

ROLUL FACTORILOR NEUROTROFICI ÎN TULBURĂRILE NEURO-PSIHO-DEVELOPMENTALE LA COPII

THE ROLE OF THE NEUROTROPHIC FACTORS IN THE NEURO-PSIHO-DEVELOPMENTAL DISORDERS IN CHILDREN

Svetlana Hadjiu¹

REZUMAT

A fost studiat nivelul plasmatic al factorului neurotrofic derivat din creier (BDNF) la copiii cu întârzieri motorii și neuro-psiho-developmentale de diferite grade (cu antecedente perinatale hipoxic-ischemice ale SNC). S-au apreciat concentrații scăzute de BDNF la copiii cu întârzieri severe ale motricității și tulburări de dezvoltare psihologică, comparativ cu lotul martor. Aceasta indică o întârziere a creșterii nivelului BDNF în timpul neurodezvoltării. Astfel, concentrațiile joase de BDNF sunt în corelație indirectă cu gravitatea dizabilităților motorii și neuropsihice (atunci când nivelul BDNF crește, scade și gravitatea dizabilităților neuropsihomotorii). Odată cu creșterea copilului crește concentrația BDNF. Rezultatele obținute evidențiază rolul BDNF în procesele de neurodezvoltare, neuroplasticitate și neurotroficate și rolul BDNF asupra nivelului dezvoltării copilului (în special asupra maturității fibrelor nervoase a unor centre - frontale, temporale, subcorticale etc., responsabile de dezvoltarea limbajului, comportamentului, emoțiilor). În concluzie, concentrațiile joase de factori neurotrofici influențează plasticitatea sinaptică, interacțiunea celulelor neuronale și gliale, jucând un rol hotărâtor în comportamentul complex al copilului, inclusiv în achiziționarea vorbirii, cogniției, emotivității etc. Astfel, factorii neurotrofici exogeni pot fi implicați în tratamentul tulburărilor neuropsihomotorii la copii cu antecedente perinatale hipoxic-ischemice.

SUMMARY

We studied the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the plasma of children with diverse grade of motor and neuro-psycho-developmental disorders (who suffered from diverse grade PHIE of the CNS). We appreciated serum BDNF levels were significantly lower in children with motor and psychological disorders in comparison to controls. This could suggest a delayed increase of BDNF levels during those children's development. Thus, low BDNF levels are negatively correlated with the severity of motor and neuro-psychic disorders. This could indicate the role of BDNF in motor neurons' plasticity, developmental and maintenance processes of the brain. Our data confirm the role of BDNF on the child's psychological development (it contributes to nerve fibers maturation language, behavior and emotional centers). We suggest that low levels of BDNF influence the synaptic plasticity and the interaction between neural and glial cells, thereby playing a decisive role in the complex child's behavior including language acquisition, cognition, affect etc. BDNF studies could have an important implication in the comprehension of psycho-developmental disorders, as well as in the treatment of neuro-developmental disorders.

1 Conferențiar universitar, doctor în științe medicale, Departamentul Pediatrie, Clinica Neuropediatrie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu", Chișinău, Republica Moldova
Corresponding author: +37369142479. E-mail: _h_a_g_i@rambler.ru

Svetlana HADJIU, Ph.D., professor associate
Department of Pediatrics, Clinic of Child's neurology,
State University of Medicine and Pharmacy "Nicolae Testemitanu"
Chisinau, Republic of Moldova.
Corresponding author: +37369142479. E-mail: _h_a_g_i@rambler.ru

INTRODUCERE

Encefalopatia hipoxic-ischemică perinatală (EHIP) constituie cea mai importantă cauză de invaliditate și mortalitate infantilă prin consecințele sale asupra sistemului nervos central (SNC) [4, 6, 13, 23]. Se estimează că 2 - 4% dintre nou-născuții (n.n.) la termen prezintă hipoxie în cursul nașterii sau cu puțin timp înainte de naștere [3].

După mulți ani de cercetări experimentale pe animale, cu o serie de agenți farmacologici (inhibitori de sinteze de radicali liberi și „măturători” de radicali liberi, antagoniști ai aminoacizilor excitatori tip glutamat, blocanți ai canalelor de calciu, inhibitori ai sintezei oxidului nitric), glucocorticoizi, fenobarbital, s-a constatat ineficiența acestora în prevenirea și tratamentul leziunilor cerebrale secundare EHIP. Astfel, cea mai importantă problemă a neonatologiei și neuropediatriei contemporane, rămâne nerezolvată [8].

În prezent, multiple cercetări confirmă rolul factorilor neurotrofici în menținerea troficității neuronale în ischemiile hipoxice cerebrale [3, 21, 26]. Însă, până în prezent nu s-au efectuat studii clinice estimative privind dereglările neurotroficității corelate cu EHIP.

Studiile experimentale asupra factorilor neurotrofici se află în atenția cercetărilor științifice fundamentale în domeniul neurobiologiei. Rezultatele experimentelor pe animale și culturi de celule au demonstrat că acești factori au efecte miraculoase, cu perspective de aplicare terapeutică în viitorul apropiat [20].

OBIECTIVELE LUCRĂRII

Ne-am propus a studia relația dintre dereglările neuro-psiho-developmentale (anomaliile motilității și tulburările specifice mixte de dezvoltare psihologică - categorie reziduală) și nivelul plasmatic al factorului neurotrofic BDNF la copiii cu antecedente hipoxic-ischemice perinatale de diferit grad.

MATERIAL ȘI METODE

Au fost investigați 182 copii cu dereglări neuro-psiho-developmentale (anomalii ale motilității și tulburări specifice mixte de dezvoltare psihologică - categorie reziduală), cu antecedente perinatale hipoxic-ischemice ale SNC de diferite grade (gr.) (lot de studiu - lt.st.), cu vârsta cuprinsă între 7 zile și 3 ani și 60

copii sănătoși - lotul martor (lt. mt.). Repartiția în subloturi (sbl.) a fost efectuată relațional cu vârsta și diagnosticul clinic: **7 zile - 1 lună** 46 copii cu EHIP perioada acută (EHIP gr. I / sbl. I - 16, EHIP gr. II / sbl. II - 15, EHIP gr. III / sbl. III - 15); **1 - 3 luni** (46) cu dereglări de motricitate (DM) și cu tulburări de dezvoltare psihologică (nrps) (gr. I / sbl. I - 16, gr. II / sbl. II - 15, gr. III / sbl. III - 15); **3 - 6 luni** (45) cu DM și nrps (gr. I / sbl. I - 15, gr. II / sbl. II - 15, gr. III / sbl. III - 15); **6 luni - 3 ani** (45) cu DM și nrps (gr. I / sbl. I - 15, gr. II / sbl. II - 15, gr. III / sbl. III - 15). Toți copiii din lt. st. (între 6 luni - 3 ani) (perioada de recuperare) au prezentat DM și nrps, consecință a EHIP.

Din studiu au fost excluși copiii cu infecții intrauterine, encefalopatii metabolice și toxice, malformații congenitale ale creierului.

Examenul clinic, funcțional și de laborator au fost efectuate la toți copiii, în conformitate cu scopul și sarcinile propuse. A fost evaluat statusul neurologic cu periodicitatea de 3 luni. Pentru stabilirea dinamicii abilităților neuropsihice (nrps) și motorii (mt.) au fost apreciate din anamneză domeniile: cognitiv, limbajul expresiv, receptiv, motricitatea fină, motricitatea grosieră etc. A fost elaborată o scală de evaluare a gradului de dezvoltare nrps și mt. relațional cu vârsta - teste, apreciate cu 1, 2, 3 și 4 puncte. Neurodezvoltarea normală a fost apreciată cu 4 puncte (pt); deficit nrps de gr. I - 3 pt., gr. II - 2 pt., gr. III - 1 pt. Scopul examenului neurologic a fost evidențierea simptomelor neurologice, aprecierea nivelului de maturare al SNC și riscul de dezvoltare al sechelelor neurologice la copiii cu EHIP.

La toți pacienții s-au efectuat: ecografie transfontanelară, EEG în dinamica primului an de viață, CT-scan (Computer Tomografic) și RMN (Rezonanță Magnetică Nucleară) cerebrală.

Folosind metoda imunoenzimatică s-a apreciat nivelul seric al BDNF la copiii din toate loturile. Examenul de laborator s-a efectuat la analizatorul imunologic STAT FAX-303 prin metoda de analiză imuno-enzimatică (ELIZA).

Prelucrarea statistică a rezultatelor obținute s-a efectuat la computerul personal IBM PC cu utilizarea programului STATISTICA 6.0. S-a apreciat nivelul deosebirilor semnificative dintre mărimile medii (p) conform criteriului t Student.

Rezultate obținute

Analiza antecedentelor s-a efectuat pentru o încadrare diagnostică corectă. 87% din lt. st. au provenit din sarcini cu anamneză obstetricală nefavorabilă, 28% au suferit intranatal. Cele mai frecvente afecțiuni ale mamei din cursul sarcinii au fost: toxemia gestațională (59%), anemia (62%), hipertensiunea arterială (38%). S-a constatat că cea mai frecventă patologie a travaliului și expulziei, cum ar fi: insuficiența forțelor de contracție, procidența de cordon, extracția dificilă, s-au întâlnit la 37% din cazuri. În lt. mt. frecvența patologice peri- și intrapartum s-au întâlnit doar la 2% din cazuri ($p < 0,01$).

Patologia fetală poate fi un factor provocator de suferință lezională hipoxic-ischemică. La copiii din lt. st. s-a constatat: naștere prematură (23%), maladii congenitale de cord (4%), anemii hemolitice (8%), hiperbilirubinemie (12%). Scorul Apgar scăzut a permis aprecierea stării n.n. și suspectarea unei suferințe fetale în lt. st. (67%) comparativ cu lt. mt. (4%). Simptomele neurologice în perioada de n. n. la copiii din lt. st. s-au menținut pe parcursul primelor 2-4 săptămâni de viață (tab. 1).

Copiii cu EHIP au urmat tratament recuperator pe parcursul primei luni de viață. Manifestările clinice s-au ameliorat către vârsta de 2 săptămâni - 1 lună, în dependență de gravitatea lezională ischemiei hipoxice cerebrale. În formele grave ale EHIP funcțiile cerebrale au rămas sever afectate, în perioada de recuperare copiii din sbl. II și III prezentau sindroame neurologice grave. Pentru monitorizarea dezvoltării

nrps și mt. au fost evaluate reflexele (rf) de dezvoltare morfofuncțională a SNC: rf de extensie a membrilor superioare, rf călcâiului, rf de susținere vertical, rf extensor suprapubian, rf de extensie încrucișat, rf Galant, rf Moro, rf tonic cervical, rf de prehensiune a mâinii, rf grasping plantar. Este cunoscut faptul că rf de dezvoltare au o semnificație clinică majoră în aprecierea nivelului de maturare al SNC, în multe cazuri prezentând o valoare localizatoare a leziunii. Neurodezvoltarea normală, în acest caz, va fi confirmată prin prezența rf arhaice la vârsta când acestea ar trebui să fie prezente în mod normal - această situație se va nota cu 4 pt, rf prezent la termenul la care acesta ar trebui să dispară - 3 pt., rf prezent timp de 3 luni după termenul la care ar trebui să dispară - 2 pt., rf prezent peste 6 luni - 1 pt. Răspunsul patologic al celor trei rf primitive are o semnificație mare pentru prognosticul unui deficit neuropsihic și motor important. La fel, au fost evaluate achizițiile motorii (mt.): menținerea capului, rotirea de pe burtă pe spate, rotirea de pe spate pe burtă, șezutul cu suport, șezutul fără suport, târătul în toate sensurile, mersul. Dezvoltarea performanțelor mt. conform vârstei se va nota cu 4 pt., întârzierea dezvoltării mt. cu 2 luni - 3 pt., cu 4 luni - 2 pt., cu 6 luni și mai mult - 1 pt. Neachiziționarea performanțelor mt. la vârsta fiziologică va sugera o suferință neurologică severă, respectiv, întârzierea procesului de maturare al SNC. Copiii cu EHIP gr. II au prezentat simptome de afectare a SNC în 4% din cazuri și gr. III - în 38% cum ar fi: DM, anomalii ale reflexelor de dezvoltare, neachiziționarea performanțelor neuropsihice și mt.

Tabelul 1

Simptomele EHIP în perioada acută la copiii din lotul de studiu.

Simptomele	EHIP (lt.st. - 46 copii)					
	sbl. I, nr. 16		sbl. II, nr. 15		sbl. III, nr. 15	
	+	%	-	%	+	%
Hiperexcitabilitate neuroreflectoră	+	98	-	-	-	-
Reflexe tranzitorii	Prezente	96	Deprimate	97	Inhibate	100
ROT	Exagerate	96	Deprimate	94	Inhibate	100
Hipotonie	Ușoară	87	Exprimată	100	Difuză	100
Hiperactivitate simpatică	+	89	-	-	-	-
Letargie/stupoare	-	-	+	73/37	+	31
Convulsii	-	-	±	34	+	58
Comă	-	-	-	-	+	69
Tulbutări neurovegetative	-	-	Mediu exprimate	43	Exprimate	100
Semne de afectare ale trunchiului cerebral	-	-	Ușor și mediu exprimate	45	Exprimate	92
Durata manifestărilor clinice	Sub 2-4 ore	86	Sub 1 săptămână	79	Mai mult de 1 săptămână	96

la vârsta fiziologică, tulburări specifice de dezvoltare psihologică (întârzierea limbajului, hiperactivitate, elemente de agresivitate, tulburări comportamentale etc.). S-a constatat, că indicii privind neurodezvoltarea în sbl.I la sfârșitul perioadei de recuperare erau scăzuți nesemnificativ comparativ cu lt.mt. ($p < 0,01$). Indicii cei mai scăzuți se apreciau în sbl. II ($p < 0,05$) și - III ($p < 0,1$), comparativ cu lt.mt.

Studiile actuale confirmă rolul neuro-protector al factorilor neurotrofici asupra celulelor SNC și periferic. În studiul prezent am apreciat nivelurile BDNF în ser la copiii cu diverse grade de afectare a creierului în EHIP, până și după tratamentul cu BDNF. Rezultatele obținute sunt expuse în tab. 2.

A fost apreciat nivelul BDNF în lt. st. și lt. mt. S-a stabilit o variație statistic semnificativă a BDNF în lt. mt.: 1001,8 pg / ml (la n.n) și 1011,9 pg / ml (între 6-36 luni), valoarea minimă - 989 pg / ml (la n.n), iar cea maximă - 1021,7 pg / ml (între 6-36 luni). Pragul de semnificație în acest sbl. avea valori stabile care au crescut nesemnificativ cu 0,99%. Astfel, s-a confirmat că în perioada de creștere a copilului sănătos, BDNF este neurotrofină responsabilă de dezvoltarea normală a sistemului nervos (tab. 2).

S-a stabilit că în sbl. I, nivelul mediu al BDNF era mai scăzut, comparativ cu lt. mt. și varia între 945,6 pg / ml (la n.n) și 973,4 pg / ml (între 6-36 luni), nivelul minim constituind 919,2 pg / ml (n.n), iar cel maxim 991,2 pg / ml (6-36 luni). Pragul de semnificație în acest sbl. de pacienți constituie $p < 0,05$, $p < 0,1$. Nivelul BDNF în sbl. I (6-36 luni) a crescut cu 2,7% în general (sbl. Ia - cu 5%, sbl. Ib - 2,6%, sbl. Ic - 2%) către vârsta de 1 an, comparativ cu sbl. I (n.n) și era cu 38,5 pg / ml (3,8%) mai scăzut, comparativ cu lt. mt. Variația semnificativă statistic dintre nivelul minim și maxim la vârsta de n. n. constituia $\pm 26,4$ pg/ml, iar la vârsta între 6-36 luni $\pm 18,7$ pg / ml. Valorile BDNF la copiii din sbl. I s-au apropiat de indicii copiilor sănătoși. Nivelul

BDNF din serul sbl. I era mai mic în comparație cu cel din lt. mt. cu 3,8% în general (vezi tab. 2).

Nivelul de dezvoltare nrps și mt. în sbl.I s-a apreciat conform Scalei: cu 3 (6% din cazuri) și 4 (94%) pt. Abilitățile neuropsihomotorii au fost afectate ușor la 4% dintre copii. Nivelul BDNF la copiii sub 12 luni a crescut (sbl. I - cu 82%, sbl. I - 56%, sbl. I - 38%), apropiindu-se de indicii copiilor din lt.mt. S-a constatat o ameliorare rapidă a traseelor EEG și interpretărilor imagistice. Dereglările neuropsihologice la copiii cu niveluri de BDNF scăzute nesemnificativ au fost de tip funcțional. La copiii din sbl. I, care au prezentat în dinamică dereglări neurologice și lt. mt, s-a stabilit o variație semnificativă statistic dintre nivelurile medii ale BDNF ($p < 0,01$). În sbl. I, către vârsta de 1 an, sechelele neuropsihologice au fost minore. La copiii din sbl. I sindromul neurologic s-a ameliorat rapid după administrarea precoce a neuroprotectorilor (în special BDNF).

Astfel, s-a confirmat că factorul neurotrofic BDNF protejează neuronii corticali de distrucție și ameliorează neuroplasticitatea.

S-a stabilit că în sbl. II nivelul mediu al BDNF era mai jos, comparativ cu lt. mt. și varia între 863,1 pg / ml (la n.n) și 879,8 pg / ml (între 6-36 luni), nivelul minim fiind de 821,3 pg / ml (n.n), iar cel maxim - 932,6 pg / ml (6-36 luni). În sbl. II pragul de semnificație al nivelurilor de BDNF a constituit $p < 0,1$. BDNF în sbl. II a crescut cu 1,89% către vârsta de 1 an, comparativ cu sbl. II (n.n), fiind cu 132,1 pg / ml (13,05%) mai jos decât nivelul apreciat în lt. mt. Variația semnificativă statistic dintre nivelul minim și maxim la vârsta de n. n în sbl. II a constituit $\pm 41,8$ pg / ml, iar la 6-36 luni $\pm 52,8$ pg / ml. BDNF avea valori maxime la 72,2% dintre copiii sbl. II către vârsta de 12-36 luni, în 24,8% - niveluri medii și 4% - niveluri minime (tab. 2). Astfel, la 24,8% dintre copii (sbl. II) apărea un risc crescut de reținere în dezvoltarea nrps și mt., în 4% acesta fiind important. La

Tabelul 2

Nivelul BDNF în ser la copiii cu EHIP de diferit grad, la diferite vârste, M+m.

Vârsta copilului	Loturile incluse în studiu			
	Lot control, nr. 12	Lol studiu - sbl. I, nr. 14	Lol studiu - sbl. II, nr. 13	Lol studiu - sbl. III, nr. 14
	Nivelul seric al BDNF, pg/ml			
7 zile - 1 lună	1001,8 \pm 12,8*	945,6 \pm 26,4***	863,1 \pm 41,8***	724,7 \pm 63,5***
1 - 3 luni (după tratament)	1005,9 \pm 9,8*	972,5 \pm 17,2**	882,9 \pm 48,7***	764,5 \pm 46,6***
3 - 6 luni (după tratament)	1007,2 \pm 7,3*	972,5 \pm 18,4**	886,5 \pm 51,6***	785,4 \pm 49,9***
6 - 12 luni (după tratament)	1011,9 \pm 9,8*	973,4 \pm 18,7**	879,8 \pm 52,8***	788,9 \pm 54,7***

Notă: * - $p < 0,01$, ** - $p < 0,05$, *** - $p < 0,1$

copiii din acest sbl. s-a apreciat o reținere în dezvoltarea nrps și mt. de grad mediu și grav. Nivelul de dezvoltare nrps și mt. în sbl. II s-a apreciat conform Scalei cu: 4 pt. (54%), 3 pt. (42%) și 2 (4%). Gradul de afectate a abilităților nrps și mt. în sbl. II a fost: ușor (27%), mediu (15%) și grav (4%). În urma analizei comparative s-a stabilit o variație semnificativă statistic dintre nivelurile medii ale BDNF ($p < 0,05$) la copiii din sbl. II care ulterior au prezentat dereglări neurologice și lt. mt. Dereglările nrps și mt. au fost minore la copiii din sbl. II cu niveluri maxime de BDNF în ser (în special la copiii care au primit tratament cu BDNF). La fel, la acești copii s-a constatat o rapidă rezoluție a anomaliilor ecotransfontanelare (NSG) și EEG, ceea ce se traduce printr-o evoluție favorabilă a neurodezvoltării. Sindroame neurologice de grad mediu și grav s-au evidențiat la copiii cu niveluri minime de BDNF, către vârsta de 1 an. În evoluție anomaliile NSG și EEG la acești copii persistau.

Astfel, s-a stabilit că nivelul BDNF va avea o tendință de creștere mai mare către vârsta de 12-36 luni la copiii din sbl. I și II, comparativ cu lt. mt. Rezultă că BDNF are rol de neuroprotecție, prin efectul său de accelerare a proceselor de mielinizare, reorganizare și structurare a neuronilor țesutului cerebral, în leziunile induse hipoxic-ischemice. Deci, se presupune că procesele de neuroregenerare sunt mai puternic dezvoltate la copiii cu probleme neurologice și BDNF stimulează aceste procese.

Nivelul mediu al BDNF era mult mai scăzut în sbl. III, comparativ cu lt. mt., variațiile fiind între 724,7 pg / ml (la n.n) și 788,9 pg / ml (între 6-36 luni); cu nivel minim 661,2 pg / ml (la n. n) și maxim 743,6 pg / ml (între 6-36 luni). Pragul de semnificație în sbl. III a fost $p < 0,1$ (tab. 2). BDNF a crescut cu 8,1% către vârsta de 1 an în acest sbl. comparativ cu n.n, fiind cu 223 pg / ml (22,03%) mai scăzut decât nivelul apreciat în lt. mt. Variația semnificativă statistic dintre nivelul minim și maxim la n. n din acest sbl. fiind $\pm 63,5$ pg / ml, la vârsta de 6-12 luni - $\pm 54,7$ pg / ml. Nivelul BDNF, către vârsta de 12 luni, prezenta valori maxime la 40% dintre copiii sbl. III. 60% dintre copiii acestui sbl. aveau un risc crescut de retard nrps și mt. (tulburări specifice de dezvoltare psihologică și tulburări motorii). Dezabilitățile nrps și mt. în sbl. III s-au diagnosticat la 78% din cazuri, 48% dintre acestea fiind grave. Nivelul de dezvoltare nrps și mt. în acest sbl. a fost apreciat conform Scalei de pt. cu: 3 pt. (24%), 2 pt. (52%) și 1 pt. (24%). Majoritatea

copiilor din sbl. III au prezentat sechele neurologice importante către vârsta de 12-36 luni. Niveluri foarte scăzute de BDNF au fost depistate la copiii cu retard mt. sever și crize epileptice. La vârsta de n.n, BDNF (nivel mai jos de 790 pg / ml) poate fi un marker important de apreciere al retardului nrps. și mt. sever la copil. S-a stabilit o variație statistic semnificativă dintre nivelurile medii de BDNF la copiii din sbl. III cu sechele neurologice grave și lt. mt. ($p < 0,1$). Dezabilitățile nrps și mt. au fost severe la copiii cu vârsta de 1 an cu niveluri minime de BDNF.

Studiile anterioare au confirmat că BDNF protejează țesutul cerebral de distrucție. În unul din studii se spune: „*Una din premisele cu privire la mecanismul de neuroregenerare evocat de leziune constă în faptul că celulele lezate induc eliberarea factorilor neurotrofici pentru a stimula neurogeneza. Nucleotidele purinice extracelulare exercită acțiuni neurotrofice multiple în SNC fiind mediate prin activarea receptorilor purinergici și mediază eliberarea factorilor neurotrofici pentru încurajarea regenerării epiteliului olfactiv traumatizat*” [20].

- Dar, probabil, atunci când nivelurile de BDNF sunt foarte scăzute, procesele neurotrofice se decompensează și neuronii corticali nu mai sunt protejați. Nivelul scăzut de factori neurotrofici, în acest caz, nu este suficient pentru a menține la nivel neurotroficitatea și neuroregenerarea. Adaptabilitatea creierului este scăzută. În acest caz, probabil, BDNF se concentrează maximal în ariile corticale lezate, unde are loc reorganizarea structurală și funcțională în substanța albă și cenușie. Probabil, la copiii cu grad avansat de ischemie hipoxică, procesele de distrucție predomină asupra proceselor de neuroregenerare. Preparatele cu conținut de BDNF ar ameliora procesele de neuroregenerare lezate și ar proteja țesutul adiacent de distrucție și pierdere neuronală. Este evident faptul că modificările țesutului cerebral în EHIP gr. I și II (parțial) sunt funcționale și de scurtă durată. Dar, în EHIP gr. II (4%) și III modificările sunt structurale și de lungă durată.

Niveluri joase de BDNF s-au apreciat frecvent (date statistic veridice) la copiii cu forme severe de EHIP, care deseori asociază manifestări convulsive, tulburări ale tonusului muscular și reflexelor, tulburări ale motilității și dereglări psihologice. De

asemenea, niveluri scăzute de BDNF, s-au stabilit și la copiii cu trasee EEG patologice (o diminuare semnificativă a amplitudinii și frecvenței undelor) și cu date neuroimagistice atribuite ischemiilor hipoxice cerebrale (creștere a ecogenității țesutului cerebral, stază, edem, ischemii în țesutul nervos). Valorile joase ale BDNF confirmă prezența leziunilor severe ale țesutului cerebral către vârsta de 12-36 luni.

BDNF dirijează procesele de neurogeneză, când BDNF scade, acestea se decompensează. Studiul prezent confirmă că BDNF este un marker important de suferință distructiv-lezională a țesutului cerebral. Astfel, în dependență de gradul de afectare a țesutului cerebral în leziunile hipoxic-ischemice, nivelul BDNF va fi diferit. Administrarea precoce a preparatelor cu conținut de factori neurotrofici (în special BDNF) va permite ameliorarea neuroregenerării cerebrale. Acesta va crește semnificativ, dar în proporție diferită, în raport cu ameliorarea neurodezvoltării, către finele primului an de viață. Oricum, la copiii din lt. st. nivelul BDNF va rămâne scăzut, comparativ cu lt. mt. Niveluri foarte joase se vor menține la copiii cu deficit mt. sever și la cei cu crize epileptice repetate și tulburări psihologice grave. Reținerea sintezei factorilor neurotrofici ar fi unul din motivele cele mai importante care stopează procesele de maturare ale celulelor nervoase la copiii cu precedente hipoxic-ischemice perinatale. Se presupune că, nivelul BDNF scăzut (mai jos de 790 pg / ml), are valoare prognostică pentru retardul nrps și mt. important la copiii cu leziuni hipoxic-ischemice cerebrale grave. Nivelul scăzut al BDNF asociat cu un aspect de anomalii și voltaj diminuat al undelor EEG ar fi un indicator de prognostic nefavorabil.

A fost efectuată analiza comparativă a nivelurilor joase de BDNF în sbl. I, II și III. S-a stabilit, că probabilitatea nivelului scăzut al BDNF este de 23,34% la copiii din sbl. II și de 85,4% la copiii din sbl. III, în comparație cu sbl. I (3,42%). Probabilitatea nivelului scăzut al BDNF este mare în sbl. III, în special la copiii cu tulburări psihoneurologice severe. Sinteza și secreția BDNF va scădea semnificativ la copiii cu leziuni hipoxic-ischemice grave. Datorită nivelului scăzut de BDNF, procesele de neuroprotecție și neuroregenerare se vor inhiba. O varietate de anomalii a factorilor neurotrofici pot însoți agresiunea hipoxic-ischemică. Aceasta contribuie la stoparea maturizării fibrelor nervoase și realizarea sechelelor psihoneurologice grave. Probabilitatea dezvoltării sechelelor neurologice în EHIP-II este mai mică. Probabil, procesele de

neuroprotecție la acești copii sunt compensate de accelerarea sintezei factorilor neurotrofici. BDNF, în acest caz, se va concentra maximal în ariile cerebrale afectate, unde va participa intens la procesele de neuroregenerare și remodelare.

În multiple studii se confirmă că la 2 ore după ischemie se constată o creștere de mai multe ori a numărului celulelor imunoreactive la BDNF în girusul cingular și cortexul frontal în afara ariei lezate [21]. Există o limită inferioară a nivelului BDNF, după care procesele de neuroregenerare și neuroreglare sunt ireversibile. Sugerăm că, nivelul înalt de BDNF protejează creierul de distrucție, susține supraviețuirea și diferențierea neuronilor, mărește rezistența celulelor nervoase la leziunile induse de ischemie.

Rezultatele studiului sugerează existența unei legături între concentrația BDNF în serum și anomalii motricității la copiii cu anomalii de maturare cerebrală (date confirmate imagistic). Am constatat scăderea concentrației serice a BDNF la copiii cu anomalii ale motricității. În studiu am constatat că, nivelele serice de BDNF ale copiilor din lotul martor, care prezentau anomalii grave ale motricității, erau semnificativ scăzute în comparație cu lotul martor; iar la copiii care prezentau tulburări ușoare ale motricității această tendință era ne semnificativă. S-a apreciat o creștere semnificativă a concentrației BDNF în lotul de studiu în primii ani de viață, în comparație cu vârsta de sugar (1-6 luni), dar mai joasă comparativ cu lotul martor.

Pacienții din lotul de studiu prezentau: întârziere de dezvoltare a funcțiilor ce privesc limbajul, tulburări emoționale, cognitive și comportamentale. În cea mai mare parte concentrația BDNF în ser la acești copii era scăzută semnificativ ($p < 0,05$), comparativ cu lotul martor. Concentrații scăzute semnificativ de BDNF sau stabilit la copiii cu tulburări severe ale abilităților cognitive, frecvent asociate cu tulburări de limbaj, datele neuroimagistice fiind atribuite (în aceste cazuri) anomaliilor de maturare ale țesutului nervos. S-a observat o corelație între nivelul BDNF și severitatea tulburărilor psihologice, nivelul scăzut al BDNF fiind asociat cu un grad de severitate sporit al tulburărilor psihologice, date confirmate statistic. BDNF reprezintă un marker important de apreciere al nivelului dezvoltării psihologice a copilului.

De aceea, se recomandă administra de factorii neurotrofici exogeni (BDNF) înainte de apariția modificărilor lezionale cerebrale, adică în primele

minute sau ore după suferința hipoxic-ischemică cerebrală.

DISCUȚII

Factorii etiologici care duc la afectarea sistemului nervos al fătului și n.n. pot acționa în perioada intrauterină, intranatală și neonatală [23, 31, 32]. Structura lezională a creierului n.n. se schimbă considerabil dependentă de vârsta de gestație. Consecințele patologiei perinatale determină dereglările neurologice de bază la copiii de vârstă mică, ocupând primul loc în patologia cerebrală [24].

Encefalopatia neonatală este un sindrom eterogen caracterizat prin simptome de disfuncție ale SNC la n.n. la termen sau până la termen (> 36 săptămâni de gestație). Copiii cu encefalopatie neonatală se pot expune la anormalități ale nivelului de conștiență, convulsii, anormalități de reflexe, apnee, dificultăți în alimentare [23]. Encefalopatia neonatală poate să rezulte dintr-o largă varietate de condiții și, de obicei, rămâne neexplicată. Asfixia neonatală și suferința EHIP sunt responsabile de acestea. Patogeneza encefalopatiei neonatale este discutabilă [20, 23, 31]. Encefalopatia neonatală cauzează deteriorarea neurologică a n.n., care deseori duce la paralizie cerebrală (PC), ceea ce constituie o povară grea pentru familie și societate [3, 4, 23].

N.n. cu encefalopatie poate avea o stare de conștiență anormală (ex: hiperalert, iritabil, letargic, obtuz), cu dificultăți respiratorii și de alimentare, tonus scăzut sau activitate convulsivă. La naștere n.n. poate prezenta un scor Apgar scăzut [23]. Multe din aceste simptome au fost observate la copiii din subloturile de studiu.

Afectarea sistemului nervos central (SNC) al copilului va marca retardul în dezvoltarea nrps și mt. [3, 4, 31]. Leziunile în perioada imatură a creierului dau semne diferite față de adult (fiind imatură, zona afectată va fi simptomatic nefuncțională), în special la copiii cu patologie neurologică [23]. De aceea, este foarte important cunoașterea principalelor reflexe ce țin de dezvoltarea nrps a copilului la diferite vârste. A fost elaborată o Scală de evaluare pentru aprecierea nivelului de dezvoltare nrps și mt. a copiilor din lotul de studiu.

Diagnosticul de encefalopatie neonatală impune cercetări pentru a stabili potențiale etiologii. O examinare histologică a placentei și a cordului poate să

furnizeze informații legate de leziunea vasculară sau infecțioasă a placentei sau tromboza cordului [23]. Un istoric minuțios, matern și familial este recomandat, inclusiv istoricul dereglărilor tromboembolitice, anterior pierderi de sarcină, infecții materne sau folosirea drogurilor de către mamă. Sunt luate probe pentru a determina pH-ul arterial și deficitul de bază al cordului. Prezența de oligurie, cardiomiopatie sau funcția anormală a plămânului pot să sugereze un eveniment hipoxic-ischemic global [23, 31].

Neuroimagingistica a devenit mult mai importantă în evaluarea encefalopatiei neonatale și poate furniza informații privitoare la tipul și sincronizarea leziunii cerebrale [4, 23]. De exemplu, câteva pattern-uri de leziune cerebrală au fost observate la n. n. la termen și prematuri, care sunt considerați a fi cu leziune hipoxic-ischemică cerebrală tipică, dar nu în toate cazurile de afectare hipoxic-ischemică. CT-ul cerebral este responsabil de un diagnostic precoce [23].

Afectarea SNC al copilului va marca retardul în dezvoltarea nrps. Condiția cea mai favorabilă în cadrul patologiei neurologice este aceea de a grăbi maturizarea fibrelor nervoase la copiii cu patologii neurologice, pentru a preveni PC, în cadrul căreia toate deficiențele posibile sunt evidente la maturizarea deplină a structurilor SNC. Aprecierea particularităților de neuroontogeneză la copiii cu întârziere perinatală hipoxic-ischemică cerebrală este posibilă datorită progresului din domeniul neuro-chimiei legat de studiul factorilor neurotrofici (BDNF, FCNT etc.) [8, 14, 17, 18, 21, 26, 28, 29].

Consecințele afectării perinatale ale creierului, în majoritatea cazurilor, vor fi determinate de un diagnostic precoce al leziunilor cerebrale și eficiența tratamentului în perioada de maturizare intensivă și dezvoltare [23, 31].

Factorii neurotrofici ai creierului pot juca un rol important în patogeneza leziunilor hipoxic-ischemice perinatale. Studii experimentale asupra factorilor neurotrofici au demonstrat că ei au un rol primordial în cursul dezvoltării ontogenetice în susținerea supraviețuirii și diferențierea neuronilor [1, 7, 8, 9, 10, 16, 21]. Deosebit de importante sunt rezultatele experimentelor pe animale, care au demonstrat că factorii neurotrofici au efecte terapeutice neuroprotectoare în numeroase condiții patologice ale creierului [21].

BDNF a fost descris inițial ca factor neurotrofic, cu efecte de promovare a supraviețuirii asupra neuronilor senzitivi din ganglionii spinali. S-a constatat că

BDNF acționează asupra tuturor claselor de neuroni senzitiv, promovează diferențierea motoneuronilor *in vitro* și salvează aceste celule de la moartea naturală programată și de la moartea indusă prin axotomie la animalele n.n [20].

BDNF este neurotrofina cu cea mai largă răspândire în creier. ARN-ul mesager pentru BDNF a fost identificat în numeroase structuri ale creierului șobolanilor [3]. Astfel, tratamentul cu kainat (un aminoacid excitator, analog aromatic al acidului glutamic) a determinat o exprimare intensă a BDNF în celulele piramidale din multe regiuni cerebrale, constituind un argument puternic pentru rolul neurotrofic al BDNF în menținerea neuronilor și sinapselor la animalele adulte [3, 21]. A fost investigat rolul BDNF în susținerea supraviețuirii și diferențierea neuronilor colinergici din regiunea bazală și anterioară a creierului anterior [7, 21, 22].

Mai multe cercetări au demonstrat că infuzia intraventriculo-cerebrală de BDNF la șobolani și maimuțe poate preveni atrofia și pierderea markerilor fenotipici ai neuronilor colinergici septali, care rezultă după axotomie [21].

Multiple studii au demonstrat rolul neuroprotector al BDNF în ischemiile cerebrale. Astfel, Arai și col. [1] au confirmat că, intensificarea exprimării BDNF și al receptorului acestuia se produce în arii situate în afara infarctului. Un alt studiu constată că, una dintre premisele cu privire la mecanismul de neuroregenerare, evocat de leziune, constă în faptul că celulele lezate induc eliberarea factorilor neurotrofici pentru a stimula neurogeneza [21]. Alt studiu, apărut mai târziu, a relatat că nivelurile proteinei BDNF constatate se corelează, cel puțin parțial, cu rezistența celulelor la leziunile provocate de ischemie și sunt în concordanță cu existența rolului neurotrofic al BDNF [5]. La fel, același autor confirmă că la 2 ore după ischemie s-a constatat o creștere de mai multe ori a numărului celulelor imunoreactive la BDNF în girusul cingular și cortexul frontal în afara ariei lezate. La animalele cu leziuni corticale s-a constatat o dispariție a fibrelor imunoreactive la BDNF în striat la 2-24 de ore, în timp ce animalele cu leziuni în striat nu au prezentat această modificare. După 2-24 de ore s-au observat fibre puternice imunoreactive de-a lungul fasciculelor mielinizate, situate medial de striat, în comisura anterioară și în corpul calos ipsilateral cu OACM. Nivelurile proteinei BDNF au crescut la 133-213% după 2 ore în girusul cingular și cortexul

frontal și au scăzut la 40%, după 24 de ore în striat. Astfel, s-a constatat o creștere a proteinei BDNF la 2 ore după ischemie. Reducerea BDNF după 24 de ore sugerează o eliberare pronunțată sau transport axonal anterograd în faza postischemică. Modificarea proteinei BDNF după ischemia focală are rol în supraviețuirea neuronilor corticali și striati [5].

A fost efectuată infuzia de BDNF, la scurt timp după ocluzia arterei cerebrale mijlocii (la șobolan) și a fost continuată 24 de ore, după care s-a determinat volumul infarctului, în comparație cu lotul martor la care nu s-a infuzat BDNF. S-a constatat o reducere cu 33% a suprafeței infarctului [20].

Alte studii pe animale au constatat că BDNF are un efect de contracarare a leziunilor neuronale, determinate de asfixie [17]. În leziunile hipoxic-ischemice BDNF are efecte diferite asupra creierului în dezvoltare (n.n.), în comparație cu creierul la adult. O singură injecție intraventriculară de BDNF determină o fosforilare viguroasă a receptorilor Trk (responsabili de BDNF) în multiple regiuni ale creierului la șobolan din ziua postnatală 7. Astfel, BDNF protejează semnificativ creierul șobolanului împotriva leziunilor hipoxic-ischemice din ziua postnatală 7. BDNF protejează 90% din țesutul nervos împotriva pierderilor de neuroni datorită hipoxiei ischemice, dacă este administrat înainte de hipoxi-ischemie și protejează 50% din țesutul nervos, când este administrat după insult. BDNF reprezintă un tratament potențial în asfixie și alte leziuni acute perinatale [8].

La fel, studii experimentale recente confirmă că ischemia tranzitorie a intensificat exprimarea genei BDNF atât în hipocamp, cât și în cortexul cerebral, fapt care a fost mediat prin intermediul receptorilor pentru glutamat de tip NMDA și non-NMDA [30]. Alt studiu experimental confirmă că prevenirea morții neuronale cu BDNF după ischemia creierului, anterior se asociază cu creșterea exprimării receptorului său specific Trk-B [9]. BDNF este larg distribuit în sistemul nervos central și prezintă efecte trofice *in vitro* asupra numeroaselor tipuri de celule, inclusiv neuronii corticali, hipocampali, cerebeloși etc. *In vivo* BDNF salvează motoneuronii, neuronii hipocampali și celulele dopaminergice din substanța *nigra* împotriva leziunilor traumatice și toxice. Pretratamentul cu BDNF intraventricular a redus dimensiunea infarctului după ischemia cerebrală focală. BDNF are un rol neuroprotector în accidente

vasculare cerebrale ischemice [27]. În studiul nostru s-a confirmat că n.n. cu leziuni hipoxic-ischemice perinatale ale creierului de gradul II și III prezentau niveluri scăzute al BDNF din ser. Aceste date sunt de mare valoare pentru prognosticul la timp al sechelelor neurologice la distanță.

Studii recente evidențiază rolul factorilor neurotrofici în etiologia bolilor neurodegenerative cronice.

Mai multe studii experimentale constată că administrarea unui exces de factori neurotrofici protejează țesuturile cerebrale sensibile contra leziunilor. Tratamentul animalelor cu factori neuro-trofici înainte sau la 90 de minute după o ischemie tranzitorie, a redus efectiv volumul și aria de infarct fără a afecta fluxul sanguin cerebral regional, în comparație cu grupul de control sau cel al animalelor netratate. Astfel, se sugerează că factorii neurotrofici exercită un puternic efect neuroprotector contra leziunilor cerebrale ischemice [2, 10, 12, 25].

O explicație alternativă a efectelor benefice ale BDNF în ischemie este ameliorarea exitotoxicității [21, 31]. Antagoniștii receptorilor pentru glutamat reduc volumul infarctului [19, 21, 25].

Au fost efectuate studii pe șobolani privind eficiența factorilor de creștere în recuperarea deficitelor neurologice după infarctele cerebrale. Factorii de creștere au fost administrați după mai multe zile de la provocarea ischemiei, în aceste studii intenția nu a fost reducerea volumului infarctului, ci intensificarea recuperării neurologice. La șobolani există numeroase dovezi că infarctizarea focală cerebrală este urmată de înmugurirea neuronală și formarea de noi sinapse în regiunile din vecinătatea infarctului, în aceeași emisferă și în regiunile omologate din emisfera contralaterală [11, 16, 33].

Această înmugurire și formarea de noi sinapse poate reprezenta un mecanism de recuperare neurologică după infarctizarea focală [21].

Aceste observații au dus la ipoteza că administrarea de factori de creștere exogeni, care intensifică înmugurirea axonilor și dendritelor, pot intensifica recuperarea funcțională după ischemiile cerebrale [21].

Plasticitatea neuronală reprezintă o adaptabilitate a sistemului nervos la diverse leziuni prin reorganizarea structurală și funcțională în substanța albă și cenușie [7, 15, 21].

Factorii de creștere reprezintă un tratament citoprotector pentru limitarea creșterii volumului infarctului dacă sunt administrați în primele ore după

accident și facilitează recuperarea funcțională dacă sunt administrați în prima lună după accident [21].

Numeroase studii pe modele de animale cu hipoxie și/sau ischemie a creierului confirmă rolul neuroprotector și neuromodulator al Cerebrolysinului în tratamentul ischemiilor cerebrale. Pe mai multe specii de animale, Cerebrolysin are următoarele efecte: scade mortalitatea după ischemia cerebrală acută la 50% [27]; previne formarea edemului citotoxic [27], protejează celulele piramidale împotriva leziunilor determinate de ischemie [28]; previne formarea radicalilor liberi în timpul reperfuziei după ischemia cerebrală [28]; scade semnificativ concentrația lactatului în creier, sugerând un efect protector în cursul episoadelor ischemice-hipoxice [21]; asigură supraviețuirea și promovează diferențierea neuronilor în culturi, în mod asemănător cu factorii neurotrofici naturali [21]; are un efect dozo-dependent de prevenire a morții neuronilor, indusă de concentrații mari de glutamat [12]; determină o ameliorare statistic semnificativă la itemurile din Scala de Neuroreabilitare Barolin în primele 7 zile. Constatarea este deosebit de importantă, pentru a introduce noțiunea de „fereastră terapeutică” în tratamentul hipoxi-ischemiilor cerebrale [21].

Astfel, este evident că tratamentele neurotrofice administrate (în special preparatul BDNF) vor contribui la ameliorarea achizițiilor nrps și mt. la copiii cu probleme neuropsihice.

CONCLUZII

- În leziunile cerebrale, hipoxi-ischemice, BDNF are rol de neuro protecție. BDNF este o neurotrofină cu importante proprietăți de încurajare a creșterii neuronale, a proceselor de mielinizare, reorganizare și restructurare a neuronilor țesutului cerebral.
- La copiii cu probleme neurologice mecanismele de neuroregenerare sunt mai puternic dezvoltate. Una din premisele cu privire la mecanismul de neuroregenerare, evocat de leziune, constă în faptul că celulele lezate induc eliberarea factorilor neurotrofici pentru a stimula neurogeneza.
- S-a studiat efectul BDNF asupra neuronilor din SNC. Sugerăm că atunci când neuronii sunt afectați de hipoxi-ischemie, BDNF încurajează supraviețuirea și regenerarea

axonală. Nivelul înalt de BDNF protejează creierul de distrucție, susține troficitatea și diferențierea neuronilor.

- Dizabilitățile neuropsihice și motorii de diferite grade se corelează cu niveluri scăzute de BDNF din ser. BDNF, sub 720 pg/ml, reprezintă un marker important în dezvoltarea neuro-psiho-developmentală la copiii cu antecedente hipoxic-ischemice ale SNC. Când nivelurile BDNF sunt foarte joase, procesele neurotrofice se decompensează și neuronii corticali nu sunt protejați de distrucție. Nivelul scăzut de factori neurotrofici, influențează procesele de neurotroficitate și neuroregenerare.
- La copiii cu antecedente hipoxic-ischemice grave, procesele de distrucție vor predomina asupra proceselor de neuroregenerare. S-au apreciat concentrații scăzute de BDNF la copiii cu dereglări severe ale motricității și tulburări de dezvoltare psihologică, comparativ cu lotul martor. Aceasta indică o întârziere a creșterii nivelului BDNF în timpul neurodezvoltării. Astfel, concentrațiile joase de BDNF sunt în corelație indirectă cu gravitatea dizabilităților motorii și neuropsihice.

- Studiul relevă rolul BDNF în procesele de neurodezvoltare, neuroplasticitate și neurotroficitate.
- Rolul BDNF asupra nivelului dezvoltării psihologice al copilului (în special asupra maturității fibrelor nervoase a unor centre - frontale, temporale, sub corticale etc., responsabile de dezvoltarea limbajului, comportamentului, emoțiilor).
- Concentrațiile joase de factori neurotrofici influențează plasticitatea sinaptică și interacțiunea celulelor neuronale și gliale, jucând un rol hotărâtor în comportamentul complex al copilului, inclusiv în achiziționarea vorbirii, cogniției, emotivității etc.
- Injuria hipoxic-ischemică, în perioada perinatală, determină întârzierea neuro-psiho-developmentale (motricitatea, comportamentul, limbajul, funcțiile cognitive etc.) ale copilului. Pentru ameliorarea dezvoltării neuro-psiho-logice și reducerea handicapului neuropsihic și motor, se propune administrarea factorilor neurotrofici exogeni, anterior apariției modificărilor lezionale cerebrale date de injuria hipoxic-ischemică cerebrală.

*

*

*

INTRODUCTION

They have estimated that 2 to 4 % of in term newborns (n.b) present hypoxia during birth or shortly before birth [3].

After years of experimental research on animals with a series of pharmacological agents (free radical synthesis inhibitors, free radical sweepers, antagonists of glutamate type amino acid excitators, blockers of calcium canals, inhibitors of nitric oxide), glucocorticoids, and Phenobarbital, they have shown the inefficiency of the latest in prevention and treatment of secondary cerebral injuries PHIE. Hereby, the most important problem of neonatology and neuropediatrics remains unsolved [8].

At the present time, a number of studies confirms the role of neurotrophic factors in the maintenance of neurotrophicity in hypoxic-ischemic injuries of the brain [3, 21, 26]. Though, until now, no estimative

clinical studies regarding neurotrophic disorders correlated with PHIE have been done.

The experimental studies on neurotrophic factors represent the main part of all fundamental researches in neurobiology. Experimental results on animals and cells' cultures have shown that these factors have spectacular effects with perspectives of therapeutic application in the near future [20].

STUDY OBJECTIVES

Highlight the relationship between neuro-psycho-developmental disorders (motor disorders and mixed specific psycho-developmental disorders) and BDNF in children who suffered from diverse grade PHIE of the CNS.

MATERIALS AND RESEARCH METHODS

182 children aged from 7 days to 36 months (study lot - st.lt), with neuro-psycho-developmental disorders (motor disorders and mixed specific psycho-developmental disorders) who suffered from diverse grade PHIE of the CNS were investigated.

The allotment in sub lots (sbl.) according to age and clinic diagnostic: **7 days - 1 month** 46 children with PHIE acute period (PHIE gr. I / sbl. I - 16, PHIE gr. II / sbl. II - 15, PHIE gr. III / sbl. III - 15); **1-3 months** (46) with motor disorders (MD) and psycho-developmental disorders (PD) (gr. I/sbl. I - 16, gr. II / sbl. II - 15, gr. III / sbl. III - 15); **3-6 months** (45) with MD and PD (gr. I / sbl. I - 15, gr. II/sbl. II - 15, gr. III / sbl. III - 15); **6-36 months** (45) with MD and PD (gr. I / sbl. I - 15, gr. II/sbl. II - 15, gr. III / sbl. III - 15). Children aged 1-36 months (recovery period) presented MD and PD as consequences of PHIE. 60 healthy children formed the control lot (control group - ctrl.gr.).

Children with intrauterine infections, metabolic and toxic encephalopathies, and congenital brain malformations were excluded from the study.

In conformity to the established goals, children from each lot passed the clinical, functional and laboratory investigations. The neurological statute was assessed at children aged 7 days - 12 months with a periodicity of 3 months. The anamnesis was collected in order to assess the dynamic of motor (mt.) and neuropsychical (nrps.) acquisitions. We appreciated the following domains: cognition, expressive language, receptive language, fine motricity, gross motricity, etc.

An age-related scale of evaluation of the development degree of nrps and mt was elaborated - tests, appreciated with 1, 2, 3 and 4 points. Performance acquisitions according to age - 4 points (pt.); I grade performance difficulties - 3 pt., II grade - 2 pt., III grade - 1 pt.

The goal of this evaluation was to highlight the alerting neurological signs, level of maturation of the CNS and the risks of development of neurological after-effects in children that had suffered from PHIE.

Transfontanelar NSG, EEG and brain TC were done in the dynamics of the first year of life.

We assessed plasma BDNF levels via immunoenzymatic method the two lots of children were studied.

Laboratory examinations were effectuated on the immunological analyzer STAT FAX-303 by the immunoenzymatic analysis method (ELISA).

Statistical procedures were effectuated on the personal computer IBM PC using the software STATISTICA 6.0. The t Student criterion was used to appreciate the level of differentiations between the average values.

RESULTS

Documentation of antecedents was prepared in order to obtain a more correct diagnose. 87% from st.lt. were children with an unfavourable obstetrical anamnesis, 28% of whom suffered during birth. The most frequent maternal affections during pregnancy were: gestational toxemia (59%), anaemia (62%), and arterial hypertension 38%. We have noted that the most frequent pathology of the labour and expulsion, like: insufficiency of contraction forces, proclivity of cordon, difficult extraction were met in 37% of cases. We noted peri- and intrapartum precedents in only 2% of ctrl.gr. ($p < 0,01$). Likewise, fetal pathology may be a provocative factor of hypoxic-ischemic injury suffering.

We noted at children from st.lt.: premature birth (23%), cord congenital diseases (4%), haemolytic anaemia (8%), hyperbilirubinemia (12%). The low Apgar score allowed us to determine n.b's statute and a suspicion of a fetal suffering in the st.lt (67%) in comparison to ctrl.gr. (4%). Neurological symptoms had lasted during the 2-4 weeks of life at children from st.lt. (TABLE I).

Clinical manifestation at children with PHIE had ameliorated by the age of 2 weeks-1 month, according to the degree of the PHIE. Cerebral functions had remained severely affected in the difficult forms of PHIE. Children from sbl. II and III were presenting severe neurological syndromes during the retrieval period.

In order to screen the nrps. and mt. development the reflexes (rf) of CNS morphofunctional development were assessed: rf of extension of superior limbs, heel rf, rf of vertical maintenance, supra pubic extensor rf, crossed extension rf, Galant rf, Moro rf, cervical tonic rf, hand grasping rf, plantar grasping reflex.

Reflexes of development have an important clinical signification in the assessment of CNS maturation, presenting very often the locating value

of injuries. Positive rf at corresponding age gained 4 pts.; rf. present at the time when it should disappear - 3 pts.; present 3 months after the time when it should disappear - 2 pts.; present after 6 months - 1 pt.

The pathologic response of 3 primitive reflexes represents valuable information to forecast the nrps and mt deficits. Motor acquisitions were evaluated: maintenance of the head, rotation from belly to back, rotation from back to belly, sitting with support, crawling, pace. - Normal motor performances' development was quantified with 4 pts.; 2 months delay - 3 pts.; 4 months - 2 pts.; 6 months and more - 1 pt.

Non acquisition of motor performances at the physiological age suggested the idea of a severe neurological sufferance and, respectively, the retention of CSN maturational process. Children with PHIE from gr.II presented in 4% of cases, and those from gr.III in 38%: MD, anomalies of developmental reflexes, non acquisition of nrps and mt performances at physiological age. We observed that nrps and mt developmental indexes of sbl. I were diminished insignificantly by the end of retrieval period in comparison to ctrl.gr. ($p < 0,01$). The most diminished indexes were appreciated in sbl. PHIE-II ($p < 0,05$) and - III ($p < 0,1$), in comparison to ctrl.gr.

Present day studies confirm the neuroprotective role of neurotrophic factors on CNS and peripheral. In the present study we assessed BDNF levels in the serum of children with diverse grade PHIE. The obtained results are presented in TABLE 2.

BDNF level was assessed in st.II and ctrl.gr. A statistically important variation of BDNF was

established in the ctrl.gr.: 1001,8 pg/ml (at n.b.) and 1011,9 pg/ml (between 6 and 12 months), minimal value - 989 pg/ml (at n.b.), maximal value - 1021,7 pg/ml (between 6-12 months).

The threshold of this sub lot had stable values increasing only with 0.99%. Thus, it was confirmed that in the period of growth of the healthy child BDNF is the neurotrophin responsible for a normal nervous system development (see TABLE 2). It was established that in sbl.I the average BDNF level was smaller in comparison to ctrl.gr and it varied between 945,6 pg / ml (at n.b.) and 973,4 pg / ml (between 6-12 months), minimal level was 919,2 pg / ml (n.b.), and the maximal 991.2 pg / ml (between 6-12 months). The threshold of this sub lot constitutes $p < 0,05$, $p < 0,1$.

The BDNF level in sbl.I (6-36 months) increased with 2,7% by the age of 1 year old in comparison of sbl.I (n.b.) and was 38,5 pg / ml (3,8%) more diminished in comparison to ctrl.gr. The statistically significant variation between the minimal and maximal level at newborns constituted +26,4 pg / ml, and at the age of 6-12 months + 18,7 pg / ml.

The BDNF values at children from sbl.I approached indexes of healthy children. BDNF level from the serum of sbl.I was 3,8% smaller in comparison to ctrl.gr. (see TABLE 2).

Neuropsychical and motor developmental levels in sbl.I were assessed in conformity to the scale: with 3 (6% of cases) and 4 (94%) points. Neuropsychical abilities were mildly affected at 4% of children.

Table 1

PHIE symptoms in acute period at children from study lot.

Symptoms	PHIE (Ist.II- 46 children)					
	sbl. I, nr. 16	%	sbl. II, nr.15	%	sbl. III, nr. 15	%
Neuroreflector hyperexcitability	+	98	-	-	-	-
Transitory reflexes	Present	96	Dejected	97	Inhibited	100
ROT	Exaggerated	96	Dejected	94	Inhibited	100
Hypotony	Soft	87	Expressed	100	Diffuse	100
Sympathetic hyperactivity	+	89	-	-	-	-
Lethargy/stupor	-	-	+	73/37	+	31
Convulsions	-	-	±	34	+	58
Coma	-	-	-	-	+	69
Neurovegetative disorders	-	-	Averagely expressed	43	Expressed	100
Signs of affectation of cerebral trunk	-	-	Softly and averagely expressed	45	Expressed	92
Duration on clinical manifestations	Under 2-4 ore	86	Under 1 week	79	Over 1 week	96

BDNF level in children under 12 months old increased approaching indexes on children from ctrl.gr. There was observed a quick amelioration of EEG and imagistic interpretations. Neurological disorders would be functional in children with insignificantly diminished BDNF levels. An important statistical variation between the average levels of BDNF ($p < 0,01$) in children from sbl.I and ctrl.gr was observed.

By the age of 1 year the neurological after effects were minor in sbl.I. Neurologic syndrome of these children would ameliorate rapidly after the administration of neuroprotectors at precocious stages. Thus, it was confirmed that BDNF protects cortical neurons from destruction and ameliorates the neuroplasticity.

We assessed that in sbl.II the average level of BDNF was lower in comparison to ctrl.gr. and it varied between 863,1 pg / ml (n.b.) and 879,9 pg / ml (between 6-36 months), minimal level was 821,3 pg / ml, and the maximum - 932,6 pg / ml (6-36 months). The threshold of BDNF in sbl.II constituted $p < 0,1$.

In sbl.II, BDNF increases with 1,89% by the age of 1 year old in comparison to sbl.II (n.b.), being with 132,1 pg / ml (13.05%) lower than the ctrl.gr. level.

Statistically significant variation between the lowest and the highest levels at newborns constituted +41,8 pg / ml, and at 6 - 36 months old +52,8 pg / ml.

BDNF had maximal values in 72,2% of children from sbl.II by the age of 12 months, in 24,8% - average levels, and 4% - minimal levels (see TABLE 2). Thus, in 24,8% of children (sbl.II) appeared a risk of retention of nrps and mt development, in 4% of cases it was important.

We appreciated an average and severe retention of nrps and mt development at children from this lot. The level of nrps and mt development of children from sbl.II was evaluated in conformity to the scale: 4 (54%), 3 (42%), and 2 (4%) pts. The level of influence of nrps

and mt abilities in sbl.II was: mild (27%), average (15%) and severe (4%). Following the comparative analyse, a statistically significant variation between the average BDNF levels was established ($p < 0,05$) at children from sbl.II, that presented afterwards neurologic disorders, and ctrl.gr. Neuropsychical and motor disorders were minor at children from sbl.II with higher levels of BDNF in serum. Likewise, we observed at these children a rapid remission of NSG and EEG anomalies that indicates a favorable evolution of neurodevelopment. Severe and average grade neurologic syndromes developed at children with minimal levels of BDNF, by the age of 1 year old. NSG and EEG anomalies persisted in evolution.

Thus, it was established that BDNF level will have a higher positive trend by the age of 12 months in children from sbl.I and II in comparison to ctrl.gr. This explains that BDNF has neuroprotective function, through acceleration of myelinisation, reorganization and setup of cerebral tissue neurons in injuries induced by hypoxi-ischemia. Or, the mechanisms of neuroregeneration are more developed at children with neurological problems.

Average level of BDNF was lower in sbl.III in comparison to ctrl.gr, variations were between 724,7 pg / ml (at n.b.) and 788,9 pg/ml (between 6-36 months); minimal level 661,2 pg / ml (at n.b.) and maximum of 743,6 pg / ml (between 6-36 months). Threshold in sbl.III constituted $p < 0,1$ (see TABLE 2).

BDNF had a 8,1 % growth by the age of 1 in this sub lot in comparison to n.b, being 223 pg / ml (22,03%) lower than the assessed level in ctrl.gr. Statistical variation between the minimal and the maximal levels constituted + 63,5 pg / ml in n.b, and + 54.7 pg / ml at 6-36 month old children. By the age of 12 months the BDNF level presented maximal values at 40% of children from sbl.III. 60% of children of this

Table 2

BDNF level in serum of children with diverse grade PHIE, at different ages, M+m.

Child's age	Nosological form of the disease			
	Study lot - nr. 12	Study lot - sbl.I, nr. 14	Study lot - sbl. II, nr. 13	Study lot - sbl. III, nr. 14
Serum level of BDNF, pg / ml				
7 days - 1 month	1001,8 ± 12,8*	945,6 ± 26,4***	863,1 ± 41,8***	724,7 ± 63,5***
1 - 3 months	1005,9 ± 9,8*	972,5 ± 17,2**	882,9 ± 48,7***	764,5 ± 46,6***
3 - 6 months	1007,2 ± 7,3*	972,5 ± 18,4**	886,5 ± 51,6***	785,4 ± 49,9***
6 - 12 months	1011,9 ± 9,8*	973,4 ± 18,7**	879,8 ± 52,8***	788,9 ± 54,7***

Note: * - $p < 0,01$, ** - $p < 0,05$, *** - $p < 0,1$

sub lot had a high risk of development of nrps and mt retard. Nrps and mt disabilities were diagnosed in 78%, 48% of whom were severe. The level of nrps and mt development in this sub lot was appreciated in conformity to the scale: 3 (24%), 2 (52%) and 1 (24%) points.

The largest part of children from this sub lot presented important neurologic after effects by the age of 12 months old. Very low levels of BDNF were observed at children with severe mt retard and epileptic seizures. At the age of n.b., BDNF (lower than 790 pg / ml) could be a marker of development of nrps and mt retard in children. We established an important statistical variation between the average levels of BDNF of children from sbl.III, with severe neurologic after effects, and those from ctrl.gr ($p < 0.1$). Nrps and mt disabilities were severe in children with minimal levels of BDNF.

Previously, it was confirmed that BDNF protects cerebral tissue from destruction. It is said in one of studies: „One of the premises regarding the mechanism of neuroregeneration evoked by an injury consists in the fact that injured cells induce the liberation of neurotrophic factors to stimulate the neurogenesis. Extracellular purinic nucleotides exercise multiple neurotrophic actions in CNS being mediated through activation of purinergic receptors and mediate the liberation of neurotrophic factors to encourage the regeneration of injured ol-factory epithelium” [20].

- But, probably, neurotrophic processes decompensate and cortical neurons are not protected any more when BDNF levels are very low. In this case, low levels of neurotrophic factors are not sufficient to maintain the neurotrophicity and the neuroregeneration. The brain adaptability is diminished. In this case, there is a probability that BDNF concentrates maximally in injured cortical areas, where structural and functional reorganization of white and grey substances takes place. Thus, at children with hypoxic-ischemia, destructive processes prevail on those of neuroregeneration. It is obvious that modifications of cerebral tissue in PHIE gr.I and II (partial) are functional and short termed. In PHIE gr.II (4%) and III the modifications are structural and long termed. Low levels of BDNF were frequently appreciated (authentic

statistical data) at children with severe forms of PHIE that are often associated with disorders of conscience, convulsive manifestations, disturbances of muscular and reflex tonus. Likewise, low levels of BDNF were identified in n.b. presenting pathologic EEG patterns (a marked decrease of wave amplitude and frequency) and with neuroimaging data attributed to cerebral hypoxic-ischemia (increase of ecogenity of cerebral tissue, edema, stasis, ischemia in neural tissue). Low values of BDNF confirm the presence of severe injuries of cerebral tissue by the age of 12 months. It is known that BDNF manages processes of neurogenesis, when BDNF decreases the latest decompensate.

The present study confirms that BDNF is an important marker of destructive lesional sufferance of cerebral tissue.

Thus, BDNF level would be different according to the degree of affectation of cerebral tissue in hypoxic-ischemic injuries. This one increases significantly, but in different proportion, by the end of the first year of life. BDNF level in children from st. It remains decreased in comparison to those from ctrl.gr. Very low levels are preserved at children with severe mt. deficit and at those with recurring epileptic seizures.

It is possible that the retention of synthesis of neurotrophic factors could be one of the most important causes that stops the nervous cell maturation processes at children with PHIE.

Likewise, low BDNF level (lower than 790 pg / ml) has a predictive value for the nrps and mt retard at children with severe PHIE. Decreased BDNF level associated with an aspect of anomajies and diminished voltage of EEG waves is an unfavorable prognostic indicator.

We made the comparative analyze of low BDNF levels in sbl.I, II and III.

It shows that the probability of decreased BDNF level constitutes 23,34% at children from sbl.II and 85,4% at those from sbl.III in comparison to sbl.I (3,42%). The probability of decreased BDNF level is high in sbl.III, especially at children with severe neuropsychological disorders.

Synthesis and secretion of BDNF decreases seriously at children with severe hypoxic-ischemic injuries. Because of low BDNF level neuroprotective

and neuroregenerative processes are inhibited. A series of anomalies of neurotrophic factors may accompany the hypoxic-ischemic aggression.

This contributes to stoppage of nervous fiber maturation and to development of severe neurologic after effects. The probability of development of neurologic after effects in PHIE-II is lower. Probably, the processes of neuroprotection in these children are compensated by the acceleration of neurotrophic factors' synthesis. In this case, BDNF is maximally concentrated in affected cerebral areas where it participates intensely to the processes of neuroregeneration and remodulation.

It is confirmed, in multiple studies, that 2 hours after ischemia an increase of BDNF immunoreactive cells is observed in singulargyrus and frontal cortex except for injured area [21].

It is possible that there exists an inferior limit of BDNF level and under this limit the processes of neuroregeneration and neuroregulation are irreversible. Or, high BDNF level protects the brain from destruction, sustains the survival and differentiation of neurons, increases neural cell's resistance to injuries induced by ischemia.

The results suggest that there is a relationship between serum BDNF levels and motor abnormalities in children with cerebral maturation disturbances (data was also confirmed by neuroimaging). Furthermore, we noted that serum BDNF levels were significantly lower in children with severe motor disorders compared to controls, but this tendency was not significant in those with soft motor disorders. The results showed an increase of BDNF levels in study group during their first years of life, though these levels were significantly lower in comparison to control group.

Patients from study group presented: language retardation, emotional, cognitive and behavioral disorders. An overall analysis showed that BDNF serum levels were significantly lower in children from study group in comparison to controls ($p < 0.05$). Significantly low levels of serum BDNF were noted in children with severe cognitive disorders frequently associated with language disorders. Moreover, neuroimaging data revealed abnormalities of nerve tissue maturation. There is statistical evidence that psychological disorders are negatively correlated with serum BDNF levels. Thus, BDNF represents an important marker of child's psychological development.

Therefore, it is the case to administrate exogenous neurotrophic factors (BDNF) before the appearance of cerebral lesion changes, that is to say in the first minutes or hours following the apparition of cerebral hypoxic-ischemic injuries.

DISCUSSIONS

Aetiological factors, which may conduct to affectation of nervous system of fetus and n.b, may influence during intrauterine, intranatal and neonatal periods [23, 31, 32].

Lesion structure of the brain of n.b. changes considerably in dependence on gestational age. The consequences of perinatal pathology determinethe base neurological disorders of very young children, thus occupying the first place among cerebral pathologies [24].

Neonatal encephalopathy is a heterogeneous syndrome characterized by dysfunctional symptoms of CNS in term or under term n.b. (> 36 weeks of gestation). Children with neonatal encephalopathy may be exposed to abnormalities of conscience level, convulsions, reflex abnormalities, apnea, and alimentation difficulties [23]. Neonate encephalopathy may be the result of a variety of conditions and often remains inexplicable. Responsible of these are asphyxia and PHIE. Cerebral injury causes neurological deterioration in n.b., who cannot be understood often. Neonate encephalopathy's pathogenesis is discussed everywhere [20, 23, 31]. Neonate encephalopathy causes neurological deterioration in n.b., that leads very often to cerebral palsy (CP), a heavy burden for family and society [3, 4, 23].

Encephalopathic n.b. may have an abnormal state of conscience (ex: hyperalerted, irritable, lethargic, obtuse), with respiratory and alimentation difficulties, reduced tonus or convulsive activity. Often, these n.b. present a low Apgar score and a weak or absent cry [23]. An important part of these symptoms were observed at children from study sublots.

The lesion of CNS of the child would have as consequences the nrps and mt retard [3, 4, 31].

Injuries in immature period have a different pattern from those in adults (while immature, the affected zone would be symptomatically nonfunctional), especially in children with neurologic pathologies [23]. Thus, it is very important to know the main reflexes regarding nrps development of the child at

different ages. A scale of evaluation of nrps and mt developmental level of children was elaborated in study lot.

The diagnose of neonatal encephalopathy imposes the research of potential aetiologies. An evident and histological examination of placenta and cordon could deliver evidences of possible causes like vascular or infectious lesion of placenta, or thromboses of cordon [23]. A detailed maternal and familial history is recommended, including history of thromboembolic disorders, anterior losses of pregnancy, maternal infections or drug abuse. Sampling is done to determine arterial pH and base deficit of cordon. The presence of oliguria, cardiomyopathy, abnormal function of the lung may suggest a global hypoxico-ischemic event [23, 31].

Neuroimagerly has become more important in the evaluation of neonatal encephalopathy and can deliver information concerning the type and the synchronization of cerebral injuries [4, 23]. For example, several patterns of cerebral injuries were observed at in term and premature n.b., who are considered to be with typical hypoxic-ischemic injuries, but not in all the cases with hypoxic-ischemic affection. TC is responsible for doubtless diagnosis in precocious terms [23].

The brain of small child is an object of study. CNS affection would mark the retard in nrps development. The most favorable condition in neurological pathology is to speed up the maturation of nervous fibers at children with neurologic pathologies, in order to prevent CP, whose deficiencies are evident by the complete maturation of CNS structures. The appreciation of peculiarities of neuroontogenesis in children that suffered from perinatal hypoxic-ischemic cerebral lesion is possible due to now-a-days achievements in neurochemistry, related to researches of neurotrophic factors (BDNF, FCNT, etc.) [8, 14, 17, 18, 21, 26, 28, 29].

The consequences of cerebral perinatal affection, in most of cases, would be determined by a precocious diagnosis of cerebral injuries and the efficiency of the treatment in the period of intensive maturation and development [23, 31].

Neurotrophic factors of the brain could be very important in pathogenesis of perinatal hypoxic-ischemic injuries. Experimental studies have shown that these factors play an important role during the ontogenetic development, in survival maintenance

and the differentiation of neurons [1, 7, 8, 9, 10, 16, 21]. Especially important are the results of researches on animals that proved that neurotrophic factors have therapeutic neuroprotective effects in numerous pathologic conditions of the brain [21].

BDNF initially was described as neurotrophic factor with effects of promotion of survival of sensitive neurons from spinal ganglions. Later it was observed that BDNF influences on every classes of sensitive neurons, promotes differentiation of motoneurons in vitro and protects these cells from apoptosis and from death induced by axotomy in n.b animals [21]. BDNF is the most prevailing neurotrophin in the brain. BDNF's RNA messenger was identified in various structures of the rat brain [3]. Thus, the treatment with kainat (an excitatory aminoacide, aromatic analog on glutamic acide) determined an intense presence of BDNF in pyramidal cells of different cerebral structures, a strong argument in favor of neurotrophic role of BDNF in maintaining neurons and synapses in adult animals [3, 21]. In several studies they investigated the role of BDNF in maintaining the survival and the differentiation of cholinergic neurons of basal and anterior region of anterior brain [7, 21, 22].

Several groups of studies proved that cerebral intra-ventricular infusion with BDNF at rats and monkeys can prevent the atrophy and the loss of phenotypic markers of septal cholinergic neurons, resulting after axotomy [21].

Multiple studies demonstrated the neuroprotective role of BDNF in cerebral ischemia. Thus, Arai et Al. [1] confirmed that the intensification of BDNF's presence and his receptors is produced in areas beyond infarct. Another study notes that one of the premises concerning neuroregenerative mechanism launched by the lesion consists in the fact that injured cells liberate neurotrophic factors to stimulate neurogenesis [21]. A more recent study argues that assessed BDNF's levels are correlated, at least partially, with the resistance of cells face to injuries induced by ischemia, and are in correspondence with the existence of neurotrophic role of BDNF [5]. Likewise, the same author confirms that 2 hours after ischemia they observed an important increase of the number of immunoreactive cells to BDNF in cingular gyrus and frontal cortex beyond injured area. In animals with cortical lesions they observed a disappearance of immunoreactive cells

to BDNF in striatum in 2-24h, while animals with injured striatum didn't present that modification. After 2-24h they observed strongly immunoreactive fibers along myelinated fascicles situated medially to striatum, in anterior commissure and in corpus callosum ipsilateral to OACM. BDNF levels went to 133-213% after 2h in cingulate gyrus and frontal cortex, and diminished to 40% after 24h in striatum. Thus, they noted the augmentation on BDNF protein 2h after ischemia. The diminution of BDNF after 24h suggests a pronounced liberation or anterograde axonal transport in postischemic phase. BDNF modification after focal ischemia has a role in survival of cortical and striatum neurons [5].

BDNF infusion had been effectuated beginning with not long after the occlusion of middle cerebral artery (in rats) and had been continued for 24h, and after they assessed infarct's volume, in comparison to witness group to which they infused only vehicle. A 33% diminution of infarct was noted [33].

Other studies on animals noted that BDNF has an effect of contraction on neural lesions determined by asphyxia [17]. In hypoxic-ischemic lesion, BDNF has different effects on the brain in development (n.b.), in comparison to the adult one. A single intraventricular injection of BDNF determines a vigorous phosphorylation of Trk receptors (responsible for BDNF) in multiple regions of rats brain starting from the 7th post-natal day. Thus, BDNF protects the rat's brain from hypoxic-ischemic lesions from the 7th postnatal day. BDNF protects 90% of nervous tissue from loss of neurons caused by ischemic hypoxia, if it's administrated before hypoxi-ischemia, and 50% if it's administrated after infarct. BDNF represents a potential treatment of asphyxia and other acute perinatal lesions [8].

Likewise, recent studies confirm that transitory ischemia intensified the expression of BDNF gene both in hippocampus and cerebral cortex. That was mediated through receptors of glutamate of NMDA and non-NMDA type [30]. Another study shows that the prevention of neural death with BDNF after cerebral ischemia is associated with the increase of expression of its specific receptor Trk-B [9]. BDNF is widely spread in CNS and presents in vitro trophic effects on diverse type of cells including cortical neurons, hippocampal neurons, cerebellum neurons, etc. In vivo, BDNF rescues motoneurons, hippocampal neurons and dopaminergic cells of

substantia nigra from traumatic and toxic lesions. The intraventricular pre treatment with BDNF reduced the dimension of infarct after focal cerebral ischemia. BDNF has a neuroprotective role in ischemic cerebral vascular accidents [27].

In our study we noted low levels of BDNF in serum of children that suffered from perinatal hypoxic-ischemic lesions of II and III grades. This datum has a huge value for the prognosis of delayed neurologic after effects.

Several experimental studies argue that the administration of an excess of neurotrophic factors protect sensible cerebral tissues. The treatment of animals with neurotrophic factors before and 90 minutes following the transitory ischemia reduced effectively the volume and infarct area without affecting regional cerebral blood flow in comparison to control group or the group with untreated animals. Thus, it appears that neurotrophic factors exert a strong neuroprotective effect from ischemic cerebral lesions [2, 10, 12, 25].

An alternative explication is that beneficial BDNF effects are due to amelioration of excitotoxicity [21, 31]. The antagonists of glutamate receptors reduce the volume of infarct [19, 21, 25].

There were studies on rats concerning the efficiency of growth factors in recuperation of neurologic deficiencies after cerebral infarcts. In this case, growth factors were administrated several days after the occurrence of ischemia. In these, studies, they didn't have the intention to reduce the infarct volume but to intensify neurologic retrieval. In rats, there exist certain proofs that focal cerebral infarction is followed by neuronal budding and formation of new synapses in neighbourhood of the infarct, in the same hemisphere and in homolog regions from collateral hemisphere [11, 16, 33].

This budding and formation of new synapses may represent a neurologic retrieval mechanism after focal infarction [21].

These observations have led to the hypothesis that the administration of exogenous growth factors, that intensify the budding of axons and dendrites, could intensify the functional retrieval after cerebral ischemia [21].

Neuronal plasticity represents an adaptability of nervous system to diverse lesions through the structural and functional reorganization in white and grey matter [7, 15, 21].

In order to optimize the process of recovery it is important to apply techniques of stimulation of neuroplasticity.

Growth factors represent a citoprotective treatment to limit the expansion of infarct's volume if they are administered in the first hours following the accident, and facilitate the functional recovery if they are administered in the first month after the accident [21].

Number of studies on models with animals suffering from cerebral hypoxia and/or ischemia confirms the neuroprotective and neuromodulator role of Cerebrolysine in treatment of cerebral ischemia. Cerebrolysine has certain effect on different species of animals: diminishes the mortality induced by cerebral ischemia to 50% [27]; prevents the formation of citotoxic edema [27]; protects pyramidal cells from ischemia induced lesions [28]; prevents the formation of free radicals during reperfusion after cerebral ischemia [28]; diminishes essentially the concentration of lactate in brain hereby suggesting a protective effect during hypoxic-ischemic episodes [21]; assures the survival and promotes the differentiation of neurons in the same way as natural neurotrophic factors [21]; it has a dose-dependent effect preventing the death of neurons induced by high concentrations of glutamate [12]; the treatment with Cerebrolysine determines a statistically important amelioration at the Barolin Scale of Neurorehabilitation in the first 7 days. This finding is extremely important because of the introduction of „therapeutic window” in the treatment of cerebral hypoxi-ischemia [21].

Thus, administered neurotrophic remedies would contribute to recovery of nrps and mt acquisitions at children with neurologic problems. Neurotrophins are the remedies which would be successful in this area.

CONCLUSIONS

- BDNF has a protective role in cerebral lesions induced by hypoxi-ischemia. It is a neurotrophin with important qualities of encouraging of growth, processes of myelinisation, re-organization and restructuration of cerebral tissue neurons.
- The mechanisms of neuroregeneration are more developed in children with neurologic problems. One of the premises concerning the neuroregenerative mechanism evoked by

lesion consists in the fact that injured cells induce the liberation of neurotrophic factors to stimulate neurogenesis.

- We have studied the effects of BDNF on CNS neurons. We suggest that BDNF encourages axonal survival and regeneration, the maturation and maintenance of CNS neurons, when the latest are affected by hypoxi-ischemia. The high level of BDNF protects the brain from destruction, upholds the survival and differentiation of neurons.
- Different-grade motor and neuropsychical disabilities would correlate with low BDNF levels in serum, lower than 720 pg/ml, and that represents a marker of retard in nrps and mt development of children with hypoxic-ischemic lesions of the CNS. Neurotrophic processes decompensate and cortical neurons are not protected from destruction when BDNF levels are very low. In this case, the low level of neurotrophic factor is not sufficient to maintain the processes of neurotrophicity and neuroregeneration.
- Thus, the processes of destruction prevail on those of neuroregeneration in children with advanced grade of hypoxi-ischemia. Serum BDNF levels were significantly lower in children with motor disorders (aged 1-3 years) in comparison to controls. This could suggest a delayed increase of BDNF levels during those children's development.
- Thus, low BDNF levels are negatively correlated with the severity of motor disorders. This could indicate the role of BDNF in motor neurons' plasticity, developmental and maintenance processes of the brain.
- Our data confirm the role of BDNF on the child's psychological development (it contributes to nerve fibers maturation language, behavior and emotional centers).
- We suggest that low levels of BDNF influence the synaptic plasticity and the interaction between neural and glial cells, thereby playing a decisive role in the complex child's behavior including language acquisition, cognition, affect etc.
- BDNF studies could have an important implication in the comprehension of psycho-developmental disorders, as well as

in the treatment of neuro-developmental disorders. The administration of exogenous neurotrophic factors before the apparition of modifications induced by cerebral lesions, during the first minutes or hours following the

apparition of cerebral hypoxic-ischemic injury could ameliorate the neurologic after effects and diminish the motor and neuropsychical handicap.

BIBLIOGRAFIE / BIBLIOGRAPHY

1. Arai S. et al. Induction of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and the receptor t.r.k.B.m.R.N.A. following middle cerebral artery occlusion in rat. *Neuroscience Letters*; 1996, 211 (1): pp. 57-60.
2. Arien-Zakay H. et al. Neuroprotection by cord blood neural progenitors involves antioxidants, neurotrophic and angiogenic factors. *Exp Neurol*. 2008, Nov. 25.
3. Bartha A.I., Foster-Barber A., Miller S.P. et al. Neonatal encephalopathy: association of cytokines with MR spectroscopy and outcome. *Pediatr. Res.*; 2004, pp. 56:960.
4. Borg E. et al. Perinatal asphyxia, hypoxia, ischemia and hearing loss. An overview. *Scandinavian Audiology*; 1997, V.26, Nr.2, pp.77-91.
5. Kokaia Z. et al. Regional brain-derived neurotrophic factor in RNA and protein levels following transient forebrain ischemia in the rat. *Brain Research. Molecular Brain Research*. 1996, 38 (1): pp. 139-44.
6. Cowan F., Rutherford M., Groenendaal F. et al. Origin and timing of brain lesions in term infants with neonatal encephalopathy. *Lancet*; 2003, pp. 361:736.
7. Chu T.H. et al. Implantation of Neurotrophic Factor-Treated Sensory Nerve Graft Enhances Survival and Axonal Regeneration of Motoneurons After Spinal Root Avulsion. *JNeuropatholExpNeurol*. 2008, Dec. 19.
8. Cheng Y. et al. Marked age dependent neuroprotection by brain derived neurotrophic factor against neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *Annals of Neurology*. 41 (4): 521-9, 1997.
9. Ferrer I. et al. BDNF up-regulates Trk-B protein and prevent the death of CAI neurones following transient forebrain ischemia. *Brain Pathology*. 8 (2): 253-61, 1998.
10. Fumagalli F. et al. Neurotrophic factors in neurodegenerative disorders: potential for therapy. *CNS Drugs*. 2008; 22(12):1005-19.
11. Hossmann A. K. et al. Effect of BDNF and CNTF treatment on infarct volume after middle cerebral artery occlusion of rat: relationship to apoptotic cell injury. J. Krieglstein (Ed) *Pharmacology of Cerebral Ischemia*. 1998, p. 361-370.
12. Hutter-Paier et al. Death of cultured telencephalon neurones induced by glutamate is reduced by the peptide derivative cerebrolysin. *J. Neural Transm.* 1996 [Supl.] 47: 267-273.
13. Ilciuc I., Gherman D., Gavriluc M. "Encefalopatia toxi-infecțioasă la copii". Chișinău, 1996, 183 p.
14. Jungbluth S. et al. Co-ordination of early neural tube development by BDNF /Trk-B Development. 124 (10): 1877 – 85, 1997.
15. Kidane A.H. et al. Differential Neuroendocrine Expression of Multiple Brain-Derived Neurotrophic Factor Transcripts. *Endocrinology*. 2008, Nov. 13.
16. Kokaia Z. et al. Regional brain-derived neurotrophic factor in RNA and protein levels following transient forebrain ischemia in the rat. *Brain Research. Molecular Brain Research*. 1996, 38 (1): pp. 139-44.
17. Korhonen et al. Brain derived neurotrophic factor is increased in cerebrospinal fluid of children suffering from asphyxia. *Neuroscience Letters*. 240 (3): 151-4, 1998.
18. Li Z.K. et al. Effects of androgen on the expression of brain aromatase cytopigment and nerve growth factor in neonatal rats with hypoxic-ischemic brain damage. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*. 2008, Aug.10(4):441-6.
19. Mattson M.P. Glutamate and neurotrophic factors in neuronal plasticity and disease. *Ann N.Y., Acad Sci*. 2008 Nov; pp.1144:97-112.
20. McDonald D.G., Kelehan P., McMenamin J.B. et al. Placental fetal thrombotic vasculopathy is associated with neonatal encephalopathy. *Hum. Pathol*; 2004, p. 35.
21. Mureșanu D.F. *Factorii neurotrofici*. București: Libripres; 2001, pp.
22. Novicov L. et al. Brain-derived neurotrophic factor promoted axonal regeneration and long-term survival of adult rat spinal motoneurons in vivo. *Neuroscience*. 79 (3): 765-74, 1997.
23. Popescu V. *Neurologie pediatrică*. București, 2004, pp. 445-498.
24. Redline R.W. Severe fetal placental vascular lesions in term infants with neurologic impairment. *Am J. Obstet. Gynecol.*; 2005, pp. 192:452.

25. Reyes J.H. et al. Glutamatergic neuronal differentiation of mouse embryonic stem cells after transient expression of neurogenin 1 and treatment with BDNF and GDNF: in vitro and in vivo studies. *J. Neurosci.* 2008, Nov. 26; 28(48):12622-31.
26. Samsonava ., Bobrova E. et al. Dinamica producției neurotroficeschih factorov u detiei v rannem vostanovitelinom periode perinatalinih ghipoxiceschih porajenii golovnogogo mozga. *Iaroslavli*; 2006, pp. 212-215.
27. Schwab M. Physiological effect and brain protection by hypothermia and cerebrolysin after moderate fore-brain ischemia in rats. *Txicol. Pathol.* 1997, 49: 105-6.
28. Sugita V. The protective effect of FPF 1070 (cerebrolysin) on delayed neuronal death in the gerbil – detection of hydroxyl radicals with salicylic acid. *Brain and Nerve.* 1993, 45; 325-601.
29. Tang S., Machaalani R., Waters K.A. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and TrkB in the piglet brainstem after post-natal nicotine and intermittent hypercapnic hypoxia. *Brain Res.* 2008, Sep. 26;1232:195-205.
30. Tsukahara T. et al. Increases in levels of brain-derived neurotrophic factor mRNA and its promoted after transient forebrain ischemia in the rat brain. *Neurochemistry International.* 33 (2): 201-7, 1998.
31. Volpe M. D. *Neurology of the Newborn.* Second edition; W.B. Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto, Mexico City, Rio de Janeiro, Sydney, Tokyo, Hong Kong, 1987, V.22, pp.159-236.
32. Wu Y.W., Backstrand K.H., Zhao S. et al. Declining diagnosis of birth asphyxia in California: 1991-2000; *Pediatrics*, 2004, pp. 114:1584.
33. Yamashita K. et al. Post-occlusion treatment with BDNF reduced infarct size in a model of permanent occlusion in the middle cerebral artery in rat. *Metabolic Brain Disease.* 12 (4): 271-80, 1997.
34. Yan Q. et al. Expression of brain-derived neurotrophic factor protein in the adult rat central nervous system. *Neuroscience*; 1997; 78 (2): pp. 431-48.
35. Yoshimura R., Ito K., Endo Y. Differentiation/maturation of neuropeptide Y neurons in the corpus callosum is promoted by brain-derived neurotrophic factor in mouse brain slice cultures. *Neurosci Lett.* 2008, Dec. 16.