

ROLUL FACTORULUI NEUROTROFIC (BDNF) ÎN REMEDIEREA LEZIUNILOR HIPOXICO-ISCHEMICE PERINATALE

Svetlana Hadjiu¹

REZUMAT

În studiu am apreciat nivelul factorului neurotrofic derivat din creier (BDNF) în ser la copiii cu leziuni hipoxico-ischemice perinatale (EHIP) de diferit grad în perioada acută și de recuperare. Nivelul înalt de BDNF protejează creierul de distrucție, susține supraviețuirea și diferențierea neuronilor. Nivelul scăzut de BDNF din serul nou-născutului cu EHIP constituie un criteriu obiectiv de prognostic al dezabilităților neuropsihice și motorii. În EHIP de grad sever procesele de neurogeneză se decompensează și neuronii corticali nu sunt protejați de distrucție. Nivelul scăzut de factor neurotrofic, în acest caz, nu este suficient pentru a menține la nivel procesele de neurotroficitate și neuroregenerare. Administrarea unui exces de factori neurotrofici protejează țesuturile cerebrale sensibile contra leziunilor hipoxico-ischemice.

Cuvinte cheie: creier, factor neurotrofic derivat din creier (BDNF), leziuni hipoxico-ischemice perinatale (EHIP), copii

ACTUALITATEA TEMEI

În structura invalidizării copiilor din RM, patologia neuro-psihică (nrps) ocupă valorile de vârf. Encefalopatia hipoxico-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% din nou-născuții (n.n) la termen prezintă hipoxie în cursul nașterii sau cu puțin timp înainte de naștere [23].

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, blocați 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, 21, 23, 26].

¹Conf. Dr., Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova

Adresă corespondență:
Svetlana Hadjiu, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova

¹Neuropediatrics, State University of Medicine and Pharmacology “Nicolae Testemitanu”, Chisinau, Moldova Republic

Correspondence address:
Svetlana Hadjiu, State University of Medicine and Pharmacology “Nicolae Testemitanu”, Chisinau, Moldova Republic

În prezent, multiple cercetări confirmă rolul factorilor neurotrofici în menținerea troficității neuronale în hipoxi-ischemiile 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 avangarda cercetărilor științifice fundamentale din domeniul neurobiologiei. Rezultatele experimentale pe animale și culturi de celule au demonstrat că acești factori au efecte miraculoase, cu perspective de aplicare terapeutică, în viitorul apropiat [21].

Acest studiu va prezenta o importantă valoare științifică prin actualitatea direcției abordate, cât și perspective terapeutice și profilactice pentru patologia neurologică la copil. Medicii practicieni vor pune în aplicare rezultatele obținute, vizualizând mai clar mecanismele lezionale ale EHIP.

OBIECTIVELE LUCRĂRII

Determinarea nivelului BDNF (factor neurotrofic derivat din creier) din ser la copiii cu leziuni hipoxico-ischemice perinatale de diferite grade în perioada acută și de recuperare. Studiul va confirma rolul neuroprotector, neurotrofic, neuroregenerator, neurometabolic, cât și perspectivele profilactice și terapeutice ale BDNF.

MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE

Au fost investigați 182 copii, cu vârsta între 7 zile și 12 luni (lot de studiu - lt.st.), care au suportat leziuni hipoxico-ischemice perinatale (EHIP) ale SNC

de diferit grad (gr.). Repartiția în subloturi (sbl.), în relație cu vârsta și diagnosticul clinic: 7 zile – 1 lună (nr. 46) copii cu EHIP perioada acută (EHIP gr. I / sbl.I - nr. 16, EHIP gr. II / sbl.II - nr. 15, EHIP gr. III / sbl. III - nr. 15); 1 – 3 luni (nr. 46) cu dereglări de tonus muscular (DTM) și nrps (gr. I / sbl.I - nr. 16, gr. II / sbl. II - nr. 15, gr. III / sbl.III - nr. 15); 3 – 6 luni (nr. 45) cu DTM și nrps (gr. I / sbl.I - nr. 15, gr. II / sbl.II - nr. 15, gr. III / sbl.III - nr. 15); 6 – 12 luni (nr. 45) cu DTM și nrps (gr. I / sbl.I - nr. 15, gr. II / sbl.II - nr. 15, gr. III / sbl.III - nr. 15). Copiii între 1 – 12 luni (perioada de recuperare) au prezentat DTM și nrps, consecință a EHIP. 60 copii sănătoși au constituit lotul martor (lt. mt.).

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

Examenle clinice, funcționale și de laborator au fost efectuate la copiii din ambele loturi, în conformitate cu scopul și sarcinile propuse. La copiii între 7 zile și 12 luni a fost evaluat statutul neurologic cu periodicitatea de 3 luni. Pentru stabilirea dinamicii achizițiilor nrps și motorii (mt.) a fost colectată anamneza. Au fost apreciate 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. Achiziționarea performanțelor corespunzătoare vârstei a fost apreciată cu 4 puncte (pt.); deficitul performanțelor de gr. I – 3 pt., gr. II – 2 pt., gr. III – 1 pt. Evaluarea avea ca scop evidențierea semnelor neurologice de alertă, nivelului de maturare al SNC și riscului de dezvoltare al sechelelor neurologice la copiii care au suportat EHIP.

S-a efectuat NSG transfontanelară, EEG și TC creierului în dinamica primului an de viață.

A fost studiată plasma și nivelele BDNF din ser la copiii din ambele loturi. Examenul de laborator s-a efectuat la analizatorul imunologic STAT FAX-303 prin metoda de analiză imunoenzimatică (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

Documentarea 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 gravidică (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, extractia dificilă, s-au întâlnit în 37% din cazuri. În lt. mt. frecvența precedentelor peri și intrapartum s-au întâlnit doar în 2% (p<0,01).

De asemenea, patologia fetală poate fi un factor provocator de suferință lezională hipoxico-ischemică. La copiii din lt.st. s-a întâlnit: 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.ct. (4%). Simptome neurologice la copiii din lt. st. s-au menținut pe parcursul primelor 2-4 săptămâni de viață (vezi *tab. 1*):

Tabelul 1. Simptomele EHIP în perioada acută la copiii din lt.st.

Simptomele	EHIP (lt.st. – 46 copii)					
	sbl. I, nr. 16		sbl. II, nr. 15		sbl. III, nr. 15	
		%		%		%
Hiperexcitabilitate	+	98	-	-	-	-
Reflexe tranzitorii	prezente	96	deprimare	97	inhibate	100
ROT	exagerate	96	deprimare	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	peste 1 săptămână	96

Manifestările clinice la copiii cu EHIP se ameliorau către vârsta de 2 săptămâni-1 lună, dependent de gravitatea lezională a hipoxico-ischemiei cerebrale. În formele grave ale EHIP funcțiile cerebrale rămâneau 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 al 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. Rf de dezvoltare au o semnificație clinică majoră în aprecierea nivelului de maturare al SNC, în multe cazuri prezentând o valoare localizatoare a leziunii. Rf pozitiv la vârsta corespunzătoare se nota cu 4 pt., rf prezent la termenul la care ar trebui să dispară – 3 pt., prezent timp de 3 luni după termenul la care ar trebui să dispară – 2 pt., prezent peste 6 luni – 1 pt. O semnificație de mare valoare prezenta răspunsul patologic a trei rf primitive, pentru prognosticul unui deficit nrps și mt. important. Au fost evaluate achizițiile 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 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, sugera idea despre o suferință neurologică severă, respectiv, despre reținerea procesului de maturare al SNC. Copiii care au suportat EHIP gr.II prezentau în 4% din cazuri și gr.III – în 38%: DTM, anomalii ale reflexelor de dezvoltare, neachiziționarea performanțelor nrps și mt la vârsta fiziologică. S-a constatat, că indicii

privind dezvoltarea nrps și mt. în sbl.I la sfârșitul perioadei de recuperare erau scăzuți ne semnificativ comparativ cu lt.mt. ($p < 0,01$). Indicii cei mai scăzuți se apreciau în sbl. EHIP-II ($p < 0,05$) și -III ($p < 0,1$), comparativ cu lt.mt.

Studiile contemporane confirmă rolul neuroprotector al factorilor neurotrofici asupra celulelor SNC și periferic. În studiul prezent am apreciat nivelele *BDNF* în ser la copiii cu diverse grade de afectare ale creierului în EHIP. Rezultatele primite sunt expuse în *Tabelul 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 6-12 luni), valoarea minimă – 989 pg/ml (la n.n), iar cea maximă – 1021,7 pg/ml (între 6-12 luni). Pragul de semnificație în acest sbl. avea valori stabile care au crescut ne semnificativ, 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 (vezi *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 6-12 luni), nivelul minim constituind 919,2 pg/ml (n.n), iar cel maxim 991,2 pg/ml (6-12 luni). Pragul de semnificație în acest sbl. de pacienți constituie $p < 0,05$, $p < 0,1$. Nivelul *BDNF* în sbl.I (6-12 luni) a crescut cu 2,7% 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 statistic semnificativă dintre nivelul minim și maxim la vârsta de n.n constituia $\pm 26,4$ pg/ml, iar la vârsta între 6-12 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% (vezi *tab. 2*).

Tabelul 2. Nivelul *BDNF* în ser la copiii cu EHIP de diferit grad, la diferite vârste, M+m

Vârsta copilului	Forma nozologică a bolii			
	Lot control, nr. 12	Lot studiu – sbl. I, nr. 14	Lot studiu – sbl. II, nr. 13	Lot studiu – sbl. III, nr. 14
Nivelul seric al <i>BDNF</i> , pg/ml				
7 zile – 1 lună	1001,8+12,8*	945,6+26,4***	863,1+41,8***	724,7+63,5***
1 – 3 luni	1005,9+9,8*	972,5+17,2**	882,9+48,7***	764,5+46,6***
3 – 6 luni	1007,2+7,3*	972,5+18,4**	886,5+51,6***	785,4+49,9***
6 – 12 luni	1011,9+9,8*	973,4+18,7**	879,8+52,8***	788,9+54,7***

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

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% din copiii. Nivelul BDNF la copiii sub 12 luni a crescut apropiindu-se de indicii copiilor din lt.mt. S-a constatat o ameliorare rapidă a traseelor EEG și interpretărilor imagistice. Dereglările neurologice la copiii cu nivele de BDNF scăzute ne semnificativ au fost tip funcțional. La copiii din sbl. I, care au prezentat în dinamică dereglări neurologice și lt.mt, s-a stabilit o variație statistic semnificativă dintre nivelele medii ale BDNF ($p < 0,01$). În sbl. I, către vârsta de 1 an, sechelele neurologice au fost minore. La acești copii sindromul neurologic s-a ameliorat rapid după administrarea neuroprotectorilor la etape precoce.

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 6-12 luni), nivelul minim fiind 821,3 pg/ml (n.n), iar cel maxim – 932,6 pg/ml (6-12 luni). În sbl.II pragul de semnificație al nivelelor 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 statistic semnificativă dintre nivelul minim și maxim la vârsta de n.n în sbl.II a constituit $\pm 41,8$ pg/ml, iar la 6-12 luni $\pm 52,8$ pg/ml. BDNF avea valori maxime în 72,2% din copiii sbl.II către vârsta de 12 luni, în 24,8% - nivele medii și 4% - nivele minime (vezi tab. 2). Astfel, la 24,8% din copii (sbl.II) apărea un risc crescut de reținere în dezvoltarea nrps și mt., în 4% acesta fiind important. La 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 al 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 statistic semnificativă dintre nivelele 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 nivele maxime de BDNF în ser. La fel, la acești copii, s-a constatat o rapidă rezoluție a anomaliilor NSG și EEG, cea ce se traduce printr-o evoluție favorabilă a neurodezvoltării. Sindroame neurologice de grad mediu și grav s-au dezvoltat la copiii cu nivele 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 luni la copiii din sbl.I și II comparativ cu lt.mt. Aceasta explică, că BDNF are rol de neuroprotecție, prin accelerarea proceselor de mielinizare, reorganizare și structurare a neuronilor țesutului cerebral, în leziunile induse de hipoxico-ischemice. Deci, procesele de neuroregenerare sunt mai puternic dezvoltate la copiii cu probleme neurologice.

Nivelul mediu al BDNF era mult mai scăzut în sbl.III comparativ cu lt.mt., variațiile constituiau între 724,7 pg/ml (la n.n) și 788,9 pg/ml (între 6-12 luni); cu nivel minim 661,2 pg/ml (la n.n) și maxim 743,6 pg/ml (între 6-12 luni). Pragul de semnificație în sbl. III a constituit $p < 0,1$ (vezi 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 statistic semnificativă dintre nivelul minim și maxim la n.n din acest sbl. constituia $\pm 63,5$ 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% din copiii sbl.III. 60% din copiii acestui sbl. aveau un risc crescut de dezvoltare a retardului nrps și mt. Dezabilitățile nrps și mt. în sbl.III s-au diagnosticat în 78%, 48% dintre acestea fiind grave. Nivelul de dezvoltare nrps și mt. în acest sbl. a fost apreciat conform Scalei 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 luni. Nivele 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 nivelele 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 nivele minime de BDNF.

Anterior, s-a 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 neurotro-

fici pentru încurajarea regenerării epiteliului olfactiv traumat” [20]. Dar, probabil, atunci când nivelele de BDNF sunt foarte scăzute, procesele neurotrofice se decompensează și neuronii corticali nu mai sunt protejați. Nivelul scăzut de factor neurotrofic, 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 substanță albă și cenușie. Astfel, la copiii cu grad avansat de hipoxi-ischemie, procesele de distrucție predomină asupra proceselor de neuroregenerare. 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.

Nivele joase de BDNF frecvent s-au apreciat (date statistic veridice) la copiii cu forme severe de EHIP, care deseori se asociază cu dereglări de conștiință, manifestări convulsive, tulburări ale tonusului muscular și reflexelor. De asemenea, nivele scăzute de BDNF, s-au stabilit și la n.n cu trasee EEG patologice (o marcată diminuare a amplitudinii și frecvenței undelor) și cu date neuroimagistice atribuite hipoxi-ischemiilor cerebrale (creșterea ecogenității țesutului cerebral, stază, edem, ischemii în țesutul nervos). Valorile joase ale BDNF confirmă prezența leziunilor severe ale țesutului cerebral către vârsta de 12 luni. Este știut că, BDNF dirijează procesele de neurogeneză, când BDNF scade acestea se decompensează. Studiul prezent confirmă că, BDNF este un marker important de suferință distructiv-lezională al țesutului cerebral. Astfel, în dependență de gradul de afectate al țesutului cerebral în leziunile hipoxico-ischemice, nivelul BDNF va fi diferit. Acesta crește semnificativ, dar în proporție diferită, către finele primului an de viață. La copiii din lt.st. nivelul BDNF rămâne scăzut comparativ cu lt.mt. Nivele foarte joase se mențin la copiii cu deficit mt. sever și la cei cu crize epileptice repetate. Posibil, că reținerea sintezei factorilor neurotrofici ar fi unul din motivele cele mai importante care stopează procesele de maturare ale celulelor nervoase la copiii cu precedente hipoxico-ischemice perinatale. De asemenea, 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 este un indicator de prognostic nefavorabil.

A fost efectuată analiza comparativă a nivelelor 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 neurologice severe. Sinteza și secreția BDNF se micșorează important la copiii cu leziuni hipoxico-ischemice grave. Datorită nivelului scăzut de BDNF procesele de neuroprotecție și neuroregenerare se inhibă. O varietate de anomalii a factorilor neurotrofici pot însoți agresiunea hipoxico-ischemică. Aceasta contribuie la stoparea maturizării fibrelor nervoase și realizarea sechelelor neurologice grave. Probabilitatea dezvoltării sechelelor neurologice în EHIP-II este mai mică. Probabil, procesele de neuroprotecție la acești copii sunt compensate pe contul accelerării sintezei factorilor neurotrofici. BDNF, în acest caz, se concentrează maximal în ariile cerebrale afectate unde participă 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]. Posibil, că există o limită de jos al nivelului BDNF, după care procesele de neuroregenerare și neuroreglare sunt ireversibile. Deci, nivelul înalt de BDNF protejează creierul de distrucție, susține supraviețuirea și diferențierea neuronilor, mărește rezistența celulelor nervoase la leziunile induse de ischemie. Astfel, s-a stabilit o corelație bună între sechelele neurologice ale EHIP și concentrația în sânge a BDNF. De aceea, este cazul de a administra factorii neurotrofici exogeni până la apariția modificărilor lezionale cerebrale, adică în primele minute sau ore de apariție a leziunilor hipoxico-ischemice cerebrale.

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 în dependență de vârsta de gestație. Consecințele patologiei perinatale determină dereglările neurologice de bază la copiii de vârstă fragedă, ocupând primul loc printre 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 a nivelului de cunoștință, 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 natală și EHIP sunt responsabile de acestea. Dând aceasta, natura de bază a injuriei cerebrale cauzează deteriorarea neurologică la n.n, care este de obicei dificil înțeles. Patogeneza encefalopatiei neonatale este discutabilă oriunde [20, 23, 31]. Encefalopatia neonatală cauzează deteriorarea neurologică a n.n, care deseori duce la paralizie cerebrală (PC), ce constituie o povară grea pentru familie și societate [3, 4, 23].

N.n encefalopatic poate avea o stare de conștiință anormală (ex: hiperalert, iritabil, letargic, obtuz), cu dificultăți respiratorii și de alimentare, tonus scăzut sau activitate convulsivă. În camera de naștere, n.n, de obicei, manifestă un *Apgar score* scăzut și un plâns slab sau absent [23]. Multe din aceste simptome au fost observate la copii din subloturile de studiu.

Atingerea sistrului 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, de a cunoaște principalele reflexe ce țin de dezvoltarea nrps a copilului la diferite vârste. A fost elaborată o Scală depuncte pentru aprecierea nivelului de dezvoltare nrps și mt. a copiilor din lotul de studiu.

Diagnoza de encefalopatie neonatală impune cercetări spre etiologii potențiale. O examinare evidentă și histologică a placentei și a cordului poate să furnizeze dovezi de posibile cazuri, cum ar fi 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, infecțiile materne, sau folosirea drogurilor materne. 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 hipoxico-ischemic global [23, 31].

Neuroimagingistica a devenit mult mai importantă în evaluarea encefalopatiei neonatale și poate furniza informații privitor la tipul și sincronizarea leziunii cerebrale [4, 23]. De exemplu, câteva patternuri de leziune cerebrală au fost observate la n.n la termen și

premature, care sunt considerați a fi cu leziune hipoxico-ischemică cerebrală tipică, dar nu în toate cazurile de afectare hipoxico-ischemică. TC este responsabilă de un diagnostic cert în termeni precoce [23].

Creierul copilului mic este un obiect de studiu. 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 copii 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 care au suportat o leziune perinatală hipoxico-ischemică cerebrală este determinată de realizările contemporane din domeniul neurochimiei, legate 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 al 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 senzitivi, 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 [21].

BDNF este neurotrofină 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, 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 grupuri de cercetări au demonstrat că infuzia intraventriculo-cerebrală de BDNF la șobolani și maimuță poate preveni atrofia și pierderea markerilor fenotipici a 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 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 [21]. Alt studiu apărut mai târziu a relatat că nivelele 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 2-24h, în timp ce animalele cu leziuni în striat nu au prezentat această modificare. După 2-24h 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. Nivelele proteinei BDNF au crescut la 133-213% după 2h în girusul cingular și cortexul frontal și au scăzut la 40%, după 24h în striat. Astfel, s-a constatat o creștere a proteinei BDNF la 2h după ischemie. Reducerea BDNF după 24h 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 începând la scurt timp după ocluzia arterei cerebrale mijlocii (la șobolan) și a fost continuată 24 h, după care s-a determinat volumul infarctului, în comparație cu martorii la care s-a infuzat numai vehicul. S-a constatat o reducere cu 33% a suprafeței infarctului [33].

Alte studii pe animale au constatat că BDNF are un efect de contracarare a leziunilor neuronale determinate de asfixie [17]. În leziunile hipoxico-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 fosforolare viguroasă a receptorilor Trk (responsabili de BDNF) în multiple regiuni ale creierului la șobolan din ziua postnatală 7. Astfel, BDNF protejează marcat creierul șobolanului împotriva leziunilor hipoxico-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 numeroase tipuri de celule inclusiv neuronii corticali, hipocampali, cerebeloși etc. *In vivo* BDNF salvează motoneuronii, neuronii hipocampali și celulele dopaminergice din substanța nigra împotriva leziunilor traumatiche și toxice. Pretatamentul cu BDNF intraventricular a redus dimensiunea infarctului după ischemie cerebrală focală. BDNF are un rol neuroprotector în accidentele vasculare cerebrale ischemice [27].

În studiul nostru s-a confirmat că, copiii care au suportat leziuni hipoxico-ischemice perinatale ale creierului de gradul II și III prezentau nivele scăzute al BDNF din ser. Aceste date sunt de mare valoare pentru prognosticul la timp al sechelelor neurologice la distanță.

În unul din studii se scrie, „Găsirea unei terapii efective de tratare a bolilor neurodegenerative cronice mai reprezintă încă un scop neatins, în mare parte din cauza multitudinii de variabile caracteristice ale acestor boli. Recent, atenția a căzut asupra rolului factorilor neurotrofici în etiologia acestor boli din cauza rolului lor de supraviețuire a diferitor fenotipuri celulare sub variate condiții adverse, incluzând neurodegenerarea. Acest articol sumează statutul curent și eforturile de tratare a bolilor neurodegenerative prin intermediul administrării exogene a factorilor neurotrofici cu scop de încercare de a reproviziona stocul

trofic, insuficiența căruia poate contribui la dezvoltarea maladiei. Deși s-au observat rezultate promițătoare în modelele animale, această cale mai întâlnește probleme de discordanță și adesea de neînving atunci când se ajunge la aplicarea clinică, probabil din cauza naturii unice a ființei umane” [10]

Dezvoltarea sistemului nervos este însoțită de un proces complicat de comutare consecutivă a sensibilității către neurotrofine în populații determinate de neuroni. Posibil că, acest sistem complicat necesită să fie reglat nu numai, și nu atât la nivel de inducție al semnalului (adică la nivel de producție a neurotrofinelor), cât și la nivel de percepție al acestui semnal de către neuroni (adică la nivel de producție a receptorilor pentru neurotrofine). Insuficiența de asigurare a troficității are rol important în dezvoltarea proceselor ischemice cerebrale. Nivelul neurotrofici-tății determină selecția alternativă dintre programele genetice de apoptoză și protecția antiapoptozică, care acționează asupra mecanismelor necrotice și ale proceselor reparative. În primele minute de ischemie, sinteza factorilor trofici și a receptorilor lor constituie reacția de protecție naturală a creierului. Cu expresia rapidă și activă a genelor, prin codarea neurotrofinelor (factorii de creștere), ischemia cerebrală poate timp îndelungat să nu producă schimbări infarctice. În caz de formare a leziunii ischemice nivelul înalt de factori trofici va asigura regresul dereglărilor neuropsihomotorii până și cu conservarea defectului morfologic, care l-a provocat.

Mai multe studii experimentale constată că, administrarea unui exces de factori neurotrofici protejează țesuturile cerebrale sensibile contra leziunilor. Tratatamentul animalelor cu factori neurotrofici înainte sau 90 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 neuro-protector 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].

BDNF poate să-și exercite efectul neuroprotector în ischemie și prin alte mecanisme, de exemplu: toxicitatea oxidului nitric. Există dovezi solide că inhibiția enzimei sintetaza oxidului nitric neuronală reduce volumul infarctului [21]. Astfel, BDNF inhibă expri-

marea enzimei sintetaza oxidului nitric neuronală și susține supraviețuirea neuronilor după avulsia rădăcinii ventrale [22]. Există și posibilitatea că BDNF să crească debutul sangvin local. Deși, efectele hemodinamice ale BDNF nu au fost investigate [21]. Însă, este clar, că BDNF are efecte terapeutice marcate în infarctul cerebral [11].

Au fost efectuate studii pe șobolani privind eficiența factorilor de creștere în recuperarea deficitelor neurologice după infarctele cerebrale. În acest caz, 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 infarctarea 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 infarctarea 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 substanță albă și cenușie. [7, 15, 21].

Potențialul de a facilita refacerea neurologică prin manipularea adaptabilității biologice a creierului și a măduvei spinării a devenit un fapt evident pentru practica clinică. Condiția cea mai favorabilă este: utilizarea tuturor mijloacelor de reducere a impactului condițiilor dizabilitante și handicapante și oferirea posibilităților integrării optime în societate a persoanelor cu dizabilități [7]. Pentru a optimiza procesul de refacere este important de a aplica tehnici de stimulare a neuroplasticității.

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: sca-

de mortalitatea după ischemie 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 ischemie 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]; tratamentul cu Cerebrolysin 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, remediile neurotrofice administrate vor contribui la ameliorarea achizițiilor nrps și mt. la copiii cu probleme neurologice. Neurotrofinele sunt remediile care ar avea succese în acest domeniu.

CONCLUZII

În leziunile cerebrale, induse de hipoxi-ischemie, BDNF are rol de neuroprotecție. BDNF este o neurotrofină cu importante proprietăți de încurajare a creșterii neuronale, a proceselor de mielinizare, reorganizare și structurare 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. Am studiat efectul purtat de BDNF asupra neuronilor din SNC. Sugerăm că BDNF incurajează supraviețuirea și regenerarea axonală, maturația și menținerea neuronilor din SNC, când aceștia sunt afectați de hipoxi-ischemie. Nivelul înalt de BDNF protejează creierul de distrucție, susține supraviețuirea și diferențierea neuronilor. Dizabilitățile neuropsihice și motorii de diferite grade vor corela cu nivele scăzute de BDNF din ser. BDNF, mai jos de 720 pg/ml, reprezintă un marker de reținere în dezvoltarea nrps și mt. la copiii cu leziuni hipoxico-ischemice ale SNC. Când nivelele BDNF sunt foarte joase, procesele neurotrofice se decompensează și neuronii corticali nu sunt protejați de distrucție. Nivelul scăzut de factor neurotrofic, în acest caz, nu este suficient pentru a menține la nivel procesele de neurotroficitate și neuroregenerare. Astfel, la copiii cu grad avansat de hipoxi-ischemie, procesele de distrucție predomină asupra proceselor de neuroregenerare. Căutarea unei terapii eficiente de tratare a leziunilor hipoxico-ischemice perinatale ale SNC mai reprezintă încă un scop neatins, în mare parte din cauză variabilității simptomelor clinice ale EHIP. Administrarea factorilor neurotrofici exogeni, până la apariția modificărilor lezionale cerebrale, în primele minute sau ore de apariție a injuriei hipoxico-ischemice cerebrale poate contribui la ameliorarea sechelelor neurologice și la scăderea handicapului neuropsihic și motor.