pol“), za varijable MEP, VR, PPTn i PPTd.

	MEP	VR	PPTn	PPTd
Vreme ($F_{(df, error df)}$)	22.908** (2,28)	0.888 (2,28)	34.571** (2,28)	23.593** (2,28)
Vreme x Grupa ($F_{(df, error df)}$)	14.839** (2,28)	0.193 (2,28)	0.173 (2,28)	1.013 (2,28)
Vreme x Pol ($F_{(df, error df)}$)	0.824 (2,28)	0.101 (2,28)	3.368* (2,28)	6.856** (2,28)
Vreme x Grupa x Pol ($F_{(df, error df)}$)	0.033 (2,28)	2.264 (2,28)	4.416* (2,28)	1.297 (2,28)
Grupa ($F_{(df, error df)}$)	27.028** (1,29)	0.004 (1,29)	0.358 (1,29)	1.393 (1,29)
Pol ($F_{(df, error df)}$)	0.101 (1,29)	0.095 (1,29)	4.249* (1,29)	0.86 (1,29)
Grupa x Pol ($F_{(df, error df)}$)	0.006 (1,29)	0.004 (1,29)	1.573 (1,29)	1.095 (1,29)

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

Post hoc analizom pokazano je da su kod ispitanika iz GRUPA_{rTMS}, amplitude MEP-a kod oba pola izmerenog u T1 i T2 značajno veće nego amplitude MEP-a u T0 vremenu (T0 naspram T1; $p = 0,000$ i T0 naspram T2; $p = 0,000$) (Slika 17). Amplitude MEP-a ispitanika KONTROLA_{TBS+rTMS} grupe su iste tokom vremena i ne razlikuju se između polova (za sva poređenja, $p > 0,313$). Razlike u amplitudama MEP-a kod ispitanika između grupa postoje u vremenima T1 i T2 (GRUPA_{rTMS} naspram KONTROLA_{TBS+rTMS}: T1, $p = 0,000$ i T2, $p = 0,000$) (Slika 17).



Slika 17. Promena ekscitabilnosti M1 tokom vremena. Puna linija označava grupu koja je imala rTMS stimulaciju, a isprekidana linija grupu koja je imala placebo stimulaciju. Muškarci su obeleženi sa punim kvadratićima, a žene sa praznim trouglićima. Prikazane su srednje vrednosti (normalizovane u odnosu na T0) \pm SEM. Zvezdica (*) označava nivo značajnosti od $p < 0,05$.

6.4.1.2. Motorni zadaci

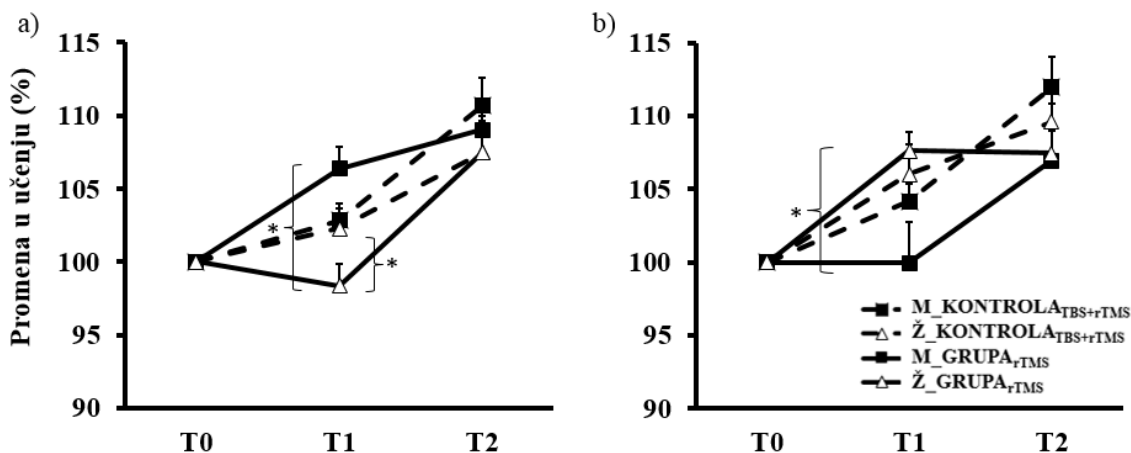
Vrednosti VR-a se nisu značajno menjale tokom vremena i bile su slične kod ispitanika obe ispitivane grupe i za oba pola (Tabela 9).

Rezultati na PPT-u ukazuju na postojanje učenja ispitanika obe grupe za obe ruke kod oba pola (Slika 18). Međutim, u učenju ispitanika iz GRUPA_{rTMS}, primećuje se obrnuti obrazac motornog učenja u zavisnosti od pola.

Za učenje nedominantnom rukom na PPT-u, nađeni su značajni efekti faktora „Vreme“, faktora „Pol“ i efekti interakcija faktora „Vreme x Pol“ i „Vreme x Grupa x Pol“, dok efekat faktora „Grupa“ i efekti interakcije faktora „Vreme x Grupa“ i „Grupa x Pol“ nisu bili značajni (Tabela 9). *Post hoc* analiza je pokazala da se polovi značajno razlikuju po motornom učenju u vremenu T1, posmatrano za obe grupe zajedno ($p = 0,014$), dok u vremenu T2 nema razlika ($p = 0,330$) (Slika 18a). Ako se posmatraju razlike u motornom učenju tokom vremena u odnosu na grupu i pol, ispitanici KONTROLA_{TBS+rTMS} grupe sve vreme uče kod oba pola (M: T0 naspram T1, $p = 0,041$, T1 naspram T2, $p = 0,000$; Ž: T0 naspram T1, $p = 0,044$, T1 naspram T2, $p = 0,035$). Za razliku od KONTROLA_{TBS+rTMS} grupe, ispitanici iz GRUPA_{rTMS} različito uče tokom vremena u odnosu na pol. Muškarci ubrzano uče odmah nakon stimulacije (T1 naspram

T0, $p = 0,000$), ali u vremenu T2 dolazi do zastoja u učenju (T1 naspram T2, $p = 0,240$). Za razliku od muškaraca, žene imaju suprotan obrazac učenja. Odmah nakon stimulacije nema značajnog efekta učenja (T1 naspram T0, $p = 0,305$), dok u T2 vremenu počinju ubrzano da uče (T1 naspram T2, $p = 0,001$) (*Slika 18a*). Ako posmatramo razlike u učenju između polova unutar grupa, polovi se razlikuju samo u GRUPA_{rTMS} u vremenu T1 ($p = 0,001$). U KONTROLA_{TBS+rTMS} grupi u T1 i T2 vremenu, kao i u GRUPA_{rTMS} u T2 vremenu, nema značajnih razlika u učenju između polova (za sva poređenja, $p > 0,365$). Ako posmatramo razliku u učenju između grupa u odnosu na pol, postojala je razlika kod žena u vremenu T1, gde su ispitanici iz GRUPA_{rTMS} manje naučili nego ispitanici KONTROLA_{TBS+rTMS} grupe ($p = 0,036$). Kod muškaraca nije postojala značajna razlika, ali je primećen trend ka boljem učenju ispitanika iz GRUPA_{rTMS} ($p = 0,086$) (*Slika 18a*). U vremenu T2 nije bilo razlika u učenju između grupa ni kod jednog pola (M: $p = 0,570$, Ž: $p = 0,854$).

Za učenje dominantnom rukom na PPT-u, nađeni su značajni efekti faktora „Vreme“, i interakcije faktora „Vreme x Pol“, dok efekti faktora „Grupa“ i „Pol“ i efekti interakcija faktora „Vreme x Grupa“, „Vreme x Grupa x Pol“ i „Grupa x Pol“ nisu bili značajni (*Tabela 9*). *Post hoc* analiza je pokazala da je postojala razlika u učenju između polova u vremenu T1 ($p = 0,019$), dok u vremenu T2 nije bilo razlike ($p = 0,716$) (*Slika 18b*). Ako se posmatraju grupe posebno, vidi se da je jedina razlika u učenju između polova u vremenu T1 kod ispitanika iz GRUPA_{rTMS} ($p = 0,011$), dok u vremenu T2 kod ispitanika iz GRUPA_{rTMS} i u vremenima T1 i T2 ispitanika KONTROLA_{TBS+rTMS} grupe nema razlika u učenju između polova (za sva poređenja, $p > 0,476$). Ako se posmatraju razlike između polova kod GRUPA_{rTMS} u učenju tokom vremena, muškarci i žene su pokazali različite vremenske obrasce učenja (*Slika 18b*). Muškarci u vremenu T1 ne uče značajno (T0 naspram T1, $p = 0,976$), dok u T2 počinju značajno da uče (T1 naspram T2, $p = 0,001$). Za razliku od njih, žene odmah nakon stimulacije u T1 vremenu značajno uče (T0 naspram T1, $p = 0,001$), ali u T2 vremenu dolazi do zastoja u učenju (T1 naspram T2, $p = 0,922$).



Slika 18. Promene u motornom učenju tokom izvođenja PPT-a, a) za nedominantnu ruku i b) za dominantnu ruku. Puna linija označava grupu koja je imala rTMS stimulaciju, a isprekidana linija grupu koja je imala placebo stimulaciju. Muškarci su obeleženi sa punim kvadratićima, a žene sa praznim trouglicima. Prikazane su srednje vrednosti (normalizovane u odnosu na T0) ± SEM. Zvezdica (*) označava nivo značajnosti od $p < 0,05$.

6.5. DISKUSIJA

U ovom eksperimentu istraživana je uticaj rTMS_{10Hz} - M1 na VR i uticaj na rano motorno učenje na PPT-u. Prikazani rezultati ukazuju da rTMS_{10Hz} podiže ekscitabilnost motorne kore podjednako kod muškaraca i kod žena, dok se kod ispitanika KONTROLA_{TBS+rTMS} grupe ekscitabilnost nije menjala tokom vremena. Interesantno je da je ovaj porast ekscitabilnosti posle rTMS_{10Hz} - M1 bio dužeg trajanja nego posle iTBS - M1, tj. održavao se i 30min posle završetka stimulacije. Porast ekscitabilnosti primarnog motornog korteksa nakon aplikovanja rTMS_{10Hz} protokola je očekivan i u saglasnosti je sa nalazima drugih studija da rTMS metoda aplikovana sa visokim frekvencijama TMS stimulusa (5-20Hz) izaziva povišenje ekscitacije motorne kore u trajanju od 30min i duže (npr. Agostino i sar., 2007; Ziemann i sar., 2008; Sczesny-Kaiser i sar., 2009).

Repetitivnu TMS karakteriše manji stepen selektivnosti za interneuronske populacije od TBS metode, što se ogleda i u postojanju značajnog uticaja unilateralne rTMS i na drugu nestimulisanu hemisferu mozga (Schambra i sar., 2003; Kobayashi i sar., 2004; Kobayashi i sar., 2009; Kobayashi, 2010). Međutim, bez obzira na potencijalnu uključenost većeg broja neuronskih kola nakon aplikovanja rTMS_{10Hz} - M1 nego nakon aplikovanja TBS-M1, VR je ostalo nepromenjeno slično kao i u prethodnim eksperimentima sa TBS. Kao što je ranije diskutovano, i u ovom

eksperimentu je potvrđeno da je bazni nivo ekscitabilnosti i aktivacije motornog korteksa kod zdravih ljudi dovoljan za optimalno izvođenje VR-a i da dodatno povećanje ekscitabilnosti i aktivacije M1 ne može da dovede do nekog bitnijeg poboljšanja u izvođenju ovog zadatka.

Na PPT-u, koji je složeniji motorni zadatak od VR, povećanje ekscitabilnosti M1 oblasti izazvano rTMS_{10Hz} protokolom bilo je povezano sa izmenjenim obrascima motornog učenja i za kontralateralnu i za ipsilateralnu ruku. Interesantno je da je ova promena obrazaca učenja bila pod značajnim uticajem pola ispitanika, što se manifestovalo različitim obrascima učenja između muškaraca i žena. Muškarci su odmah nakon stimulacije učili nedominantnom rukom, za razliku od žena kod kojih nije došlo do motornog učenja. Nakon 30 minuta, žene su počele da uče nedominantnom rukom, dok se kod muškaraca primećuje zastoj u učenju (*Slika 18a*). Obrnuti efekat se dogodio u učenju dominantnom rukom. Žene su odmah nakon stimulacije ubrzano učile, a posle 30 minuta je usledio zastoj u učenju. Muškarci nisu učili odmah nakon stimulacije, pa su nakon 30 minuta krenuli naglo da uče (*Slika 18b*). Na kraju, ukupan napredak u učenju motornog zadatka bio je sličan za obe grupe i za oba pola.

Agostino-a i saradnici (2007), u placebo-kontrolisanoj studiji, su ispitivali uticaj rTMS-a od 5Hz primenjenog na oblast M1 na motorno učenje. Ispitanici su izvodili brze abdukcije kažiprsta pre i posle rTMS ili placebo stimulacije. Motoričke varijable koje su pratili bile su amplituda pokreta, maksimalna brzina, maksimalno ubrzanje i ukupno trajanje pokreta. Tokom izvođenja zadatka, postojale su značajne promene u smislu učenja i progresivno boljeg izvođenja tokom vremena kod ispitanika i eksperimentalne i placebo grupe, bez značajnih razlika između grupa. Ovaj nalaz se slaže sa našim inicijalnim rezultatima u kojima nije posmatran uticaj faktora „Pol“, a koji su ukazivali da povećanje ekscitabilnosti M1 oblasti ne dovodi do menjanja motornog učenja. Druga studija Sczesny-Kaiser-a i saradnika (2009), u kojoj je primenjena rTMS metoda stimulacije, ali na složenijem motornom zadatku, takođe nije pokazala razliku u motornom učenju kod ispitanika koji su dobili rTMS od 5Hz u odnosu na ispitanike koji su dobili placebo stimulaciju. Motorni zadatak u ovoj studiji bio je sinhronizacija kontrakcija m. abductor pollicis brevis-a i m. deltoideus-a. Obe prikazane studije (Agostino i sar., 2007; Sczesny-Kaiser i sar., 2009) imale su mešovite uzorke ispitanika po polu sa podjednakim odnosom muškaraca i žena. Agostino i saradnici (2007) su

imali ukupno 18 ispitanika (7 M i 11 Ž) koji su slučajnim izborom svrstani u jednu od dve grupe, jednu sa rTMS i drugu sa placebo stimulacijom. Sczesny-Kaiser i saradnici (2009) su imali ukupno 30 ispitanika podeljenih, takođe u dve grupe, rTMS i placebo. U grupi sa rTMS stimulacijom je bilo 7 muških i 8 ženskih, a u placebo grupi 6 muških i 9 ženskih ispitanika. U obe studije, iako su uzorci ispitanika bili mešoviti po polu, praćeni su zajednički rezultati za muškarce i žene. Rezultati naše studije ukazuju da se uticaj pola na učenje nakon primene rTMS metode ne sme zanemariti. Zapravo, to je faktor koji je inicijalno bio odgovoran za nepostojanje razlika u prosečnom obrascu učenja na nivou cele grupe u našoj studiji, a možda i faktor zbog koga nije bilo razlika u učenju ni u navedenim studijama Agostino-a i sar. (2007) i Sczesny-Kaiser-a i sar. (2009).

Razlike moždane aktivnosti između polova tokom izvođenja i učenja motornih zadataka su istraživali Lissek i saradnici (2007), u svojoj studiji sa fMRI neuroslikanjem. Pokazali su da postoje značajne razlike između polova u obrascima aktivacije kortikalnih i subkortikalnih regiona mozga tokom izvođenja manuelnih zadataka. Žene su tokom izvođenja zadataka više uključivali kortikalne regione od muškaraca, dok su muškarci više uključivali subkortikalne delove mozga, a posebno bazalne ganglije. Autori su zaključili da muškarci i žene aktiviraju različite delove mozga tokom programiranja akcija zaduženih za motornu kontrolu i motorno učenje. S obzirom da smo mi uspeali sa rTMS_{10Hz} da podignemo ekscitabilnost M1 oblasti podjednako kod oba pola, a da su pri tom muškarci i žene imali različite obrasce motornog učenja, govori nam da je povećanje ekscitabilnosti M1 oblasti bilo okidač za niz drugih kortikalnih i subkortikalnih procesa koje su se očigledno različito odvijali na različitim mestima kod muškaraca i kod žena. U prilog ovom zaključku postoje rezultati studije Biswal-a i saradnika (2010) koja se bavila ispitivanjem individualnih funkcionalnih razlika mozga kod 1414 ispitanika. Oni su upoređivali arhitekturu pozitivnih i negativnih funkcionalnih veza mozga tokom mirovanja pomoću fMRI snimaka skupljenih iz 35 međunarodnih centara. Pokazali su da postoji sistematska razlika u funkcionalnom povezivanju različitih struktura mozga u odnosu na pol. Takođe, rezultati studije Amunts-a i saradnika (2000) naglašavaju razlike između polova u anatomiji više kortikalnih oblasti. Oni su pomoću MRI snimaka ispitivali interhemisferičnu asimetriju u odnosu na pol i stepen lateralizovanosti i pokazali su da postoji anatomska asimetrija u odnosu na stepen lateralizovanosti samo kod muškaraca. Na osnovu dobijenih

rezultata, autori su zaključili da ovaj nalaz sugerira postojanje razlika između polova u kortikalnoj organizaciji struktura uključenih u pravljenje motornih programa za izvođenje pokreta rukom. Pored navedenih, još jedan od mogućih razloga za postojanje razlika u funkcionalnoj i strukturalnoj plastičnosti između polova je efekat hormona estrogena kod žena. Estrogen utiče na oslobađanje većeg broja neurotransmitera i na taj način moduliše aktivnost moždanih struktura (McEwen, 1999; Gillies i McArthur, 2010).

Učenje dominantnom rukom na PPT-u ima suprotan obrazac u odnosu na učenje nedominantnom rukom, što na nedvosmislen način ukazuje na postojanje interhemisferičnog uticaja rTMS-a na kontralateralnu hemisferu. Do ovoga bi moglo doći zbog neselektivnog efekta rTMS metode na interneuronske populacije, što povećava mogućnost aktiviranja više različitih interneuronskih sistema, uključujući i one sa transkalozalnim projekcijama ka suprotnoj hemisferi. Postojanje interhemisferičnog uticaja rTMS metode je pokazano i u drugim studijama (Schambra i sar., 2003; Kobayashi i sar., 2004; Kobayashi i sar., 2009; Kobayashi, 2010). Schambra i saradnici (2003) i Kobayashi i saradnici (2004) su zaključili da se povećanje kortikomotorne ekscitabilnosti može izazvati inhibitornim rTMS metodama (rTMS od 1Hz) aplikovanim na suprotnoj hemisferi mozga. Kobayashi i saradnici (2009) i Kobayashi (2010) su otišli korak dalje i pokazali da tako izazvano povećanje ekscitabilnosti ubrzava motorno učenje ipsilateralnom rukom. Motorni zadatak koji je korišćen u ove dve studije bio je serijsko vreme reakcije. Ubrzavanje učenja je primećeno kada je rTMS metoda primenjena pre početka motornog učenja (Kobayashi i sar., 2009), ali i kada je primenjena u trenutku rane konsolidacije motornog učenja (između serija izvođenja zadatka) (Kobayashi, 2010).

7. EFEKAT SEKVENCIJALNE BILATERALNE NEUROMODULACIJE PUTEM TBS PRIMENJENE IZNAD MOTORNOG KORTEKSA RAZLIČITIH HEMISFERA MOZGA NA MOTORNO UČENJE

7.1. UVOD

U ovom eksperimentu, je primenjena bilateralna TMS stimulacija tako što je kombinovana facilitacija jedne hemisfere sa inhibicijom suprotne hemisfere. Ovo je relativno nov i retko primenjivan pristup koji je baziran na ideji da se bilateralnom primenom dve neuromodulatorne metode sa komplementarnim fiziološkim efektom na ciljnu hemisferu može postići veći stepen učenja nego primenom svake od njih posebno. Korišćena je sekvencijalna bilateralna primena TBS protokola (cTBS/iTBS) za stimulaciju M1 oblasti različitih hemisfera mozga. Prvo je primenjivan cTBS protokol na dominantnoj M1 oblasti koji izaziva smanjenje ekscitabilnosti (Huang i sar., 2005). Odmah nakon cTBS-a, primenjivan je iTBS protokol na nedominantnoj M1 oblast koji izaziva povećanje ekscitabilnosti (Huang i sar., 2005). Sekvencijalna bilateralna TBS je izabrana sa ciljem da se inhibira negativni uticaj dominantne hemisfere na učenje nedominantnom rukom (Kobayashi i sar., 2004), a u isto vreme dodatno ekscitira nedominantna hemisfera. Stimulacija je primenjivana neposredno nakon izvođenja motornih zadataka u trenutku rane konsolidacije motornog učenja. Korišćena su tri motorna zadatka za ispitivanje efekta sekvencijalne bilateralne TBS primenjene na M1 oblastima različitih hemisfera mozga (cTBS/iTBS-M1): prva dva, vreme reakcije na zvučni signal (VR) i *Purdue pegboard* test (PPT) isti su kao i u prethodnim eksperimentima, dok je treći motorni zadatak bio *Purdue pegboard* test sa sklapanjem različitih elemenata (PPTs) koji se izvodi sa obe ruke istovremeno. Zadaci su bili različiti po složenosti izvođenja i po dominantnoj fizičkoj sposobnosti koja preovladava tokom izvođenja zadatka. Bilateralni zadatak je uveden kako bi proverili da li postoji negativan efekat sekvencijalne bilateralne TBS na koordinacija između ruku.

Iz tehničkih razloga, tj. zbog navednenog uvođenja novog zadatka radi testiranja bilateralne koordinacije ruku, u ovom eksperimentu se javila potreba za formiranjem još jedne kontrolne grupe. Postojanje tri različite kontrolne grupe (dve iz prethodnih eksperimenata i jedna iz ovog), sa različitim tipovima placebo TMS intervencija, dalo je

priliku za uporednu analizu efekata ovih različitih intervencija. Stoga je, pored navedenog primarnog cilja ispitivanja efekata bilateralne sekvencijalne neuromodulacije, kao sekundarni cilj uvedeno i ispitivanje veličine placebo efekta izazvanog primenom TMS metoda na motorno učenje.

7.2. CILJEVI I HIPOTEZE

Za ispitivanje efekta cTBS/iTBS-M1 na motorno učenje, postavljeno je pet ciljeva i pet hipoteza.

- Cilj 1: Ispitivanje efekata cTBS/iTBS-M1 na promenu ekscitabilnosti M1 oblasti.
 - Hipoteza 1: cTBS/iTBS-M1 će povećati ekscitabilnost M1 oblasti nedominantne hemisfere i smanjiti ekscitabilnost M1 oblasti dominantne hemisfere mozga.
- Cilj 2: Ispitivanje efekata cTBS/iTBS-M1 na VR nedominantne (ciljne) i dominantne ruke.
 - Hipoteza 2: cTBS/iTBS-M1 će skratiti VR nedominantne ruke, a produžiti VR dominantne ruke.
- Cilj 3: Ispitivanje efekta cTBS/iTBS-M1 na motorno učenje na PPT-u nedominantnom (ciljnom) i dominantnom rukom.
 - Hipoteza 3: cTBS/iTBS-M1 će ubrzati motorno učenje nedominantnom rukom, a usporiti učenje dominantnom rukom.
- Cilj 4: Ispitivanje efekta cTBS/iTBS-M1 na bilateralno motorno učenje na PPTs-u.
 - Hipoteza 4: cTBS/iTBS-M1 neće promeniti motorno učenje na PPTs-u.
- Cilj 5: Ispitivanje veličine placebo efekta izazvanog TMS metodama na motorno učenje.

- Hipoteza 5: Placebo efekat dovodi do ubrzavanja motornog učenja nedominantnom rukom.

7.3. METODE

7.3.1. *Ispitanici*

U studiji je učestvovalo ukupno 42 zdrava ispitanika (19 M i 23 Ž) starosti 27 ± 3 godine. Ispitanici su bili razvrstani u četiri grupe: eksperimentalna grupa koja je bila podvrgnuta sekvencijalnoj bilateralnoj TBS (GRUPA_{cTBS/TBS}) sa 12 regrutovanih ispitanika (6 M i 6 Ž) i tri kontrolne grupe. Dve kontrolne grupe su zapravo preuzete iz prethodnih eksperimenata: KONTROLA_{TBS} (12 ispitanika, 7 M i 5 Ž), iz studije „TBS facilitacija učenja“, i KONTROLA_{rTMS} (6 ispitanika, 3 M i 3 Ž), snimljena u studiji „rTMS facilitacija učenja“. Treća kontrolna grupa (12 ispitanika, 6 M i 6 Ž) regrutovana je specifično za ovaj eksperiment, ispitanici iz ove grupe nisu bili podvrgnuti nijednoj TMS metodi (KONTROLA_{ØTMS}). Svi ispitanici su bili desnoruki sa stepenom lateralizovanosti L.Q. = $77,7 \pm 8,5$ (Oldfield, 1971).

7.3.2. *Merenje ekscitabilnosti*

Ekscitabilnost M1 procenjivana je na osnovu amplituda MEP-a, na način opisan u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 27). U ovom eksperimentu isti postupak merenja ekscitabilnosti je korišćen i za dominantnu M1 oblast.

7.3.3. *Motorni zadaci*

Korišćena su tri motorna zadatka, VR, PPT i PPTs. Procedure izvođenja VR-a i PPT-a, opisane su u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 28). Za procenu bilateralnog motornog učenja korišćen je novi zadatak manuelne spretnosti, koji je varijanta PPT-a sa sklapanjem različitih elemenata (PPTs) (Tiffin i Asher, 1948). Zadatak se izvodio sa obe ruke istovremeno, a sastojao se u kontinuiranom sklapanju 3 različita elementa u četvorodelne komplete (*Slika 19*). Elementi su bili klin, podloška i mali valjak, a sklapaju se tako što se prvo desnom rukom uzima klin iz udubljenja i ubacuje u rupicu, dok se za to vreme levom rukom uzima podloška i stavlja preko klina,

potom se desnom rukom postavlja mali valjak preko oba elementa i na kraju se postavlja još jedna podloška ponovo levom rukom. To predstavlja sklopljen komplet, a cilj je sklopiti što više kompleta za 60 sekundi. Izvođena su po tri pokušaja sa pauzom između pokušaja od oko 30s. Traženo je od ispitanika da uzimaju pojedinačne elemente pomoću palca i kažiprsta, kako bi 1DI mišić bio aktivan tokom izvođenja. Postignuti skor na testu predstavljao je ukupan broj postavljenih elemenata. Instrukcija koja se davala ispitanicima je da uvek u svakom pokušaju moraju da daju sve od sebe i da postave maksimalni mogući broj elemenata. S obzirom da je u ovom testu bitna koordinacija između ruku, ispitanicima je naglašavano da, što je više moguće, obe ruke rade istovremeno. Test se izvodio tri puta, u T0, T1 i T2 vremenima.

Za ispitivanje motornog učenja, praćene su vrednosti vremena reagovanja na zvučni signal za dominantnu (VRd) i nedominantnu ruku (VRn), skorovi na PPT-u za dominantnu (PPTd) i nedominantnu ruku (PPTn) i skorovi na PPTs-u.



Slika 19. „PPTs“ – sklapanje 3 različita elementa, s obema rukama istovremeno, u četvorodelne komplete.

PPTs zadatak nisu izvodili ispitanici KONTROLA_{TBS} grupe koji su učestvovali u eksperimentu „TBS facilitacija učenja“. Zapravo, to je i glavni razlog testiranja 12 novih ispitanika KONTROLA_{ØTMS} grupe, čiji su ispitanici izvodili samo PPT i PPTs zadatke. PPT zadatak su izvodili kako bi se utvrdilo da li postoji razlika u motornom učenju u odnosu na KONTROLA_{TBS} grupu, a PPTs za ispitivanje razlika sa

GRUPA_{cTBS/iTBS}. Kod GRUPA_{cTBS/iTBS}, zbog tehničkih grešaka, nisu korišćeni rezultati 2 ispitanika na PPTs zadatku.

7.3.4. Intervencija

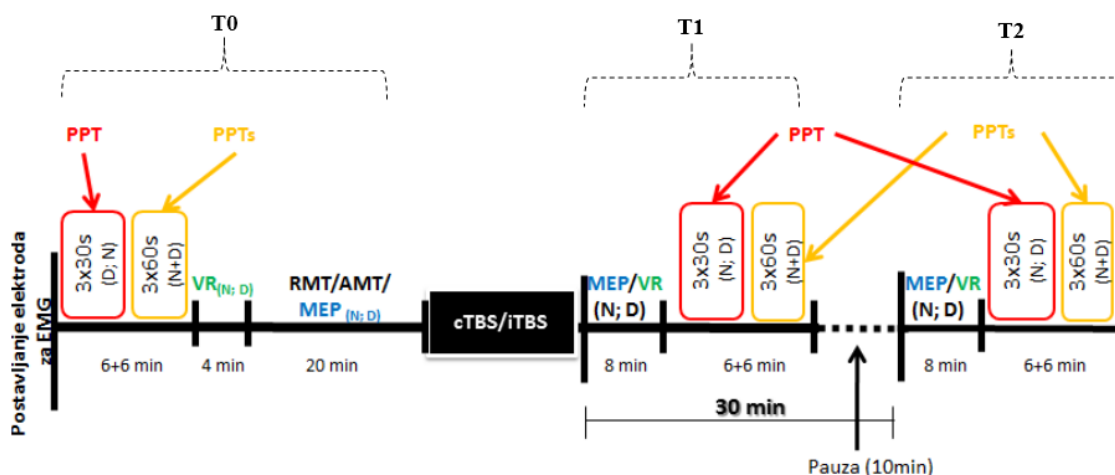
Sekvencijalna bilateralna TBS podrazumeva kombinovanje inhibitornog cTBS i ekscitatornog iTBS protokola na različitim hemisferama M1 oblasti mozga. Prvo je primenjivan cTBS (opisan u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“, strana 30) na dominantnoj hemisferi, kako bi u skladu sa prikazanim rezultatima eksperimenta „TBS inhibicija učenja“, usporili dominantnu ruku u učenju i smanjili njen inhibicioni uticaj na učenje nedominantnom rukom (Kobayashi i sar., 2004). Odmah nakon cTBS-a, primenjivan je iTBS (opisan u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“, strana 29) na nedominantnoj hemisferi, kako bi pokušali da ubrzamo levu ruku u motornom učenju. Protokol kontrolne grupe sa TBS placebo stimulacijom (KONTROLA_{TBS}) je opisan u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 30). KONTROLA_{rTMS} grupa sa rTMS placebo stimulacijom, korišćena je da ispita razlike između dve placebo tehnike, a opisana je u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 30). KONTROLA_{ØTMS} je grupa koja nije imala TMS intervenciju.

7.3.5. Eksperimentalni dizajn

Za grupe koje su imale placebo stimulaciju kao intervenciju (KONTROLA_{TBS} i KONTROLA_{rTMS}), korišćen je eksperimentalni dizajn prikazan u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 34). Eksperimentalni dizajn za GRUPA_{cTBS/iTBS} prikazan je na slici 20. Na početku ispitivanja u vremenu označenom kao T0, urađene su sledeće procedure: ispitanici su izvodili PPT dominantnom i nedominantnom rukom, posle čega su izvodili sa obe ruke PPTs i onda su im mereni VR za obe ruke posebno i PMP, AMP i MEP za obe hemisfere mozga. Po završetku navedenih procedura, primenjivala se TMS intervencija u vidu sekvencijalne bilateralne TBS. U T1 i T2 vremenima, merio se MEP, VR i skorovi na PPT-u i PPTs-u. Pauza između ove dve serije merenja bila je 10 minuta.

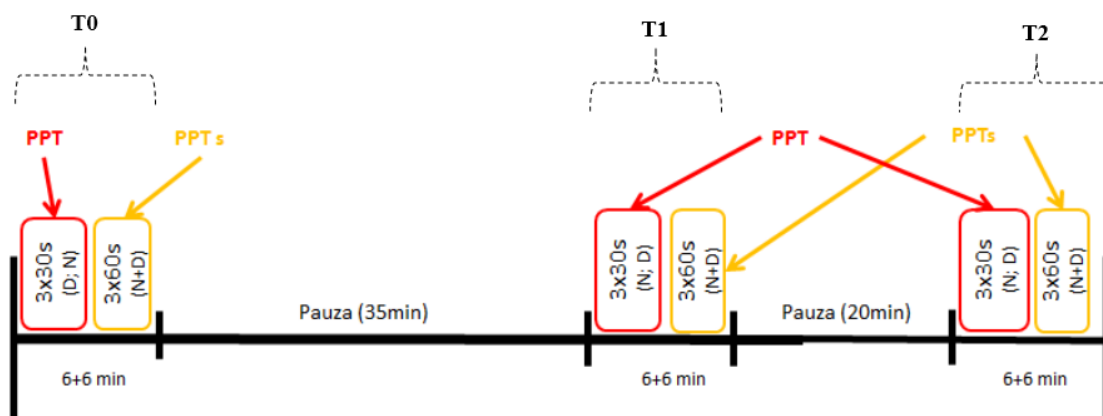
PPT zadatak je u T0 vremenu prvo izvođen dominantnom pa nedominantnom rukom, dok je nakon stimulacije redosled bio obrnut (Slika 20), isto kao u

eksperimentalnom dizajnu prikazanom u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 34). Razlog tako postavljenog dizajna je zbog eliminisanja mogućeg transfera učenja sa dominantne ruke na nedominantnu ruku (Kumar i Mandal, 2005).



Slika 20. Eksperimentalni dizajn za GRUPA_{cTBS/iTBS} (*D* – dominantna ruka; *N* – nedominantna ruka; *PPT* – Purdue pegboard test; *PPTs* – Purdue pegboard test sa sklapanjem različitih elemenata; *VR* – vreme reakcije na zvučni signal; *PMP* – pasivni motorni prag; *AMP* – aktivni motorni prag; *MEP* – motorni evocirani potencijal).

Eksperimentalni dizajn za KONTROLA_{OTMS} grupu bio je nešto drugačiji, pošto su ispitanici izvodili samo *PPT* i *PPTs* zadatke (Slika 21). Izvođenje *PPT*-a i *PPTs*-a, ponovljeno je tri puta u tri različita vremenska trenutka (*T0*, *T1*, *T2*) po istom redosledu kao u prethodnom dizajnu sa prvom pauzom između *T0* i *T1* od 35min i drugom pauzom između *T1* i *T2* od 20min. Pauze su proračunate na osnovu eksperimentalnih dizajna prethodne tri grupe ispitanika, kako bi se zadaci izvodili u istim vremenskim trenucima kao kod ostale tri grupe.



Slika 21. Eksperimentalni dizajn KONTROLA_{0TMS} grupe (*N* – nedominantna ruka; *D* – dominantna ruka; PPT – Purdue pegboard test; PPTs - Purdue pegboard test sa sklapanjem različitih elemenata).

7.3.6. Statistička analiza

Korišćeni su postupci statističke analize podataka kao što je opisano u poglavlju „Metode korišćene u istraživanjima“ (strana 34).

Grupne razlike i efekat primenjene intervencije, analizirani su u dva segmenta:

- 1) Analiza placebo efekta TMS-a na motorno učenje i
- 2) Analiza efekta cTBS/iTBS-M1 na motorno učenje.

7.3.6.1. Analiza placebo efekta TMS-a na motorno učenje

Analiza placebo efekta TMS-a na motorno učenje je sprovedena u dva odvojena dela. Prvi deo imao je za cilj da proveri da li postoji placebo efekat TMS-a na motorno učenje, odnosno da li postoji razlika u motornom učenju između KONTROLA_{TBS} i KONTROLA_{0TMS} grupe, dok je u drugom delu analize proveravano da li dve placebo TMS procedure imaju različit placebo efekat tj. da li možda drugačije deluju na motorno učenje zbog različitih karakteristika i trajanja stimulacije.

Rezultati na PPT-u su analizirani pomoću kombinovane dvofaktorske analize varijanse sa ponovljenim merenjima sa faktorima „Vreme“ (T0, T1, T2) i „Grupa“ (Efekat TBS placeba na motorno učenje - KONTROLA_{TBS} i KONTROLA_{0TMS}; Razlike između placebo efekata dve TMS metode - KONTROLA_{TBS} i KONTROLA_{TMS}). Amplitude MEP-a analizirane su pomoću jednofaktorske analize varijanse sa ponovljenim merenjima sa faktorom „Vreme“ (T0, T1, T2). Za *post hoc* analizu

korišćen je LSD *post hoc* test. Statistički značajnim rezultatom smatran je onaj gde je p vrednost bila manja od 0,05.

7.3.6.2. Analiza efekta cTBS/iTBS-M1 na motorno učenje

Grupne razlike i efekat cTBS/iTBS-M1 na motorno učenje na PPT-u, vrednosti VR-a i amplitude MEP-a, analizirani su pomoću kombinovane dvofaktorske analize varijanse sa ponovljenim merenjima sa faktorom „Vreme“ (T0, T1, T2) i faktorom „Grupa“ (GRUPA_{cTBS/iTBS} i KONTROLA_{TBS}). Za rezultate na PPTs-u, korišćena je ista analiza da ispita razlike između GRUPA_{cTBS/iTBS} i KONTROLA_{ØTMS} grupe. Vrednosti amplituda MEP-a i vrednosti VR-a za desnu stranu tela kod GRUPA_{cTBS/iTBS}, koji nisu mereni kod KONTROLA_{TBS} grupe, analizirani su jednofaktorskom analizom varijanse sa ponovljenim merenjima za faktor „Vreme“ (T0, T1, T2). Za *post hoc* analizu korišćen je LSD *post hoc* test. Statistički značajnim rezultatom smatran je onaj gde je p vrednost bila manja od 0,05.

7.4. REZULTATI I DISKUSIJA ANALIZE PLACEBO EFEKTA TMS-a NA MOTORNO UČENJE

7.4.1. Rezultati

7.4.1.1. Efekat TBS placeba na motorno učenje

Poređenjem grupa (KONTROLA_{ØTMS} i KONTROLA_{TBS}) po starosti ispitanika, odnosu muškaraca i žena, stepenu lateralizovanosti i početnim skorovima na PPTn-u i PPTd-u pokazano je da nije bilo razlika između grupa (*Tabela 10*).

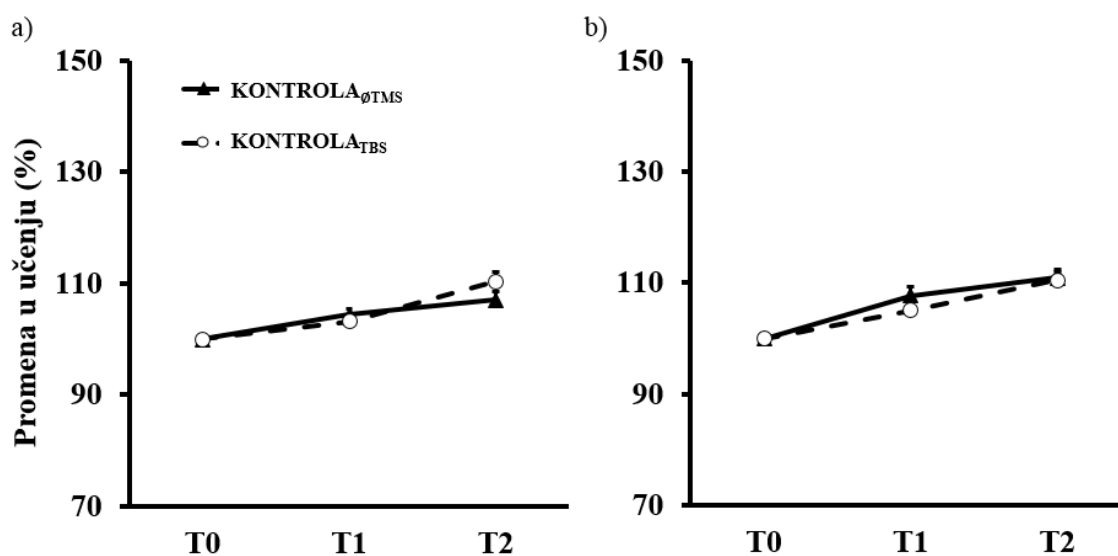
Rezultati na PPT-u ukazuju na postojanje sličnog učenja kod ispitanika obe grupe i za obe ruke (*Slika 22*). Postojao je značajan efekat faktora „Vreme“ (dominantna ruka - $F_{(2,21)} = 51,104$, $p = 0,000$; nedominantna ruka - $F_{(2,21)} = 32,458$, $p = 0,000$), dok efekat faktora „Grupa“ nije bio značajan (dominantna ruka - $F_{(1,22)} = 0,596$, $p = 0,448$; nedominantna ruka - $F_{(1,22)} = 0,473$, $p = 0,499$), kao ni efekat interakcije faktora „Vreme x Grupa“ (dominantna ruka - $F_{(2,21)} = 1,078$, $p = 0,358$; nedominantna ruka - $F_{(2,21)} = 1,711$, $p = 0,205$). Post hoc analiza za značajan efekat faktora „Vreme“ je pokazala da su ispitanici obe grupe posmatrano za obe ruke posebno, više naučili u vremenu T1 u

odnosu na vreme T0 (nedominantna ruka: $p = 0,000$; dominantna ruka: $p = 0,000$), kao i u vremenu T2 u odnosu na vreme T1 (nedominantna ruka: $p = 0,001$; dominantna ruka: $p = 0,000$) (Slika 22).

Tabela 10. Početne vrednosti i značajnosti razlika između grupa pre intervencije. Vrednosti su izražene kao srednja vrednosti \pm standardna devijacija (SD).

	KONTROLA		KONTROLA		KONTROLA
	\emptyset TMS (n=12)	Statistika* (df=22)	TBS (n=12)	Statistika* (df=16)	rTMS (n=6)
Starost (god)	27 \pm 4,2	T = -1,06 p = 0,30	26 \pm 1,9	T = - 1,51 p = 0,15	27 \pm 2,5
Pol (M/Ž)	6M/6Ž	$\chi^2 = 0,00$ p = 1	7M/5Ž	$\chi^2 = 0,00$ p = 1	3M/3Ž
Stepen Lateralizo- vanosti	77 \pm 5.6	T = -0,99 p = 0,33	74 \pm 9.7	T = - 0,35 p = 0,73	76 \pm 8,5
PPTn	17 \pm 1,4	T = - 1,97 p = 0,06	16 \pm 1,4	T = - 0,16 p = 0,88	16 \pm 1,3
PPTd	18 \pm 1,4	T = -2,49 p = 0,02	17 \pm 1,2	T = - 0,98 p = 0,34	17 \pm 1,3

* T test za nezavisne uzorke, izuzetak je za pol, gde je rađen hi – kvadrat test sa Jejtsovom korekcijom.

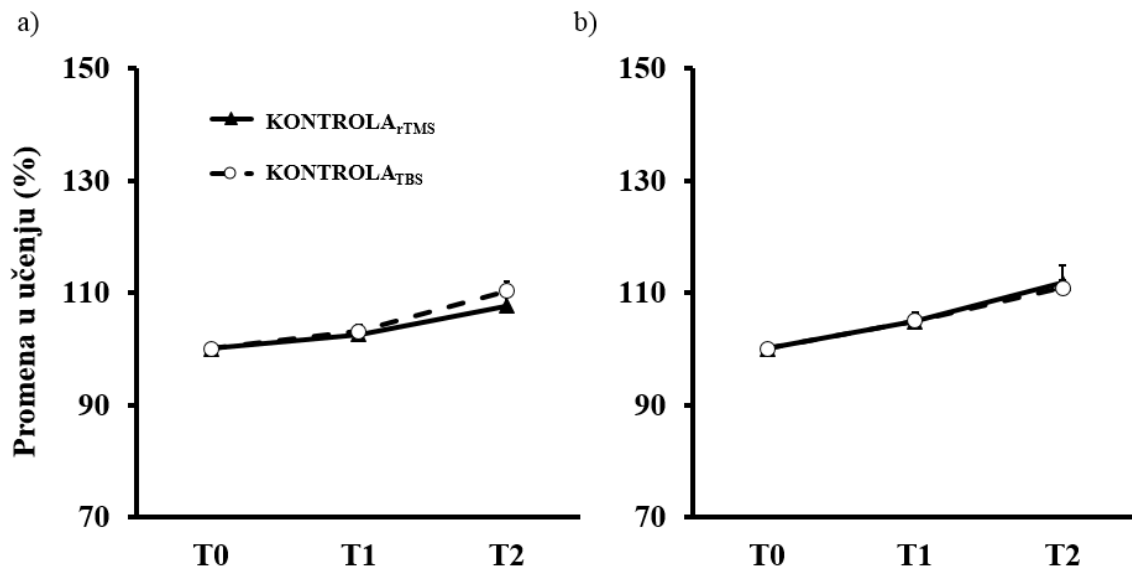


Slika 22. Promene u motornom učenju tokom izvođenja PPT-a, a) za nedominantnu ruku i b) za dominantnu ruku. Puna linija označava grupu koja nije imala TMS intervenciju, a isprekidana linija grupu koja je imala placebo TBS intervenciju. Prikazane su srednje vrednosti (normalizovane u odnosu na T0) \pm SEM.

7.4.1.2. Razlike između placebo efekata dve TMS metode na motorno učenje

Šest ispitanika koji su regrutovani za KONTROLA_{rTMS} grupu, nisu se razlikovali po starosti, muško-ženskom odnosu, stepenu lateralizovanosti, kao ni po početnim skorovima na PPTn-u i PPTd-u, u odnosu na grupu u kojoj je korišćena druga placebo metoda stimulacije (KONTROLA_{TBS}) (Tabela 10).

Ekscitabilnost M1 oblasti tokom vremena kod ispitanika obe grupe je ostala na istom nivou (dvofaktorska ANOVA: „Vreme“, $F_{(2,15)} = 1,460$, $p = 0,263$; „Grupa“, $F_{(1,16)} = 1,093$, $p = 0,311$; „Vreme x Grupa“, $F_{(2,15)} = 0,686$, $p = 0,519$).



Slika 23. Promene u motornom učenju tokom izvođenja PPT-a, a) za nedominantnu ruku i b) za dominantnu ruku. Puna linija označava grupu koja je imala placebo rTMS intervenciju, a isprekidana linija grupu koja je imala placebo TBS intervenciju. Prikazane su srednje vrednosti (normalizovane u odnosu na T0) \pm SEM.

Rezultati na PPT-u ukazuju na postojanje sličnog učenja kod ispitanika obe grupe za obe ruke (Slika 23). Postojao je značajan efekat faktora „Vreme“ (dominantna ruka - $F_{(2,15)} = 23,747$, $p = 0,000$; nedominantna ruka - $F_{(2,15)} = 16,214$, $p = 0,000$), dok efekat faktora „Grupa“ nije bio značajan (dominantna ruka - $F_{(1,16)} = 0,056$, $p = 0,816$; nedominantna ruka - $F_{(1,16)} = 0,492$, $p = 0,493$), kao ni efekat interakcije faktora „Vreme x Grupa“ (dominantna ruka - $F_{(2,15)} = 0,124$, $p = 0,884$; nedominantna ruka - $F_{(2,15)} = 0,368$, $p = 0,698$). Post hoc analiza za značajan efekat faktora „Vreme“ je pokazala da su ispitanici obe grupe posmatrano za obe ruke posebno, više naučili u vremenu T1 u

odnosu na vreme T0 (nedominantna ruka: $p = 0,014$; dominantna ruka: $p = 0,001$), kao i u vremenu T2 u odnosu na vreme T1 (nedominantna ruka: $p = 0,000$; dominantna ruka: $p = 0,000$) (Slika 23).

7.4.2. Diskusija

Cilj ove analize bio je da utvrditi potencijalni placebo efekat TMS procedura na motorno učenje na PPT-u. Koristeći dve široko rasprostranjene placebo TMS metode neinvazivne neuromodulacije, u ovoj studiji nije dobijen facilitirajući efekat placeba na motorno učenje tokom PPT-a.

Placebo efekat primećen je i povezivan sa različitim intervencijama. Najznačajnije su farmakološke intervencije u medicinskim uslovima, gde je primećen jak placebo efekat kod pacijenata sa hroničnim bolom, depresijom i Parkinsonovom bolesti (videti Pollo i Benedetti, 2009). Uticaja placeba ne ograničava se samo na pacijente, već je placebo efekat opisan i kod poboljšavanja motornih i drugih sposobnosti zdravih ljudi (videti Pollo i sar., 2011 za detaljan pregled).

TMS, pored svog fiziološkog dejstva, ima potencijal da kao visoko sofisticiran medicinski uređaj izazove jak placebo efekat (Kaptchuk i sar., 2000). To bi moglo da ugrozi pravilno vrednovanje njegove efikasnosti u modulaciji fizioloških i bihevioralnih funkcija. Pokazano je da placebo TMS metode prouzrokuju svojim placebo efektom značajne kliničke rezultate u pojedinim medicinskim uslovima (videti Brunoni i sar., 2009; Mansur i sar., 2011). One čak mogu proizvesti jasne i značajne promene moždane aktivnosti, kao što je nedavno pokazano kod Parkinsonove bolesti (Strafella i sar., 2006).

Zbog svog potencijalnog značaja za neurorehabilitaciju, efekti različitih TMS intervencijskih procedura na motorno učenje su predmet sve većeg interesovanja. Koristeći različite tipove placebo TMS-a kao kontrolu, motorno učenje u vidu različitih varijanti balističkih pokreta prstiju ispitivano je u većem broju studija. U gotovo svim slučajevima, značajan efekat učenja se manifestovao kroz povećanje maksimalne brzine pokreta, ubrzanja i/ili povećanjem amplitude pokreta, i kod grupa koje su imale placebo stimulaciju (Baraduc i sar., 2004; Huang i sar., 2005; Agostino i sar., 2007; Agostino i sar., 2008; Jung i Ziemann, 2009; Iezzi i sar., 2010; Teo i sar., 2011). Drugi motorni

zadaci ispitivani su dosta ređe, ali su slični rezultati (poboljšanje funkcije) dobijeni u studiji sa serijskim vremenom reakcije (Kim i sar., 2004) i u drugoj studiji gde je zadatak bio sinhronizovana kontrakcija proksimalnih i distalnih mišića ruke (Sczesny-Kaiser i sar., 2009). U skladu sa tim, u jednoj od retkih studija gde je korišćen PPT, Weiler i sar. (2008) su dobili značajno poboljšanje u izvođenju odmah nakon i 20min posle placebo stimulacije. Veličina poboljšanja posle placeba u toj studiji je bila oko 6%, što je slično nalazima veličine poboljšanja posle obe placebo metode u našoj studiji.

Nažalost, prisustvo i obim mogućeg uticaja placeba u ovim studijama se ne može zaključiti, jer nijedna od njih nije imala ispitanike koji su testirani bez bilo kakve intervencijske procedure. Zapravo, ne možemo isključiti mogućnost da je ostvareno motorno učenje rezultat jedino ponavljanja izvođenja motornog zadatka, bez doprinosa placebo efekta.

Pokazano je da kod zdravih ljudi, različiti tipovi placebo intervencija mogu povećati snagu i izdržljivost i redukovati zamor kod različitih motornih zadataka (videti Pollo i sar., 2011). Placebo efekat primećen je i kod preciznosti i brzine u vizuo-motornom zadatku sa jezičkim operacijama (Colagiuri i Boakes, 2010). Međutim, nema studija koje su specifično istraživale efekat placeba na motorno učenje, iako je pokazan efekat placeba u drugim tipovima implicitnog učenja (Colagiuri i sar., 2011).

U studiji Muellbacher-a i sar. (2002), koja nije dizajnirana da istraži TMS placebo efekat na motorno učenja, ipak se mogu naći neki korisni podaci. Oni su metronomom zadavali ritam koga su ispitanici pratili i izvodili stiske palca i kažiprsta. Pored nekoliko paralelnih grupa ispitanika izloženih različitim kombinacijama motornog vežbanja i rTMS protokola, bila je i grupa koja je imala samo motorno vežbanje bez TMS intervencije. Kao što je očekivano, grupa je pokazala značajan efekat motornog učenja na kraju vežbanja. U jednoj od drugih grupa iz studije, ispitanici su stimulirani rTMS-om iznad okcipitalnog režnja, koji je irelevantan za ovaj tip motornog učenja i može se posmatrati kao forma placeba. Motorno učenje u ovoj grupi se nije razlikovalo od motornog učenja grupe koja nije imala TMS intervenciju. To je u potpunosti u saglasnosti sa rezultatima naše studije, gde je pokazano da nema razlika u motornom učenju na PPT-u između KONTROLA_{TBS} i KONTROLA_{ØTMS} grupe. Osim toga, u našoj studiji pokazano je da dve placebo TMS metode sa različitim osobinama

(trajanje i obrazac zadavanja stimulusa), u suštini imaju isti placebo efekat na motorno učenje na PPT-u, koji je isti kao kada nema TMS intervencije.

Može se zaključiti da rezultati ove analize daju dokaz da je PPT validan motorni zadatak za procenu potencijalnih efekata TMS neuromodulatornih metoda na motorno učenje bez ometajućeg uticaja placebo efekta. Takođe, nepostojanje razlika između dve TMS placebo tehnike, sugeriše da tip placebo TMS procedure nije od većeg značaja kada se radi o motornom učenju na zadacima koji se izvode rukom. Prikazani rezultati zajedno sa rezultatima studije Muellbacher-a i sar. (2002), takođe, sugerišu da je motorno učenje generalno otporno na placebo efekat TMS metoda, a možda i intervencijskih procedura uopšte.

7.5. REZULTATI I DISKUSIJA ANALIZE EFEKTA cTBS/tTBS-M1 NA MOTORNO UČENJE

7.5.1. Rezultati

Prethodno prikazana analiza pokazala je da ne postoje značajne razlike između ispitanika grupa $KONTROLA_{TBS}$ i $KONTROLA_{\emptyset TMS}$ u motornom učenju na PPT-u, tako da je $KONTROLA_{TBS}$ grupa uzeta kao kontrolna grupa za sve varijable. Izuzetak je PPTs zadatak koga ispitanici $KONTROLA_{TBS}$ grupe nisu radili, pa je kao kontrolna grupa korišćena $KONTROLA_{\emptyset TMS}$.

Poređenjem grupa ($GRUPA_{cTBS/tTBS}$ i $KONTROLA_{TBS}$) po starosti ispitanika, stepenu lateralizovanosti, vrednostima PMP-a, početnoj ekscitabilnosti (MEP_{T0}) i po skorovima na PPTn-u i PPTd-u pre intervencije pokazano je da nije bilo razlika između grupa (*Tabela 11*). Takođe, nije bilo razlika između polova u navedenim varijablama, kao ni u broju uključenih muškaraca i žena (Hi kvadrat test sa Jejtsovom korekcijom: $\chi^2 = 0,000$; $p = 1,000$). Jedina razlika je postojala kod vrednosti VR-a pre intervencije (*Tabela 11*), ali s obzirom da su sva merenja nakon stimulacije normalizovana u odnosu na inicijalne vrednosti, onda ta razlika nije predstavljala bitan ometajući faktor za praćenje eventualnih promena u motornom učenju. U skorovima na PPTs-u pre intervencije, $GRUPA_{cTBS/tTBS}$ i $KONTROLA_{\emptyset TMS}$ međusobno se nisu razlikovale ($T_{(20)} = -1,529$; $p = 0,142$).

Niko od ispitanika nije imao neprijatnih senzacija prilikom aplikovanja cTBS/iTBS-a, ni neželjenih posledica (npr. glavobolja ili pospanost) nakon primene protokola.

Tabela 11. Početne vrednosti i značajnosti razlika između grupa (GRUPA_{cTBS/iTBS} i KONTROLA_{TBS}) pre intervencije.

	Srednja vrednost \pm SD		T test	
	cTBS/iTBS	Placebo	T (df = 22)	P
Starost (god)	27 \pm 2,9	26 \pm 1,9	-0,667	0,512
Stepen lateralizovanosti	81 \pm 11,5	74 \pm 9,7	-1,033	0,326
PMP (%)	60 \pm 9,0	61 \pm 10,5	0,208	0,837
MEP _{T0}	2,3 \pm 1,5	1,8 \pm 1,7	-0,815	0,424
VR (s)	0,18 \pm 0,01	0,21 \pm 0,03	3,215	0,004
PPT _n	15 \pm 1,7	16 \pm 1,4	0,455	0,654
PPT _d	17 \pm 1,9	17 \pm 1,2	-0,021	0,983

Kriterijum značajnosti sa Bonfèroni korekcijom je $p < 0,007$.

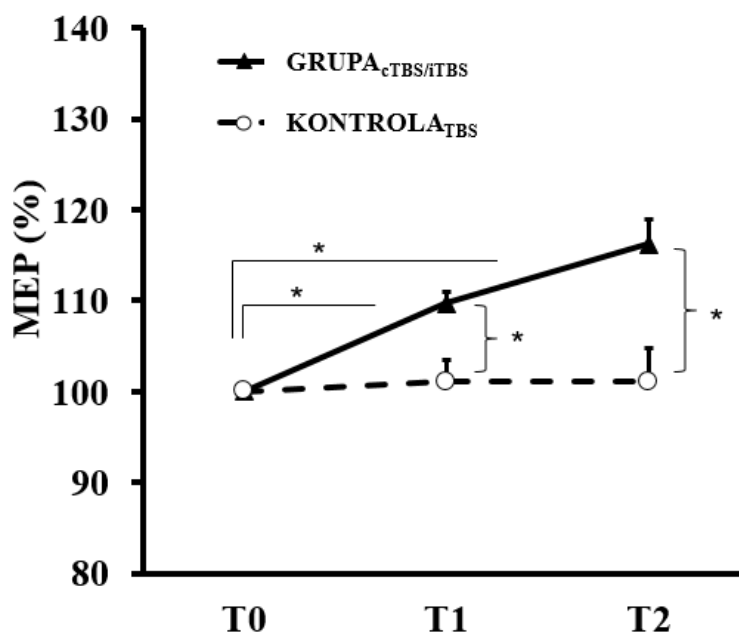
7.5.1.1. Ekscitabilnost

Ekscitabilnost M1 oblasti nedominantne hemisfere (MEP_n) menjala se tokom vremena (Slika 24). Postojali su značajni efekti faktora „Vreme“ i „Grupa“, kao i značajan efekat interakcije faktora „Vreme x Grupa“ (Tabela 12). *Post hoc* analiza unutar grupa je pokazala da su kod ispitanika iz GRUPA_{cTBS/iTBS} značajno veće amplitude MEP_n-a u vremenima T1 i T2 u odnosu na vrednosti u vremenu T0 (T0 naspram T1: $p = 0,000$; T0 naspram T2: $p = 0,000$; T1 naspram T2: $p = 0,088$). Kod ispitanika KONTROLA_{TBS} grupe nije postojala promena ekscitabilnosti tokom vremena (za sva poređenja, $p > 0,686$). Takođe, između grupa postojala je značajna razlika u amplitudama MEP_n-a u vremenu T1 i T2, gde su ispitanici iz GRUPA_{cTBS/iTBS} imali veće amplitude MEP-ova (T1: $p = 0,005$; T2: $p = 0,004$). Ekscitabilnost M1 oblasti dominantne ruke (MEP_d) nije se značajno menjala tokom vremena (Tabela 12).

Tabela 12. Rezultati kombinovane ANOVE 3x2 (faktor „Vreme“(T0, T1, T2) i faktor „Grupa“(cTBS/iTBS i KONTROLA_{TBS}) i jednofaktorske ANOVE sa ponovljenim merenjima (faktor „Vreme“). Jednofaktorskom ANOVOM analizirani su MEPd i VRd.

	Vreme ($F_{(df, error df)}$)	Vreme x Grupa ($F_{(df, error df)}$)	Grupa ($F_{(df, error df)}$)
MEPn	12,336** (2, 21)	8,753** (2, 21)	17,711** (1, 22)
MEPd	1,47 (2, 10)	-	-
VRn	1,513 (2, 21)	1,154 (2, 21)	0,084 (1, 22)
VRd	0,733 (2,10)	-	-
PPTn	25,112** (2, 21)	11,334** (2, 21)	1,131 (1, 22)
PPTd	39,825** (2, 21)	0,592 (2, 21)	1,156 (1, 22)

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$



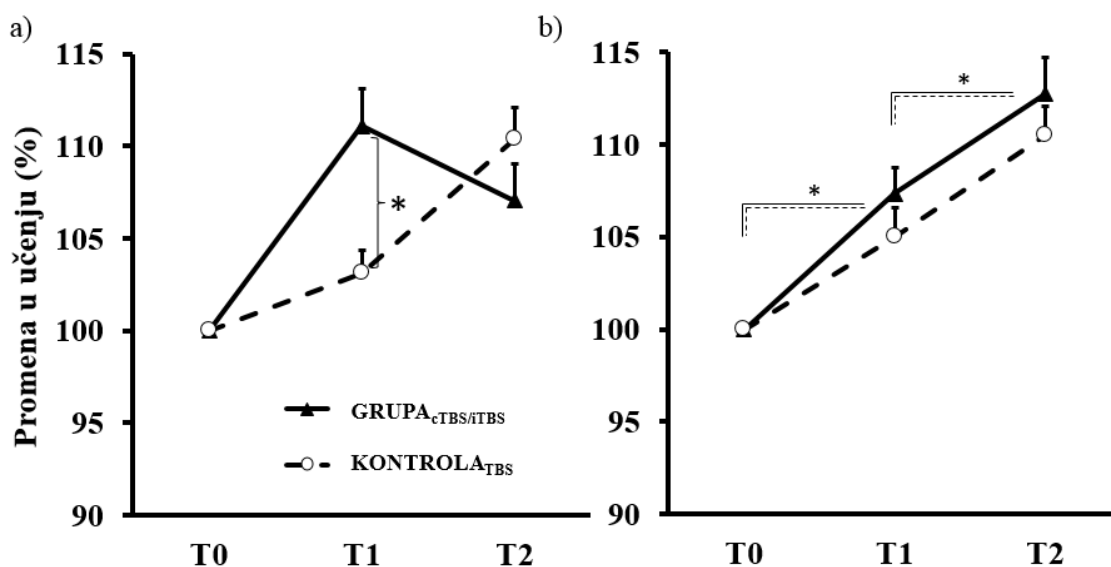
Slika 24. Promena ekscitabilnosti nedominantne M1 oblasti tokom vremena, kod GRUPA_{cTBS/iTBS} i KONTROLA_{TBS} grupe. Puna linija označava grupu koja je imala sekvencijalnu bilateralnu cTBS/iTBS stimulaciju, a isprekidana linija grupu koja je imala placebo stimulaciju. Prikazane su srednje vrednosti (normalizovane u odnosu na T0) \pm SEM. Zvezdica (*) označava nivo značajnosti od $p < 0,05$.

7.5.1.2. Motorni zadaci

Vrednosti VR-a se nisu značajno menjale tokom vremena i bile su slične kod ispitanika obe ispitivane grupe (Tabela 12).

Rezultati na PPT-u ukazuju na postojanje učenja kod ispitanika obe grupe za obe ruke (Slika 25). Takođe, postojalo je motorno učenje na bilateralnom PPTs zadatku (Slika 26).

Za učenje nedominantnom rukom na PPT-u, postojao je značajan efekat faktora „Vreme“, dok efekat faktora „Grupa“ nije bio značajan. Međutim, efekat interakcije faktora „Vreme x Grupa“ bio je značajan (Tabela 12). *Post hoc* analiza unutar grupa je pokazala da su ispitanici iz GRUPA_{cTBS/iTBS} učili u vremenu T1 u odnosu na vreme T0 ($p = 0,000$), dok je u T2 vremenu došlo do zastoja u učenju sa trendom pogoršanja učenja (T1 naspram T2; $p = 0,063$). Ispitanici KONTROLA_{TBS} grupe su sve vreme učili (T0 naspram T1: $p = 0,029$ i T1 naspram T2: $p = 0,000$) (Slika 25a). Značajna razlika u učenju između grupa postojala je u vremenu T1, gde su ispitanici iz GRUPA_{cTBS/iTBS} više naučili od ispitanika KONTROLA_{TBS} grupe ($p = 0,003$), dok u vremenu T2 razlika u učenju nije bila značajna ($p = 0,218$).

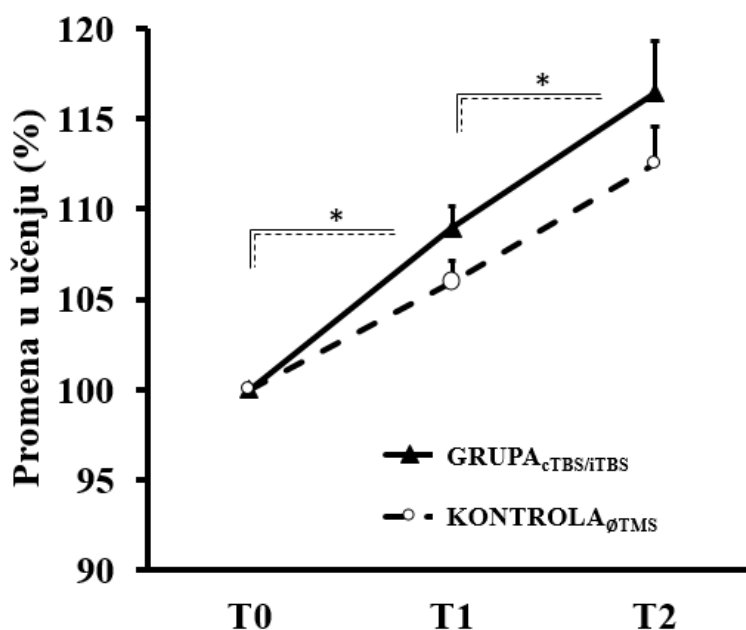


Slika 25. Promene u motornom učenju tokom izvođenja PPT-a, a) za nedominantnu ruku i b) za dominantnu ruku. Prikazane su srednje vrednosti (normalizovane u odnosu na T0) \pm SEM. Puna linija označava grupu koja je imala sekvencijalnu bilateralnu cTBS/iTBS stimulaciju, a isprekidana linija grupu koja je imala placebo stimulaciju. Zvezdica (*) označava nivo značajnosti od $p < 0,05$.

U učenju dominantnom rukom na PPT-u, ispitanici obe grupe (GRUPA_{cTBS/iTBS} i KONTROLA_{TBS}) imali su sličan napredak u učenju tokom vremena (Slika 25b). Postojao je značajan efekat faktora „Vreme“, dok efekat faktora „Grupa“ i efekat

interakcije faktora „Vreme x Grupa“ nisu bili značajni (Tabela 12). *Post hoc* test za faktor „Vreme“ je pokazao da je efekat učenja bio značajan u vremenu T1 u odnosu na vreme T0 ($p = 0,000$), kao i u vremenu T2 u odnosu na vreme T1 ($p = 0,000$) (Slika 25b).

U bilateralnom motornom učenju na PPTs-u, slično učenju dominantnom rukom na PPT-u, ispitanici obe grupe (GRUPA_{cTBS/iTBS} i KONTROLA_{ØTMS}) slično su učili tokom vremena (Slika 26). Postojao je značajan efekat faktora „Vreme“ ($F(2, 19) = 44,259$; $p = 0,000$), dok efekat faktora „Grupa“ nije bio značajan ($F(1, 20) = 2,157$; $p = 0,157$), kao ni efekat interakcije faktora „Vreme x Grupa“ ($F(2, 19) = 1,575$; $p = 0,233$). *Post hoc* test za faktor „Vreme“ je pokazao da je efekat učenja bio značajan u vremenu T1 u odnosu na vreme T0 ($p = 0,000$), kao i u vremenu T2 u odnosu na vreme T1 ($p = 0,000$) (Slika 26).



Slika 26. Promene u motornom učenju tokom izvođenja PPTs-a. Prikazane su srednje vrednosti (normalizovane u odnosu na T0) \pm SEM. Puna linija označava grupu koja je imala sekvencijalnu bilateralnu cTBS/iTBS stimulaciju, a isprekidana linija grupu koja nije imala bilo kakvu TMS stimulaciju. Zvezdica (*) označava nivo značajnosti od $p < 0,05$.

7.5.2. Diskusija

U ovoj studiji, cilj je bio ispitati dejstvo kombinovanog bilateralnog cTBS/iTBS-M1 protokola na VR i rano motorno učenje na PPT-u i PPTs-u. Pokazano je da je

sekvencijalna bilateralna TBS, u skladu sa prvom hipotezom studije, povećala ekscitabilnost nedominantne M1 oblasti, dok se ekscitabilnost dominantne M1 oblasti nije menjala. Ekscitabilnost KONTROLA_{TBS} grupe bila je ista tokom vremena.

U studiji Ragert-a i saradnika (2009), istraživan je efekat sekvencijalne bilateralne stimulacije na ekscitabilnost obe hemisfere i efekat na motorno učenje. Za razliku od našeg eksperimenta, kod njih su MEP-ovi mereni ne samo pre prve stimulacije i nakon druge stimulacije, nego i između prve i druge stimulacije. Isto kao i u našoj studiji, nedominantna hemisfera je bila ciljna. Inhibitorni protokol za dominantnu hemisferu bio je 1Hz rTMS–M1, a ekscitatorni protokol za nedominantnu hemisferu iTBS–M1. Na osnovu izmerenih amplituda MEP-a, zaključili su da je nakon 1Hz rTMS-a dominantne hemisfere došlo do povećanja ekscitabilnosti suprotne nedominantne hemisfere, slično kao u radovima drugih autora (Schambra i sar., 2003; Kobayashi i sar., 2004; Kobayashi i sar., 2009; Kobayashi, 2010). Kada je odmah nakon toga usledila ekscitatorna stimulacija nedominantne hemisfere, izazvan je suprotan efekat, spuštanje ekscitabilnosti i dovođenje na početni nivo. Ovaj nalaz protumačen je kao manifestacija homeostatskog plasticiteta M1 oblasti nedominantne hemisfere. Za razliku od njihove studije, mi smo koristili drugačiji inhibitorni protokol (cTBS) koji ne izaziva tako snažan interhemisferični uticaj (što je pokazano na motornom učenju u eksperimentu „TBS inhibicija učenja“). Zbog slabog interhemisferičnog uticaja cTBS protokola, homeostatski plasticitet posle primene iTBS protokola nije bio u našoj studiji tako izražen kao u studiji Ragert-a i saradnika (2009), tako da je na kraju ipak registrovano značajno povećanje ekscitabilnosti nedominantne M1 oblasti. Međutim, promena ekscitabilnosti je bila znatno manja nego kao kada su primenjeni pojedinačni TBS protokoli. U eksperimentu „TBS facilitacija učenja“, odmah nakon iTBS-a, ekscitabilnost je porasla 31%, u eksperimentu „TBS inhibicija učenja“ nakon cTBS-a ekscitabilnost je pala za 33%, dok je u ovom eksperimentu povećanje ekscitabilnosti nedominantne M1 oblasti bilo za 10% odmah nakon sekvencijalne bilateralne TBS. S druge strane, efekat homeostatskog plasticiteta na dominantnoj hemisferi je izgleda bio izraženiji pa je poništio efekte stimulacija, tako da nije ostvarena značajna razlika u nivou ekscitabilnosti dominantne M1 oblasti, nakon aplikovanja sekvencijalne bilateralne TBS.

Nepostojanje efekta cTBS/iTBS-M1 na VR je u saglasnosti sa rezultatima naša prethodna tri urađena eksperimenata, kao i sa rezultatima prikazane studije Ragert-a i saradnika (2009). U njihovom istraživanju izvodili su se nekoliko motorni zadaci: brzina lupkanja kažiprstom, VR i brzina balističkih pokreta stiskom prstiju, i ni u jednom zadatku nisu dobijene razlike u motornom učenju nakon bilateralne stimulacije. Svi motorni zadaci iz studije Ragert-a i saradnika (2009), uključujući i VR, relativno se jednostavno izvode i najverovatnije ne zahtevaju neku veću aktivaciju motornih kortikalnih regiona. Slično se pokazalo u svim našim urađenim eksperimentima, promene ekscitabilnosti i aktivacije kore velikog mozga kod zdravih ispitanika ne mogu da izazovu značajne promene u VR-u.

U skladu sa trećom hipotezom studije, cTBS/iTBS-M1 je ubrzala početno motorno učenje nedominantnom rukom na PPT-u (kriva T0-T1, *Slika 25a*), ali i onemogućila kasniju konsolidaciju u učenju (kriva T1-T2, *Slika 25a*). Naime, bez obzira što je povećanje ekscitabilnosti M1 oblasti nakon sekvencijalne bilateralne stimulacije bilo najmanje, motorno učenje nedominantnom rukom na PPT-u odmah nakon stimulacije bilo je bolje u odnosu na KONTROLA_{TBS} grupu. Zbog složenih interaktivnih efekata koje izaziva bilateralna stimulacija, teško je precizno analizirati uključenost pojedinih moždanih regiona i njihovog uticaja na observirano motorno učenje. Možemo samo spekulirati da je početna inhibicija dominantne hemisfere možda oslobodila nedominantnu ruku inhibitornog uticaja od strane dominantne i da je to, uz dodatni direktni facilitirajući efekat iTBS-a, razlog naglog porasta u učenju nedominantnom rukom. Ovaj fenomen oslobađanja od inhibicije je prisutan kod pacijenata sa oštećenom hemisferom mozga (npr. nakon moždanog udara). Kod takvih pacijenata, neoštećena hemisfera teži da kompenzuje oštećenje suprotne strane i tako svojom povećanom ekscitabilnošću pravi povećanu inhibiciju na suprotnu stranu (Talelli i Rothwell, 2006). Kada se TMS metodama inhibira tako prirodno ekscitirana neoštećena hemisfera mozga, utiče se na brži oporavak oštećene hemisfere (brže motorno učenje ipsilateralnom rukom) (Emara i sar., 2010). Kasniji zastoj u učenju nedominantnom rukom bi mogao biti rezultat homeostatskog plasticiteta, koji je doprineo da dominantna hemisfera pojača svoj inhibitorni uticaj na ipsilateralnu ruku. Alternativno objašnjenje bi moglo biti da je usvrašavanje izvođenja zadatka na PPT-u dostiglo svoj plato u T1 vremenu i da dalja poboljšanja višu nisu bila moguća.

Kod dominantne ruke nismo imali značajnih razlika u motornom učenju ispitanika iz GRUPA_{cTBS/iTBS} i ispitanika KONTROLA_{TBS} grupe (*Slika 25b*). Promena ekscitabilnosti dominantne hemisfere nije zabeležena, a efekat promene ekscitabilnosti nedominantne hemisfere na motorno učenje dominantnom rukom je bio neznatan. Izostanak promena u učenju dominantnom rukom u ovoj studiji se možda može objasniti relativnom robustnošću motornih funkcija dominantne hemisfere i njihovoj većoj otpornosti na modulaciju ekscitabilnosti. S druge strane, moguće je efekat metastatskog plasticiteta, gde je inhibitorni efekat direktne cTBS stimulacije poništen indirektnim efektom iTBS stimulacije suprotne hemisfere.

Na PPTs-u, u skladu sa četvrtom hipotezom studije, cTBS/iTBS-M1 nije promenila prirodno motorno učenje koje je bilo slično učenju ispitanika KONTROLA_{ØTMS} grupe. U izvođenju PPTs zadatka dominantna ruka je bila vodeća, a dominantna hemisfera je generalno vodeća u izvođenju bilateralnih manuelnih zadataka (Jancke i sar., 1998; Serrien i sar., 2003; Serrien i sar., 2012), tako da je ovaj rezultat u skladu sa rezultatom dobijenim za učenje na PPT-u dominantnom rukom. Na osnovu ovog nalaza može se takođe zaključiti da se sekvencijalna bilateralna TBS može bezbedno koristiti za ubrzavanje ranog motornog učenja nedominantnom rukom bez ometajućeg uticaja na koordinaciju između ruku.

8. GENERALNA DISKUSIJA

Motorno učenje se odvija u nekoliko osnovnih faza: rana faza brzog učenja, kasnija faza sporijeg usavršavanja motornih veština, i krajnja faza razvijanja automatizma u izvođenju, koja nastaje u trenutku kada je neka veština u potpunosti naučena. Od interesa za istraživanje u ovoj disertaciji je bila rana faza motornog učenja. U ovoj fazi M1 oblast je najaktivnija, dok se njena aktivacija u kasnijim fazama relativno smanjuje (Park i sar., 2010). S druge strane, pojedinačnim stimulusima TMS-a iznad M1 oblasti dobijaju se direktni fiziološki odgovori upravo o nivou ekscitabilnosti (stepenu aktivacije) M1. Na taj način je bilo moguće u različitim vremenskim trenucima upoređivati bihevioralne i fiziološke promene koje se dešavaju usled interakcije ponavljanja izvođenja zadataka i primenjenih TMS intervencijskih procedura.

U ranoj fazi motornog učenja treba razlikovati period učenja tokom izvođenja motornog zadatka (period akvizicije) i period učenja kada nema izvođenja, ali postoji povećana aktivnost moždanih regiona zaduženih za motorno učenje (period konsolidacije) (za detaljan pregled pogledati Tanaka i sar., 2011). Tokom oba ova perioda M1 oblast igra jednu od ključnih uloga stvaranjem sinergija za brže i preciznije izvođenje pokreta (Krakauer i Mazzoni, 2011; Shmuelof i Krakauer, 2011; Penhune i Steele, 2012). Studija Muellbacher-a i saradnika (2002) je ukazala da se inhibitornim 1Hz rTMS protokolom aplikovanim iznad M1 u ranoj konsolidaciji učenja brzih balističkih pokreta (stisci kažiprstom i palcem), može narušiti konsolidacija i zaustaviti proces učenja. Ova studija je bila pokretač nove linije istraživanja efekata modulacije motornog učenja putem TMS stimulacije M1 oblasti.

U kasnijim studijama (Baraduc i sar., 2004; Iezzi i sar., 2010), potvrđeno je da TMS-M1 može narušiti rano učenje balističkih abdukcija kažiprsta, bilo da se TMS primenjuje u periodu konsolidacije (Baraduc i sar., 2004) ili u periodu pre početne faze akvizicije pokreta (Iezzi i sar., 2010). Rezultati eksperimenta „cTBS inhibicija učenja“ su u skladu sa ovim rezultatima, s tim što smo mi pokazali da cTBS-om možemo zaustaviti rano motorno učenje na složenom zadatku (PPT). Naime, inhibitorni cTBS koga su ispitanici dobili nakon početnog izvođenja zadatka, sprečio je ranu konsolidaciju naučenog. Za razliku od prikazanih zadataka, gde ponavljanjem dolazi do motornog učenja, kod drugog zadatka korišćenog u našoj studiji, VR, nije primećen

efekat ponavljanja/učenja, tj. izvođenje VR-a bilo je uvek slično bez obzira na broj ponavljanja. Naime, nije ostvaren efekat učenja izvođenjem VR-a u kontrolnoj grupi koja je dobijala placebo stimulaciju, ali nije se menjalo izvođenje ni kod eksperimentalne grupe pod uticajem primenjenog inhibitornog protokola TMS-a. Najverovatnije je, da je usled relativne jednostavnosti zadatka potreban veoma mali stepen aktivacije M1 da bi se postiglo njegovo optimalno izvođenje tako da nema efekta učenja sa daljim ponavljanjem, a stoga je i „funkcionalna rezerva“ M1 za obavljanje VR-a dovoljno velika da kompenzuje TMS-om izazvano smanjenje aktivacije.

Uporedo sa primenom inhibitornih metoda i protokola TMS-a, sprovodile su se studije koje su ispitivale mogućnost ubrzavanja ranog motornog učenja ekscitatornim TMS metodama. Iz ranije navedenih razloga, M1 oblast je najviše eksploatisana od strane istraživača. Kim i saradnici (2004) su primenjivali rTMS_{5Hz} - M1 tokom izvođenja složenog zadatka ponavljanja sekvenci pokreta (serijsko vreme reakcije), tj tokom perioda akvizicije. Na zadatku je ostvareno motorno učenje, a pod uticajem rTMS_{5Hz} ono je bilo dodatno ubrzano. Teo i saradnici (2011) su primenjivali iTBS-M1 pre početnog izvođenja brzih abdukcija palca, tj. pre perioda akvizicije. Podizanjem ekscitabilnosti M1, takođe je izazvano ubrzanje motornog učenja u poređenju sa placebo grupom, kod koje su ispitanici učili značajno manje nego grupa sa iTBS stimulacijom. Ove dve studije su nam pokazale da je M1 oblast jedna od ključnih aktivnih kortikalnih oblasti tokom ranog učenja izvođenjem zadatka (period akvizicije), što je i očekivano, jer silazne komande ka mišićima generisane tokom izvođenja zadatka idu iz velikih piramidalnih ćelija koje se nalaze u M1 oblasti (*Slika 5*).

Za razliku od navedenih autora, Agostino i saradnici (2007; 2008) su se bavili modulacijom aktivnosti M1 oblasti u periodu rane konsolidacije brzih balističkih abdukcija kažiprsta. Bez obzira da li su primenjivali rTMS_{5Hz} ili iTBS, motorno učenje je ostajalo nepromenjeno. Slično ovim nalazima, u svim našim eksperimentima, u kojima su neuromodulatorne intervencije izvođene takođe u periodu rane konsolidacije, izvođenje VR-a je ostalo otporno na promene bez obzira na tip primenjene TMS metode. Intermitentnim TBS protokolom smo podigli ekscitabilnost kontralateralne M1 oblasti zadužena za izvođenje VR-a, ali izostanak promena u izvođenju je sugerisao da se optimalno izvođenje VR-a dešava na dosta manjim nivoima aktivacije M1. U eksperimentu „rTMS facilitacija učenja“, pokušali smo da izazovemo promene sa manje

specifičnim rTMS_{10Hz} protokolom koji izaziva i aktivaciju interneuronskih struktura zaduženih za interhemisferiču interakciju, ali VR je konzistentno ostalo na istom nivou. Sekvencijalnom bilateralnom TBS smo hteli direktnim ili indirektnim putem da aktiviramo više kortikalnih struktura očekujući jači efektat na bihevioralne promene, ali VR je ostalo na istom početnom nivou. S obzirom da u VR-u nije bilo motornog učenja slično kao u eksperimentu „cTBS inhibicija učenja“, to znači da nije bilo ni konsolidovanja učenja. Pokazalo se da je bazni nivo aktivnosti M1 kod zdravih ljudi dovoljan za optimalno izvođenje VR-a, tako da povećanje ili smanjenje ekscitabilnosti M1 ne utiče značajno na izvođenje zadatka, što se slaže i sa ranije prikazanim rezultatima studije Ragert-a i saradnika (2009). Međutim, studije koje su rađene na pacijentima nakon moždanog udara su pokazale drugačije rezultate (Talelli i sar., 2007; Sung i sar., 2013). Povećanje ekscitabilnost M1 oblasti oštećene hemisfere pomoću TMS metoda dovodilo je do značajnog skraćenja VR-a. Može se pretpostaviti da kod ovakvih ispitanika bazalna aktivnost M1 i funkcionalno povezanih struktura nije na optimalnom nivou (tj. niža je nego kod zdravih ispitanika), te je samim tim i mogućnost menjanja VR-a veća. Zapravo, ove studije ukazuju da je M1 oblast bitna za izvođenje VR-a, dok naši urađeni eksperimenti na zdravim ispitanicima naglašavaju da je bazalna aktivnost M1 kod zdravih ispitanika na dosta višem nivou od nivoa neophodne aktivnosti za optimalno izvođenje VR-a.

Rajji i saradnici (2011) su u svom istraživanju pomoću asocijativnog izazivanja promena plasticiteta (PAS metoda TMS-a) u trenutku rane konsolidacije pokreta ispitivali promene na učenje složenijeg motornog zadatka, koji se sastojao u preciznom praćenju pokretne tačke na elektronskoj tabli („*Rotary pursuit*“). Nakon 45min od primenjene stimulacije, izazvano povećanje ekscitabilnosti M1 je ubrzalo motorno učenje u poređenju sa ispitanicima kontrolne grupe. Za razliku od studija Agostino-a i saradnika (2007; 2008) i rezultata naših eksperimenata za učenje na VR-u, ova studija je ukazala da je mogućnost izazivanja efekat na motorno učenje TMS-om veća ukoliko se koristi složeniji motorni zadatak koji zahteva veću kortikalnu aktivnost. U skladu sa ovim nalazom, na složenijem zadatku korišćenom u našoj studiji, na PPT zadatku dolazilo je do promena u učenju. U svim prikazanim eksperimentima TMS-M1 primenjena u trenutku rane konsolidacije učenja menjala je prirodni obrazac motornog učenja. U prvom eksperimentu „TBS facilitacija učenja“, ekscitatornim iTBS

protokolom iznad M1 oblasti izazvane su promene u vidu povećanja ekscitabilnosti odmah nakon stimulacije, ali i naglo vraćanje ekscitabilnosti na početni nivo nakon 30 minuta od stimulacije. Navedene promene ekscitabilnosti bile su praćene izmenjenim motornim učenjem kontralateralnom rukom na PPT-u. Posebno, pad ekscitabilnosti nakon 30 minuta je koincidirao sa zastojem u motornom učenju kontralateralnom rukom (*Slika 14a*). U trećem eksperimentu „rTMS facilitacija učenja“, takođe je izazvana promena u vidu povećanja ekscitabilnosti, koja je ostala na visokom nivou i nakon 30 minuta. Takva promena ekscitabilnosti izazvala je suprotne obrazce učenja na PPT-u u odnosu na pol ispitanika. Takođe, izazvana promena ekscitabilnosti uticala je na ipsilateralnu stranu tela, gde su obrasci učenja isto bili suprotni između muškaraca i žena, ali i suprotni u odnosu na drugu stranu tela. Lissek-a i saradnici (2007) su fMRI neuro-slikanjem pokazali da postoje značajne razlike između polova u obrascima aktivacije kortikalnih i subkortikalnih regiona mozga tokom konsolidacije motornog učenja. Različiti obrasci aktiviranja moždanih regiona tokom perioda konsolidacije mogu biti razlog dobijenih razlika između polova u motornom učenju kod ispitanika iz našeg eksperimenta. U četvrtom eksperimentu sekvencijalnom bilateralnom primenom cTBS/iTBS protokola na različitim hemisferama mozga, izazvana je promena ekscitabilnosti nedominantne M1 oblasti, koja, zbog prisutnih homeostatskih mehanizama, nije bila tako velika kao u prva dva TBS eksperimenta. Ipak, takva facilitatorna promena ekscitabilnosti izazvala je najveći porast u motornom učenju nedominantnom (ciljnom) rukom na PPT-u nakon stimulacija. Kao što je diskutovano u eksperimentu, možemo pretpostaviti da je početna inhibicija dominantne hemisfere oslobodila nedominantnu ruku inhibitornog uticaja dominantne i da je to razlog naglog porasta u učenju. Kasniji zastoj u učenju nedominantnom rukom bi mogao biti rezultat homeostatskog plasticiteta, koji je doprineo da dominantna hemisfera kompenzatorno pojača svoj inhibitorni uticaj na ipsilateralnu ruku.

Praćenjem i upoređivanjem krive učenja na PPT-u i krive koja označava promenu ekscitabilnosti M1, zapažaju se određene pravilnosti. U eksperimentu „TBS inhibicija učenja“, početna inhibitorna promena ekscitabilnosti bila je praćena zastojem u učenju kontralateralnom rukom na PPT-u. Nasuprot tome, konstantno nizak nivo ekscitabilnosti nije uticao na motorno učenje, naime napredak u učenju (kriva T1-T2, *Slika 16a*) kontralateralnom rukom kod ispitanika eksperimentalne grupe, bio je sličan

napretku u učenju ispitanika kontrolne grupe. Slično zapažanje se vidi u eksperimentu „TBS facilitacija učenja“, gde se nakon 30 minuta od stimulacije ekscitabilnost vratila na početni nivo, što je koincidirao sa zastojem u motornom učenju kontralateralnom rukom (*Slika 14a*). Iz ovoga se može zaključiti da na motorno učenje utiče promena ekscitabilnosti, a ne sama veličina ekscitabilnosti u trenutku učenja. Promena ekscitabilnosti predstavlja funkcionalni plasticitet M1, za razliku od same veličine ekscitabilnosti koja govori samo o stepenu aktivacije M1. Zapravo, ovo sugerise da promena ekscitabilnosti M1 oblasti možda služi kao inicijator za pokretanje ili zaustavljanje konsolidacije u učenju nekog drugog kortikalnog ili subkortikalnog regiona mozga. U prilog ovom zaključku, postoje rezultati studija koje su neuroslikanjem pokazale da postoji povećana aktivnost više moždanih regiona tokom konsolidacije motornog učenja. Od kortikalnih oblasti najveća aktivnost tokom konsolidacije je primećena kod motorne, premotorne, prefrontalne, parijetalne i suplementare motorne oblasti, a kod subkortikalnih oblasti povećana aktivnost je primećena kod talamusa, bazalnih ganglija i korteksa malog mozga (za detalje videti Shadmehr i Holcomb, 1997; Hardwick i sar., 2013). Takođe, postoje TMS studije koje su neuromodulacijom premotorne i prefrontalne oblasti pokazale da postoji mogućnost menjanja konsolidacije učenja (Boyd i Lindsell, 2009; Galea i sar., 2010). Boyd i Lindsell (2009) su primenjivali ekscitatorni rTMS_{5Hz} protokol, inhibitorni rTMS_{1Hz} protokol i placebo stimulaciju iznad dorzalne premotorne oblasti četiri puta u toku četiri dana pre sesija predviđenih za motorno učenje. Motorni zadatak se sastojao u kontinuiranom praćenju pokretne mete pomoću džojstika, čija je putanja bila slična sinusoidalnoj krivoj. Ekscitatorni protokol TMS-a je doprineo poboljšanju učenja tokom perioda konsolidacije u poređenju sa inhibitornim TMS protokolom i placebo stimulacijom koji nisu promenili uobičajeni tok učenja. Galea i sar. (2010) su pokazali da iTBS aplikovan iznad dorzolateralnog prefrontalnog korteksa poboljšava konsolidaciju učenja na zadatku serijsko vreme reakcije. Nalazi ovih eksperimenata dodatno naglašavaju da M1 oblast možda nije od ključnog značaja za motorno učenje, već da do nje dolaze već gotove isprogramirane akcije iz drugih moždanih regiona.

Rezultati učenja na PPT-u u našem eksperimentu „rTMS facilitacija učenja“ su pokazali da postoje razlike u obrascima učenja u odnosu na pol, s tim što razlike nisu

postojale u ukupnoj količini naučenog (30 minuta nakon stimulacije). Zapravo, to na nedvosmislen način govori da rTMS_{10Hz} protokol stimulacije aktivira različite interneuronske populacije kod žena u odnosu na muškarce, tako da su možda i različiti delovi mozga u zavisnosti od pola bili aktivni tokom konsolidacije učenja. Ovim se potvrđuje zaključak iz prva dva TBS eksperimenta, da je promena ekscitabilnosti M1 samo inicijator u učenju složenijih motornih zadataka kao što je PPT.

Izazvana promena ekscitabilnosti M1 oblasti, pored aktiviranja drugih kortikalnih i subkortikalnih oblasti, preko *corpus callosum-a* može aktivirati i promeniti ekscitabilnost M1 oblasti suprotne hemisfere (Schambra i sar., 2003; Kobayashi i sar., 2004). Tako izazvana promena ekscitabilnosti suprotne hemisfere utiče na promene u motornom učenju ruke ipsilateralne u odnosu na stimulisanu hemisferu (Kobayashi i sar., 2009; Kobayashi, 2010). Kobayashi i saradnici (2009) su primenjivali inhibitornu rTMS_{1Hz} iznad leve M1 oblasti pre motornog učenja levom rukom (pre perioda akvizicije) na zadatku serijsko vreme reakcije. Pokazali su da je izabrana TMS metoda indirektno izazvala povećanje ekscitabilnosti suprotne (desne) hemisfere, što je koincidiralo sa poboljšanjem u motornom učenju levom rukom. Naime, ovako indirektno izazvana povećana aktivnost suprotne M1 oblasti jednako je važna za period akvizicije u ranom motornom učenju ipsilateralnom rukom kao i kada se direktnom stimulacijom izazove povećanje ekscitabilnosti kontralateralne M1, što je pokazano u ranije prikazanim studijama (Kim i sar., 2004; Teo i sar., 2011). U drugoj studiji istog autora (Kobayashi, 2010), inhibitorni rTMS_{1Hz} protokol je primenjivan nakon početne serije izvođenja serijskog vremena reakcije u periodu kada dolazi do rane konsolidacije učenja. Ponovo je indirektno izazvano povećanje ekscitabilnosti suprotne hemisfere, što je doprinelo boljoj konsolidaciji i ubrzanju motornog učenja ipsilateralnom rukom. Sličan interhemisferični uticaj je pokazan u našem eksperimentu „rTMS facilitacija učenja“. Mi smo sa rTMS_{10Hz} protokolom stimulacije promenili obrazac učenja ipsilateralnom rukom na PPT-u. Ovakav indirektan uticaj na motorno učenje ipsilateralnom rukom preko suprotne hemisfere mozga posebno je od velikog značaja u neurorehabilitaciji. Kod pacijenata sa oštećenom hemisferom mozga, neoštećena teži da kompenzuje oštećenje suprotne strane, ali tako svojom povećanom ekscitabilnošću dovodi i do povećanja inhibicije suprotne strane (Talelli i Rothwell, 2006). Naš protokol rTMS_{10Hz} bi istovremeno mogao da poboljša učenje oštećene hemisfere i smanji

inhibiciju od strane zdrave hemisfere. Potvrda ovom zaključku su rezultati istraživanja Emara-e i saradnika (2010), koji su kod dve grupe pacijenata nakon moždanog udara primenjivali rTMS_{5Hz} iznad kontralateralne M1 oblasti i rTMS_{1Hz} iznad ipsilateralne M1 oblasti u odnosu na bolesnu stranu tela. U oba slučaja oporavak kod pacijenata je ubrzan, što je pokazano bržim učenjem motornog zadatka koji se sastojao u brzom lupkanju palcem i kažiprstom (taping palcem i kažiprstom za 30s). Za razliku od prikazanih studija koje su pokazale efekte različitih rTMS protokola na učenje ipsilateralnom rukom (Talelli i Rothwell, 2006; Kobayashi i sar., 2009; Emara i sar., 2010; Kobayashi, 2010), i za razliku od našeg prikazanog eksperimenta „rTMS facilitacija učenja“ kod koga je rTMS_{10Hz} protokol izazvao obrnuti obrazac učenja ipsilateralnom rukom, rezultati TBS eksperimenata nisu pokazali interhemisferičnu interakciju i efekat na motorno učenje ipsilateralnom rukom. Odsustvo efekta TBS-a na učenje ipsilateralnom rukom može se objasniti time, što je jedna od karakteristika TBS metode selektivna aktivacija ograničene sub-populacije interneurona u motornom korteksu (Huang i Rothwell, 2004), tako da najverovatnije ne dolazi do aktivacije interneuronskih struktura zaduženih za interhemisferičnu interakciju, koje bi možda uticale na učenje ipsilateralnom rukom. Bitno je naglasiti da u literaturi nema studija koje su se bavile uticajem unilateralnih TBS protokola na učenje ipsilateralnom rukom kod zdravih ispitanika.

Takođe, sekvencijalna bilateralna TBS stimulacija nije izazvala promene u učenju dominantnom rukom, ali ni u učenju na bilateranom PPTs zadatku. Dominantna hemisfera je generalno vodeća u izvođenju bilateralnih manuelnih zadataka (Jancke i sar., 1998; Serrien i sar., 2003; Serrien i sar., 2012) tako da se može pretpostaviti da je i u izvođenju bilateralnog zadatka u našoj studiji dominantna ruka bila vodeća, tako da je ovaj rezultat u skladu sa rezultatima dobijenim za učenje na PPT-u ipsilateralnom (dominantnom) rukom u TBS eksperimentima. Na osnovu ovog nalaza može se zaključiti da se sekvencijalna bilateralna TBS može bezbedno koristiti za ubrzavanje ranog motornog učenja nedominantnom rukom bez ometajućeg uticaja na učenje dominantnom rukom i bez narušavanja koordinacije između ruku.

Prikazani rezultati naših eksperimenata i studija koje su se bavile sličnom problematikom ukazuju da veličina efekta TMS-a na motorno učenje zavisi od složenosti motornog zadatka. Složenost zadatka je obično određena brojem aktivnih

fizičkih sposobnosti (npr. brzina, koordinacija, snaga, preciznost...) potrebnih za izvođenje zadatka. Ukoliko je neophodno regrutovanje više fizičkih sposobnosti to je zadatak složeniji i obrnuto. Na jednostavnijim zadacima gde je brzina dominantna tražena fizička sposobnost pri izvođenju, tj. gde je akcenat samo na što bržem izvođenju zadatka, TMS intervencijama ne možemo značajnije poboljšati uobičajeno motorno učenje, što je u skladu sa našim dobijenim rezultatima za VR, ali i rezultatima drugih studija (Agostino i sar., 2007; Agostino i sar., 2008; Ragert i sar., 2009). Ukoliko se izvodi zadatak u kome pored brzine postoji zahtev za preciznim i spretnim izvođenjem, tj. zadatak je složeniji, mogućnost TMS modulacije motornog učenja čine se znatno većim. U našem složenijem zadatku, PPT zadatku, gde su dominantne fizičke sposobnosti pri izvođenju bile brzina, preciznost i manuelna koordinacija, TMS-om je menjan uobičajeni obrazac učenja. Takođe, rezultati drugih studija, gde su iste sposobnosti bile dominantne pri izvođenju motornih zadataka, pokazali su da je moguće uticati na motorno učenje (Kim i sar., 2004; Rajji i sar., 2011). Prikazani rezultati takođe otvaraju mogućnost za TMS moduliranje motornih zadataka preciznosti i koordinacije koji se izvode u realnom životu. Primeri zadataka u sportu kod kojih su iste sposobnosti aktivne tokom izvođenja su šutevi u sportskim igrama kojima se ostvaruju direktni poeni, brza i tačna dodavanja lopte, preciznost pogađanja mete u streljaštvu ili streličarstvu i sl. (Pekalski, 1990; Lees i sar., 2010; Ali, 2011). Takođe, kod muzičara tokom učenja sviranja na muzičkim instrumentima je potrebna brzina, preciznost i manuelna koordinacija (Baader i sar., 2005; Kazennikov i Wiesendanger, 2009). U neurorehabilitaciji zadaci koji zahtevaju regrutovanje navedenih sposobnosti su bitni za procenu oporavka ali i za trening i ubrzavanje oporavka pacijenata (Coupar i sar., 2012). Na osnovu svega navedenog možemo zaključiti da primena TMS-a u budućnosti može imati veliki značaj u sportskim pripremama i terninzima, učenju i uvežbavanju sviranja na muzičkim instrumentima, i lečenju pacijenata sa motornim poremećajima.

9. GENERALNI ZAKLJUČCI

Rezultati eksperimenata urađenih u ovoj studiji su nam pokazali da različitim metodama TMS-a možemo modulirati ekscitabilnost primarne motorne kore i menjati funkcionalni plasticitet mozga, a time potencijalno izazvati promene u motornom učenju.

Pokazalo se da su efekti TBS metoda ograničeni na stimulisanu hemisferu i da su bez efekta (fizioloških ili bihevioralnih) na suprotnu hemisferu. S druge strane, rTMS metoda pored efekata na stimulisanu hemisferu, ima i izražen interhemisferični uticaj i dovodi do modulacije ipsilateralnog motornog učenja. Pored toga, rTMS-om izazvana aktivacija M1 ima za posledicu aktiviranje različitih regiona mozga kod muškaraca i žena, a naročito regiona zaduženih za konsolidaciju u motornom učenju. Takođe, pokazano je da nijedna placebo TMS metoda ne izaziva placebo efekat na motorno učenje.

Veličina efekta primenjene TMS metode iznad M1 na motorno učenje, zavisi od vrste motornog zadatka i njegove složenosti. U složenijim motornim zadacima, gde je potrebna veća uključenost kortikalnih regiona mozga, TMS-om možemo menjati obrazac motornog učenja, dok u jednostavnim zadacima teško možemo izazvati bilo kakve promene u motornom izvođenju ili učenju.

Promena ekscitabilnosti M1 oblasti se pokazala kao glavni inicijator konsolidacije učenja, a ne sama veličina ekscitabilnosti M1 oblasti. Inhibitorna promena ekscitabilnosti se pokazala kao posebno efikasna za zaustavljanje ili usporavanje motornog učenja. Facilitatorna promena ekscitabilnosti izazvana rTMS_{10Hz} protokolom bila je inicijator za bolju ili goru (u zavisnosti od pola i strane tela) konsolidaciju učenja do koga po svemu sudeći dolazi u drugim moždanim regionima. Zapravo, ako se primenjuje rTMS_{10Hz} na M1 oblast, motorno učenje treba posmatrati odvojeno po polovima. Najefikasnije ubrzavanje početnog motornog učenja se postiže sekvencijalnom bilateralnom TBS.

Rezultati urađenih eksperimenata na nedvosmislen način pokazuju da je M1 oblast ključna kao inicijator operacija u procesu motornog učenja, a da se sam proces konsolidacije i učenja dešava van M1 oblasti. Ovo je novo gledište, a možda i oslonac

za buduće primenjivanje metoda stimulacija i pravljenje novih metoda i protokola specijalizovanih za izazivanje efikasnijih promena u motornom učenju.

10.ZNAČAJ ISTRAŽIVANJA

Preko plastičnih promena mozga ljudi konstantno usavršavaju već postojeća ponašanja, ali i uče i ovladavaju novim ponašanjima. Međutim, promene plasticiteta mogu biti i uzrok mnogih patoloških promena koji se sreću u kliničkim poremećajima nervnog sistema. Značaj istraživanja plasticiteta mozga je u razumevanju principa reorganizacije neuronske mreže na funkcionalnom i strukturalnom nivou, što je od posebnog značaja za bolje razumevanje formiranja dugoročne memorije.

Promene plasticiteta mozga slične onima koje se dešavaju tokom učenja, možemo izazvati bezbednim i neinvazivnim TMS metodama. To nam otvara široko polje primene ove metode u cilju ubrzavanja motornog učenja koje je od neprocenjivog značaja, kako za lečenje neuroloških bolesti, tako i za unapređenje rezultata u različitim sportskim aktivnostima. Prema preglednom radu Talelli-a i Rothwell-a (2006) postoje dva osnovna principa oporavka pacijenata nakon moždanog udara, i to facilitacijom bolesne ili inhibicijom zdrave hemisfere mozga. Rezultati naših eksperimenata nam govore da TMS-om možemo pokrenuti ili inhibirati određene kortikalne regione, što otvara perspektivu za direktnu primenu TMS-a u oporavku takvih pacijenata. S obzirom da su rezultati ubrzavanja motornog učenja dobijeni na zdravim ispitanicima, postoji i mogućnost transfera efekata TMS-a na složenije i realnije motorne zadatke iz sportske prakse, što je neophodno dodatno istražiti.

Saradnja stručnjaka i istraživača iz oblasti sportskih nauka i neuronauka u pronalasku optimalnih metoda TMS-a i sličnih neinvazivnih neuromodulatornih metoda za modulaciju promena u fizičkim sposobnostima sportista, može proizvesti revoluciju u postizanju sportskih rezultata u skoro svim sportovima.

11. BUDUĆA ISTRAŽIVANJA

Kako bi se proverili nalazi predstavljeni u doktorskoj disertaciji i pouzdano ustanovili koji regioni mozga su uključeni, neophodno je ponoviti iste ili slične eksperimente sa dodatnom metodom neuro-slikanja (npr. fMRI, PET, MEG). Na taj način bi se potpuno razjasnila uloga M1 oblasti u motornom učenju, ali i naglasio značaj TMS-a kao metode za primenu u sportu i neurorehabilitaciji. Takođe, iste protokole istraživanja bi trebalo primeniti i na drugim motornim zadacima različite složenosti.

Prikazane razlike između polova u efektima rTMS_{10Hz} protokola nam sugerišu da je moguće pokrenuti novu liniju istraživanja koja bi mogla da proveri eventualne različitosti između polova u strukturalnom i funkcionalnom plasticitetu različitih delova mozga.

Buduća istraživanja uključuju i primenu TMS-a na drugim regionima mozga u ispitivanju promene ekscitabilnosti tih oblasti na motorno učenje.

12.LITERATURA

1. Ackermann, H., Daum, I., Schugens, M. M., & Grodd, W. (1996). Impaired procedural learning after damage to the left supplementary motor area (SMA). *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry*, 60(1), 94-97.
2. Agostino, R., Iezzi, E., Dinapoli, L., Gilio, F., Conte, A., Mari, F., & Berardelli, A. (2007). Effects of 5 Hz subthreshold magnetic stimulation of primary motor cortex on fast finger movements in normal subjects. *Exp.Brain Res.*, 180(1), 105-111.
3. Agostino, R., Iezzi, E., Dinapoli, L., Suppa, A., Conte, A., & Berardelli, A. (2008). Effects of intermittent theta-burst stimulation on practice-related changes in fast finger movements in healthy subjects. *Eur.J.Neurosci.*, 28(4), 822-828.
4. Ali, A. (2011). Measuring soccer skill performance: a review. *Scand J Med Sci Sports*, 21(2), 170-183.
5. Allen, E. A., Pasley, B. N., Duong, T., & Freeman, R. D. (2007). Transcranial magnetic stimulation elicits coupled neural and hemodynamic consequences. *Science*, 317(5846), 1918-1921.
6. Amunts, K., Jancke, L., Mohlberg, H., Steinmetz, H., & Zilles, K. (2000). Interhemispheric asymmetry of the human motor cortex related to handedness and gender. *Neuropsychologia*, 38(3), 304-312.
7. Anand, S., & Hotson, J. (2002). Transcranial magnetic stimulation: neurophysiological applications and safety. *Brain Cogn*, 50(3), 366-386.
8. Baader, A. P., Kazennikov, O., & Wiesendanger, M. (2005). Coordination of bowing and fingering in violin playing. *Brain Res Cogn Brain Res*, 23(2-3), 436-443.
9. Baraduc, P., Lang, N., Rothwell, J. C., & Wolpert, D. M. (2004). Consolidation of dynamic motor learning is not disrupted by rTMS of primary motor cortex. *Curr.Biol.*, 14(3), 252-256.
10. Barker, A. T., Jalinous, R., & Freeston, I. L. (1985). Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet*, 1(8437), 1106-1107.

11. Bastrikova, N., Gardner, G. A., Reece, J. M., Jeromin, A., & Dudek, S. M. (2008). Synapse elimination accompanies functional plasticity in hippocampal neurons. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, 105(8), 3123-3127.
12. Berardelli, A., Inghilleri, M., Rothwell, J. C., Romeo, S., Curra, A., Gilio, F., Modugno, N., & Manfredi, M. (1998). Facilitation of muscle evoked responses after repetitive cortical stimulation in man. *Exp.Brain Res.*, 122(1), 79-84.
13. Bernstein. (1996). *Dexterity and its Development*: Erlbaum.
14. Biswal, B. B., Mennes, M., Zuo, X. N., Gohel, S., Kelly, C., Smith, S. M., Beckmann, C. F., Adelstein, J. S., Buckner, R. L., Colcombe, S., Dogonowski, A. M., Ernst, M., Fair, D., Hampson, M., Hoptman, M. J., Hyde, J. S., Kiviniemi, V. J., Kotter, R., Li, S. J., Lin, C. P., Lowe, M. J., Mackay, C., Madden, D. J., Madsen, K. H., Margulies, D. S., Mayberg, H. S., McMahon, K., Monk, C. S., Mostofsky, S. H., Nagel, B. J., Pekar, J. J., Peltier, S. J., Petersen, S. E., Riedl, V., Rombouts, S. A., Rypma, B., Schlaggar, B. L., Schmidt, S., Seidler, R. D., Siegle, G. J., Sorg, C., Teng, G. J., Veijola, J., Villringer, A., Walter, M., Wang, L., Weng, X. C., Whitfield-Gabrieli, S., Williamson, P., Windischberger, C., Zang, Y. F., Zhang, H. Y., Castellanos, F. X., & Milham, M. P. (2010). Toward discovery science of human brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107(10), 4734-4739.
15. Boyd, L. A., & Lindsell, M. A. (2009). Excitatory repetitive transcranial magnetic stimulation to left dorsal premotor cortex enhances motor consolidation of new skills. *BMC Neurosci*, 10, 72.
16. Brunoni, A. R., Lopes, M., Kaptchuk, T. J., & Fregni, F. (2009). Placebo response of non-pharmacological and pharmacological trials in major depression: a systematic review and meta-analysis. *PLoS.One.*, 4(3), e4824.
17. Buddenberg, L. A., & Davis, C. (2000). Test-retest reliability of the Purdue Pegboard Test. *Am J Occup Ther*, 54(5), 555-558.
18. Butefisch, C. M., Khurana, V., Kopylev, L., & Cohen, L. G. (2004). Enhancing encoding of a motor memory in the primary motor cortex by cortical stimulation. *J.Neurophysiol.*, 91(5), 2110-2116.

19. Butz, M., Worgotter, F., & van, O. A. (2009). Activity-dependent structural plasticity. *Brain Res.Rev.*, *60*(2), 287-305.
20. Campanac, E., & Debanne, D. (2007). Plasticity of neuronal excitability: Hebbian rules beyond the synapse. *Arch Ital Biol*, *145*(3-4), 277-287.
21. Canolty, R. T., Edwards, E., Dalal, S. S., Soltani, M., Nagarajan, S. S., Kirsch, H. E., Berger, M. S., Barbaro, N. M., & Knight, R. T. (2006). High gamma power is phase-locked to theta oscillations in human neocortex. *Science*, *313*(5793), 1626-1628.
22. Cardenas-Morales, L., Nowak, D. A., Kammer, T., Wolf, R. C., & Schonfeldt-Lecuona, C. (2010). Mechanisms and applications of theta-burst rTMS on the human motor cortex. *Brain Topogr.*, *22*(4), 294-306.
23. Cardenas-Morales, L., Volz, L. J., Michely, J., Rehme, A. K., Pool, E. M., Nettekoven, C., Eickhoff, S. B., Fink, G. R., & Grefkes, C. (2013). Network Connectivity and Individual Responses to Brain Stimulation in the Human Motor System. *Cereb Cortex*.
24. Chen, R., Classen, J., Gerloff, C., Celnik, P., Wassermann, E. M., Hallett, M., & Cohen, L. G. (1997). Depression of motor cortex excitability by low-frequency transcranial magnetic stimulation. *Neurology*, *48*(5), 1398-1403.
25. Classen, J., Liepert, J., Wise, S. P., Hallett, M., & Cohen, L. G. (1998). Rapid plasticity of human cortical movement representation induced by practice. *J.Neurophysiol.*, *79*(2), 1117-1123.
26. Colagiuri, B., & Boakes, R. A. (2010). Perceived treatment, feedback, and placebo effects in double-blind RCTs: an experimental analysis. *Psychopharmacology (Berl)*, *208*(3), 433-441.
27. Colagiuri, B., Livesey, E. J., & Harris, J. A. (2011). Can expectancies produce placebo effects for implicit learning? *Psychon.Bull.Rev.*, *18*(2), 399-405.
28. Coupar, F., Pollock, A., Rowe, P., Weir, C., & Langhorne, P. (2012). Predictors of upper limb recovery after stroke: a systematic review and meta-analysis. *Clin Rehabil*, *26*(4), 291-313.

29. Cunnington, R., Windischberger, C., Deecke, L., & Moser, E. (2002). The preparation and execution of self-initiated and externally-triggered movement: a study of event-related fMRI. *Neuroimage.*, *15*(2), 373-385.
30. Darian-Smith, C., & Gilbert, C. D. (1994). Axonal sprouting accompanies functional reorganization in adult cat striate cortex. *Nature*, *368*(6473), 737-740.
31. Darian-Smith, C., & Gilbert, C. D. (1995). Topographic reorganization in the striate cortex of the adult cat and monkey is cortically mediated. *J.Neurosci.*, *15*(3 Pt 1), 1631-1647.
32. De Paola, V., Holtmaat, A., Knott, G., Song, S., Wilbrecht, L., Caroni, P., & Svoboda, K. (2006). Cell type-specific structural plasticity of axonal branches and boutons in the adult neocortex. *Neuron*, *49*(6), 861-875.
33. Derksen, M. J., Ward, N. L., Hartle, K. D., & Ivanco, T. L. (2007). MAP2 and synaptophysin protein expression following motor learning suggests dynamic regulation and distinct alterations coinciding with synaptogenesis. *Neurobiol.Learn.Mem.*, *87*(3), 404-415.
34. Donoghue, J. P., Suner, S., & Sanes, J. N. (1990). Dynamic organization of primary motor cortex output to target muscles in adult rats. II. Rapid reorganization following motor nerve lesions. *Exp Brain Res*, *79*(3), 492-503.
35. Doyon, J. (1997). *Skill learning. In The cerebellum and cognition.* (S. JD Ed.): Academic Press.
36. Doyon, J., & Benali, H. (2005). Reorganization and plasticity in the adult brain during learning of motor skills. *Curr.Opin.Neurobiol.*, *15*(2), 161-167.
37. Doyon, J., Penhune, V., & Ungerleider, L. G. (2003). Distinct contribution of the cortico-striatal and cortico-cerebellar systems to motor skill learning. *Neuropsychologia*, *41*(3), 252-262.
38. Doyon, J., Song, A. W., Karni, A., Lalonde, F., Adams, M. M., & Ungerleider, L. G. (2002). Experience-dependent changes in cerebellar contributions to motor sequence learning. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, *99*(2), 1017-1022.

39. Eliassen, J. C., Souza, T., & Sanes, J. N. (2001). Human brain activation accompanying explicitly directed movement sequence learning. *Exp. Brain Res.*, *141*(3), 269-280.
40. Emara, T. H., Moustafa, R. R., Elnahas, N. M., Elganzoury, A. M., Abdo, T. A., Mohamed, S. A., & Eletribi, M. A. (2010). Repetitive transcranial magnetic stimulation at 1Hz and 5Hz produces sustained improvement in motor function and disability after ischaemic stroke. *Eur J Neurol*, *17*(9), 1203-1209.
41. Filipovic, S. R., Bhatia, K. P., & Rothwell, J. C. (2013). 1-Hz repetitive transcranial magnetic stimulation and diphasic dyskinesia in Parkinson's disease. *Mov Disord*, *28*(2), 245-246.
42. Filipovic, S. R., Rothwell, J. C., & Bhatia, K. (2010a). Low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation and off-phase motor symptoms in Parkinson's disease. *J Neurol Sci*, *291*(1-2), 1-4.
43. Filipovic, S. R., Rothwell, J. C., & Bhatia, K. (2010b). Slow (1 Hz) repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) induces a sustained change in cortical excitability in patients with Parkinson's disease. *Clin Neurophysiol*, *121*(7), 1129-1137.
44. Fitzgerald, P. B., Fountain, S., & Daskalakis, Z. J. (2006). A comprehensive review of the effects of rTMS on motor cortical excitability and inhibition. *Clin. Neurophysiol.*, *117*(12), 2584-2596.
45. Floyer-Lea, A., & Matthews, P. M. (2005). Distinguishable brain activation networks for short- and long-term motor skill learning. *J. Neurophysiol.*, *94*(1), 512-518.
46. Fregni, F., Boggio, P. S., Valle, A. C., Rocha, R. R., Duarte, J., Ferreira, M. J., Wagner, T., Fecteau, S., Rigonatti, S. P., Riberto, M., Freedman, S. D., & Pascual-Leone, A. (2006). A sham-controlled trial of a 5-day course of repetitive transcranial magnetic stimulation of the unaffected hemisphere in stroke patients. *Stroke*, *37*(8), 2115-2122.

47. Fritz, C., Braune, H. J., Pylatiuk, C., & Pohl, M. (1997). Silent period following transcranial magnetic stimulation: a study of intra- and inter-examiner reliability. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 105(3), 235-240.
48. Fuhr, P., Agostino, R., & Hallett, M. (1991). Spinal motor neuron excitability during the silent period after cortical stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 81(4), 257-262.
49. Galea, J. M., Albert, N. B., Ditye, T., & Miall, R. C. (2010). Disruption of the dorsolateral prefrontal cortex facilitates the consolidation of procedural skills. *J Cogn Neurosci*, 22(6), 1158-1164.
50. George, M. S., Lisanby, S. H., Avery, D., McDonald, W. M., Durkalski, V., Pavlicova, M., Anderson, B., Nahas, Z., Bulow, P., Zarkowski, P., Holtzheimer, P. E., 3rd, Schwartz, T., & Sackeim, H. A. (2010). Daily left prefrontal transcranial magnetic stimulation therapy for major depressive disorder: a sham-controlled randomized trial. *Arch Gen Psychiatry*, 67(5), 507-516.
51. Gillies, G. E., & McArthur, S. (2010). Estrogen actions in the brain and the basis for differential action in men and women: a case for sex-specific medicines. *Pharmacol Rev*, 62(2), 155-198.
52. Grafton, S. T., Hazeltine, E., & Ivry, R. B. (2002). Motor sequence learning with the nondominant left hand. A PET functional imaging study. *Exp. Brain Res.*, 146(3), 369-378.
53. Grafton, S. T., Mazziotta, J. C., Presty, S., Friston, K. J., Frackowiak, R. S., & Phelps, M. E. (1992). Functional anatomy of human procedural learning determined with regional cerebral blood flow and PET. *J. Neurosci.*, 12(7), 2542-2548.
54. Groppa, S., Oliviero, A., Eisen, A., Quartarone, A., Cohen, L. G., Mall, V., Kaelin-Lang, A., Mima, T., Rossi, S., Thickbroom, G. W., Rossini, P. M., Ziemann, U., Valls-Sole, J., & Siebner, H. R. (2012). A practical guide to diagnostic transcranial magnetic stimulation: report of an IFCN committee. *Clin Neurophysiol*, 123(5), 858-882.

55. Hallett, M. (2007). Transcranial magnetic stimulation: a primer. *Neuron*, 55(2), 187-199.
56. Hardwick, R. M., Rottschy, C., Miall, R. C., & Eickhoff, S. B. (2013). A quantitative meta-analysis and review of motor learning in the human brain. *Neuroimage*, 67, 283-297.
57. Hazeltine, E., Grafton, S. T., & Ivry, R. (1997). Attention and stimulus characteristics determine the locus of motor-sequence encoding. A PET study. *Brain*, 120 (Pt 1), 123-140.
58. Hebb, D. O. (1949). *The Organization of Behavior*. New York: Wiley & Sons.
59. Hikosaka, O., Nakamura, K., Sakai, K., & Nakahara, H. (2002). Central mechanisms of motor skill learning. *Curr.Opin.Neurobiol.*, 12(2), 217-222.
60. Hlustik, P., Solodkin, A., Noll, D. C., & Small, S. L. (2004). Cortical plasticity during three-week motor skill learning. *J.Clin.Neurophysiol.*, 21(3), 180-191.
61. Hoogendam, J. M., Ramakers, G. M., & Di Lazzaro, V. (2010). Physiology of repetitive transcranial magnetic stimulation of the human brain. *Brain Stimul*, 3(2), 95-118.
62. Hovey, C., & Jalinous, R. (2008). *The guide to magnetic stimulation* (S. Gardens & W. C. S. OHR Eds. The Magstim Company Ltd ed.). United Kingdom.
63. Huang, Y. Z., Edwards, M. J., Bhatia, K. P., & Rothwell, J. C. (2004). One-Hz repetitive transcranial magnetic stimulation of the premotor cortex alters reciprocal inhibition in DYT1 dystonia. *Mov Disord*, 19(1), 54-59.
64. Huang, Y. Z., Edwards, M. J., Rounis, E., Bhatia, K. P., & Rothwell, J. C. (2005). Theta burst stimulation of the human motor cortex. *Neuron*, 45(2), 201-206.
65. Huang, Y. Z., & Rothwell, J. C. (2004). The effect of short-duration bursts of high-frequency, low-intensity transcranial magnetic stimulation on the human motor cortex. *Clin Neurophysiol*, 115(5), 1069-1075.
66. Huerta, P. T., & Volpe, B. T. (2009). Transcranial magnetic stimulation, synaptic plasticity and network oscillations. *J.Neuroeng.Rehabil.*, 6, 7.

67. Iezzi, E., Conte, A., Suppa, A., Agostino, R., Dinapoli, L., Scontrini, A., & Berardelli, A. (2008). Phasic voluntary movements reverse the aftereffects of subsequent theta-burst stimulation in humans. *J.Neurophysiol.*, *100*(4), 2070-2076.
68. Iezzi, E., Suppa, A., Conte, A., Agostino, R., Nardella, A., & Berardelli, A. (2010). Theta-burst stimulation over primary motor cortex degrades early motor learning. *Eur.J.Neurosci.*, *31*(3), 585-592.
69. Ilic, T. V., & Ilic, N. V. (2012). [Plastic reorganisation of human motor cortex]. *Vojnosanit Pregl*, *69*(10), 891-898.
70. Jancke, L., Peters, M., Schlaug, G., Posse, S., Steinmetz, H., & Muller-Gartner, H. (1998). Differential magnetic resonance signal change in human sensorimotor cortex to finger movements of different rate of the dominant and subdominant hand. *Brain Res Cogn Brain Res*, *6*(4), 279-284.
71. Johnson, K. A., Baig, M., Ramsey, D., Lisanby, S. H., Avery, D., McDonald, W. M., Li, X., Bernhardt, E. R., Haynor, D. R., Holtzheimer, P. E., 3rd, Sackeim, H. A., George, M. S., & Nahas, Z. (2013). Prefrontal rTMS for treating depression: location and intensity results from the OPT-TMS multi-site clinical trial. *Brain Stimul*, *6*(2), 108-117.
72. Jung, P., & Ziemann, U. (2009). Homeostatic and nonhomeostatic modulation of learning in human motor cortex. *J.Neurosci.*, *29*(17), 5597-5604.
73. Kahana, M. J. (2006). The cognitive correlates of human brain oscillations. *J Neurosci*, *26*(6), 1669-1672.
74. Kalisman, N., Silberberg, G., & Markram, H. (2005). The neocortical microcircuit as a tabula rasa. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, *102*(3), 880-885.
75. Kaptchuk, T. J., Goldman, P., Stone, D. A., & Stason, W. B. (2000). Do medical devices have enhanced placebo effects? *J Clin.Epidemiol.*, *53*(8), 786-792.
76. Karni, A., Meyer, G., Jezard, P., Adams, M. M., Turner, R., & Ungerleider, L. G. (1995). Functional MRI evidence for adult motor cortex plasticity during motor skill learning. *Nature*, *377*(6545), 155-158.

77. Kazennikov, O., & Wiesendanger, M. (2009). Bimanual coordination of bowing and fingering in violinists--effects of position changes and string changes. *Motor Control*, 13(3), 297-309.
78. Khedr, E. M., Ahmed, M. A., Fathy, N., & Rothwell, J. C. (2005). Therapeutic trial of repetitive transcranial magnetic stimulation after acute ischemic stroke. *Neurology*, 65(3), 466-468.
79. Kim, Y. H., Park, J. W., Ko, M. H., Jang, S. H., & Lee, P. K. (2004). Facilitative effect of high frequency subthreshold repetitive transcranial magnetic stimulation on complex sequential motor learning in humans. *Neurosci.Lett.*, 367(2), 181-185.
80. Kleim, J. A., Barbay, S., & Nudo, R. J. (1998). Functional reorganization of the rat motor cortex following motor skill learning. *J.Neurophysiol.*, 80(6), 3321-3325.
81. Knott, G. W., Holtmaat, A., Wilbrecht, L., Welker, E., & Svoboda, K. (2006). Spine growth precedes synapse formation in the adult neocortex in vivo. *Nat.Neurosci.*, 9(9), 1117-1124.
82. Kobayashi, M. (2010). Effect of slow repetitive TMS of the motor cortex on ipsilateral sequential simple finger movements and motor skill learning. *Restor.Neurol.Neurosci.*, 28(4), 437-448.
83. Kobayashi, M., Hutchinson, S., Theoret, H., Schlaug, G., & Pascual-Leone, A. (2004). Repetitive TMS of the motor cortex improves ipsilateral sequential simple finger movements. *Neurology*, 62(1), 91-98.
84. Kobayashi, M., Theoret, H., & Pascual-Leone, A. (2009). Suppression of ipsilateral motor cortex facilitates motor skill learning. *Eur.J.Neurosci.*, 29(4), 833-836.
85. Krakauer, J. W., & Mazzoni, P. (2011). Human sensorimotor learning: adaptation, skill, and beyond. *Curr Opin Neurobiol*, 21(4), 636-644.
86. Kujirai, T., Caramia, M. D., Rothwell, J. C., Day, B. L., Thompson, P. D., Ferbert, A., Wroe, S., Asselman, P., & Marsden, C. D. (1993). Corticocortical inhibition in human motor cortex. *J.Physiol*, 471, 501-519.
87. Kumar, S., & Mandal, M. K. (2005). Bilateral transfer of skill in left- and right-handers. *Laterality*, 10(4), 337-344.

88. Kurata, K., & Hoffman, D. S. (1994). Differential effects of muscimol microinjection into dorsal and ventral aspects of the premotor cortex of monkeys. *J. Neurophysiol.*, *71*(3), 1151-1164.
89. Lees, A., Asai, T., Andersen, T. B., Nunome, H., & Sterzing, T. (2010). The biomechanics of kicking in soccer: a review. *J Sports Sci*, *28*(8), 805-817.
90. Lisman, J. E., & Idiart, M. A. (1995). Storage of 7 ± 2 short-term memories in oscillatory subcycles. *Science*, *267*(5203), 1512-1515.
91. Lissek, S., Hausmann, M., Knossalla, F., Peters, S., Nicolas, V., Gunturkun, O., & Tegenthoff, M. (2007). Sex differences in cortical and subcortical recruitment during simple and complex motor control: an fMRI study. *Neuroimage*, *37*(3), 912-926.
92. Mainel, K. (1960). *Bewegungslernhre, Volk und Wissen*. Berlin.
93. Mansur, C. G., Myczkowki, M. L., de Barros, C. S., Sartorelli, M. C., Bellini, B. B., Dias, A. M., Bernik, M. A., & Marcolin, M. A. (2011). Placebo effect after prefrontal magnetic stimulation in the treatment of resistant obsessive-compulsive disorder: a randomized controlled trial. *Int.J Neuropsychopharmacol.*, *14*(10), 1389-1397.
94. McEwen, B. S. (1999). Permanence of brain sex differences and structural plasticity of the adult brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *96*(13), 7128-7130.
95. Merton, P. A., & Morton, H. B. (1980). Stimulation of the cerebral cortex in the intact human subject. *Nature*, *285*(5762), 227.
96. Merzenich, M. M., Kaas, J. H., Wall, J. T., Sur, M., Nelson, R. J., & Felleman, D. J. (1983). Progression of change following median nerve section in the cortical representation of the hand in areas 3b and 1 in adult owl and squirrel monkeys. *Neuroscience*, *10*(3), 639-665.
97. Mitra, S., Bhalerao, A., Summers, P., & Williams, S. C. (2005). Cortical organization of sensory corrections in visuomotor skill acquisition. *Neurosci.Lett.*, *382*(1-2), 76-81.

98. Mockett, B. G., & Hulme, S. R. (2008). Metaplasticity: new insights through electrophysiological investigations. *J Integr Neurosci*, 7(2), 315-336.
99. Monfils, M. H., Plautz, E. J., & Kleim, J. A. (2005). In search of the motor engram: motor map plasticity as a mechanism for encoding motor experience. *Neuroscientist*, 11(5), 471-483.
100. Muellbacher, W., Ziemann, U., Boroojerdi, B., Cohen, L., & Hallett, M. (2001). Role of the human motor cortex in rapid motor learning. *Exp.Brain Res.*, 136(4), 431-438.
101. Muellbacher, W., Ziemann, U., Wissel, J., Dang, N., Kofler, M., Facchini, S., Boroojerdi, B., Poewe, W., & Hallett, M. (2002). Early consolidation in human primary motor cortex. *Nature*, 415(6872), 640-644.
102. Murase, N., Rothwell, J. C., Kaji, R., Urushihara, R., Nakamura, K., Murayama, N., Igasaki, T., Sakata-Igasaki, M., Mima, T., Ikeda, A., & Shibasaki, H. (2005). Subthreshold low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation over the premotor cortex modulates writer's cramp. *Brain*, 128(Pt 1), 104-115.
103. Noguchi, T., Demura, S., Nagasawa, Y., & Uchiyama, M. (2006). An examination of practice and laterality effects on the Purdue Pegboard and Moving Beans with Tweezers. *Percept Mot Skills*, 102(1), 265-274.
104. Nudo, R. J. (2007). Postinfarct cortical plasticity and behavioral recovery. *Stroke*, 38(2 Suppl), 840-845.
105. Nudo, R. J., & Milliken, G. W. (1996). Reorganization of movement representations in primary motor cortex following focal ischemic infarcts in adult squirrel monkeys. *J Neurophysiol*, 75(5), 2144-2149.
106. Nudo, R. J., Milliken, G. W., Jenkins, W. M., & Merzenich, M. M. (1996). Use-dependent alterations of movement representations in primary motor cortex of adult squirrel monkeys. *J.Neurosci.*, 16(2), 785-807.
107. Oberman, L., Edwards, D., Eldaief, M., & Pascual-Leone, A. (2011). Safety of theta burst transcranial magnetic stimulation: a systematic review of the literature. *J.Clin.Neurophysiol.*, 28(1), 67-74.

108. Oldfield, R. C. (1971). The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia*, 9(1), 97-113.
109. Papathanasiou, I., Filipovic, S. R., Whurr, R., & Jahanshahi, M. (2003). Plasticity of motor cortex excitability induced by rehabilitation therapy for writing. *Neurology*, 61(7), 977-980.
110. Park, J. W., Kim, Y. H., Jang, S. H., Chang, W. H., Park, C. H., & Kim, S. T. (2010). Dynamic changes in the cortico-subcortical network during early motor learning. *NeuroRehabilitation*, 26(2), 95-103.
111. Pascual-Leone, A., Amedi, A., Fregni, F., & Merabet, L. B. (2005). The plastic human brain cortex. *Annu.Rev.Neurosci.*, 28, 377-401.
112. Pascual-Leone, A., Davey, N., Rotwell, J., Wassemann, E., & Puri, B. (2002). *Handbook of Transcranial magnetic Stimulation*. London: Hodder Arnold.
113. Pascual-Leone, A., Nguyet, D., Cohen, L. G., Brasil-Neto, J. P., Cammarota, A., & Hallett, M. (1995). Modulation of muscle responses evoked by transcranial magnetic stimulation during the acquisition of new fine motor skills. *J.Neurophysiol.*, 74(3), 1037-1045.
114. Pascual-Leone, A., Valls-Sole, J., Wassermann, E. M., & Hallett, M. (1994). Responses to rapid-rate transcranial magnetic stimulation of the human motor cortex. *Brain*, 117 (Pt 4), 847-858.
115. Pekalski, R. (1990). Experimental and theoretical research in archery. *J Sports Sci*, 8(3), 259-279.
116. Penfield, W., & Rasmussen, T. (1950). *The cerebral cortex of man*. (Macmillan Ed.). New York.
117. Penhune, V. B., & Steele, C. J. (2012). Parallel contributions of cerebellar, striatal and M1 mechanisms to motor sequence learning. *Behav Brain Res*, 226(2), 579-591.
118. Perez-Otano, I., & Ehlers, M. D. (2005). Homeostatic plasticity and NMDA receptor trafficking. *Trends Neurosci*, 28(5), 229-238.

119. Petrides, M. (1997). Visuo-motor conditional associative learning after frontal and temporal lesions in the human brain. *Neuropsychologia*, 35(7), 989-997.
120. Plautz, E. J., Milliken, G. W., & Nudo, R. J. (2000). Effects of repetitive motor training on movement representations in adult squirrel monkeys: role of use versus learning. *Neurobiol.Learn.Mem.*, 74(1), 27-55.
121. Pollo, A., & Benedetti, F. (2009). The placebo response: neurobiological and clinical issues of neurological relevance. *Prog.Brain Res.*, 175, 283-294.
122. Pollo, A., Carlino, E., & Benedetti, F. (2011). Placebo mechanisms across different conditions: from the clinical setting to physical performance. *Philos.Trans.R.Soc.Lond B Biol.Sci.*, 366(1572), 1790-1798.
123. Porter, L. L., Sakamoto, T., & Asanuma, H. (1990). Morphological and physiological identification of neurons in the cat motor cortex which receive direct input from the somatic sensory cortex. *Exp Brain Res*, 80(1), 209-212.
124. Ragert, P., Camus, M., Vandermeeren, Y., Dimyan, M. A., & Cohen, L. G. (2009). Modulation of effects of intermittent theta burst stimulation applied over primary motor cortex (M1) by conditioning stimulation of the opposite M1. *J.Neurophysiol.*, 102(2), 766-773.
125. Rajji, T. K., Liu, S. K., Frantseva, M. V., Mulsant, B. H., Thoma, J., Chen, R., Fitzgerald, P. B., & Daskalakis, Z. J. (2011). Exploring the effect of inducing long-term potentiation in the human motor cortex on motor learning. *Brain Stimul.*, 4(3), 137-144.
126. Reddon, J. R., Gill, D. M., Gauk, S. E., & Maerz, M. D. (1988). Purdue Pegboard: test-retest estimates. *Percept Mot Skills*, 66(2), 503-506.
127. Riek, S., Hinder, M. R., & Carson, R. G. (2012). Primary motor cortex involvement in initial learning during visuomotor adaptation. *Neuropsychologia*, 50(10), 2515-2523.
128. Rioult-Pedotti, M. S., Friedman, D., & Donoghue, J. P. (2000). Learning-induced LTP in neocortex. *Science*, 290(5491), 533-536.

129. Rioult-Pedotti, M. S., Friedman, D., Hess, G., & Donoghue, J. P. (1998). Strengthening of horizontal cortical connections following skill learning. *Nat.Neurosci.*, *1*(3), 230-234.
130. Rossi, S., Hallett, M., Rossini, P. M., & Pascual-Leone, A. (2009). Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. *Clin.Neurophysiol.*, *120*(12), 2008-2039.
131. Rossini, P. M., Barker, A. T., Berardelli, A., Caramia, M. D., Caruso, G., Cracco, R. Q., Dimitrijevic, M. R., Hallett, M., Katayama, Y., Lucking, C. H., & . (1994). 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.*, *91*(2), 79-92.
132. Schambra, H. M., Sawaki, L., & Cohen, L. G. (2003). Modulation of excitability of human motor cortex (M1) by 1 Hz transcranial magnetic stimulation of the contralateral M1. *Clin.Neurophysiol.*, *114*(1), 130-133.
133. Schmidt, A. R., & Lee, D. T. (2005). Motor Control *Motor Control and Learning: A Behavior Emphasis* (pp. 299-459). Champaign IL: Human Kinetics. (Reprinted from: In File).
134. Scott, S. H. (2004). Optimal feedback control and the neural basis of volitional motor control. *Nat.Rev.Neurosci.*, *5*(7), 532-546.
135. Sczesny-Kaiser, M., Tegenthoff, M., & Schwenkreis, P. (2009). Influence of 5 Hz repetitive transcranial magnetic stimulation on motor learning. *Neurosci.Lett.*, *457*(2), 71-74.
136. Serrien, D. J., Cassidy, M. J., & Brown, P. (2003). The importance of the dominant hemisphere in the organization of bimanual movements. *Hum Brain Mapp*, *18*(4), 296-305.
137. Serrien, D. J., Sovijarvi-Spape, M. M., & Farnsworth, B. (2012). Bimanual control processes and the role of handedness. *Neuropsychology*, *26*(6), 802-807.
138. Shadmehr, R., & Holcomb, H. H. (1997). Neural correlates of motor memory consolidation. *Science*, *277*(5327), 821-825.


139. Shmuelof, L., & Krakauer, J. W. (2011). Are we ready for a natural history of motor learning? *Neuron*, 72(3), 469-476.
140. Stefan, K., Kunesch, E., Cohen, L. G., Benecke, R., & Classen, J. (2000). Induction of plasticity in the human motor cortex by paired associative stimulation. *Brain*, 123 Pt 3, 572-584.
141. Stephan, K. M., Fink, G. R., Passingham, R. E., Silbersweig, D., Ceballos-Baumann, A. O., Frith, C. D., & Frackowiak, R. S. (1995). Functional anatomy of the mental representation of upper extremity movements in healthy subjects. *J.Neurophysiol.*, 73(1), 373-386.
142. Stoney, S. D., Thompson, W. D., & Asanuma, H. (1968). Excitation of pyramidal tract cells by intracortical microstimulation: effective extent of stimulating current. *J.Neurophysiol.*, 31(5), 659-669.
143. Strafella, A. P., Ko, J. H., & Monchi, O. (2006). Therapeutic application of transcranial magnetic stimulation in Parkinson's disease: the contribution of expectation. *Neuroimage.*, 31(4), 1666-1672.
144. Sung, W. H., Wang, C. P., Chou, C. L., Chen, Y. C., Chang, Y. C., & Tsai, P. Y. (2013). Efficacy of Coupling Inhibitory and Facilitatory Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation to Enhance Motor Recovery in Hemiplegic Stroke Patients. *Stroke*.
145. Talelli, P., Greenwood, R. J., & Rothwell, J. C. (2007). Exploring Theta Burst Stimulation as an intervention to improve motor recovery in chronic stroke. *Clin Neurophysiol*, 118(2), 333-342.
146. Talelli, P., & Rothwell, J. (2006). Does brain stimulation after stroke have a future? *Curr.Opin.Neurol.*, 19(6), 543-550.
147. Tanaka, S., Sandrini, M., & Cohen, L. G. (2011). Modulation of motor learning and memory formation by non-invasive cortical stimulation of the primary motor cortex. *Neuropsychol.Rehabil.*, 21(5), 650-675.
148. Teo, J. T., Swayne, O. B., Cheeran, B., Greenwood, R. J., & Rothwell, J. C. (2011). Human theta burst stimulation enhances subsequent motor learning and increases performance variability. *Cereb.Cortex*, 21(7), 1627-1638.

149. Tiffin, J., & Asher, E. J. (1948). The Purdue pegboard; norms and studies of reliability and validity. *J.Appl.Psychol.*, 32(3), 234-247.
150. Toni, I., Krams, M., Turner, R., & Passingham, R. E. (1998). The time course of changes during motor sequence learning: a whole-brain fMRI study. *Neuroimage.*, 8(1), 50-61.
151. Toni, N., Buchs, P. A., Nikonenko, I., Bron, C. R., & Muller, D. (1999). LTP promotes formation of multiple spine synapses between a single axon terminal and a dendrite. *Nature*, 402(6760), 421-425.
152. Trachtenberg, J. T., Chen, B. E., Knott, G. W., Feng, G., Sanes, J. R., Welker, E., & Svoboda, K. (2002). Long-term in vivo imaging of experience-dependent synaptic plasticity in adult cortex. *Nature*, 420(6917), 788-794.
153. Turrigiano, G. G., & Nelson, S. B. (2000). Hebb and homeostasis in neuronal plasticity. *Curr.Opin.Neurobiol.*, 10(3), 358-364.
154. Tyszka, J. M., Grafton, S. T., Chew, W., Woods, R. P., & Colletti, P. M. (1994). Parceling of mesial frontal motor areas during ideation and movement using functional magnetic resonance imaging at 1.5 tesla. *Ann.Neurol.*, 35(6), 746-749.
155. Valero-Cabre, A., Payne, B. R., Rushmore, J., Lomber, S. G., & Pascual-Leone, A. (2005). Impact of repetitive transcranial magnetic stimulation of the parietal cortex on metabolic brain activity: a 14C-2DG tracing study in the cat. *Exp.Brain Res.*, 163(1), 1-12.
156. Vedeniapin, A., Cheng, L., & George, M. S. (2010). Feasibility of simultaneous cognitive behavioral therapy and left prefrontal rTMS for treatment resistant depression. *Brain Stimul*, 3(4), 207-210.
157. Wagner, T., Valero-Cabre, A., & Pascual-Leone, A. (2007). Noninvasive human brain stimulation. *Annu.Rev.Biomed.Eng.*, 9, 527-565.
158. Wassermann, E. M., Grafman, J., Berry, C., Hollnagel, C., Wild, K., Clark, K., & Hallett, M. (1996). Use and safety of a new repetitive transcranial magnetic stimulator. *Electroencephalogr.Clin.Neurophysiol.*, 101(5), 412-417.

159. Weiler, F., Brandao, P., Barros-Filho, J., Uribe, C. E., Pessoa, V. F., & Brasil-Neto, J. P. (2008). Low frequency (0.5Hz) rTMS over the right (non-dominant) motor cortex does not affect ipsilateral hand performance in healthy humans. *Arq Neuropsiquiatr.*, *66*(3B), 636-640.
160. Wolff, J., Leutgeb, U., Holzgraefe, M., & Teuchert, G. (1989). Synaptic remodelling during primary and reactive synaptogenesis. In G. F. Verlag (Ed.), *Fundamentals of memory formation: Neuronal plasticity and brain function* (pp. 68-82). Stuttgart; New York. (Reprinted from: In File).
161. Woolsey, C. N., Settlage, P. H., Meyer, D. R., Sencer, W., Pinto, H. T., & Travis, A. M. (1952). Patterns of localization in precentral and "supplementary" motor areas and their relation to the concept of a premotor area. *Res.Publ.Assoc.Res.Nerv.Ment.Dis.*, *30*, 238-264.
162. Ziemann, U., Ilic, T. V., Pauli, C., Meintzschel, F., & Ruge, D. (2004). Learning modifies subsequent induction of long-term potentiation-like and long-term depression-like plasticity in human motor cortex. *J.Neurosci.*, *24*(7), 1666-1672.
163. Ziemann, U., Paulus, W., Nitsche, M. A., Pascual-Leone, A., Byblow, W. D., Berardelli, A., Siebner, H. R., Classen, J., Cohen, L. G., & Rothwell, J. C. (2008). Consensus: Motor cortex plasticity protocols. *Brain Stimul.*, *1*(3), 164-182.
164. Ziemann, U., & Siebner, H. R. (2008). Modifying motor learning through gating and homeostatic metaplasticity. *Brain Stimul*, *1*(1), 60-66.

ARTICLE IN PRESS

Clinical Neurophysiology xxx (2013) xxx-xxx




ELSEVIER

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Clinical Neurophysiology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/clinph



Transcranial magnetic stimulation has no placebo effect on motor learning

Milan B. Jelić^a, Vuk B. Stevanović^a, Sladjan D. Milanović^a, Miloš R. Ljubisavljević^{a,b}, Saša R. Filipović^{a,*}

^aUniversity of Belgrade, Institute for Medical Research, ul. Dr Subotića 4, 11129 Belgrade, Serbia
^bUAE University, Faculty of Medicine and Health Sciences, Department of Physiology, Al Ain, United Arab Emirates

ARTICLE INFO

Article history:
Available online xxxxx

Keywords:
Placebo
Motor learning
Transcranial magnetic stimulation
Purdue pegboard
Brain plasticity
Neurorehabilitation

HIGHLIGHTS

- Purdue Pegboard Task could be reliably used for assessment of the potential effects of TMS neuromodulatory methods on motor learning with low likelihood for any confounding impact of a placebo effect.
- Lack of difference between two sham TMS procedures in this study suggests that the type of sham TMS procedure used in placebo arms of motor learning TMS studies should not be of particular concern.
- Motor learning tasks are not likely to be affected by a potential placebo effect associated with interventional TMS procedures.

ABSTRACT

Objective: Motor learning is the core cognitive function in neurorehabilitation and in various other skill-training activities (e.g. sport, music). Therefore, there is an increasing interest in the use of transcranial magnetic stimulation (TMS) methods for its enhancement. However, although usually assumed, a potential placebo effect of TMS methods on motor learning has never been systematically investigated.

Methods: Improvement of performance on the Purdue Pegboard Task over three test-blocks (T0, T1, and T2), separated by >20 min, was used to evaluate motor learning. In Experiment-1, two groups of 10 participants each were compared: one group immediately before T1 received a sham intermittent theta burst stimulation procedure (P-iTBS group), while another did not have any intervention at all (control - CON group). In Experiment-2, a third group of participants (six subjects) who received sham high-frequency repetitive TMS procedure before T1 (P-rTMS group) was compared with P-iTBS group.

Results: All three groups showed significant learning over time, but without any difference between them, either in Experiment-1 between P-iTBS and CON, or in Experiment-2 between P-rTMS and P-iTBS.

Conclusion: The results suggest lack of any placebo effect of TMS on motor learning.

Significance: The results may help in designing further TMS-motor learning studies and in interpreting their results.

© 2013 Published by Elsevier Ireland Ltd. on behalf of International Federation of Clinical Neurophysiology.

1. Introduction

Motor learning is a set of processes that, following repeated physical exercise or experience, lead to a relatively permanent change in the ability to perform a movement or motor activity (Schmidt and Lee, 2005). It is an essential capability of the nervous system, important for acquisition of new skills throughout individual development, from early childhood onwards. Motor learning is

also necessary for the acquisition of new skills and re-learning of old ones following injury, which makes it the core cognitive function in neurorehabilitation and in various other skill-training activities (e.g. in sport, music). Physiologically, it was shown that the processes of acquiring a motor skill through learning of complex movements are closely linked with neural plasticity of the motor cortex (Ljubisavljevic, 2006).

Recently, several invasive and non-invasive neurophysiological methods for the modulation of brain excitability and plasticity have been developed (Wagner et al., 2007). This opened the possibility for externally influencing various cognitive functions, including learning and execution of motor programs, and possibly optimizing the use of brain resources behind them (Hummel

* Corresponding author. Address: Department of Neurophysiology, Institute for Medical Research, University of Belgrade, ul. Dr Subotića 4, P.O. Box 39, 11129 Beograd 102, Serbia. Tel.: +381 11 2685788x104; fax: +381 11 2643691.
E-mail addresses: sasarf@gmail.com, sasa.filipovic@imi.bg.ac.rs (S.R. Filipović).

1388-2457/\$36.00 © 2013 Published by Elsevier Ireland Ltd. on behalf of International Federation of Clinical Neurophysiology.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.clinph.2013.02.024>

Please cite this article in press as: Jelić MB et al. Transcranial magnetic stimulation has no placebo effect on motor learning. Clin Neurophysiol (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinph.2013.02.024>

Prilog 2: Kopija formulara za saglasnost ispitanika za učešće u eksperimentu u skladu sa Helsinškom deklaracijom

FORMULAR ZA SAGLASNOST SA EKSPERIMENTALNOM PROCEDUROM

Istraživački projekat: *Neinvazivna modulacija kortikalne ekscitabilnosti i plasticiteta – Razvoj metoda neinvazivne neuromodulacije centralnog nervnog sistema u ispitivanju fizioloških mehanizama, dijagnostici i terapiji.*

Istraživači: Dr Saša Filipović
e-mail: sasa.filipovic@imi.bg.ac.rs
tel: +381606678782

Dr Slađan Milanović
e-mail: sladjan.milanovic@imi.bg.ac.rs
tel: +38163565875

Milan Jelić
e-mail: milan.jelic@imi.bg.ac.rs
tel: +381643116033

Vuk Stevanović
e-mail: vuk.stevanovic@imi.bg.ac.rs
tel: +381642474135

Ime ispitanika: _____

Poštovani,

Želimo da Vas informišemo o razlozima i načinu primene transkranijalne magnetne stimulacije (TMS) u istraživanju. Pre nego što date svoj pristanak veoma je važno da razumete zašto se ovaj postupak radi i u čemu se on sastoji. Pažljivo pročitajte ovu informaciju i ukoliko Vam se nesto učini nejasnim ili ukoliko želite dodatne informacije, molimo Vas da nam se obratite.

1. NAMENA I OPIS ISTRAŽIVANJA

TMS je neinvazivna i bezbolna tehnika kojom se stimulišu određene regije moždane kore. Koristi se širom sveta više od 20 godina. Primenom magnetnog kalema stimuliše se deo mozga koji kontroliše pokrete ruke. Korisćenjem ove tehnike, poslednjih godina se mnogo naučilo o normalnom funkcionisanju ljudskog mozga. Zavisno od modela stimulacije koja se koristi, može doći do „povećanja“ ili „smanjenja“ nadražljivosti moždanog tkiva, u trajanju od nekoliko minuta.

Cilj projekta je ispitivanje uloge primarnog motornog korteksa u motornom učenju pomoću TMS-a.

Pratiće se sledeće grupe parametara:

- a) Promene ekscitabilnosti motorne kore velikog mozga
- b) Motorno učenje na Purdue pegboard zadatku
- c) Motorno učenje u vremenu reagovanja na prosti zvučni signal

Vi ćete biti jedan od najmanje 70 zdravih učesnika starih od 20 do 35 godina. Eksperiment se sastoji od jedne sesije koja će trajati 90-120 minuta. Promenu ekscitabilnosti ćemo izazivati i meriti sa neinvazivnom i bezbednom transkranijalnom magnetnom stimulacijom, dok će se motorni zadaci (Purdue pegboard i reakciono vreme na prosti zvučni signal) izvoditi neposredno pre stimulacije, odmah nakon i 30 min posle stimulacije.

Očekivani rezultati svoj značaj nalaze u proveravanju postavljene hipoteze da promene ekscitabilnosti motorne kore velikog mozga utiču na brzinu motornog učenja.

2. USLOVI UČEŠĆA U EKSPERIMENTU

Svi dobijeni rezultati i informacije ove studije biće tretirane kao poverljivi. Vi lično nećete moći da budete identifikovani kao učesnik, izuzev po vašem broju/šifri koja će biti poznata samo istraživačima. U slučaju povrede primićete prvu pomoć. Ako Vam bude potrebna dodatna medicinska pomoć, Vi ćete biti za nju odgovorni. Imaćete pravo da prekinete Vaše učešće u eksperimentu u bilo kom trenutku.

3. KRITERIJUMI ZA UČEŠĆE U STUDIJI

Nećete moći da učestvujete kao ispitanik u studiji ukoliko patite od bilo kakvih kardiovaskularnih ili neuroloških oboljenja ili ako imate porodičnu anamnezu o postojanju epilepsije, kao i postojanje bilo kakvih povreda koji mogu da utiču na rezultat eksperimenta ili mogu da budu pogoršane Vašim učešćem. Drugi specifični razlozi koji nisu dobri za uključivanje u studiju podrazumevaju postojanje: trudnoće, srčanog *pace-maker*, postojanje metalnih implantata (kohlearnih implantata, klipseva za aneurizme, kao posledicu ortopedskih operacija).

4. RIZIK I BENEFICIJE

Poznati rizici su: trudnoća, postojanje metalnih implantata u telu, postojanje *pace-maker*. TMS tehnika se koristi bezbedno više od 25 godina.

Ne postoji direktna dobit u smislu materijalne satisfakcije ukoliko uzmete učešće kao ispitanik. Nadamo se da ćete imati veliko razumevanje za takva istraživanja velikog mozga u cilju otkrivanja mehanizama motornog učenja i kontrole pokreta.

5. KONTAKTI

U slučaju da imate bilo kakvo pitanje u vezi sa studijom, obratite se nekom od istraživača. Pitanja u vezi Vaših prava kao učesnika eksperimenta možete postaviti šefu Etičke komisije Fakulteta sporta i fizičkog vaspitanja, Univerziteta u Beogradu.

6. POTVRDA ISPITANIKA

Pročitao sam ovaj dokument i smisao svog učešća. Zahtevi, rizici i beneficije su mi objašnjeni. Svestan sam rizika i razumem da mogu da odustanem od učešća u eksperimentu u svakom trenutku i bez ikakvih konsekvenci. Kopija ovog dokumenta mi je data.

7. POTPISI

Datum: _____

Potpis ispitanika _____

Potpis ordinirajućeg lekara _____

Prilog 3: Kopija saglasnosti Etičke komisije Fakulteta sporta i fizičkog vaspitanja za realizaciju predloženih eksperimenata.

UNIVERZITET U BEOGRADU
FAKULTET SPORTA I FIZIČKOG VASPITANJA
ETIČKA KOMISIJA

РЕПУБЛИКА СРБИЈА
УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ФАКУЛТЕТ СПОРТА И ФИЗИЧКОГ ВАСПИТАЊА
02 Бр 637-1
08.3. 2012. ГОД
БЕОГРАД, Благоје Паровића 188

Predmet-Na zahtev zaveden pod brojem 02-637-1 od 6.03.2012 godine koji je podneo mr Milan Jelić ,Etička komisija Fakulteta sporta i fizičkog vaspitanja Univerziteta u Beogradu daje

S A G L A S N O S T

Za realizaciju eksperimenata u okviru projekta doktorske disertacije „ UTICAJ NEINVAZIVNE NEUROMODULACIJE MOTORNOG KORTEKSA NA MOTORNO UČENJE*

O b r a z l o ž e n j e

Na osnovu uvida u plan projekta navedenog eksperimenata čiji je rukovodilac naučni savetnik dr Saša Filipović ,Etička komisija Fakulteta iznosi mišljenje da se ,kako u konceptu tako i u planiranju realizacije istraživanja i primene dobijenih rezultata,polazilo od principa koji su u skladu sa etičkim standardima čime se obezbeđuje zaštita ispitanika od mogućih povreda njihove psiho-socijalne i fizičke dobrobiti.

U skladu sa iznetim mišljenjem Etička komisija Fakulteta daje saglasnost za realizaciju istraživanja planiranih gore navedenim projektom.

U Beogradu 8.03.2012

Za Etičku komisiju

Članovi

1. prof dr Dušanka Lazarević





prof dr Dušan Ugarković

3. prof dr Vladimir Koprivica

Prilog 4: Upitnik o bezbednosnim i etičkim smernicama za korišćenje Transkranijalne magnetne stimulacije.

Clinical Neurophysiology 122 (2011) 1686

Contents lists available at ScienceDirect



Clinical Neurophysiology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/clinph

Letter to the Editor

Screening questionnaire before TMS: An update

In a recent article published in this Journal (Rossi et al., 2009), we updated, on behalf of the International Federation of Clinical Neurophysiology, the safety and ethical guidelines for the use of Transcranial Magnetic Stimulation (TMS) in clinical practice and research, including a proposal for a 15-item standard questionnaire to screen every candidate before TMS.

The questionnaire appears as the last section (number 7.5) of the article, and had been approved by all the participants to the consensus meeting. At that meeting and in the (many) following revisions of the draft, a full consensus emerged that an affirmative answer to one or more of questions 1–13 did not represent an absolute contraindication to TMS, but the risk/benefit ratio should be carefully balanced by the Principal Investigator of the research project or by the responsible (treating) physician.

Now, thanks to the feedback we received from many colleagues, we realize that two of the questions in the published questionnaire ought to be modified.

Question number 12, namely “Did you ever have a surgical procedure to your spinal cord?” is superfluous, since spinal surgery *per se* does not represent a contraindication to TMS. A possible implanted metal device can be captured in question number 6, if modified to ask also about spinal and not solely about brain/skull metal implants.

Question number 13, namely “Do you have spinal or ventricular derivations?” is conceptually misleading and grammatically wrong.

We have also taken the occasion to make a few other edits to the questionnaire, that improve its clarity.

On behalf of all coauthors of the safety paper, we apologize to the scientific community, and provide a revised 13-item screening questionnaire, which should replace the previous one.

Screening 13-item Questionnaire for rTMS Candidates

- (1) Do you have epilepsy or have you ever had a convulsion or a seizure?
- (2) Have you ever had a fainting spell or syncope? If yes, please describe on which occasion(s)?
- (3) Have you ever had a head trauma that was diagnosed as a concussion or was associated with loss of consciousness?
- (4) Do you have any hearing problems or ringing in your ears?
- (5) Do you have cochlear implants?
- (6) Are you pregnant or is there any chance that you might be?
- (7) Do you have metal in the brain, skull or elsewhere in your body (e.g., splinters, fragments, clips, etc.)? If so, specify the type of metal.
- (8) Do you have an implanted neurostimulator (e.g., DBS, epidural/subdural, VNS)?
- (9) Do you have a cardiac pacemaker or intracardiac lines?
- (10) Do you have a medication infusion device?
- (11) Are you taking any medications? (please list)
- (12) Did you ever undergo TMS in the past? If so, were there any problems.
- (13) Did you ever undergo MRI in the past? If so, were there any problems.

Reference

Rossi S, Hallett M, Rossini PM, Pascual-Leone A. The 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* 2009;120:2008–39.

Simone Rossi
*Dipartimento di Neuroscienze, Sezione Neurologia,
Università di Siena, Italy
E-mail address: rossisimo@unisi.it*

Mark Hallett
Human Motor Control Section, NINDS, NIH, Bethesda, USA

Paolo M. Rossini
*Università Campus Biomedico, Roma, Italy
Casa di Cura S. Raffaele, Cassino, Italy*

Alvaro Pascual-Leone
*Berenson-Allen Center for Noninvasive Brain Stimulation,
Beth Israel Deaconess Medical Center and
Harvard Medical School, Boston, USA*

Available online 11 January 2011

DOI of original article: [10.1016/j.clinph.2009.08.016](https://doi.org/10.1016/j.clinph.2009.08.016)

1388-2457/\$36.00 © 2010 International Federation of Clinical Neurophysiology. Published by Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.
[doi:10.1016/j.clinph.2010.12.037](https://doi.org/10.1016/j.clinph.2010.12.037)

Prilog 5: Kopija upitnika za procenu dominantne strane tela (Oldfield, 1971).

	Ime i Prezime		
	Datum rođenja		
	Pol		
<p>Molim Vas popunite upitnik za procenu dominantnosti ruke. Koristite broj "1" za popunjavanje polja ruke koja Vam je dominantna. Za svako pitanje staviti "1" samo u jednom ponuđenom polju (lev ili desna), ako je izrazito dominantna ta ruka, ako ne možete da se odlučite koja ruka je dominantna, staviti 1 u oba polja. Ukoliko nemate iskustva sa nekim od pitanja, molim Vas ne odgovarajte na to pitanje. Hvala!</p>			
		Leva	Desna
1	Pisanje		
2	Crtanje		
3	Bacanje		
4	Korišćenje makaza		
5	Pranje zuba		
6	Korišćenje noža (bez viljuške)		
7	Korišćenje kašike		
8	Korišćenje metle (gornja ruka)		
9	Paljenje šibice		
10	Otvaranje kutije (držanje poklopca)		
i	Kojom nogom šutirate?		
ii	Koje oko koristite ako koristite samo jedno?		
		L.Q.	

BIOGRAFIJA AUTORA

Milan Jelić je rođen 23.06.1985. godine u Sjenici. Završio je Osnovnu školu „Branko Radičević“ u Štavlju i gimnaziju „Jezdimir Lović“ u Sjenici sa odličnim uspehom, dobivši nakon obe škole diplomu „Vuk Karadžić“. Školske 2004/05. upisao je Fakultet sporta i fizičkog vaspitanja u Beogradu i isti završio 05.06.2009. godine sa prosečnom ocenom 9,52 i ocenom 10 na diplomskom ispitu koji je branio na temu „Metode treninga za razvoj eksplozivne snage nogu“. Na Dan fakulteta 11.12.2009. godine proglašen je za najboljeg studenta generacije. Proglašavan je takođe za najboljeg studenta 1. godine osnovnih studija i tri puta za najboljeg studenta Studentskog doma „Košutnjak“. Školske 2009/2010. godine upisao je Doktorske akademske studije, Fakulteta sporta i fizičkog vaspitanja u Beogradu na programu „Eksperimentalne metode istraživanja humane lokomocije“.

- U toku osnovnih studija se bavio studentskom politikom i organizovanjem kao:
 - Student prodekan na fakultetu (2006 - 2009)
 - Član Saveta Univerziteta (2008 i 2009)
 - Asistent menadžera sektora akreditacije na EYOF-u (2007)
 - Koordinator sportskog objekta tokom Univerzijade (2009)
 - Organizator ili suorganizator Difovijada (2007., 2008. i 2009.) i organizator mnogobrojnih kulturno-zabavnih manifestacija studenata FSFV-a.
- U toku studija završio je kurs Gorske službe spašavanja, gde je aktivni član.
- U periodu od 2009. do 2011. godine je radio kao individualni kondicioni trener u fitnes klubu „Profitnes“.
- Učestvovao je u fakultetskom projektu „Praćenje antropoloških osobina i sposobnosti odbojkaša.
- Zaposlen je na projektu Ministarstva prosvete i nauke (br. 175012 Osnovna istraživanja): „Neinvazivna modulacija kortikalne ekscitabilnosti i plasticiteta – Razvoj metoda neinvazivne neuromodulacije centralnog nervnog sistema u ispitivanju fizioloških mehanizama, dijagnostici i terapiji“. Rukovodilac projekta je naučni savetnik dr Saša Filipović.

- Trenutno radi kao istraživač pripravnik na Institutu za medicinska istraživanja u laboratoriji za neurofiziologiju.
- Autor ili koautor je 10 naučno-istraživačkih radova ili sažetaka objavljenih u međunarodnim časopisima ili prezentovanim na međunarodnim skupovima.

IZJAVA O AUTORSTVU

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а _____ Милан Јелић _____
број индекса _____ 1DS/2009 _____

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Утицај неинвазивне неуромодулације моторног кортекса на моторно учење

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 15.06.2013. _____



IZJAVA O ISTOVETNOSTI ŠTAMPANE I ELEKTRONSKE VERZIJE DOKTORSKOG RADA

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора: Милан Јелић

Број индекса: 1DS/2009

Студијски програм: Експерименталне методе истраживања хумане
локомоције

Наслов рада: Утицај неинвазивне неуромодулације моторног кортекса на
моторно учење

Ментор: др Саша Филиповић, научни саветник, Институт за медицинска
истраживања

Потписани/а Милан Јелић

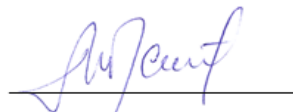
Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 15.06.2013.



IZJAVA O KORIŠĆENJU

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Утицај неинвазивне неуромодулације моторног кортекса на моторно учење

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

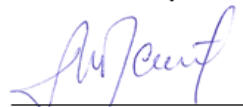
Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

У Београду, 15.06.2013.

Потпис докторанда



1. Ауторство - Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.