

NAU NOM VE U MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRDU

Na sednici Nau nog ve a Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 01.12.2016. godine, broj 5940/8, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Efekat kombinovane primene neinvazivne kortikalne stimulacije i motornog treninga na hroni ni motorni deficit ruke nakon moždanog udara“

kandidata *assist* mr. sci med dr **Nele V. Ili** ,
zaposlene u Klinici za fizikalnu medicinu i rehabilitaciju Klini kog centra Srbije u Beogradu.

Mentor: prof. dr **Ivana Petroni -Markovi** ,
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Ko-mentor: prof dr **Dobrivoje Stoki** ,
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu (gostuju i profesor)

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Ljiljana Besla -Bumbaširevi , Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu
2. Doc. dr Emilija Dubljanin-Raspopovi , Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu
3. Nau ni savetnik dr sci. Sla an Milanovi , Institut za medicinska istraživanja, Univerzitet u Beogradu

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Nau nom ve u Medicnskog fakulteta slede i

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija dr Nele Ili napisana je na ukupno 121 strani i podeljena je na slede a poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaklju ci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno pet (5) tabela i devetnaest (19) slika. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skra enica koriš enih u tekstu.

U **uvodu** je definisano šta je to moždani udar (MU), koje su vrste i patofiziološki mehanizmi odlu ni za nstanak ishemijskih i hemoragijskih oblika MU, te koje su tipi ne klini ke prezentacije ovog oboljenja sa posebnim osvrtom na funkcionalne posledice pre svega u sferi motornih deficita. Potom je detaljno objašnjena anatomska i funkcionalna organizacija voljnih pokreta ruke, a potom i klini ki tok oporavka funkcije ruke nakon MU.

U uvodnom delu, je tako e detaljno objašnjen koncept plasti ne reorganizacije mozga opisuju i adaptivne promene koje nastaju kao odgovor na zahteve iz spoljašnjog sveta. Uz to su posebno izdvojeni zna ajni podsticaji plasti nih promena uklju uju i: lezije CNS-a, pove ana (ili smanjena) upotreba ekstremiteta, specifi ne obrasce stimulacije mozga kao i izmene u prilivu senzornih aferentnih informacija (pove an ili smanjen). Nadalje su pregledno prikazane savremene tehnike rehabilitacije posledica moždanog udara zasnovane su na rezultatima bazi nih istraživanja koje motorni oporavak dovode u vezu sa mehanizmima sinapti kog i regionalnog plasticiteta, kao i principima motorne kontrole i motornog u enja. Naposletku su predstavljene tehnike neinvazivne stimulacije mozga ija se primena u savremenoj rehabilitaciji, pre svih motornih funkcija upravo sve eš e i testira. Poseban ostrt je pri tom usmeren prema metodi transkranijalne stimulacije jednosmernom strujom (tSJS; engl. *transcranial direct current stimulation - tDCS*), relativno niskog intenziteta (0.5-2 mA), pri emu se fiziološki efekti ostvaruju posredstvom promena membranskog potencijala neurona u mirovanju, a u zavisnosti od primenjenog polariteta. Na ovaj na in su mogu e izmene nadražljivosti regiona moždane kore u željenom pravcu, a koje se ostvaruje putem reverzibilnih promena spontane aktivnosti neurona i procesiranja aferentnih signala. Pored navedenog, u vodu su predstavljena i iskustva dosadašnjih istraživanja iz ove oblasti, a posebna pažnja posve ena je važe oj hipotezi interhemisferi ke kompeticije, koja se zasniva na izmenama nadražljivosti motorne kore velikog mozga u procesima stimulacijom podstaknutog plasticiteta.

Ciljevi rada su precizno definisani. Sastoje se od ispitivanja funkcionalnih efekata motornog treninga (45 minuta/sesiji) kojem je prethodila tSJS (20 minuta/sesiji), tokom dvonedeljnog tretmana, na motorne funkcije procenjivane putem testova za procenu motornih veština šake, kao što su modifikovani test funkcije šake po Jebsen-Taylor-u (mJTt), kao primarne varijable ishoda, Fugl-Meyerova skala za gornje ekstremitete (FMSGE) i dinamometrije snage stiska šake (*Dyn*), kao sekundarnih varijabli ishoda. Efekti tretmana su proveravani nakon pojedina ne (prve) sesije (T1), po isteku svih 10 dana stimulacije (T2) i nakon kratkoro nog pra enja ishoda u trajanju od 4 nedelje (T3). Istodobno je, kod dela ispitanika, sprovo ena i

evaluacija pokazatelja nadražljivosti motorne kore velikog mozga, primenom transkranijalne magnetne stimulacije, a u cilju procene izazivanja i kratkoro nog održavanja plasti nih promena u regiona mozga od interesa.

U poglavlju **materijal i metode** je navedeno da se radi o randomizovanoj i kontrolisanoj, duplo-slepoj studiji, prema paralelnom dizajnu, koja je sprovedena u vanbolni kim (ambulantnim) uslovima u Klinici za fizikalnu medicinu i rehabilitaciju Klini kog centra Srbije u Beogradu. Detaljno je opisan na in selekcije pacijenata, kao i kriterijumi za uklju enje ili isklju enje iz studije. Pored opisane aktivne stimulacije koja je primenjivana u grupi od 16 pacijenata, kod druge grupa, proporcionalne veli ine (N=14) primenjivana je tzv. lažna (*sham*) tSJS (stimulacija), iza koje bi usledio istovetni motorni trening kao i za prvu grupu. Efekti tretmana su proveravani nakon pojedina ne (prve) sesije (T₁), po isteku svih 10 dana stimulacije (T₂) i nakon kratkoro nog pra enja ishoda u trajanju od 4 nedelje (T₃).

Ova studija je sprovedena u skladu sa Helsinškom deklaracijom, a odobrena je i od strane Eti kog komiteta, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu (odluka broj 29/X-8 od 13.10.2011.) Svi pacijenti su, pre uklju enja u studiju, dali pisanu saglasnost. Rezultati istraživanja, za sve varijable ishoda, podvrgnuti su metodama deskriptivne i analiti ke statisti ke obrade podataka (*ANCOVA*, *Pearson*-ova analiza linearne korelacije). Kalkulacija veli ine uzorka prethodno je sprovedena u odnosu na o ekivane efekte poboljšanja motornih funkcija šake, merene promenama na mJT testu.

U poglavlju **rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati.

Diskusija je napisana jasno i pregledno, uz prikaz podataka drugih istraživanja sa uporednim pregledom dobijenih rezultata doktorske disertacije.

Zaklju ci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada. Koriš ena **literatura** sadrži spisak od 295 referenci.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Rezultati su pokazali da pacijenti tretirani aktivnom anodnom tSJS kroz dvonedeljni period postižu poboljšanje primarne varijable ishoda mJTt za oko 25% u odnosu na po etne vrednosti, što nije potvr eno za grupu podvrgnutu lažnoj stimulaciji, kombinovanoj sa intenzivnim motornim treningom. Vreme potrebno za izvo enje mJTt kod ovih pacijenata bilo je zna ajno skra eno neposredno nakon završetka tretmana (T₂) za 35.36 ± 22.90 sekunde ($28,42 \pm 14,56\%$ u odnosu na po etne rezultate) kao i u vremenu T₃, i to za $24.21 \pm$

24.66 sekunde ($19.98 \pm 17.49\%$ u odnosu na po etne). Dodatnom analizom subtestova koji sa injavaju mJTt, pokazano je da je značajno veći i efekat postignut pri evaluaciji aktivnosti koje se odnose na motorne funkcije distalnih mišića njih grupa, za razliku od proksimalnih mišića ruke.

Suprotno tome, intervencija nije imala efekta na snagu stiska šake merenu dinamometrijom, niti na promene vrednosti na Fugl-Meyerovoj skali.

Za razliku od utvrđenih promena nakon 10 sesija tSJS (dvonedeljni period), primena pojedinačne sesije, nije dovela do statistički značajnih razlika, sugerišući i doznosno zavisni efekat ove intervencije.

U pogledu evaluacije pokazatelja kortikalne ekscitabilnosti, motorni prag podražaja u mirovanju za oštećenu šaku, bio je nepromenjen, dok je aktivni prag podražaja bio snižen, a amplituda MEP povećana, odražavajući i porast kortikalne ekscitabilnosti.

C) Usporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Ključni nalaz ovog istraživanja odnosi se na poboljšanje finih motornih aktivnosti šake kod pacijenata sa hroničnim motornim deficitom, kao posledicom MU, nakon dvo-nedeljne primene specifičnog motornog treninga (u vidu okupacione terapije) koji bi u svakoj sesiji usledio neposredno po završetku anodne tSJS, primenjivane na skalpu, u projekciji primarne motorne kore oštećene hemisfere. Suprotno tome, za grupu pacijenata u ovom istraživanju, koji su uz okupacionu terapiju bili dodatno tretirani i lažnom (prividnom) tSJS značajan efekat poboljšanja funkcije nije zabeležen.

Imajući u vidu istraživanja funkcionalne povezanosti homolognih areala mozga sugerisano je postojanje kontinuirane i uzajamne recipročne inhibicije, čime se aktivnost moždanih hemisfera održava pod stalnom uzajamnom ("ravnotežnom") kontrolom. Iz ovih nalaza, kao grubo okvir međusobnih odnosa nastao je tzv. model interhemisferičke kompeticije, kojim se pokušava na delno objasniti kakvi su uzajamni uticaji oštećene i zdrave hemisphere nakon MU. Uticaj na stepen ove vrste transkalozalne inhibicije moguće je ostvariti na dva načina: bilo jačanjem/porastom nadražljivosti oštećene hemisfere – jačanjem interhemisferičke inhibicije (IHI) u smeru kontralateralne hemisfere, ili sniženjem nadražljivosti neoštećene (zdrave) hemisfere – slabljenjem IHI u smeru zdrave hemisphere.

Istraživanja primenom inhibitornih protokola primenom rTMS niske frekvencije (rTMSNF) iznad zdrave hemisfere (*Takeuchi i sar., 2002, Mansur i sar., 2006*) pokazala su prolazna poboljšanja, slično kao i ukoliko je rTMS visoke frekvencije (rTMSVF) primenjen iznad oštećene (infarcirane) hemisphere (*Talleli i sar., 2007.*). Sledeći isti concept, pokušavano je i sa primenom tSJS takođe primenom katodne stimulacije (inhibitorni protokol) iznad zdrave hemisphere, u pokušaju smanjenja IHI iz pravca neoštećene hemisfere (*Nair i sar., 2011*), ili primenom anodne tSJS (facilitatorni protokol) u nameri povećanja nadražljivosti oštećene (*Ochi i sar., 2013; Vianna i sar., 2014*).

Međutim, uprkos činjenicama da su pojedini facilitatorni protokoli NISM (visoko frekventni rTMS, intermitentni TBS i anodna tSJS) sposobni da arteficijalno pojačaju nadražljivost motorne kore, iz čega je kao mogućnost pretpostavljeno jačanje sinaptičkih konekcija - proces poznat kao brzo Hebovo učenje, ipak stimulacija sama po sebi ne obezbeđuje sticanje novih motornih veština putem implicitnog učenja, zbog čega se razmatralo kombinovanje procesa koji su već prepoznati kao pokretne i plastične promene moždane kore, odnosno upotrebom (motorni trening) i stimulacijom-indukovani (tSJS) plasticitet. Ovakva primena do sada je bila primenjena retko, i to pre svega u istraživanjima gde je primenjena samo pojedina na sesija stimulacije i treninga (*Kim i sar., 2006*), a koja su se u suštini bavila dokazivanjem koncepta (proof-of-principle study).

Po pitanju izbora vrste motornog treninga, prethodne studije su primenjivale više modela za koje su smatrali da podstiču plasticitet zavisano od upotrebe: fizikalnu/okupacionu terapiju, koja je u pojedinim slučajevima bila standardizovana (*Kakuda i sar., 2012; Ackerley i sar., 2015*) kao i u našoj studiji, ali ponegde i individualizovana (*Fusco i sar., 2014*); zatim zadatka specifični trening; terapija ograničenjem pokreta zdrave ruke (*Bolognini i sar., 2011*); robotom potpomognuti trening ruke (*Hesse i sar., 2007; Edwards i sar., 2009; Ochie i sar., 2013; Giacobbe i sar., 2013*); motorni trening u uslovima virtuelne stvarnosti (*Vianna i sar., 2014; Lee i Chun 2014*).

Međutim, u prethodnim pokušajima, pored definisanja obrasca stimulacije, principa kumulativnih ponavljanja i izbora procesa motornog treninga, nedostajalo je da klinička istraživanja budu sprovedena prema visokim metodološkim zahtevima kao randomizovane i kontrolisane slepe studije. Jedna od prvih randomizovanih kontrolisanih studija primenom visokofrekventnog rTMS (20 Hz, intenziteta 90% praga motornog podražaja, 2000 pulseva dnevno) sprovedena je u trajanju stimulacije od dve nedelje, za koje vreme su pacijenti

sprovodili i tzv. terapiju ograničenjem pokreta zdrave strane, koja je završila neuspehom u smislu kliničkih efekata studije (*Malcolm i sar., 2007*). Razvojem tehnologije, nastoji se u koncept uvesti i rehabilitacione tehnike kojima se potencira stepen pažnje i aktivnosti pacijenata. Na taj način grupa brazilskih autora pokušala je sparivanje tSJS sa *Wii-gaming* tehnologijom (igranje računarskih igara u virtuelnoj stvarnosti) kroz 15 sesija (u okviru 5 nedelja). Anodna stimulacija u ovoj studiji sprovedena je intenzitetom od 2 mA u trajanju od 13 minuta, elektrodama površine od 35 cm², što je obezbeđivalo gustinu od struje 0.06 mA/cm², odnosno ukupni naboj u iznosu od 6.5 mAh. U odnosu na ovu studiju poređenja sa našim istraživanjem su višestruka; pre svega motorni trening je u obe studije sproveden neposredno nakon stimulacije, ali gustina struje (određena izborom veličine elektroda, intenzitetom i trajanjem pojedinačne sesije anodne tSJS) bila je veća u našoj studiji (0.08 mA/cm²), dok je ukupni naboj tek neznatno različit, budući da je studija sa *Wii gaming*-om imala veći broj sesija. Ipak, ova studija na grupnom nivou ispitanika koji su bili stimulirani anodnom tSJS nasuprot lažne (*sham*), suprotno očekivanjima, nije pokazala prednosti stimulacije.

Pored navedenih metodologija, sve češće se u oporavku motornih sekvela posle MU upotrebljava robotom potpomognut trening ruke, pa je na taj način primenjivan i u kombinaciji sa anodnim tDCS iznad ledirane hemisfere, odnosno katodnim iznad neoštećene hemisfere, tokom 5 uzastopnih dana, ali prema unakrsnom dizajnu studije (*Ochi i sar., 2013*). Ovi pacijenti su imali, za razliku od većine prethodno opisanih, u drugim istraživanjima, umereno težak stepen motornog hendikepa i pokazali minimalno poboljšanje na skali prema Fugl-Meyer-u, što možda ne predstavlja optimalni izbor za evaluaciju finih odnosno kompleksnih pokreta šake.

Sumarno razmatrajući, ovo istraživanje na selekcionisanom uzroku pacijenata sa hroničnim motornim deficitom kao posledicom subkortikalnog ishemijskog infarkta (prvi u životu), sprovedeno je u skladu sa najvišim metodološkim standardima, u nameri pouzdane definicije vrednosti ovog koncepta sinergije intenzivnog motornog treninga i plasticiteta podstaknutog stimulacijom, pri čemu su efekti poboljšanja u iznosu oko 25%, što se održalo i kroz kratkoročni period praćenja (mesec dana).

D) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

Ilic NV, Dubljanin-Raspopovic E, Nedeljkovic U, Tomanovic-Vujadinovic S, Milanovic SD, Petronic-Markovic I, Ilic TV. **Effects of anodal tDCS and occupational therapy on fine motor skill deficits in patients with chronic stroke.** Restor Neurol Neurosci. 2016 Nov 22;34(6):935-945. PubMed PMID: 27689551.

E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „**Efekat kombinovane primene neinvazivne stimulacije moždane kore i motornog treninga na hroničnu slabost ruke nakon ishemijskog moždanog udara**“ dr Nele Ilić, kao precizna i metodološki osnovana studija novih pristupa u tretmanu motornih deficita kod hroničnih pacijenata predstavlja u celini originalan istraživački doprinos.

Opisana intervencija, u skladu sa savremenim saznanjima, verujemo predstavlja jedan u nizu dokaza koji mogu nositi svrsishodne modulacije nadražljivosti motorne kore, upućujući na plastičnu reorganizaciju motornih areala moždane kore pri izvođenju bihevioralno relevantnih motornih zadataka. Sinergističko delovanje tSJS i motornog treninga pretpostavljeno je dozno-zavisno, što i naša iskustva potvrđuju, a delotvorno je kod hroničnih pacijenata sa lakim do umerenim stepenom motornog deficita ruke.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, naučni pristup je bio originalan i pažljivo izabran, a metodologija rada je bila savremena. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući i zaključci.

Na osnovu svega navedenog, i imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, komisija predlaže Naučnom vešću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr **Nele Ilić** i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 18.01.2017.

članovi Komisije:

Prof. dr **Ljiljana Besla -Bumbaširevi**

Mentor:

Prof. dr **Ivana Petroni -Markovi**

Doc. dr **Emilija Dubljanin-Raspopovi**

Ko- mentor:

Prof. dr **Dobrivoje Stoki**

Nau ni savetnik

dr sci. **Sla an Milanovi**
