

Дејство појединачних доза дијазепама и леводопе на модулацију пластицитета моторног кортекса код здравих особа – ТМС студија

Нела В. Илић¹, Ивана Петронић^{2,3}, Мирко Грајић¹, Тихомир В. Илић⁴

¹Клиника за физикалну медицину и рехабилитацију, Клинички центар Србије, Београд, Србија;

²Универзитетска дечја клиника, Београд, Србија;

³Медицински факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија;

⁴Војномедицинска академија, Београд, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Примена фармаколошких агенаса са специфичним деловањем на неуротрансмитерске системе снажан је покретач функционалне реорганизације кортекса. Пластична реорганизација моторног кортекса код људи изучава се применом неинвазивних протокола стимулације, који опонашају модел Хебовог (*Hebb*) асоцијативног пластицитета.

Циљ рада Код здравих испитаника је процењено дејство појединачних доза дијазепама и леводопе на амплитуде МЕР (моторни евоцирани потенцијали) применом протокола спарене асоцијативне стимулације (САС), којим се индукују феномени слични дугорочној потенцијацији (ДП) и дугорочној депресији (ДД) како су дефинисане на синаптичком нивоу.

Методе рада Истраживање је обухватило 14 здравих добровољаца код којих је анализирано дејство бензодијазепина (10 mg), леводопе (200 mg) и плацеба на модулацију САС према дупло слепо дизајну контролисаном плацебом. САС је подразумевао примену парова електричних стимулуса на *n. medianus* и магнетних пулсева над скалпом (транскранијална магнетна стимулација) у прецизно дефинисаним временским интервалима (*ISI* је био 10 ms и 25 ms), у укупном трајању од око 15 минута (200 парова).

Резултати Примењивани протокол је за плацебо, у зависности од *ISI* (10 ms – инхибиторни, 25 ms – фацитаторни ефекти), водио ка смањењу или повећању амплитуда МЕР, при чему су вредности у постинтервенционом периоду (у почетном, 10, 20. и 30. минуту) упоређиване с вредностима пре примене САС. Примена бензодијазепина узроковала је оклузију ефекта сличног ДП, за разлику од појачања ефеката забележеног након примене леводопе. У погледу протокола индукције феномена сличног ДД, важило је обрнуто (*ANOVA* за поновљена мерења; $p < 0,001$).

Закључак Примена ГАБА-ергичког агонисте дијазепама омета индукцију асоцијативног пластицитета у моторном кортексу здравих особа, за разлику од примене леводопе, која подстиче ове процесе. Опажени ефекти упућују на могућност фармаколошке модулације пластицитета код људи.

Кључне речи: транскранијална магнетна стимулација; спарена асоцијативна стимулација; моторни кортекс; кортикални пластицитет

УВОД

Кортикални пластицитет се дефинише као низ адаптивних промена функционалних или морфолошких својстава мождане коре који настају током процеса интеракције са спољашњом средином или након патолошких процеса и оштећења мозга. Функционалним супстратом овог процеса сматрају се процеси јачања и слабљења синаптичког преноса, чији је базични модел – дугорочна потенцијација (ДП) – описан пре око 40 година на исечцима хипокампуса. Захваљујући новим сазнањима у вези с овим моделом синаптичког пластицитета и технолошким унапређењима која су омогућила неинвазивну и безбедну стимулацију кортикалних региона применом транскранијалне магнетне стимулације (ТМС), проучавање пластичне модулације кортекса пренело се на системски ниво код људи. Један од модела синаптичке потенцијације, односно дугорочне депресије (ДД), који је назван протоколом асоцијативног или Хебо-

вог пластицитета, према канадском психологу Доналду Хебу (*Donald Hebb*), упућује на појачање синаптичког преноса уколико се дешава синхронизована деполаризација пресинаптичког и постсинаптичког неурона [1]. Следећи ову аналогију пореклом из синаптичког модела, последњих десетак година примењује се комбинована стимулација моторне коре понављаним магнетним пулсевима (ТМС) спареним са електричном стимулацијом аферентних проприоцептивних влакана у саставу мешовитог периферног нерва, што је названо протоколом спарене асоцијативне стимулације (САС) [2]. Студије које су процењивале дејство индуктивних протокола на истим испитаницима (тзв. *head-to-head* студије) означиле су овај протокол као ефикаснији од других [3]. Измене интерстимулусних интервала (ИСИ) између два сукцесивна стимулуса пореклом из различитих извора условљавају вектор индукованих промена, представљен повећањем или смањењем амплитуде МЕР (моторни евоцирани потенцијали),

Correspondence to:

Tihomir V. ILIĆ
Vojnomedicinska akademija
Crnotravska 17, 11000 Beograd
Srbija
tihilic@gmail.com

налик синаптичким моделима ДП и ДД [4]. Низом контролних експеримената доказано је да је модулација излазног сигнала (МЕР) феномен кортекса [5]. Међутим, неинвазивна стимулација и регистровања каква се данас примењују код људи у будном стању имају ограничења услед којих још увек нема коначне потврде механизма у основи овог феномена. Стога, следећи сличности и аналогии поменутих синаптичких модела потенцијације и депресије, ова врста модулације кортикалног пластицитета назива се ефектима сличним ДП или ДД.

С обзиром на то да се механизми адаптивне кортикалне реорганизације налазе у средишту процеса опоравка функција централног нервног система (ЦНС), те да постоје бројна експериментална сазнања о могућностима фармаколошке модулације пластицитета, како на лабораторијским животињама, тако и код људи [6], систематско испитивање дејства широко примењиваних фармаколошких агенса на моделу асоцијативног пластицитета води ка сазнањима имплицитно применљивим на процесе поспешивања опоравка функције код људи.

ЦИЉ РАДА

Циљ истраживања је био да се процени утицај дијазепаме и леводопе, фармаколошких агенса с познатим деловањем на специфичне неуротрансмитерске системе, у процесима пластичних промена моторног кортекса на моделу САС индукваног синхронизованом неинвазивном магнетном стимулацијом кортекса (ТМС) и проприоцептивних аферентних пројекција (електрична стимулација мешовитог периферног нерва) код здравих испитаника.

МЕТОДЕ РАДА

У истраживање је укључено 14 здравих добровољаца (шест жена и осам мушкараца) без знакова, односно симптома неуролошких и психијатријских обољења, који су били стари $38,46 \pm 4,5$ година. Критеријуми искључивања из студије односили су се на опште аспекте безбедности примене методе ТМС [7]. Сви испитаници су дали писани пристанак за учешће у студији, чије је извођење претходно одобрио локални етички одбор. Све процедуре су изведене у складу с Хелсиншким декларацијом.

Електромиографија (регистровање изазваних одговора)

На трбух циљног мишића *m. abductor pollicis brevis* (APB) била је постављена површинска електрода Ag-AgCl пречника 9 mm (активна електрода), док је референтна постављена на коштану проминенцију прве метатарзалне кости, средишта електрода удаљених

међусобно 20-30 mm. ЕМГ сигнал појачаван је и филтриран (0,02-2 kHz, MS 91 Medelec, UK).

Транскранијална магнетна стимулација

Испитаници су смештени у комфорну столицу која је била посебно прилагођена овој намени, са подесивим наслонима за главу и руке, ради потпуне релаксације током читавог испитивања. За време трајања експеримента испитаницима и испитивачу су, поред визуелних, биле обезбеђене и аудитивне повратне информације о ЕМГ активности у реалном времену, како би се елиминисала воља преинервације. Записи угрожени вољном активношћу нису обухваћени коначном анализом. Испитивања су изведена у полумрачној просторији са звучном изолацијом. Сваки испитаник је требало да усредреди своју пажњу на активну периферну стимулацију, док је испитивач све време активно надгледао ниво будности. Говорна комуникација између испитаника и испитивача није била дозвољена, изузев саопштавања упутстава неопходних за успешно извођење експеримента.

Стимулација кортекса вршена је полагањем фокалног стимулативног калема (фТМС) у облику броја осам, пречника појединачног крила од 90 mm, тангенцијално у односу на скалп, а контралатерално наспрам циљног мишића тенара *m. APB* десне шаке. Ручка стимулатора била је усмерена ка назад и ротирана 45 степени од средишње сагиталне линије. На тај начин струја индуквана у мозгу усмерена је од латеропостериорног ка медиоантериорном, приближно усправно на претпостављену линију пружања централног сулкуса [8]. Магнетне стимулусе бифазног облика, чији је појединачни пулс трајао 100 μ s, генерисао је магнетни стимулатор *Magstim 200*; максимална снага магнетног поља у фокусу калема била је приближно 1,5 T (*Magstim, Whitland, UK*).

Периферна електрична стимулација

Периферни електрични стимулуси у оквиру САС протокола приказани су испитаницима путем биполарне површинске електроде (катода проксимално) изнад *n. medianus*, у нивоу ручног зглоба, у виду правоугаоних стимулуса (0,5 ms), интензитета у троструком износу прага перцепције.

Протокол спареног асоцијативног пластицитета

САС протокол се састојао од 200 електричних стимулуса примењених на десном *n. medianus*, у нивоу ручног зглоба, у паровима са појединачним ТМС пулсима примењеним на оптималној локацији *m. APB* десне шаке и на скалпу, са фреквенцијом од 0,25 Hz (појединачни пар стимулуса примењиван је сваке четири секунде). У зависности од врсте САС протокола,

примењивани су ISI од 25 ms за протокол индукције пластицитета сличног ДП, односно 10 ms за протокол индукције пластицитета сличног ДД. Примена протокола укупно је трајала 13,3 минута (Слика 1).

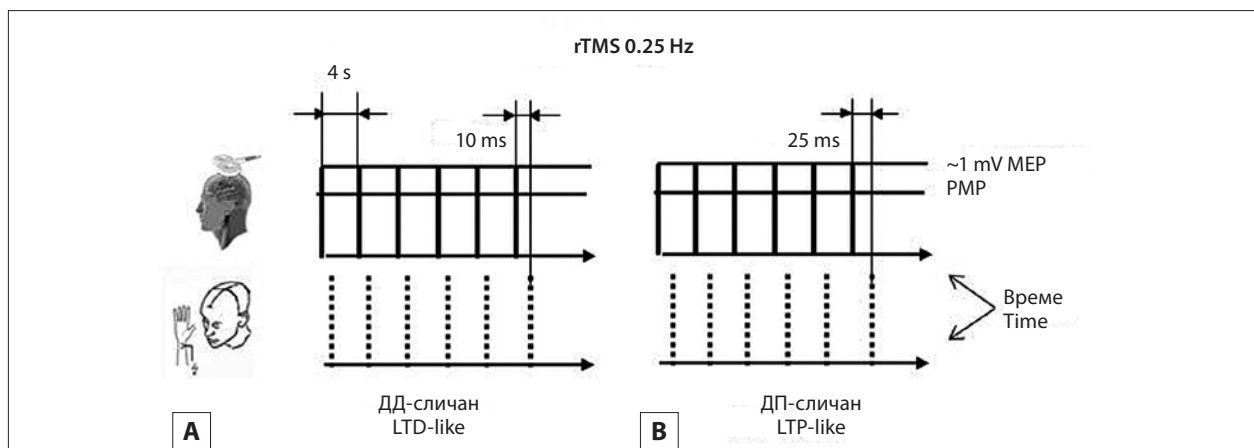
Основни показатељи надражљивости моторног кортекса

Праг моторног подражаја (ПМП), који је неопходан за изазивање моторног одговора у релаксираном циљном мишићу, одређиван је у складу с вредношћу најближег процента максималне излазне снаге стимулатора приликом појединачних стимулуса понављаних у интервалима не краћим од десет секунди. ПМП је дефинисан на уобичајен начин – као минимални интензитет стимулације који производи амплитуду МЕП већу од $50\ \mu V$, у 5-10 узастопних покушаја, уз подешавање калибрације појачала на високу сензитивност ($50\ \mu V$), у складу с препорукама Међународне федерације за клиничку неурофизиологију (IFCN) [9].

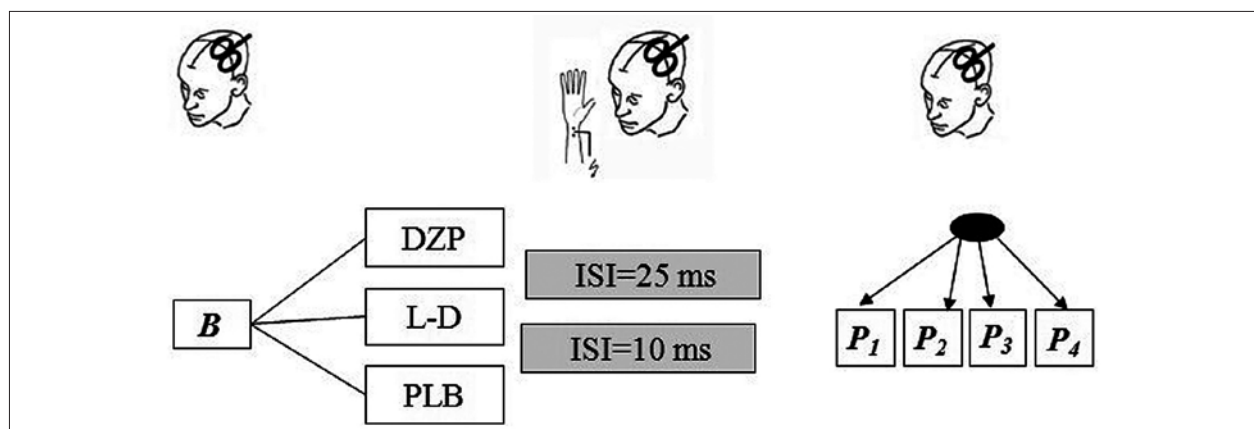
Амплитуда МЕП мерена је од врха негативне до врха позитивне дефлексије изазваног одговора (енгл. *peak-to-peak amplitude*). Након почетног одређивања интензитета магнетне стимулације који је оптималан за изазивање амплитуде МЕП од приближно 1 mV ($\pm 10\%$), регистрован је низ од 20 сукцесивних изазваних одговора, који су представљали базичне вредности (B). Ова стимулација је вршена у интерстимулусним интервалима од 10 секунди. Након примене индуктивног протокола САС вредности амплитуде МЕП белажене су непосредно после, као и у интервалима након 10, 20 и 30 минута ($P1-P4$).

Фармаколошки експеримент

Протокол САС примењиван је на раније описани начин два часа после примене појединачне дозе оптерећења од 10 mg дијазепама (DZP), односно један час након примене 250 mg леводопе и бензеразида ($L-D$), односно плацеба (PLB) (Слика 2).



Слика 1. Структурни образац стимулације – протокол спареног асоцијативног пластицитета (А) и (В)
Figure 1. Structured pattern of non-invasive stimulation – a paired associative stimulation protocol (A) and (B)



Слика 2. Временски редослед регистрација и МЕП интервенционих протокола у експериментима с применом САС, укључујући фармаколошку модулатију применом ГАБА-ергичког агониста дијазепама (DZP), односно допаминског прекурсора леводопе ($L-D$) или плацеба (PLB). B означава почетно мерење амплитуде МЕП, пре интервенције, а $P1-P4$ представљају постинтервенциона мерења у „нултом“ времену, у 10, 20, и 30. минути по завршетку протокола.

Figure 2. Time sequence of MEP registrations and induction protocols in the experiments with the implementation of SAS, including GABA-ergic agonist diazepam (DZP), levodopa ($L-D$) or placebo (PLB). B indicates the initial measurement of MEP amplitude (baseline) before the intervention, and $P1-P4$ are the post-intervention measurements at times 0, 10, 20, 30 min.

Контрола генерисања појединачних пулсева и њихове секвенце вршена је конвертером *CED 1401 plus A/D*, помоћу којег је управљао рачунарски програм наменски припремљен за овај експеримент у апликацији *Spike* (верзија 2.5.03., *CED, UK*).

Временски редослед испитивања

Процедура код истог испитаника није се понављала у временском периоду краћем од недељу дана (тзв. период прочишћавања; енгл. *wash-out period*), ради избегавања интерференција ефеката изазваних током узастопних сесија. Редослед експеримената код сваког појединачног испитаника био је псеудорандомизиран.

Начин обраде података

Резултати експеримента су подвргнути методама дескриптивне и аналитичке статистичке обраде. Вредности обележја за сваки модалитет испитивања представљене су збирно у виду средњих вредности и стандардних девијација.

Промене ПМП изазване фармаколошким агенсима или плацебом анализиране су помоћу Студентовог *t*-теста за спарене узорке.

Промене амплитуда МЕР индукованих протоколом САС анализиране су двосмерним Студентовим *t*-тестом за спарене узорке ради поређења амплитуда МЕР након интервенционог протокола (средње вредности у временским серијама *P1-P4*) с амплитудама МЕР пре интервенције (*B*). Поред тога, промене у амплитудама МЕР изражене су као однос амплитуде МЕР у било којој временској тачки за постинтервенциона мерења (*P1-P4*) наспрот амплитудама МЕР у времену *B* (почетно мерење). За испитивање ефекта на сесије или

мерања у појединачним постинтервенционим интервалима примењивана је двофакторска ANOVA с факторима „време“ (*P1-P4*) и „сесија“.

РЕЗУЛТАТИ

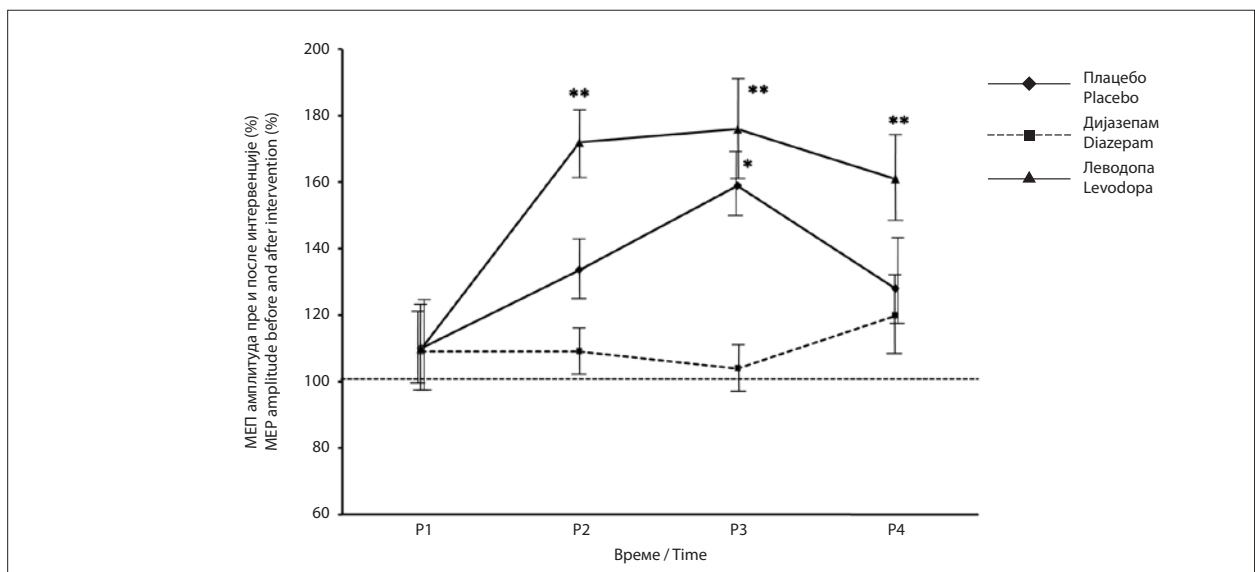
Дејство индуктивног протокола на праг моторног подражаја

ПМП није показивао промене након примене било плацеба или леводопе, које су измерене непосредно пре примене протокола САС ($p < 0,05$), за разлику од дијазепам, где је забележено релативно мало, али значајно повећање ПМП, који је у просеку био 1,7% максималне излазне снаге стимулатора ($p > 0,01$). Услед овог резултата, вредности стимулације су кориговане тако да се поново (пре индуктивног протокола) обезбеди нова почетна вредност амплитуда МЕР од приближно 1 *mV* (интензитет стимулације био је смањен индивидуално). Међутим, могуће промене ПМП у даљем постинтервенционом току стимулације не могу бити *a priori* искључене, премда су веома мало вероватне.

Дејство фармаколошких агенса на протокол САС

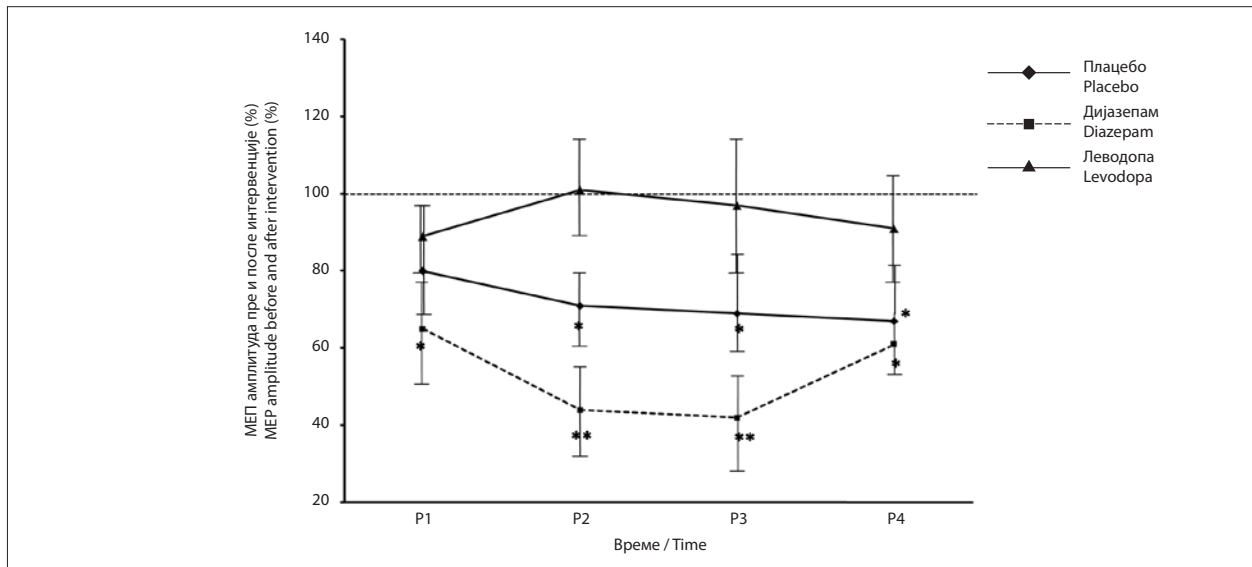
Примена протокола САС са плацебом уз *ISI* од 25 *ms* (Графикон 1) имала је за последицу очекивани пораст амплитуде МЕР у *m. APB* с почетних $1,1 \pm 0,09$ *mV* у времену *P1* до просечних $1,33 \pm 0,30$ *mV* током времена *P1-P4* ($p = 0,006$), док је за исте услове САС протокол уз *ISI* од 10 *ms* (Графикон 2) водио ка смањењу амплитуде МЕР до просечних вредности од $0,72 \pm 0,16$ *mV* за постинтервенциони период од 30 минута ($p = 0,01$).

Насупрот овим резултатима, премедикација дијазепамом у дози од 10 *mg* при *ISI* од 25 *ms* (Графикон 1)



Графикон 1. Модулација амплитуде МЕР уз примену фармаколошких агенса или плацеба за протокол САС (*ISI*=25 *ms*) којим се индукују феномени слични ДП

Graph 1. MEP amplitude modulation after PAS protocol (*ISI*=25 *ms*), aimed to induce LTP-like phenomena, using placebo or pharmacological agents



Графикон 2. Модулација амплитуде МЕР уз примену фармаколошких агенса или плацеба за протокол САС ($ISI=10\text{ ms}$) којим се индукују феномени слични ДД

Graph 2. MEP amplitude modulation after PAS protocol ($ISI=10\text{ ms}$), aimed to induce LTD-like phenomena, using placebo or pharmacological agents

узроковала је изостанак пораста амплитуде МЕР у m . APB с почетних $1,09\pm 0,08\text{ mV}$ у времену $P1$ до просечних $1,11\pm 0,34\text{ mV}$ током времена $P1-P4$ ($p>0,05$), док је при ISI од 10 ms (Графикон 2) протокол САС након примене дијазепама изазвао смањење амплитуде МЕР до просечних вредности од $0,53\pm 0,12\text{ mV}$ за постинтервенциони период од 30 минута ($p>0,01$).

У случају примене леводопе, након примене протокола САС намењеног индукцији феномена сличног ДП при ISI од 25 ms (Графикон 1) амплитуда МЕР се повећала с почетних $1,11\pm 0,19\text{ mV}$ у времену $P1$ до просечних $1,55\pm 0,46\text{ mV}$ током времена $P1-P4$ ($p>0,05$), док је при ISI од 10 ms (Графикон 2) протокол САС после примене једнократне дозе леводопе водио ка смањењу амплитуде МЕР од почетних $0,89\pm 0,19\text{ mV}$ до просечних $0,95\pm 0,26$ за постинтервенциони период од 30 минута ($p<0,01$).

Разлика у модулацији амплитуде МЕР између протокола током којих је примењен дијазепам, леводопа, односно плацебо показала се статистички високо значајном ($F_{2,12}=31,9$; $p<0,001$). Примена дијазепама узроковала је оклузију протокола САС намењеног индукцији феномена сличног ДП, док је феномен сличан ДД био додатно потенциран. Насупрот томе, једнократна примена леводопе узроковала је потенцијацију феномена сличног ДП, док је феномен сличан ДД био супримиран.

ДИСКУСИЈА

Мерено износом индукције протокола САС, примена дијазепама водила је ка слабљењу ефекта сличног ДП у моторном систему, док је примена леводопе потенцирала овај феномен. У случају протокола САС где је ISI био 10 ms , намењеног индукцији феномена сличног ДД, било је обрнуто.

Модел индукције асоцијативног пластицитета приликом неинвазивне стимулације ТМС код људи у последњих десетак година доживео је низ примена кроз проучавање различитих аспеката системског кортикалног пластицитета, попут старења и утицаја моторног тренинга [10]. Посебна пажња усмерена је на дејство фармаколошких агенса с познатим деловањем на ЦНС, како због подробнијег упознавања механизма који се налазе у основи појединих пластичних феномена, тако и због могућности да правилним одабиром специфичних агенса поспешимо модулацију кортикалног пластицитета у жељеном правцу, чији је крајњи циљ успешнији опоравак моторне функције нарушене различитим патолошким процесима унутар ЦНС.

Скорашња студија у којој је примењена иста методологија приказала је фацитацију кортикалне ексцитабилности на САС моделу асоцијативног пластицитета код седам здравих добровољаца након примене појединачне дозе леводопе од 100 mg [11]. У поређењу с нашом студијом, овде је реч о нешто млађим испитаницима (26 ± 4 године према $38,46\pm 4,5$ година), нижој дози леводопе и испитивању искључиво феномена сличног ДП. Упркос наведеним разликама, које указују на допунска значења наших резултата, реч је о истозначном вектору запажених промена. Међутим, наведена студија се није бавила ефектом сличним ДД током примене леводопе, који ми први пут описујемо код здравих испитаника. Једина аналогија може се пронаћи у експерименту у којем је такође примењиван протокол САС ради индукције пластицитета сличног ДП, односно ДД код здравих испитаника након примене селективног D_2/D_3 агониста ропинирола у дози од $0,125\text{ mg}$, $0,25\text{ mg}$, $0,5\text{ mg}$ и 1 mg , где је приказано дејство овог фармаколошког агенса у зависности од примењене дозе [12].

Насупрот ретким експериментима на здравим добровољцима у којима је вршена модулација допа-

минергичке и норадренергичке трансмисије, студије с применом ГАБА-ергичких лекова биле су знатно чешће и упућивале на појачање инхибиторног тонууса моторног кортекса, чиме су спречена дејства пластичне реорганизације [13, 14]. Наиме, досадашњи експерименти на животињама у којима је разматрана модулација пластичитета фармаколошком манипулацијом различитим неуротрансмитерским системима означила је норадреналин потентним кандидатом. Овај неуротрансмитер потенцира феномен ДП у визуелном кортексу пацова применом специфичног обраста понављане стимулације (енгл. *theta-burst*), чиме се повећава деполаризујући одговор на тетаничку реакцију, а надаље, током трајања тог одговора, повратно повећава проводљивост хелијске мембране контролисана *NMDA* типом глутаматних рецептора [15]. У моторном кортексу пацова норадреналин повећава ексцитабилност великих пирамидалних хелија слоја *V* слабењем спорих K^+ струја и јачањем перзистентног инфлукса Na^+ [16], што је вероватно довољно за подстицање феномена ДП у моторном кортексу.

У клиничкој пракси непосредна примена норадреналина није могућа услед низа нежељених ефеката. Примена амфетамина такође носи извесне кардиоваскуларне ризике и могућности развоја зависности, те је ограничена [17, 18]. Због тога клинички лекари нису склони примени амфетамина у процесу подршке моторном опоравку након инфаркта мозга, чиме је интересовање усмерено ка другим лековима који повећавају синаптичку концентрацију норадреналина [19]. После запажања у вези с побољшањем опоравка након примене амфетамина или супстанци сличних њему, уследили су експерименти на животињама којима се покушало дефинисати који је неуротрансмитерски систем одговоран за овај ефекат, будући да амфетамин има веома сложен фармаколошки профил и утиче на значајно повећање концентрације допамина, серотонина и норадреналина.

Стога се поставља питање о евентуалном доприносу допаминергичке трансмисије у процесима опоравка и кортикалне реорганизације, а узимају се у обзир и специфичности метаболизма леводопе, која се, као што је познато, прво метаболише у мозгу у допамин, а потом у норадреналин (до 5%) [20]. Перорална примена препарата леводопе је, како је приказано микродијализним студијама, повећала ослобађање норадреналина у фронталном кортексу пацова [21]. Ипак, студије изведене на пацовима с хемиплегијом изазваном једностраном аблацијом фронталне коре мозга задржале су интересовање само на лековима који су повећавали концентрацију норадреналина (фенилпропаноламина и синтетичког и високоселективног прекурсора норадреналина *L-DOPS*), јер је било какво побољшање након примене допаминергичких агониста потпуно изостало [22]. Изостанак повољног ефекта у смислу опоравка хемиплегије забележен је и након примене леводопе на моделу инфаркта мозга код пацова [23].

Извесну наду ипак побуђују повољни резултати клиничке студије отвореног дизајна у којој је леводопа примењивана код болесника с моторним дефицитом насталим као последица možданог удара (100 mg леводопе, што одговара половини таблете мадопара од 250 mg или једној таблети лека *Stalevo 100*, једном дневно током три недеље непосредно пре кинезитерапије) чак и када је лечење вршено до 15 месеци након инсульта [24]. Накнадно је изведена и плацебо-контролисана студија у којој је иста доза леводопе примењивана пет недеља код десет испитаника с хроничним моторним дефицитом, када су још једном потврђени функционално побољшање (брзина ходања, мануелне вештине) и нормализација неурофизиолошких параметара [25].

Једно од могућих објашњења ових несугласности лежи у веома конзервативном дизајну експеримента на пацовима с хемиплегијом, где је лек примењиван у једнократној дози, за разлику од његове продужене примене у клиничкој пракси. Наиме, код лабораторијских животиња намера је била да се избегне постизање уравнотежене концентрације леводопе у плазми (енгл. *steady-state*), што се дешава при хроничној примени лека, с обзиром на доступне податке о нисходној регулацији норадренергичких рецептора током дугорочне стимулације норадренергичког система [26]. Међутим, потпуни неуспех опоравка пацова с хемиплегијом након примене допаминергичких агониста не треба изједначавати с потенцијалом леводопе. Заправо, за разлику од допаминергичких агониста с више или мање селективним ефектима на поједине фамилије допаминергичких рецептора, леводопа, односно допамин представљају „агонисту” за све категорије рецептора. Стога, треба посебно уважавати опажања у вези са формирањем моторне меморије (пластичитет зависан од употребе) код болесника с хроничним моторним дефицитом насталим као последица možданог удара [27]. Резултати добијени овим истраживањем на здравим испитаницима стају на страну позитивних мишљења у вези с потенцијалом ових фармаколошких агенса у оквиру шире клиничке примене.

Супротно овоме, још један значајан налаз наше студије указује на то да примена лекова који су агонисти ГАБА-ергичких рецептора води ка ометању индукције пластичитета у оквиру модела асоцијативног пластичитета. У суштини, нормативно значење и улога синнапси ГАБА-ергичких интернеурона, који су јукстапозиционирани уз сому пирамидалних хелија, испољава се у контроли ексцитабилности моторне коре. На тај начин се посредно ограничавају пластичне промене овог региона. Стога налази који су приказани суштински доводе у питање клиничку примену читаве породице бензодиазепинских препарата у акутним фазама неуролошких обољења са значајним испадима функција (нпр. парезе). Другим речима, јачање ГАБА-ергичког инхибиторног тонууса спречава опоравак моторних функција заснован на пластичној модулацији моторног кортекса.

ЗАКЉУЧАК

Резултати истраживања на здравим добровољцима потврђују претпоставке постављене у експериментима на животињама и указују на то да примена ГАБА-ергичког агонисте дијазепама омета индукцију асоцијативног пластицитета у моторном кортексу здравих особа, за разлику од леводопе, која подстиче ове процесе. Ова опажања упућују на могућност фармаколошке модулације пластицитета моторне коре код људи, наговештавајући значење фармаколошког подстицања адаптивним потенцијалима оболелих особа. Ови на-

лази истичу потребу за даљим истраживањима, како би овај принцип био тачно дефинисан у лечењу особа с хроничним моторним дефицитом.

НАПОМЕНА

Истраживање је део магистарске тезе првог аутора под називом „Ефикасност протокола индукције пластичних промена хуманог моторног кортекса“, која је одбрањена 2010. године на Медицинском факултету Универзитета у Београду.

ЛИТЕРАТУРА

- Hebb DO. The organization of behaviour. A neuropsychological theory. New York: Wiley; 1949.
- Stefan K, Kunesch E, Cohen LG, Benecke R, Classen J. Induction of plasticity in the human motor cortex by paired associative stimulation. *Brain*. 2000; 123:572-84.
- Ilić NV, Sajić J, Mišković M, Krstić J, Milanović S, Vesović-Potić V, et al. The efficacy of two protocols for inducing motor cortex plasticity in healthy humans – TMS study. *Gen Physiol Biophys*. 2009; 28 Spec No:228-34.
- Wolters A, Sandbrink F, Schlottmann A, Kunesch E, Stefan K, Cohen LG, et al. A temporally asymmetric Hebbian rule governing plasticity in the human motor cortex. *J Neurophysiol*. 2003; 89(5):2339-45.
- Stefan K, Kunesch E, Benecke R, Cohen LG, Classen J. Mechanisms of enhancement of human motor cortex excitability induced by interventional paired associative stimulation. *J Physiol*. 2002; 543(Pt 2):699-708.
- Ziemann U, Meintzschel F, Korchounov A, Ilic TV. Pharmacological modulation of plasticity in the human motor cortex. *Neurorehabil Neural Repair*. 2006; 20(2):243-51.
- Rossi S, Hallett M, Rossini PM, Pascual-Leone A; Safety of TMS Consensus Group. Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. *Clin Neurophysiol*. 2009; 120(12):2008-39.
- Kaneko K, Kawai S, Fuchigami Y, Morita H, Ofuji A. The effect of current direction induced by transcranial magnetic stimulation on the corticospinal excitability in human brain. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1996; 101(6):478-82.
- Rossini PM, Barker AT, Berardelli A, Caramia MD, Caruso G, Cracco RQ, et al. Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord and roots: basic principles and procedures for routine clinical application. Report of an IFCN committee. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1994; 91(2):79-92.
- Ziemann U, Ilic TV, Pauli C, Pauli C, Meintzschel F, Ruge D. Learning modifies subsequent induction of long-term potentiation-like and long-term depression-like plasticity in human motor cortex. *J Neurosci*. 2004; 24:1666-72.
- Kuo MF, Paulus W, Nitsche MA. Boosting focally-induced brain plasticity by dopamine. *Cereb Cortex*. 2008; 18(3):648-51.
- Monte-Silva K, Kuo MF, Thirugnanasambandam N, Liebetanz D, Paulus W, Nitsche MA. Dose-dependent inverted U-shaped effect of dopamine (D2-like) receptor activation on focal and nonfocal plasticity in humans. *J Neurosci*. 2009; 29(19):6124-31.
- Ilic TV, Meintzschel F, Cleff U, Ruge D, Kessler K, Ziemann U. Short-interval paired-pulse inhibition and facilitation of human motor cortex: the dimension of stimulus intensity. *J Physiol (London)*. 2002; 545(Pt 1):153-67.
- Ziemann U, Meintzschel F, Korchounov A, Ilic TV. Pharmacological modulation of plasticity in the human motor cortex. *Neurorehabil Neural Repair*. 2006; 20(2):243-51.
- Broher S, Artola A, Singer W. Agonists of cholinergic and noradrenergic receptors facilitate synergistically the induction of long-term potentiation in slices of rat visual cortex. *Brain Res*. 1992; 573:27-36.
- Foehring RC, Schwindt PC, Crill WE. Norepinephrine selectively reduces slow Ca²⁺- and Na⁺-mediated K⁺ currents in cat neocortical neurons. *J Neurophysiol*. 1989; 61:245-56.
- Grade C, Redford B, Chrostowski B, Toussaint L, Blackwell B. Methylphenidate in early poststroke recovery: a double-blind, placebo-controlled study. *Arch Phys Med Rehabil*. 1998; 79:1047-50.
- Walker-Batson D, Smith P, Curtis S, Unwin H, Greenlee R. Amphetamine paired with physical therapy accelerates motor recovery after stroke. *Stroke*. 1995; 26:2254-9.
- Scheidtmann K. Advances in adjuvant pharmacotherapy for motor rehabilitation: effects of levodopa. *Restor Neurol Neurosci*. 2004; 22(3-5):393-8.
- Nutt JG, Fellman JH. Pharmacokinetics of levodopa. *Clin Neuropharmacol*. 1984; 7:35-49.
- Dyan I, Finberg JPM. L-DOPA increases release of noradrenaline in rat frontal cortex. *Neural Plasticity*. 2001; 8:169-76.
- Feeney DM. Rehabilitation pharmacology: noradrenergic enhancement of physical therapy. In: Ginsberg M, Bogousslavsky J, editors. *Cerebrovascular Disease: Pathophysiology, Diagnosis And Management*. Cambridge, MA: Blackwell Scientific Press; 1998. p.620-636.
- Feeney DM, Weisend MP, Kline AE. Noradrenergic pharmacotherapy, intracerebral infusion and adrenal transplantation promote functional recovery after cortical damage. *J Neural Transplant Plast*. 1993; 4:99-113.
- Scheidtmann K, Fries W, Müller F, Koenig E. Effect of levodopa in combination with physiotherapy on functional motor recovery after stroke: a prospective, randomised, double-blind study. *Lancet*. 2001; 358(9284):787-90.
- Acler M, Fiaschi A, Manganotti P. Long-term levodopa administration in chronic stroke patients. A clinical and neurophysiologic single-blind placebo-controlled cross-over pilot study. *Restor Neurol Neurosci*. 2009; 27(4):277-83.
- Dam M, Tonin P, De Boni A, Pizzolato G, Casson S, Ermani M, et al. Effects of fluoxetine and maprotiline on functional recovery in poststroke hemiplegic patients undergoing rehabilitation therapy. *Stroke*. 1996; 27:1211-4.
- Floel A, Breitenstein C, Hummel F, Celnik P, Gingert C, Sawaki L, et al. Dopaminergic influences on formation of a motor memory. *Ann Neurol*. 2005; 58:121-30.

Effects of Diazepam and Levodopa Single Doses on Motor Cortex Plasticity Modulation in Healthy Human Subjects: A TMS Study

Nela V. Ilić¹, Ivana Petronić^{2,3}, Mirko Grajić¹, Tihomir V. Ilić⁴

¹Clinic for Physical Medicine and Rehabilitation, Clinical Centre of Serbia, Belgrade, Serbia;

²University Children's Hospital, Belgrade, Serbia;

³School of Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia;

⁴Military Medical Academy, Belgrade, Serbia

SUMMARY

Introduction Administration of pharmacological agents with specific actions on neurotransmitter systems is a powerful driver of functional cortical reorganization. Plastic reorganization of the motor cortex in humans studies by the use of non-invasive stimulation protocols, which mimic the Hebbian model of associative plasticity.

Objective Aiming to explore pharmacological modulation on human motor cortex plasticity, we tested healthy subjects after each dosage of diazepam, levodopa i placebo administration, using paired associative stimulation protocol (PAS) that induce phenomena similar to a long-term potentiation and depression, as defined on the synaptic level.

Methods We analyzed effects of benzodiazepines (10 mg), levodopa (200 mg) and placebo on PAS protocol in 14 healthy volunteers, using a double-blind placebo-controlled study design. PAS consisted of electrical stimuli pairs at n.medianus and magnetic pulses over the scalp (transcranial magnetic stimulation) in precisely defined intervals (ISI was 10 and 25 ms) for a total of about 15 minutes (200 pairs). MEP amplitudes before and

after (0, 10, 20 and 30 minutes later) interventional protocols were compared.

Results When protocols were applied with placebo depending on ISI (10 ms – inhibitory, 25 ms – facilitatory effects), MEP amplitudes decreased or increased, while values in the post-interventional period (0, 10, 20 and 30 min) were compared with initial values before the use of SAS. The use of benzodiazepines caused the occlusion of LTP-like effect, in contrast to amplification effects recorded after the administration of levodopa. With respect to the LTD-like protocol, the reverse was true (ANOVA for repeat measurements $p < 0.001$).

Conclusion Administration of GABA-ergic agonist diazepam interferes with the induction of associative plasticity in the motor cortex of healthy individuals, as opposed to the use of levodopa, which stimulates these processes. The observed effects point at a potential role of pharmacological modulation of plasticity in humans.

Keywords: transcranial magnetic stimulation; paired associative stimulation; motor cortex; cortical plasticity

Примљен • Received: 19/07/2010

Прихваћен • Accepted: 20/08/2010