

**MINISTERUL SĂNĂTĂȚII, MUNCII ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AL REPUBLICII MOLDOVA
UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„NICOLAE TESTEMIȚANU”**

Cu titlu de manuscris

CZU: 616.831-005.4:615.847.8(043.2)

GASNAȘ ALEXANDRU

**NEUROPLASTICITATEA INDUSĂ PRIN STIMULAREA
MAGNETICĂ TRANSCRANIANĂ LA SUBIECȚII CU
ACCIDENT VASCULAR CEREBRAL ISCHEMIC**

321.05 – NEUROLOGIE CLINICĂ

Rezumatul tezei de doctor în științe medicale

CHIȘINĂU, 2019

Teza a fost elaborată la Catedra de neurologie nr.2 a IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

Conducător științific:

Groppa Stanislav, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar, academician al AȘM

Referenți oficiali:

Lupescu Tudor, doctor în științe medicale, București, România

Manole Elena, doctor în științe medicale, conferențiar universitar

Componența consiliului științific specializat:

Gavriliuc Mihail, președinte, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

Zota Eremei, secretar științific, doctor în științe medicale, conferențiar universitar

Lacusta Victor, membru, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar, academician al AȘM

Houlden Henry, membru, doctor în științe medicale, profesor universitar, Londra, Marea Britanie

Chelban Viorica, membru, MSc, Londra, Marea Britanie

Popovici Ion, membru, doctor habilitat în științe medicale, profesor cercetător

Sprâncean Mariana, membru, doctor în științe medicale, conferențiar universitar

Susținerea va avea loc la 20 noiembrie 2019, ora 14.00 în ședința Consiliului științific specializat D 321.05-80 Neurologie clinică din cadrul IP USMF „Nicolae Testemițanu”, bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, MD-2004.

Teza de doctor și rezumatul pot fi consultate la biblioteca IP USMF „Nicolae Testemițanu” și pe pagina web a ANACEC (www.cnaa.md, www.anacip.md).

Rezumatul a fost expediat la 19 octombrie 2019.

Secretar științific al Consiliului științific specializat,

Zota Eremei, doctor în științe medicale, conferențiar universitar _____

Conducător științific,

Groppa Stanislav, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar, academician al AȘM _____

Autor

Gasnaș Alexandru _____

CUPRINS

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII	4
1. ANALIZA SITUAȚIEI ÎN DOMENIUL MODIFICĂRILOR NEUROPLASTICE INDUSE DE ACCIDENTUL VASCULAR CEREBRAL ISCHEMIC.....	7
2. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE.....	11
2.1. Caracteristica generală a studiului: lotul de cercetare, etapele și designul cercetării	11
2.2. Metodologia aplicată în decursul cercetării.....	12
2.3. Metodologia aplicată pentru studiul genetic	13
2.4. Protocolul stimulării magnetice transcraniene (SMT) și înregistrarea potențialului evocat motor (PEM)	14
2.5. Metodele de evaluare statistică pentru aprecierea rezultatelor.....	14
3. ASOCIEREA POLIMORFISMULUI RS6265 AL GENEI BDNF CU ASPECTELE CLINICE ALE ACCIDENTULUI VASCULAR CEREBRAL ISCHEMIC, SUB INFLUENȚA STIMULĂRII MAGNETICE TRANSCRANIENE	15
3.1. Descrierea subiecților din lotul experimental și cel de control	15
3.2. Rezultatele investigațiilor paraclinice ale subiecților cu accident vascular cerebral .	17
3.3. Rezultatele investigațiilor genetice asupra polimorfismului rs6265 al genei umane BDNF a subiecților cu accident vascular cerebral	18
3.4. Rezultatele și dinamica subiecților cu accident vascular cerebral, conform scalelor de evaluare aplicate	19
3.5. Cercetarea corelațiilor dintre parametrii clinici și cei electrofiziologici la subiecții cu accident vascular cerebral.....	22
4. ANALIZA COMPARATIVĂ ȘI DISCUȚIILE ASUPRA REZULTATELOR CERCETĂRII.....	25
CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI	26
BIBLIOGRAFIE	27
LISTA PUBLICAȚIILOR AUTORULUI LA TEMA TEZEI	30
ADNOTARE.....	32
АННОТАЦИЯ.....	33
ANNOTATION.....	34

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea și importanța problemei abordate

Leziunile sistemului nervos central (SNC), inclusiv accidentul vascular cerebral (AVC), leziunile traumatice cerebrale și ale măduvei spinării cauzează pierderi funcționale ireversibile. AVC-ul afectează populații mari, provocând suferințe fizice și emoționale, atât pacienților, cât și familiilor acestora, implicând totodată costuri semnificative pentru societate. Leziunile apărute perturbă atât circuitele interne, cât și cele neuronale externe, implicate în funcții cognitive și în alte funcții superioare cruciale.

Organizația Mondială a Sănătății (OMS) definește AVC-ul drept ”o afecțiune caracterizată prin simptome și semne de dezvoltare rapidă a unei leziuni cerebrale focale, cu simptome care durează mai mult de 24 de ore sau care duc la deces, fără altă cauză aparentă, decât cea vasculară” (OMS, 1989).

AVC-ul este principala cauză globală de dizabilitate și a treia cea mai frecventă cauză de deces. Între 55% și 75% din subiecții care au suferit un AVC au limitări motorii funcționale prezente chiar și la 3-6 luni de la eveniment, ceea ce le afectează calitatea vieții de zi cu zi. Pareza, cauzată de deteriorarea rețelelor corticale motorii și a proiecțiilor acestora, este considerată o cauză majoră a dizabilității. Conform Centrului Național de Management în Sănătate, în Republica Moldova, pe parcursul anilor 2000-2014, s-a observat o creștere a incidenței și a prevalenței bolilor cerebrovasculare de la 20,4 în anul 2000 până la 26,82 în 2014, iar prevalența – de la 67,0 în anul 2000 până la 199,08 în 2014, raportate la 10.000 de locuitori [1].

AVC-ul este o problemă medicală și socială majoră atât în lume, cât și în Republica Moldova. Astfel devine evidentă necesitatea de a consolida toate eforturile în domeniul profilaxiei AVC și de a implementa noi strategii de tratament în faza acută, pentru a minimiza impactul asupra societății.

Descrierea situației și identificarea problemelor în domeniul de cercetare

Nu există în prezent agenți farmacologici aprobați care ar ajuta la restabilirea funcțiilor pierdute în urma AVC. Noile terapii au la bază înțelegerea modului de a evita mecanismele inhibitoare ce blochează regenerarea și de a amplifica plasticitatea neuronală.

În timpul și imediat după instalarea AVC, funcțiile neurologice asociate zonelor ischemice sunt pierdute. Recuperarea este cea mai proeminentă în primele 30 de zile, dar continuă timp de cel puțin șase luni, totuși cca 50% din pacienți rămân cu hemipareză, 30% nu pot merge, iar 26% rămân grav invalidizați. Recuperarea funcției depinde de conservarea rețelelor neuronale ce servesc ca substraturi pentru restabilirea funcțiilor pierdute ale creierului. În ultimele două decenii, au fost obținute progrese semnificative în înțelegerea mecanismelor plasticității cerebrale.

Există teste care pot furniza informații valoroase pentru evaluarea deficitului motor. Un exemplu este efectuarea potențialelor somatosenzoriale și motorii evocate – o metodă de evaluare a integrității căilor senzoriale și motorii ale sistemului nervos.

Dezvoltarea recentă a unei metode neinvazive – stimularea magnetică transcraniană (SMT) permite de a studia excitabilitatea cortexului motor și funcțiile căilor motorii descendente și de a modela mecanismele adaptive după diverse leziuni cerebrale, cum ar fi AVC-ul ischemic [2]. SMT repetitivă (SMTr) induce schimbări de durată în excitabilitatea corticală. Potențialul său terapeutic se explică prin stimularea repetitivă cu frecvență joasă (~1 Hz) a rețelei corticale, care induce o suprimare a transmisiei sinaptice excitatoare, pe când stimularea cu frecvență înaltă (frecvențe de 5-50 Hz), precum și forma intermitentă de stimulare teta-burst (iTBS), o pot potența.

Variațiile genetice pe de altă parte, explică o parte din fenomenele până acum inexplicabile în recuperarea leziunilor cerebrale. În ultimii ani, expresia și modularea genelor neurotrofice au fost postulate ca potențiali markeri de prognostic în neuroreabilitare [3]. O gamă largă de gene, incluzând factorul neurotrofic derivat din creier (BDNF), sunt implicate în modularea plasticității cerebrale. BDNF este cunoscut pentru faptul că joacă un rol-cheie în supraviețuirea, diferențierea, plasticitatea sinaptică și înmulțirea neuronilor periferici și centrali de-a lungul maturității.

Varianta rs6265, polimorfism cu un singur nucleotid (SNP) al genei BDNF, afectează secreția, activarea neuronală și efectul neuroplastic al BDNF, precum și funcțiile neurocognitive la om [4]. Ca rezultat survine o scădere a secreției de BDNF de până la 18-30%, comparativ cu lipsa polimorfismului, ceea ce a fost asociat cu scăderea plasticității corticale la persoanele sănătoase, precum și cu recuperarea mai lentă sau redusă după un AVC [5]. Până în prezent, faptul că subiecții cu sau fără polimorfismul dat ar avea un rezultat mai rău în reabilitarea după AVC rămâne contradictoriu, întrucât noile descoperiri indică că plasticitatea depinde și de topografia leziunii.

S-a demonstrat că SMTr induce creșterea secreției BDNF tranzitoriu după stimulare, prin acetilarea histonelor – mecanism potențial prin care stimularea neinvazivă a creierului induce modularea pe termen lung a excitabilității cerebrale. Totodată, s-a demonstrat că protocolul de SMTr cu frecvență joasă (1 Hz) reglează plasticitatea sinaptică a hipocampului prin calea BDNF–TrkB [6].

Având în vedere cele expuse mai sus, un studiu detaliat al influenței SMT asupra reabilitării pacienților cu AVC în perioada acută, în corelație cu polimorfismul rs6265 al genei BDNF, reprezintă un instrument eficient de optimizare a managementului terapeutic.

Scopul lucrării: studierea particularităților plasticității cerebrale și investigarea genei umane rs6265 BDNF la subiecții cu accident vascular cerebral ischemic în perioada acută, sub influența sau în absența stimulării magnetice transcraniene.

Obiectivele studiului:

1. Determinarea particularităților clinico-evolutive ale subiecților cu accident vascular cerebral ischemic în perioada acută.
2. Identificarea polimorfismului rs6265 la subiecții cu accident vascular cerebral ischemic, prin investigarea genei umane BDNF.
3. Evaluarea eficacității stimulării magnetice transcraniene în reabilitarea subiecților cu AVC ischemic în perioada acută.

4. Estimarea corelației dintre rezultatele stimulării magnetice transcraniene și polimorfismul rs6265 al genei umane BDNF în reabilitarea subiecților cu accident vascular cerebral ischemic în perioada acută.

5. Elaborarea patternului candidatului ideal eligibil pentru stimularea magnetică transcraniană în reabilitarea după AVC ischemic.

Noutatea științifică a rezultatelor cercetării constă în: a) aprecierea eficacității SMT în reabilitarea subiecților cu accident vascular cerebral ischemic în perioada acută și elaborarea criteriilor de selecție a candidaților ideali pentru modularea neinvazivă prin SMT în accidentul vascular cerebral ischemic; b) cercetarea expresiei genei umane BDNF la subiecții cu AVC, precum și a rolului polimorfismului rs6265 în reabilitarea acestora.

Problema științifică importantă soluționată: elucidarea evoluției clinice a subiecților care au suportat accident vascular cerebral ischemic prin intermediul unor markeri biologici, imagistici, funcționali și genetici sub influența stimulării magnetice transcraniene, fapt ce a condus la elaborarea unor criterii predictive pentru candidatul ideal eligibil pentru SMT, în vederea optimizării managementului terapeutic al subiecților cu AVC ischemic.

Importanța teoretică a cercetării

Studiul realizat a evaluat particularitățile clinico-evolutive ale subiecților cu AVC ischemic. Evaluarea neurologică a fost apreciată prin următoarele instrumente: examinarea minimală a stării mentale (MMSE), scala de incapacitate Barthel, scala de prognostic Orpington, scala mRS, NIHSS, testul de gradare a forței musculare (MRC), scala de evaluare a dexterității degetelor (9-HPT), precum și impresia clinică globală (Ebewe). Studiul a adus cunoștințe suplimentare privind evaluarea factorilor și a precondițiilor cu rol în reabilitarea subiecților după AVC ischemic, facilitând prognozarea individualizată a probabilității de recuperare.

Valoarea aplicativă a lucrării

Modelele predictive elaborate pot fi aplicate în practica medicală și impun o evaluare și o monitorizare foarte atentă a subiecților cu AVC, în cazul cărora se atestă cumularea mai multor factori predictivi. De asemenea, ele pot fi utilizate pentru identificarea timpurie a candidatului ideal pentru SMT, ceea ce va permite includerea acestei metode complementare de tratament în faza acută și în cea subacută a AVC în ghidurile și protocoalele instituționale și naționale.

Aprobarea rezultatelor obținute a fost realizată în corespundere cu etapele fundamentale ale studiului. Principalele rezultate au fost prezentate, discutate și aprobate la ședința comună a Laboratorului „Neurobiologie și Genetică Medicală” și a Catedrei de neurologie nr. 2 a IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie ”N. Testemițanu” din 2.11.2016 (proces-verbal nr. 6/2016), precum și în cadrul conferințelor științifice naționale și internaționale după cum urmează:

- Al 6-lea Curs European Educațional pe Neuroreabilitare (2016, Eforie Nord, România)
- Al 7-lea Curs European Educațional pe Neuroreabilitare (2017, Eforie Nord, România)
- Al 8-lea Curs European Educațional pe Neuroreabilitare (2018, Eforie Nord, România)

- Al XV-lea Simpozion Iași–Chișinău (2017, Iași, România)
- Conferința științifică anuală *Zilele Universității de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu"* (2018, Chișinău, Republica Moldova)
- Conferința Națională de Neuroștiințe cu participare internațională și Congresul al VI-lea al Neurologilor și Neurochirurgilor din Republica Moldova consacrat "Anului Nicolae Testemițanu" (2017, Chișinău, Moldova)
- Conferința științifică anuală a specialiștilor IMSP IMU "Actualități și controverse în managementul urgențelor medico-chirurgicale" (2016, Chișinău, Moldova)
- Conferința științifică anuală a specialiștilor IMSP IMU "Actualități și controverse în managementul urgențelor medico-chirurgicale" (2017, Chișinău, Moldova)
- Conferința științifică anuală a specialiștilor IMSP IMU "Actualități și controverse în managementul urgențelor medico-chirurgicale" (2018, Chișinău, Moldova)
- Conferința anuală a tinerilor specialiști ai IMSP IMU "Performanțe și perspective în urgențele medico-chirurgicale" (2016, Chișinău, Moldova)
- Congresul reunit de Neurologie și Simpozionul Iași–Chișinău (2015, Chișinău, Moldova).

Publicații la tema tezei. Rezultatele științifice la tema tezei sunt expuse în 21 de publicații, dintre care 3 în calitate de monoautor, 4 în revistele indexate în baza SCOPUS, 6 articole în reviste din străinătate recunoscute, 4 în reviste naționale cu categoria B, 5 teze la foruri internaționale, precum și 1 certificat de inovație, 1 certificat de drept de autor și 1 act de implementare; 11 comunicări la conferințe științifice.

CONȚINUTUL TEZEI

În **Introducere** este argumentată actualitatea temei de cercetare, gradul de cercetare a temei, importanța ei. Sunt definite problema de cercetare, scopul și obiectivele cercetării; este descrisă noutatea științifică, importanța teoretică și valoarea aplicativă a lucrării, precum și aprobarea rezultatelor științifice obținute. Rezultatele tezei au fost publicate în lucrările [3, 7, 8, 10, 12, 14, 15, 20, 21].

1. ANALIZA SITUAȚIEI ÎN DOMENIUL MODIFICĂRILOR NEUROPLASTICE INDUSE DE ACCIDENTUL VASCULAR CEREBRAL ISCHEMIC

Capitolul 1- "Analiza situației în domeniul modificărilor neuroplastice induse de accidentul vascular cerebral ischemic" conține analiza literaturii de specialitate dedicate aspectelor neuroanatomice ale AVC, mecanismelor de plasticitate neuronală după leziunile cerebrale, noțiunilor generale despre SMT, precum și rolului polimorfismului genei umane BDNF în neuroreabilitare. Acest capitol prezintă realizările obținute pe parcursul ultimilor ani, problemele nesoluționate până în prezent și direcțiile de perspectivă în cercetările acestui domeniu al neurologiei. Sunt analizați și unii indicatori epidemiologici, cum ar fi valorile incidenței și prevalenței AVC pe planurile național și mondial. Este accentuat rolul

neuroplasticității în reabilitare și semnificația teoretică și practică a neurotrofinei BDNF. Sunt discutate și analizate metodele de măsurare a excitabilității cortexului motor și a tractului corticospinal cu SMT, precum și profilul de siguranță a SMT de 1 Hz.

AVC-ul provoacă moartea rapidă neuronală și întreruperea circuitelor funcționale din regiunile afectate. Pe măsură ce țesutul afectat se recuperează, se activează procesele regenerative care, în decurs de luni, conduc la un anumit grad de recuperare funcțională. Factorii produși de noii neuroni și glie, germinarea axonală a neuronilor care au supraviețuit și formarea de sinapse noi ajută la restabilirea unora dintre funcțiile pierdute. Momentul și localizarea acestor evenimente sunt esențiale pentru succesul procesului de regenerare. Pierderea funcției în timpul AVC-ului este cauzată parțial de leziunea neuronală din țesutul cu infarct, precum și de disfuncția celulară din zonele din jurul acestuia. Aceste zone includ penumbra subperfuzată, țesutul periinfarct și zonele de la distanță (inclusiv contralaterale) legate de zona cerebrală afectată. Se consideră că disfuncția din zonele îndepărtate este cauzată de *diaschizis* – termen echivoc ce include hipometabolizarea tisulară, decuplarea neurovasculară și neurotransmisia aberantă larg răspândită [7,8].

Dinamica și factorii de prognostic. Cea mai mare parte a recuperării funcției motorii are loc în decurs de 3-6 luni după accidentul vascular cerebral, iar apogeul recuperării se presupune că are loc după 6 luni [9]. Recuperarea depinde de gravitatea simptomelor inițiale: 79% din subiecții cu pareză ușoară ajung la o recuperare completă a funcției brațului, în timp ce numai 18% dintre subiecții cu pareză severă prezintă recuperare completă.

Rolul rezervelor după leziunile cerebrale. În domeniul leziunilor cerebrale rămâne o disociere clară între gravitatea leziunii și simptomele ei clinice. O leziune cerebrală asemănătoare la doi indivizi nu conduce la același grad de afectare, ceea ce a emis ideea că acest fapt ar putea fi rezultatul diferențelor individuale – conceptul de „rezervă cognitivă” (RC). Aceste rezerve pot fi mărite printr-o varietate de activități mentale. Cu alte cuvinte, „exersarea” conexiunilor neuronale ale creierului va conduce la o RC mult mai mare [10].

Mecanisme de bază ale SMT. Stimularea magnetică transcraniană a fost utilizată pentru prima dată în stimularea creierului uman în anul 1985 de către Barker [11]. SMT stimulează zonele superficiale mai puternic decât zonele adânci. În plus, SMT nu activează numai zona-țintă, ci și țesuturile din jurul acesteia și situsurile interconectate din creier. Latența răspunsurilor electromiografice (EMG), măsurate în mușchii membrelor superioare după SMT, măsoară excitația celulelor piramidale ale căror axoni formează căile corticospinale descendente.

Tehnicile SMT utilizate pentru studiul sistemului motor. SMT cu impulsuri unice sau multiple pot fi utilizate pentru a obține informații electrofiziologice despre excitabilitatea cortexului motor. SMTr cu frecvențe, intensități și durate diferite poate fi folosită pentru a modula excitabilitatea cortexului. Este bine stabilit faptul că SMTr asupra zonei M1 poate schimba excitabilitatea sistemului motor în funcție de frecvența stimulării. SMTr de frecvență joasă (≤ 1 Hz) tinde să reducă excitabilitatea zonei stimulate, iar SMTr

de frecvență înaltă (≥ 5 Hz) tinde să o mărească. Aceste modificări ale excitabilității pot continua și după stimulare timp de cel puțin câteva minute [12].

Efectele SMT asupra excitabilității sistemului motor pot fi evaluate direct, prin măsurarea potențialului evocat motor (PEM), sau indirect, prin neuroimagistica funcțională (ex. tomografia cu emisie de pozitroni, imagistica prin rezonanță magnetică funcțională, electroencefalografia), precum și prin măsurările comportamentului motor (ex. testarea forței, vitezei de mișcare, preciziei mișcării, timpului de reacție, etc.). Fiecare dintre aceste metode are puncte forte și puncte slabe. Tehnicile electrofiziologice oferă însă o măsurare directă, obiectivă a excitabilității corticale și corticospinale.

Efectele locale ale SMT asupra eficacității sinaptice. Modularea cea mai rapidă a eficacității sinaptice prin SMT are loc în primele milisecunde de stimulare. Excitabilitatea corticală locală poate fi investigată folosind perechi de impulsuri de SMT livrate la distanța de la 1-200 ms.

Efectele locale ale SMT de 1 Hz. SMT de 1 Hz modulează excitabilitatea proiecțiilor corticospinale de la locul de stimulare, demonstrată prin amplitudinea și panta redusă a curbelor de recrutare a PEM-urilor în mușchii mâinii. S-a dovedit că SMT de 1 Hz crește pragul motor de repaus pentru mușchii intrinseci ai mâinii [13]. Atunci când două sesiuni de SMT de 1 Hz sunt aplicate cortexului premotor în zile consecutive, efectele asupra excitabilității motorii au o durată mai mare [14], sugerând că acestea nu se limitează numai la o modulare imediată a excitabilității motorii.

Profilul de siguranță a SMT de 1 Hz. Preocuparea majoră privind siguranța atunci când se utilizează SMT este posibilitatea de a induce crize convulsive. Tehnicile de SMT cu un singur puls au un prag de siguranță excelent la subiecții sănătoși, iar utilizarea SMT de 1 Hz la intensități pragale sau subpragale nu a fost asociată cu crize convulsive la adulții sănătoși [15].

Importanța neurotrofinei BDNF. BDNF este o neurotrofină dependentă de activitate, cu o distribuție larg răspândită în cortexul cerebral, hipocamp, trunchiul cerebral, corpul striat și ariile septale. Pro-BDNF, proteina precursoră formei mature BDNF, este transformată în BDNF grație proteazelor extracelulare, cum ar fi metaloproteinaza-9 matricială (MMP-9). Un polimorfism comun cu un singur nucleotid (SNP) este cel mai frecvent tip de variație genetică la om, reprezentând o schimbare într-un singur nucleotid. Deși există peste 1768 de mutații de acest tip raportate în BDNF, doar două sunt cunoscute ca având influență asupra nivelului expresiei BDNF – rs6265 (c.196G > A, p.V66M, NM_001143814.1), și o repetiție a dinucleotidei GT, localizată la UTR 5' [16].

SNP-ul pentru BDNF rs6265 a fost identificat la nivelul nucleotidei 196, în care adenina este substituită cu guanina, rezultând o substituție cu un singur aminoacid la nivelul codonului 66 al valinei (Val) cu metionina (Met) în prodomeniul genei, ceea ce influențează eliberarea dependentă de activitate a proteinei BDNF, induce afectarea funcției proteice și, într-o oarecare măsură, rezultă într-o plasticitate mai puțin pronunțată a cortexului motor.

Alte SNP-uri ale BDNF – rs1048220 și rs1048221 – se află în situl crucial de clivaj al protezei pentru pro-BDNF și afectează scindarea pro-BDNF, iar rs1048220 și rs104218 au fost asociate cu boala Alzheimer. Cu toate acestea, niciuna dintre aceste mutații nedorite nu a fost explorată în leziunile cerebrale, cu excepția rs6265 (BDNF Val66-Met) [17].

R *R KY R *Y R * * YR YR MR
 541 GGCCCAAAGCAGGTCAAGAGGCTTGACATCAATTGCTGACACTTTCGAACA CGTGATA 600
 142 GGGCCCAAGGCAGGTTCAAGAGGCTTGACATCATTGGCTGACACTTTCGAACACGTGATA 201
 48 -G--P--K--A--G--S--R--G--L--T--S--L--A--D--T--F--E--H--V--I- 67

rs6265 / c.196 G>A, p.V66M, Gena: BDNF

Codificare: ENSG00000176697, NM_001143814.1

Localizare: crs 11: 27,654,893-27,722,058

Într-un studiu din 2017, Park C. și colab. [18] au evaluat efectul polimorfismului BDNF asupra proprietăților rețelelor neuronale și stabilității acestora la nivel de substanță albă, pe bază de grafice statistice. Deși nu au existat diferențe între măsurările la nivel de rețea globală la cele două genotipuri (cu sau fără polimorfism), s-a constatat că rețelele structurale de la nivelul substanței albe ale grupului cu polimorfism au arătat o vulnerabilitate mai mare în caz de leziuni, în comparație cu cele ale grupului fără polimorfism. Concomitent, s-a raportat că polimorfismul BDNF rs6265 este asociat cu disfuncții cognitive și emoționale prin modificarea excitabilității cortexului cerebral.

Un alt studiu a constatat că polimorfismul BDNF rs6265 a oferit un efect protector împotriva declinului cognitiv la subiecții mai în vârstă. Un volum amplu de dovezi este în favoarea unei plasticități defectuoase la purtătorii de polimorfism. Cu toate acestea, nu au fost înregistrate dovezi obiective în favoarea unei recuperări mai slabe după AVC la purtătorii de rs6265 [19].

BDNF și implicarea acestuia în accidentul vascular cerebral modelat de SMTr. În căutarea factorilor de predicție individualizați ai recuperării, factorii genetici atrag un interes deosebit, în special cei care au legătură cu factorul neurotrofic derivat din creier (BDNF). După un AVC, nivelul de BDNF crește, afectând supraviețuirea neuronală, diferențierea și plasticitatea creierului [20].

RMN funcțională în timpul mișcării membrilor afectate a evidențiat scăderea activării creierului în rândul pacienților cu polimorfismul BDNF rs6265, în comparație cu subiecții care nu au acest polimorfism, în special în cortexul senzorial-motor primar (ipsilezional).

Reglarea expresiei genei și a proteinei BDNF a devenit o metodă de prognostic al recuperării și în studiile pe animale folosind SMTr. Rolul BDNF în plasticitatea indusă de SMT a atras o atenție deosebită în contextul clinic, deoarece oamenii cu variații genetice ale BDNF răspund diferit la protocoalele SMT, oferind un potențial biomarker pentru adaptarea tratamentului. Deși mecanismul ce stă la baza răspunsului diferit în variantele BDNF rămâne necunoscut, se pare că BDNF joacă un rol-cheie în efectele SMTr: studiile pe oameni arată o creștere a sintezei a BDNF în probele serice după SMTr de înaltă

intensitate, iar studiile pe rozătoare confirmă acest lucru, chiar și atunci când intensitatea stimulării este foarte scăzută [21].

Mai multe studii au arătat că polimorfismul genei BDNF rs6265 are un efect negativ asupra rezultatelor terapiei prin SMTr. Alt studiu arată că rezultatul terapiei cu SMTr nu este modificat de acest polimorfism, deși autorii recunosc numărul mic de pacienți incluși în cercetare.

2. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE

2.1. Caracteristica generală a studiului: lotul de cercetare, etapele și designul cercetării

Pentru realizarea scopului și a obiectivelor cercetării, am ales ca protocol metodologic efectuarea unui studiu epidemiologic primar, analitic, experimental individual – studiu clinic controlat, care a inclus 95 de subiecți după un AVC în teritoriul de vascularizare a arterei cerebrale medii (confirmat imagistic prin TC sau RMN), cu vârsta între 37 și 94 ani de (media de vârstă în ambele loturi din studiu a fost de 68,8 ani), care au fost spitalizați în IMSP Institutul de Medicină Urgentă, în secția „Neurologie. Boli cerebrovasculare”, în perioada 2016-2018. Astfel, 47 de subiecți admiși au fost incluși în lotul experimental, prin selecție aleatorie echilibrată, stratificată pe baza criteriilor de eligibilitate pentru SMT, iar 48 de subiecți au constituit lotul de control.

Pentru a realiza scopul și obiectivele cercetării, numărul necesar de subiecți pentru cercetare a fost calculat în baza formulelor (2.1) și (2.2):

$$(2.1) \quad n_1 = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2 pq(r+1)}{r(P_1 - P_2)^2} \quad \text{și} \quad (2.2) \quad n_2 = rn_1,$$

unde: n_1 = numărul subiecților care au beneficiat de SMT; n_2 = numărul subiecților care nu au beneficiat de SMT; $Z_{\alpha/2}$ = deviația normală standard pentru testarea pe două niveluri, bazată pe nivelul alfa (se referă la nivelul intervalului de încredere); Z_p = deviația normală standard pentru testarea pe un nivel, bazată pe nivelul beta (se referă la gradul de putere); r = raportul dintre numărul subiecților care nu au beneficiat de SMT și al celor care au beneficiat de SMT; P_1 = proporția subiecților care au beneficiat de SMT și au prezentat ameliorare după aceasta; $q_1 = 1 - p_1$; P_2 = proporția subiecților care nu au beneficiat de SMT, dar au avut ameliorare după aceasta; $q_2 = 1 - p_2$. Iar p și q se calculează după formulele (2.3) și (2.4).

$$(2.3) \quad \bar{p} = \frac{(P_1 + rP_2)}{r+1} \quad \text{și} \quad (2.4) \quad \bar{q} = 1 - \bar{p}$$

Introducând datele în formulă, am obținut $n = 28$.

Subiecții incluși în cercetare au întrunit următoarele criterii de **incluere**: (a) capabil să ofere consimțământul pentru protocolul utilizat; (b) debutul AVC – în termen de 10 de zile, dar procedura de intervenție cu SMT va începe nu mai devreme de două zile de la debutul AVC; (c) localizarea AVC – cortical sau subcortical; (d) tipul de AVC – ischemic primar depistat; (e) vârsta >18 ani; (f) mișcările de flexie/extensie la nivelul articulației

metacarpo-falangiană: amplitudini minime; (g) examinarea minimală a stării mentale – mai mare sau egal cu 22; (h) capacitatea de a sta / de transfer – maximum asistență moderată.

Criteriile de **excludere** au fost: (a) crize epileptice pe parcursul ultimilor doi ani; (b) prezența implanturilor metalice sau electrice în corp (dentar e permis) – doar pentru lotul experimental; (c) prezența gravidității sau presupunere a unei gravidități; (d) tulburări psihice; (e) administrarea antidepresantelor triciclice sau a neurolepticelor; (f) prezența unei intervenții neurochirurgicale în anamneză; (g) prezența unei traume craniocerebrale severe în anamneză; (h) hemineglect; (i) dependență de ventilator, tub nasogastric sau de un dispozitiv medical implantat; (j) comorbidități în extremitatea superioară, ce ar afecta funcția motorie; (k) internarea pe o perioadă mai mică de șapte zile; (l) terapia prin tromboliză sistemică sau trombectomie.

Toți subiecții au fost examinați prin TC / RMN a creierului, efectuându-se analiza generală a sângelui, analizele biochimice, pentru aprecierea cauzelor posibile de accident vascular cerebral. Astfel, lotul experimental (L1) a inclus 47 de pacienți cu AVC ischemic și li s-a atribuit tratament cu SMT. Lotul de control a inclus 48 de pacienți cu AVC ischemic, cărora nu li s-a aplicat SMT.

Pe parcursul studiului, subiecții au fost examinați timp de șapte zile (vizita I, 5 zile de SMT, vizita II) în incinta Institutului de Medicină Urgentă.

1 zi (vizita I): a fost efectuată vizita primară, care a inclus investigarea pacientului prin TC cerebrală, analiza de sânge generală / biochimică + testarea prin scalele de evaluare neurologică.

A 2-a – 6-a zi (5 zile): tratament cu SMT (pentru lotul experimental).

A 7-a zi (vizita II): toți participanții în studiu au fost reevaluați prin scalele de evaluare inițiale și a fost colectat sânge venos pentru analiza prin metode genetice.

Pentru o abordare complexă, subiecții au fost cercetați conform design-ului studiului în prealabil aprobat în Figura 2.1.

2.2. Metodologia aplicată în decursul cercetării

Metodele generale de cercetare utilizate:

1. Clinică (examenul clinic standardizat, precum și cel neurologic);
2. Paraclinică (imagistică – TC sau RMN cerebrală; de laborator – analiza generală și biochimică a sângelui);
3. Genetică – secvențierea ADN (metoda Sanger).

Metodele de acumulare a datelor primare:

1. Sistemul informațional de date medicale "Hipocrate";
2. Chestionar structurat din cadrul Fișei de cercetare (întrebări ce țin de istoricul bolii de bază, patologii concomitente și factori de risc);
3. Rezultatele scalelor de evaluare aplicate.

2.3. Metodologia aplicată pentru studiul genetic

Investigațiile genetice au fost efectuate în Laboratorul de neurogenetică al Institutului de Neurologie, University College London, Marea Britanie.

Protocolul de secvențiere Sanger utilizat. Toți cei 95 de subiecți (47 din lotul experimental și 48 din cel de control) au fost supuși inițial testării probelor de sânge prin reacția de polimerizare în lanț (PCR), pentru a obține un număr mare de copii ale fragmentelor scurte de ADN dintr-o mostră foarte mică de material genetic.

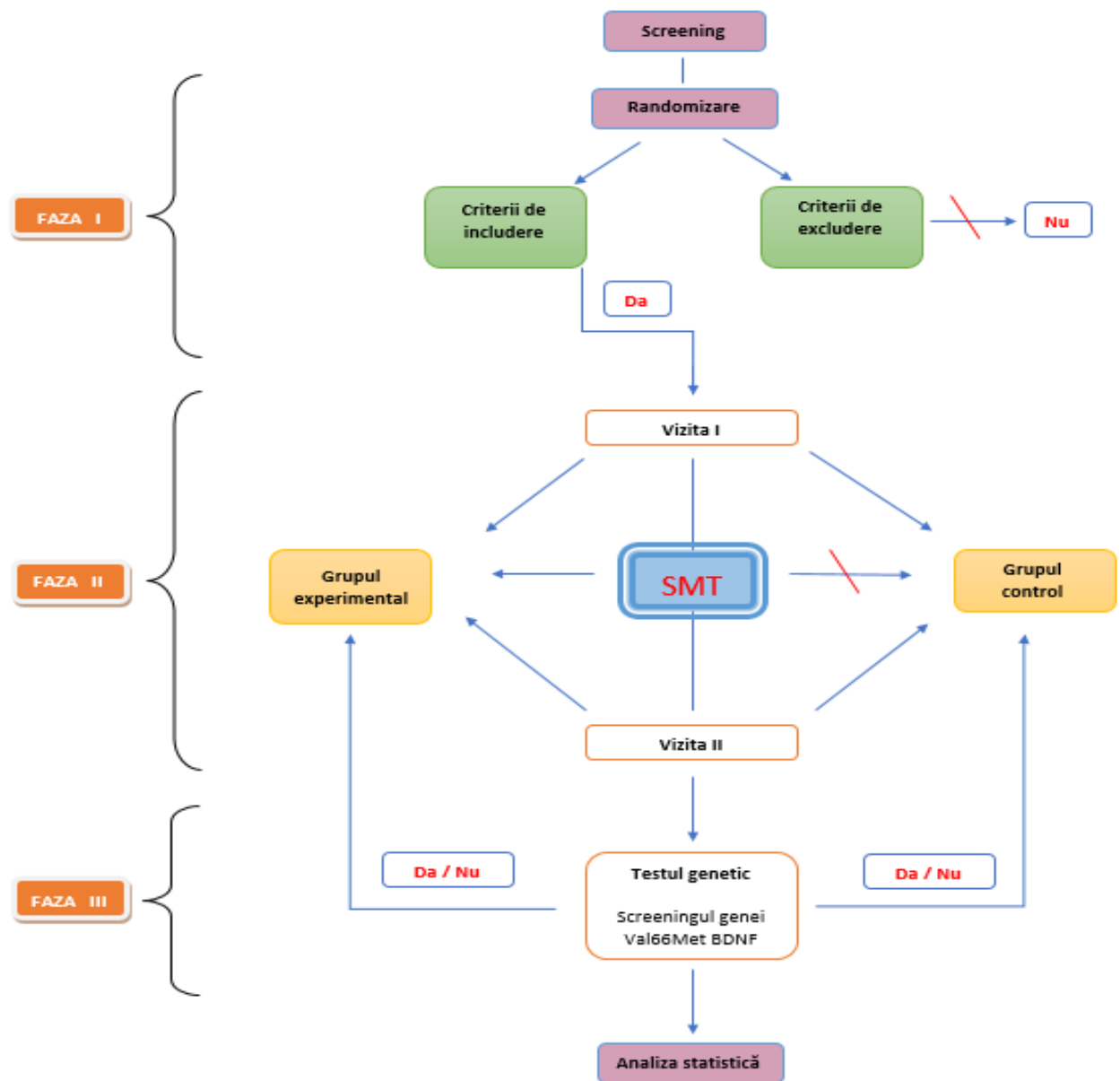


Fig. 2.1. Designul studiului

Pentru efectuarea procedurii de secvențiere Sanger au fost stabilite șase etape. În prima etapă a fost efectuată reacția de amplificare în lanț. A doua etapă a fost verificarea produselor PCR prin electroforeză pe gel de agaroză. A treia etapă a constat în purificarea enzimatică a produsului PCR prin intermediul unei fosfataze alcaline și a exonucleazei I.

A patra etapă a fost pregătirea reacției de secvențiere, cu crearea amestecului de H₂O, tamponului de secvențiere, *Primer*-ului, colorantului *Big Dye* și produsului purificat obținut anterior prin PCR. A cincea etapă a constat în curățarea secvențierii cu plăci *Sephadex*. A șasea etapă a fost secvențierea propriu-zisă, după care a fost efectuată analiza rezultatelor.

2.4. Protocolul stimulării magnetice transcraniene (SMT) și înregistrarea potențialului evocat motor (PEM)

Primul pas în utilizarea clinică a SMT a fost determinarea pragului motor cortical (PMC) pentru mușchiul-țintă, care permite ajustarea intensității stimulului pentru examinarea ulterioară a fiecărui subiect individual, întrucât PMC reflectă excitabilitatea integrală a proiecțiilor corticomotorii, incluzând excitabilitatea la nivelul măduvei spinării.

Protocolul de stimulare magnetică transcraniană aplicat subiecților din lotul experimental. La subiecții randomizați în lotul experimental, SMT a fost aplicată conform următorului protocol de stimulare: bobina de tip fluture (MCF-B65), cu diametrul aripii de 75 mm, cu emisie maximă de 2,0 T, atașată la stimulatorul MagPro R30 (MagVenture Company, Farum, Danemarca) a fost imobilizată cu un mâner special conceput în poziția optimă pentru stimularea primului mușchi interesos dorsal. A fost găsită aria motorie corticală M1 a emisferei sănătoase, care a fost marcată cu markerul pentru a desemna locul de poziționare a bobinei pe cap. A fost determinat pragul motor de repaus al emisferei sănătoase și s-a aplicat protocolul de inhibiție cu 1 Hz, la 90% din RMT – cea mai mică intensitate de stimulare ce ar putea produce un PEM la nivel de mușchi interesos dorsal. Au fost aplicate 60 de impulsuri în serie, timp de 10 serii, cu intervalul de 5 secunde (durata stimulării: 10 minute, 600 de impulsuri). Stimularea a fost efectuată zilnic, timp de cinci zile (a 2-a – a 6-a zi de studiu).

2.5. Metodele de evaluare statistică pentru aprecierea rezultatelor

Datele au fost analizate cu utilizarea programului IBM SPSS 23.0. Pentru analiza datelor s-au aplicat următoarele teste statistice: teste de asociere – chi-pătrat pentru variabilele categoricale; teste de corelație parametrică și neparametrică în funcție de tipul datelor – Pearson și Spearman. Diferențele dintre eșantioane au fost analizate cu ajutorul următoarelor teste: testul Mann-Whitney U pentru eșantioane independente în cazul datelor neparametrice, testul *t* pentru eșantioane independente și two-way mixed ANOVA în cazul datelor parametrice. Valorile $p < 0,05$ au fost considerate semnificative.

3. ASOCIEREA POLIMORFISMULUI RS6265 AL GENEI BDNF CU ASPECTELE CLINICE ALE ACCIDENTULUI VASCULAR CEREBRAL ISCHEMIC, SUB INFLUENȚA STIMULĂRII MAGNETICE TRANSCRANIENE

3.1. Descrierea subiecților din lotul experimental și cel de control

Studiul a inclus 95 de subiecți după AVC, care au fost internați în IMSP Institutul de Medicină Urgentă, în secția „Neurologie. Boli cerebrovasculare”, în perioada 2016-2018. Dintre aceștia, 48 de subiecți au constituit lotul de control (51% cazuri) și 47 – lotul experimental (49% cazuri).

Conform divizării pe sexe, în lotul de control au fost atestate 40% (19 cazuri) femei și 60% (29 cazuri) bărbați. În lotul experimental, bărbații au constituit 53% (25 cazuri), iar femeile – 47% (22 cazuri). În ceea ce privește vârsta pacienților, ambele loturi incluse în studiu au prezentat o prevalență vădită a intervalelor de vârstă 60-69 de ani, cu 43% cazuri, și 70-79 de ani, cu 32% cazuri, urmate de subiecții cu vârsta inclusă în intervalele 80-89 de ani (11% cazuri) și 50-59 de ani (8% cazuri). Media de vârstă în ambele loturi din studiu a fost de 68,8 ani. Analizând loturile de control și experimental în funcție de locul de reședință, se poate concluziona că majoritatea subiecților din ambele loturi trăiesc în mediul urban, în proporție de 78% (74 subiecți), comparativ cu 22% (21 subiecți) în mediul rural. Cercetând nivelul activității fizice cotidiene efectuate de către subiecții din ambele loturi, s-a constatat că 2/3 dintre ei duc un mod de viață relativ activ, pe când 37% (35 subiecți) au menționat că sunt predominant sedentari. A fost făcută și o analiză a consumului de alcool. Astfel, 70% din subiecții din lotul experimental nu au folosit alcool anterior AVC-ului, iar în lotul de control, 52% subiecți au utilizat alcool înainte de eveniment. Totodată, în rândul subiecților din lotul experimental s-au înregistrat și 6% cazuri de consum abuziv de alcool. În studiul nostru, la subiecții din ambele loturi a fost apreciat și nivelul tensiunii arteriale.

În urma analizei datelor obținute, s-a constatat că subiecții cu valori înalte ale tensiunii arteriale au constituit majoritatea atât în lotul experimental, cât și în cel de control, cu excepția a doar 2% cazuri (câte 1 pacient din fiecare lot). Astfel, 22 subiecți din lotul experimental prezentau hipertensiune gr. I, 14 persoane – hipertensiune de gr. II, iar 10 subiecți – hipertensiune de gr. III. În lotul de control, 18 persoane au avut hipertensiune de gr. I, iar restul 29 subiecți – hipertensiune de gr. II (Tabelul 3.1).

La momentul spitalizării, a fost constatat că 25% (24 cazuri) dintre subiecții incluși în studiu au prezentat fibrilație atrială. Acest fenomen a fost observat atât în lotul experimental, cât și în cel de control în proporție aproximativ egală. Tot la momentul spitalizării a fost depistat că 29% subiecți (27 cazuri) au fost anterior diagnosticați cu diabet zaharat. La fel ca și în cazul fibrilației atriale, numărul celor cu diabet zaharat în loturile experimental și de control au fost în proporție aproximativ egală.

Tabelul 3.1. Repartizarea pacienților conform nivelului tensiunii arteriale (% , abs.)

	Hipertensiune arterială (MMHG)									
	Nu (90-139 / 60-89)		Gr. I (140-159 / 90-99)		Gr. II (160-179 / 100-109)		Gr. III (180+ / 110+)		Total	
	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.
Lot control	2	1	38	18	60	29	0	0	100	48
Lot experimental	2	1	47	22	30	14	21	10	100	47
Total	2	2	42	40	45	43	11	10	100	95

În ceea ce privește profilul lipidic, în lotul experimental au fost identificați 17 subiecți cu valori crescute ale lipidogramei, ceea ce constituie 36% din numărul total al acestui lot, pe când în cel de control, numărul subiecților depistați cu valori crescute ale lipidogramei a fost de 36, ceea ce reprezintă 75% din numărul total al lotului dat. A fost cercetată și utilizarea medicamentelor de către subiecți anterior înrolării în studiu. Astfel, au fost obținute următoarele rezultate: 55% din numărul total de subiecți din ambele loturi au folosit înainte de spitalizare antiagregante. La examinarea administrării terapiei anticoagulante la subiecții cu fibrilație atrială din ambele loturi s-a constatat că 92% din subiecții cu fibrilație atrială din lotul de control nu primeau terapie anticoagulantă la momentul adresării. În lotul experimental, doar 2 subiecți cu fibrilație atrială au folosit anterior anticoagulante.

Cercetarea noastră a stabilit gradul de utilizare a terapiei antihipertensive anterior studiului la subiecții din ambele loturi care prezentau hipertensiune arterială de diferite grade. În urma analizei am determinat că din cei 93 de subiecți, 25 (54%) din lotul experimental foloseau politerapie antihipertensivă anterior spitalizării. În lotul de control, numărul celor care utilizau politerapie antihipertensivă înainte de spitalizare s-a ridicat doar la 14, adică 30%. Concomitent, s-a stabilit că 38 de subiecți sau 39% din numărul total nu urmau nici un tip de terapie antihipertensivă la momentul spitalizării. În studiu au fost identificați în total 27 (29%) subiecți care sufereau de diabet zaharat concomitent cu afecțiunea de bază. Dintre aceștia, 9 (75%) pacienți din lotul experimental foloseau ADO, iar în lotul de control numărul celor ce utilizau ADO era de 14 (93%). În investigația privind administrarea statinelor s-a depistat că din numărul total de subiecți cu valori crescute ale lipidogramei, 17 (36%) din lotul experimental și 36 (75%) din lotul de control, doar câte 1 pacient din fiecare lot administra statine.

Din momentul spitalizării, subiecților incluși în studiu în lotul experimental le-a fost efectuată procedura SMT. După cum se observă din Tabelul 3.2, la 18 subiecți (38% din cazuri) le-a fost aplicată prima procedură de SMT până la 24 h de la debutul AVC. La un număr identic de pacienți s-a inițiat stimularea în intervalul 24-48 h. Doar 11 (23,4%) subiecți au beneficiat de SMT la un interval de peste 48 h de la debutul AVC. Acest lucru s-a datorat faptului că subiecții respectivi au avut o spitalizare tardivă în decursul zilei.

Tabelul 3.2. Analiza intervalului de timp debut AVC < start SMT (% , abs.)

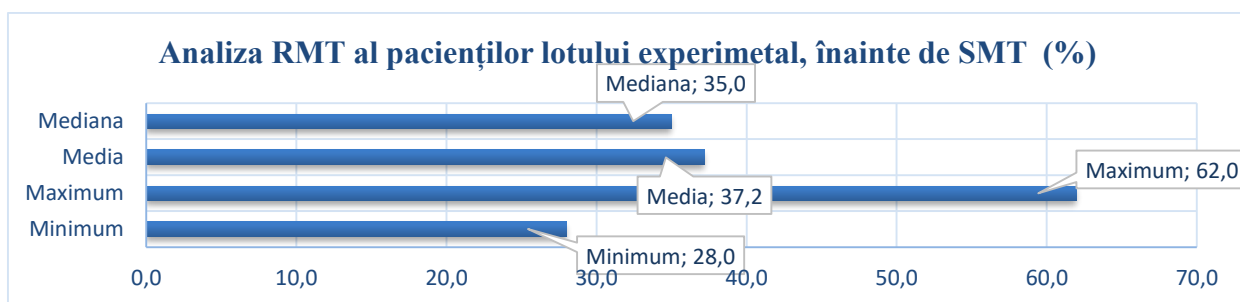
	INTERVAL DE TIMP ÎNTRE DEBUTUL AVC ȘI STARTUL SMT							
	<24 h		24-48 h		>48 h		Total	
	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.
Lot control	<i>Nu a fost efectuată SMT</i>							
Lot experimental	38	18	38	18	23	11	100	47

3.2. Rezultatele investigațiilor paraclinice ale subiecților cu accident vascular cerebral

În studiul nostru, pentru evidențierea stenozei la nivelul vaselor brahiocefalice, ambele loturi de pacienți implicați în cercetare au fost investigate prin Doppler-Duplex. În urma acestei investigații s-a constatat că majoritatea subiecților (84%) au înregistrat stenoze la nivelul arterelor carotide. Astfel, în lotul experimental s-au înregistrat 25 (61%) cazuri cu stenoza arterelor carotide până la 50% și 11 (27%) cazuri cu stenoză mai mare de 50%. În lotul de control au fost depistate 24 (59%) cazuri cu stenoza arterelor carotide până la 50% și 9 (22%) cazuri cu stenoză mai mare de 50%.

În cadrul cercetării a fost efectuată analiza privind emisfera afectată de accidentul vascular cerebral. În urma investigării prin intermediul tomografiei computerizate sau a rezonanței magnetice cerebrale, în cele două loturi a fost evidențiată o omogenitate în ceea ce privește emisfera afectată de AVC.

Pentru protocolul de SMT a fost determinat RMT la toți subiecții lotului experimental. Valoarea minimă RMT a fost de 28%, iar cea maximă a atins pragul de 62%, cu o medie de 37,2% și o mediană de 35%. Rezultatele obținute sunt redate în Figura 3.1.

**Fig. 3.1. Analiza RMT al subiecților lotului experimental înainte de SMT (%)**

Valorile PEM, înregistrate doar la subiecții din lotul experimental au înregistrat o scădere a mediei latenței PEM de la 30,47 ms la 27,28 ms, de la prima vizită la cea de a doua, și o creștere a mediei amplitudinii PEM de la 0,92 mV la 1,57 mV. Dinamica acestor valori de la prima până la a doua vizită demonstrează îmbunătățirea semnificativă a conducerii impulsului nervos la nivel de tract corticospinal. Aplicând testul t-Student în scopul de a analiza dacă îmbunătățirea la nivel de latență este statistic semnificativă am obținut valoarea lui $t(31) = -7.282$, pentru un $p < 0,0005$. Astfel se demonstrează că

descreșterea latenței de la 29,68 la 26,93 este statistic semnificativă. Testul Wilcoxon în rezultatul aplicării căruia s-a obținut valoarea lui $z=4,619$, pentru un $p<0,0005$, a demonstrat existența unei creșteri statistic semnificative și a amplitudinii – de la 0,92 la 1,67. Astfel, prin aplicarea testelor statistice și obținerea valorilor statistic semnificative s-a demonstrat că dinamica acestor valori duce la îmbunătățirea semnificativă a conducerii impulsului nervos.

Analizând dinamica latenței în funcție de emisfera afectată, observăm că diferența dintre cele două eșantioane este una mică – 0,06 ms. Aplicând testul t-Student am obținut un $p=0,953$. Acest fapt demonstrează că diferența dintre dinamica latenței în funcție de emisfera afectată nu este statistic semnificativă. În cazul dinamicii amplitudinii, diferența dintre cele două eșantioane analizate constituie 0,07 mV. Aplicând testul Mann-Whitney U obținem un $p=0,744$. Astfel, și diferența dintre dinamica amplitudinii în funcție de emisfera afectată nu este statistic semnificativă. Așadar, putem trage concluzia că dinamica latenței și dinamica amplitudinii nu depind de emisfera afectată (dreaptă sau stângă).

3.3. Rezultatele investigațiilor genetice asupra polimorfismului rs6265 al genei umane BDNF a subiecților cu accident vascular cerebral

În cadrul cercetării noastre, subiecții au fost investigați din punct de vedere genetic pentru a determina apartenența la genotipul BDNF. Astfel, în lotul experimental, 71% (34 subiecți) au prezentat varianta fără polimorfism (G/G) a genei BDNF, comparativ cu prezența polimorfismului (G/A sau A/A) la 29% (14 subiecți). În lotul de control a fost observată o distribuție similară: 70% (33 subiecți) fără polimorfism și 30% (14 subiecți) cu varianta rs6265. Rezultatele obținute sunt redate în Tabelul 3.3.

Tabelul 3.3. Repartizarea genotipică în funcție de prezența/absența polimorfismului (abs., %). Nucleotide: G – guanină, A - Adenină

		%	ABS.
LOT CONTROL	G/G (nonpolimorfism)	70	33
	G/A+A/A (polimorfism)	30	14
LOT EXPERIMENTAL	G/G (nonpolimorfism)	71	34
	G/A+A/A (polimorfism)	29	14
TOTAL	G/G (nonpolimorfism)	71	67
	G/A+A/A (polimorfism)	29	28

A fost făcută analiza influenței genotipului subiecților asupra localizării AVC-ului. Cu toate că statistic a fost demonstrat că nu există o legătură între genotip și nivelul topografic ($\chi^2(2, N=95) = 1.82, p=0,402, \Phi=0,138$), din punct de vedere numeric, am putea menționa totuși că la subiecții cu polimorfism prevalează AVC la nivel cortical, iar la cei fără polimorfism – AVC la nivel subcortical.

3.4. Rezultatele și dinamica subiecților cu accident vascular cerebral, conform scalelor de evaluare aplicate

Pe durata cercetării, subiecții ambelor loturi au fost evaluați prin șapte scale de evaluare, în prima și a 7-a zi de spitalizare.

Scorul NIHSS. Evaluând subiecții lotului experimental conform scorului NIHSS, s-a constatat că aceștia au evoluat de la o medie de 7,0 puncte la I vizită la 5,1 puncte la a II-a. În lotul de control, subiecții au prezentat inițial în medie 7,6 puncte, iar ulterior – o ameliorare până la doar 6,4 puncte NIHSS.

Scala MRC. Subiecții ambelor loturi au fost supuși și evaluării conform scalei MRC. În lotul experimental, care a fost supus SMT, 32% (15 subiecți) și-au recăpătat volumul deplin al mișcărilor la a doua vizită. În lotul de control, recăpătarea volumului deplin al mișcărilor la a doua vizită a fost atestat la doar 19% (9 subiecți). Concomitent, analizând cota subiecților cu paralizie totală (absența completă a mișcărilor), s-a constatat că în lotul experimental aceasta a scăzut de la 4% la 2% după SMT, iar în lotul de control a crescut de la 8% la 15%.

Din punct de vedere statistic a fost înregistrat un efect statistic semnificativ al scorurilor MRC între lotul experimental și cel de control. Astfel, în lotul experimental a fost înregistrat $F(1, 93) = 4,313$ cu un $p = 0,041$, η^2 parțial = 0,044. Scorul mediu MRC în cazul lotului experimental a fost egal cu 3,394, iar în lotul de control, scorul mediu MRC = 2,875. Acest fapt demonstrează statistic efectul SMT asupra recuperării mișcărilor în volum deplin. Rezultatele obținute sunt redată în Figura 3.2.

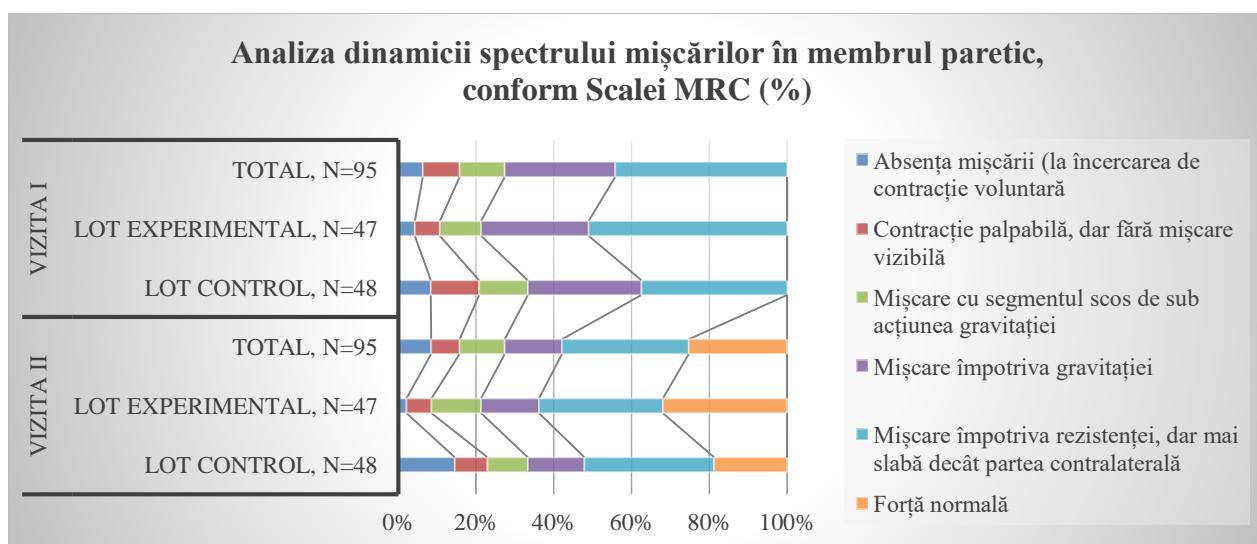


Fig. 3.2. Dinamica spectrului mișcărilor în membrul paretic, conform Scalei MRC(%)

Scala mRS. Potrivit acestei scale, subiecții din lotul experimental și din cel de control au înregistrat o dinamică în general pozitivă. În ambele loturi, la I vizită au fost depistate 42% de persoane cu dizabilitate moderată sau moderat-severă. La vizita a II-a, cota lor s-a micșorat cu 7%. Tot la I vizită au fost înregistrate 49% de persoane cu dizabilitate ușoară din numărul total. La vizita a II-a, cota lor s-a redus cu 29%. Iar cota

persoanelor fără dizabilitate semnificativă, în ciuda unor simptome, a crescut de la 8% la I vizită până la 33% la a II-a vizită.

În ambele loturi luate în studiu a fost înregistrat un efect semnificativ al variabilei *timp* asupra scorurilor mRS. În lotul de control, aceste valori au fost: $F(1, 47) = 6,29$, pentru un $p < 0,016$, η^2 parțial = 0,12. În lotul experimental de asemenea a fost înregistrat un efect semnificativ al variabilei *timp* asupra scorurilor mRS, valorile fiind: $F(1, 46) = 39,12$, pentru un $p < 0,001$, η^2 parțial = 0,46. Din analiza acestor date putem face concluzia că, deși în ambele loturi a fost înregistrat un efect semnificativ al variabilei *timp* asupra scorurilor MRS, în cazul lotului experimental putem vorbi despre o semnificație statistică net superioară față de cel de control prin faptul că valoarea lui F în lotul experimental este egală cu 39,12, iar în celălalt lot aceasta este egală cu 6,29. Prin urmare, putem afirma că aplicarea SMT persoanelor afectate de accidentul vascular cerebral îmbunătățește semnificativ scorurile mRS.

Mini-Mental Test Score. În ceea ce privește deficitul cognitiv, în lotul experimental s-au atestat îmbunătățiri semnificative, pe când la subiecții lotului de control s-a observat o dinamică negativă. Astfel, la prima vizită, cota subiecților din lotul experimental care prezentau deficit cognitiv minor a constituit 15% (7 subiecți), descrescând ulterior la a doua vizită până la 4% (2 subiecți). În comparație cu acest lot, în lotul de control, la prima vizită s-a constatat faptul că 8% (4 subiecți) prezentau deficit cognitiv minor, dar la a doua vizită numărul acestora a crescut până la 15% (7 subiecți).

Testul Barthel. La momentul internării, subiecții din grupul experimental prezentau un grad de dependență moderată sau majoră în proporție de 31% (15 subiecți), iar după aplicarea SMT – în proporție de doar 21% (10 subiecți). Concomitent, în cadrul aceluiași lot experimental, la prima vizită, 69% (32 pacienți) erau independenți sau minimal dependenți de ajutor paliativ, iar la momentul externării, numărul subiecților care au câștigat independență funcțională s-a ridicat până la 79% (37 persoane) în acest lot.

Această analiză denotă faptul că subiecții lotului experimental, fiind supuși influenței SMT, s-au recuperat mult mai semnificativ, prezentând un grad de independență cu mult mai ridicat decât cei din lotul de control.

Scala de prognostic Orpington. Conform scalei de prognostic Orpington, ambele loturi de subiecți au înregistrat o dinamică pozitivă. Astfel, în lotul experimental s-a înregistrat o variație medie de la 2,8 la 2,6 puncte, iar în cel de control, variația a înregistrat valori de la 3,2 la 3,0 puncte.

Pentru a determina dacă există vreo dependență între variabila *timp* și variabila rezultatele scorurilor textului Orpington, în lotului de control și în cel experimental a fost aplicat testul two-way mixed ANOVA. Acest test a demonstrat că relația variabilei *timp* cu variabila rezultatele scorurilor textului Orpington este statistic semnificativă, fiind atestate următoarele valori: $F(1, 93) = 4,691$, cu un $p = 0,033$, η^2 parțial = 0,048. Acest rezultat ne dovedește că scorurile testului Orpington au evoluat de la prima vizită la vizita a doua, fără a fi specificat lotul.

Testul 9-Peg Hole. Conform rezultatelor testului 9-Peg Hole, la prima vizită 59% (19 subiecți) din lotul de control au obținut valori incluse în intervalul de 20-39 secunde pentru membrul paretic. În lotul experimental, 68% (25 subiecți) s-au integrat în același interval de timp. Rezultatele sunt redată în Figura 3.3 și Tabelul 3.4.

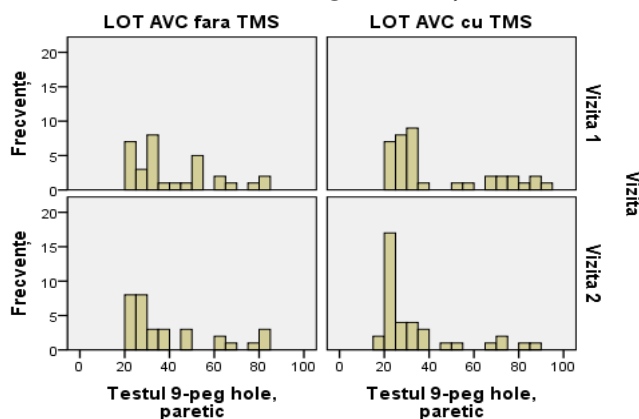


Fig. 3.3. Histograma rezultatelor testului 9-Peg Hole în funcție de lotul analizat și vizită, pentru membrul paretic

Din cauza deficitului motor în membrul paretic, nu toți subiecții au putut îndeplini testul 9-Peg Hole la prima vizită. Astfel, în lotul experimental doar 79% (37 subiecți) și în lotul de control doar 67% (32 subiecți) au putut îndeplini testul 9-Peg Hole la prima vizită.

Tabelul 3.4. Distribuția valorilor testului 9-Peg Hole pe criterii de sex, vârstă și emisfera afectată de AVC în perioada acută

Sexul	Vârsta	Membrul paretic (vizita 1)			Membrul paretic (vizita 2)			Membrul non-paretic (vizita 1)			Membrul non-paretic (vizita 2)		
		Valid N	Media, sec	SD	Valid N	Media, sec	SD	Valid N	Media, sec	SD	Valid N	Media, sec	SD
Feminin	30-39	1	22.10		1	18.70		1	15.80		1	14.50	
	40-49	1	24.30		1	19.60		1	16.80		1	18.40	
	50-59	2	39.55	21.43	2	41.15	27.79	2	17.25	0.50	2	17.80	0.85
	60-69	10	31.34	9.51	12	34.58	19.20	10	18.72	1.65	12	19.45	2.52
	70-79	11	43.64	19.89	10	34.95	17.98	11	25.02	4.07	10	25.44	4.54
	80-89	3	33.97	1.10	4	34.31	11.72	3	29.03	0.46	4	29.23	0.42
	90-99	0			1	30.30		0			1	45.70	
	Femei			36.46	15.46	31	33.95	17.05	28	22.02	4.93	31	23.19
Masculin	30-39	0			0			0			0		
	40-49	1	39.56		1	23.50		1	17.45		1	17.80	
	50-59	5	54.57	26.20	3	44.21	33.25	5	20.59	3.37	3	22.97	2.25
	60-69	24	42.85	22.17	19	34.35	19.42	24	21.80	2.88	19	21.81	3.08
	70-79	10	55.69	24.97	13	45.25	24.03	10	28.11	4.15	13	27.82	3.89
	80-89	1	32.10		2	34.40	18.10	1	29.30		2	28.35	2.62
	90-99	0			0			0			0		
	Bărbați	41	47.07	23.12	38	38.57	21.77	41	23.26	4.43	38	24.20	4.44

Tabelul dat a fost creat grație unei analize scrupuloase a distribuției valorilor testului 9-Peg Hole pe criterii de sex, vârstă și emisfera afectată de AVC în perioada acută. Acest tabel ar putea servi drept sursă de valori de referință pentru cercetările clinice ale subiecților cu accidente vasculare cerebrale investigați prin 9-Peg Hole test.

Impresia clinică globală conform EBEWE_1994. Impresia clinică globală în lotul experimental a fost de îmbunătățire la 81% (38 subiecți) din numărul total de subiecți ai lotului, pe când în cel de control – la doar 45% (22 subiecți).

3.5. Cercetarea corelațiilor dintre parametrii clinici și cei electrofiziologici la subiecții cu accident vascular cerebral

Pentru criteriul PEM, în lotul experimental a fost aplicată corelația Spearman. S-a confirmat că între variabila *dinamica scalei mRS* și variabila *prezența PEM* în lotul experimental există o corelație moderată negativă, statistic semnificativă: $rs(45) = -0,464$, pentru un $p = 0,001$. Prin urmare, putem afirma că aplicarea SMT a indus subiecților lotului experimental o ameliorare statistic semnificativă a valorilor PEM (latență și amplitudine), ceea ce s-a reflectat din punct de vedere clinic în reabilitarea pacienților, evaluată prin intermediul scalei mRS.

Pentru a determina relația dintre variabila *dinamica testului 9-Peg Hole* și variabila *prezența PEM*, de asemenea a fost efectuată corelația Spearman. În urma aplicării acestui test, a fost atestată o corelație puternică pozitivă între variabila *prezența PEM* și variabila *dinamica testului 9-Peg Hole*. Această corelație este statistic semnificativă cu valoarea coeficientului de corelație: $rs(45) = 0,901$, pentru un $p < 0,005$, ceea ce demonstrează o puternică influență a variabilei *prezența PEM* asupra dinamicii rezultatelor testului 9-Peg Hole. Așadar, corelația Spearman a confirmat statistic faptul că prezența PEM reprezintă un factor semnificativ pentru reabilitarea pacienților cu AVC ischemic, fiind confirmat clinic și prin rezultatele testului 9-Peg Hole.

În cercetarea noastră, am încercat să determinăm o dependență între dinamica rezultatelor, conform scalelor clinice aplicate, la subiecții ce aveau emisfera dreaptă afectată de AVC, comparativ cu cei care aveau emisfera stângă afectată de AVC, ceea ce e prezentat în Figura 3.4.

Analizând rezultatele genetice, se poate observa că cele mai slabe rezultate, conform indicatorului *impresia clinică globală EBEWE_1994*, s-au înregistrat la persoanele cu polimorfism care au avut AVC în emisfera stângă (46% subiecți au avut o îmbunătățire a stării la finele spitalizării și 31% au raportat o înrăutățire la sfârșitul spitalizării, în comparație cu 10-14% în restul segmentelor).

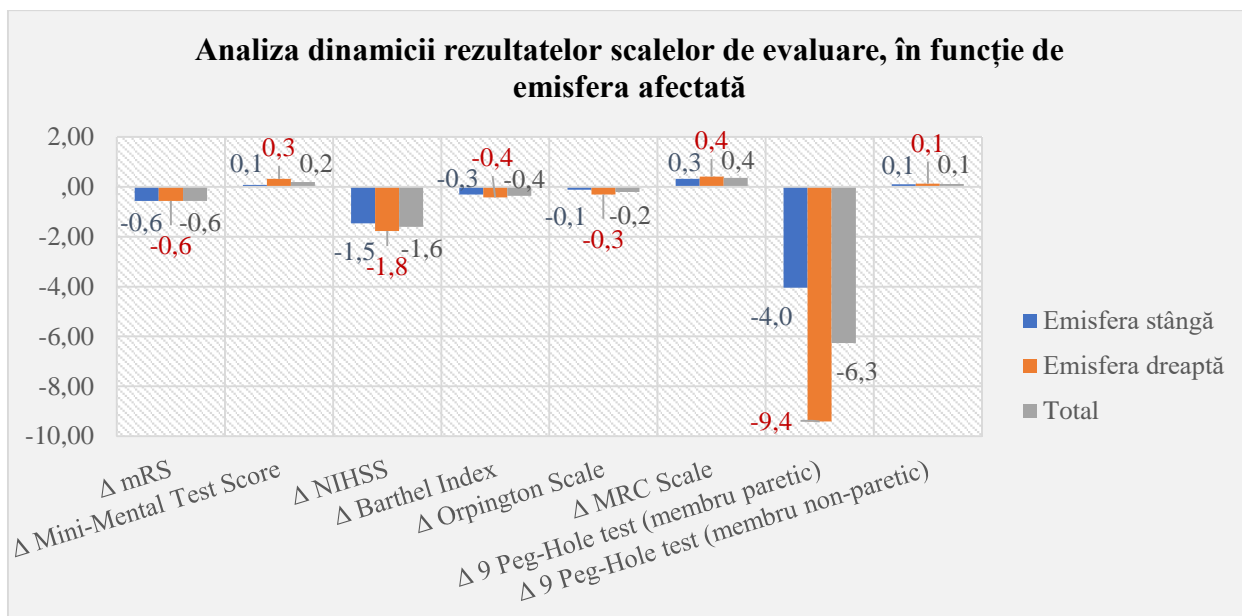


Fig. 3.4. Analiza dinamicii rezultatelor scalelor de evaluare în funcție de emisfera afectată

În același timp, cele mai bune rezultate, după indicatorul respectiv, au fost observate în cazul persoanelor care intră în categoria fără polimorfism, la care de asemenea localizarea AVC-ului a fost în emisfera stângă (69% subiecți au prezentat o îmbunătățire a stării la finele spitalizării și doar 10% au avut o înrăutățire), însă această constatare nu are o susținere statistică, deoarece nu are o tendință statistic semnificativă. Acest lucru poate fi explicat prin faptul că numărul de subiecți nu este suficient de mare pentru a face o concluzie statistică mai generală.

Dinamica rezultatelor în funcție de lotul și genotipul subiecților. S-a observat faptul că în valori absolute, conform scalelor mRS, Barthel, testelor 9-Peg-Hole, Mini-Mental Status, MRC, subiecții fără polimorfism au înregistrat rezultate mai bune decât cei cu polimorfism, indiferent de apartenența lor la lot: experimental sau de control. În lotul experimental, în urma aplicării testelor statistice, a fost atestată o diferență semnificativă pentru indicatorul dinamica Orpington și pentru indicatorul dinamica MRC între persoanele cu polimorfism a genei și cele fără polimorfism a genei.

În cazul scalelor Orpington și MRC, dinamica subiecților fără polimorfism a fost una pozitivă atât pentru lotul experimental, cât și pentru cel de control. Dar rezultatele în lotul experimental la subiecții fără polimorfism sunt net superioare față de subiecții fără polimorfism din lotul de control.

În cazul scalei NIHSS, subiecții fără polimorfism din lotul de control au dinamica mai bună (descreștere cu 1,52 puncte în comparație cu 0,62 puncte în cazul subiecților cu polimorfism). În lotul experimental, diferența dintre subiecții fără polimorfism și cei cu polimorfism este una foarte mică, însă subiecții cu polimorfism au totuși un rezultat puțin mai bun decât cei fără polimorfism (descreștere cu 2 puncte în comparație cu 1,91 puncte în cazul subiecților fără polimorfism).

Pentru testul 9-Peg Hole la membrul paretic, cea mai bună dinamică au înregistrat-o subiecții fără polimorfism din lotul experimental.

În cazul Mini-Mental Test Score, cea mai bună dinamică au înregistrat-o subiecții fără polimorfism din lotul experimental, cu o valoare medie de 0,58 puncte. În același timp, cel mai rău scor a fost înregistrat la subiecții cu polimorfism din lotul de control.

În cazul testului Barthel, cea mai bună dinamică o au subiecții fără polimorfism din lotul experimental. Scorurile înregistrate de aceștia sunt de -0,64, pe când scorurile obținute de subiecții fără polimorfism din lotul de control este de doar -0,21, diferența fiind de 0,43. Prin urmare și în cazul testului Barthel, putem discuta despre o diferență numerică vădit superioară a subiecților fără polimorfism din lotul experimental, comparativ cu subiecții fără polimorfism din cel de control.

În cazul aplicării testului mRS scale, cea mai bună dinamică o au subiecții fără polimorfism din lotul experimental, cu valoarea de -0,88, comparativ cu cei fără polimorfism din lotul de control, a căror valoare a fost înregistrată în mărime de -0,44.

Legătura intervalului de timp dintre AVC și stimulare cu dinamica stării subiectului. Testele statistice efectuate pentru a analiza legătura dintre variabila *timp* și *dinamica scalelor de evaluare* utilizate demonstrează lipsa unei corelații sau asociații între acestea. După cum au demonstrat testele statistice, timpul dintre AVC și stimulare nu este un factor de influență asupra rezultatelor stimulării. Astfel, niciunul dintre indicatorii de măsurare a stării pacientului până și după stimulare nu a înregistrat diferențe semnificative între vizita întâi și vizita a doua. Acest fapt a fost demonstrat prin intermediul metodei de analiză scatterplot. În confirmarea acestui lucru se aduce ca exemplu Figura 3.5 care reprezintă graficul scatterplot între *dinamica scalei de prognostic Orpington* în raport cu *timpul* dintre AVC și stimulare.

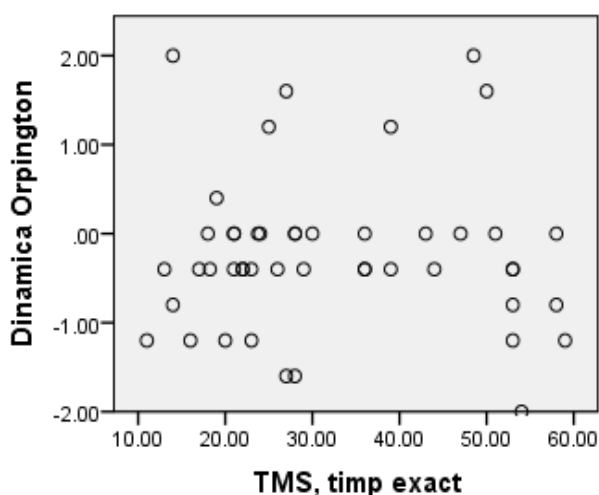


Fig. 3.5. Dinamica scalei de prognostic Orpington în raport cu timpul dintre AVC și stimulare

4. ANALIZA COMPARATIVĂ ȘI DISCUȚIILE ASUPRA REZULTATELOR CERCETĂRII

În acest capitol a fost efectuată o analiză comparativă a datelor din literatura internațională cu rezultatele obținute în cercetarea noastră. A fost analizată, comparată și explicată prevalența numărului de bărbați asupra numărului de femei, printre subiecții cu accident vascular cerebral ischemic. A fost comparată omogenitatea în ceea ce privește emisfera afectată de AVC. Astfel, în lotul de control, 26 (54%) subiecți au prezentat AVC în emisfera stânga, iar emisfera dreaptă în acest lot a fost afectată de AVC în 22 (46%) cazuri. În lotul experimental, emisfera stângă a fost afectată de AVC în 26 (55%) cazuri, iar afectarea emisferei drepte a fost depistată în 21 (45%) cazuri, cu o incidență mai mare a afectării emisferei stângi în ambele loturi. În alte studii epidemiologice, se menționează că în cazul distribuției de vascularizare a arterei cerebrale medii – accidente vasculare cerebrale în emisfera stângă – 54% ($p = 0,0003$) au fost mai frecvent întâlnite decât în emisfera dreaptă 46% ($p = 0,0073$) [22].

În ceea ce privește eficacitatea stimulării magnetice transcraniene (SMT), judecată după dinamica valorilor potențialului evocat motor (PEM) - latență și amplitudine, de la prima până la a doua vizită (5 proceduri de SMT), rezultatele demonstrează îmbunătățirea semnificativă a conducerii impulsului nervos la nivel de tract corticospinal, sub influența SMT. Aceste date se confirmă și în literatura de specialitate. Recuperarea, pe parcursul perioadei acute, corelează cu integritatea căii cortico-spinale ipsilaterale a emisferei afectate (măsurată prin PEM și pragul motor de repaus), în timp ce după faza acută – aceasta corelează cu dezvoltarea rețelelor neuronale alternative din ambele emisferele (care pot fi măsurate prin inhibiția intracorticală cu interval scurt și lung) [23].

În prezent, multe studii utilizează stimulare cu intensitate de joasă frecvență, deoarece nu numai că ameliorează funcția motorie, ci și că prezintă risc scăzut și bine tolerat [24]. În acest studiu am utilizat stimularea cu frecvență joasă de 1 Hz, în concordanță cu cercetările actuale [25] și am arătat că excitabilitatea corticală a lotului experimental a fost semnificativ îmbunătățită după tratament.

Din punctul de vedere al componentului genetic, în studiul nostru, 71% subiecți au prezentat varianta fără polimorfismul rs6265 (G/G) al genei umane BDNF, comparativ cu varianta cu polimorfism (G/A sau A/A) – 29% subiecți.

Alte studii referitoare la prevalența polimorfismul rs6265 (G/G) al genei umane BDNF confirmă variația acesteia în populație – de la 30% la caucazieni până la 70% la asiatici [26]. Iar un studiu recent în România, raportează distribuția alelelor BDNF rs6265 într-un eșantion de voluntari sănătoși (N = 1124) selectați din populația românească), cu frecvențe de 80,74% pentru alela Val (lipsa polimorfismului) și 19,26% pentru alela Met – prezența polimorfismului [27].

Multe studii demonstrează totuși, drept confirmare ale rezultatelor obținute în cercetarea noastră, că parametrii PEM (prezența sau absența PEM la debutul AVC-ului,

amplitudinea și latențaului, pragul motor de repaus) reeprezintă un dinciator de prognostic al recuperării funcționale a membrilor superioare și inferioare [28] și că prognosticul este cu atât mai favorabil, cu cât avem o dinamică mai pozitivă a valorilor PEM [29].

Atunci când SMT repetitivă este aplicată pe o perioadă maximă de cinci sesiuni, acesta oferă efecte de lungă durată, fără beneficii suplimentare atunci când este aplicată pe parcursul a 10 sesiuni [30] – protocol utilizat și în studiul nostru.

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

1. Prin intermediul scalelor de evaluare aplicate s-a constatat fenotipul clinic al pacientului după accident vascular cerebral ischemic în perioada acută și gradul acestuia de severitate. Astfel, caracteristica subiecților cercetați prezintă în mediu un deficit neurologic de 7,3 puncte NIHSS, cu afectare motorie severă (MRC), dizabilitate moderată până la moderat-severă (MRS), dexteritate manuală fină sever afectată (9-Peg Hole Test), deficit cognitiv minor (Mini-Mental Test Score), grad de dependență minimă (testul Barthel) și prognostic intermediar pentru reabilitare (scala Orpington) (capitolul 3, subcapitolul 3.4).

2. Estimarea polimorfismului Rs626 prin genotiparea subiecților cu accident vascular cerebral ischemic a evidențiat prezența acestuia în circa o treime de cazuri (29%) în eșantionul analizat, subliniind rolul genei umane BDNF – un potențial biomarker genetic al neuroplasticității. (capitolul 3, subcapitolul 3.3).

3. Efectul stimulării magnetice transcraniene asupra excitabilității corticale a demonstrat rolul acesteia în reabilitarea după accident vascular cerebral și lipsa potențialului evocat motor la debutul accidentului vascular cerebral a fost confirmat drept un factor de prognostic negativ în recuperarea motorie. Totodată rezultatele statistice semnificativ mai bune, comparativ cu subiecții cu tratament convențional, au confirmat ponderea SMT în neuroreabilitare, față de recuperarea spontană în faza acută a accidentului vascular cerebral (capitolul 3, subcapitolele 3.2 și 3.4).

4. Corelația dintre efectul stimulării magnetice transcraniene și prezența polimorfismului rs6265 al genei umane BDNF a demonstrat că lipsa polimorfismului este un indicator al recuperării semnificativ mai bun după accidentul vascular cerebral ischemic, în faza acută. Subiecții fără polimorfism au avut o dinamică net pozitivă conform scalelor Orpington, MRC, MRS și 9-Peg Hole Test (capitolul 3, subcapitolul 3.5).

5. Problema științifică soluționată în teză a permis aplicarea în practica terapeutică a criteriilor de apreciere a candidatului ideal pentru stimularea magnetică transcraniană: prezența Potențialului evocat motor, absența polimorfismului rs6265 la nivelul genei BDNF și emisfera afectată stângă (dominantă).

În conformitate cu rezultatele obținute, putem face următoarele **recomandări practice**:

1. Aplicarea în practica terapeutică a metodei de stimulare magnetică transcraniană la subiecții cu accident vascular cerebral ischemic în perioada acută, indiferent de: nivelul topografic, timpul de la debutul accidentului vascular cerebral, vârstă și sex.

2. Utilizarea în practica terapeutică a patternului candidatului ideal eligibil pentru stimularea magnetică transcraniană în reabilitarea după AVC ischemic, în faza acută, în vederea optimizării managementului terapeutic.

3. Utilizarea ca referință pentru studiile naționale a rezultatelor testului 9 Peg-Hole, grupate pe criterii de vârstă, sex și emisferă afectată de accident vascular cerebral în *Tabelul 3.7. Distribuția valorilor testului 9-Peg Hole pe criterii de sex, vârstă și emisfera afectată de AVC în perioada acută*, ținând cont de insuficiența și dispersia datelor publicate în literatura de specialitate.

4. Genotiparea subiecților cu accident vascular cerebral, pe baza polimorfismului rs6265 al genei BDNF, în studiile cu referire la neuroplasticitatea după accident vascular cerebral și includerea ulterioară în setul individual de markeri genetici în vederea modulării intervențiilor de neurorecuperare personalizată.

BIBLIOGRAFIE

1. GROPPA, St., ZOTA, E., EFREMOVA, D., CHIFORIȘINA, V. Profilaxia secundară a accidentului vascular cerebral ischemic și factorii de risc modificabili în populația Republicii Moldova. In: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale. 2015, vol. 4, nr. 49, pp. 130–133. ISSN: 1857-0011.

2. PELL, G.S., ROTH, Y. and ZANGEN, A. Modulation of cortical excitability induced by repetitive transcranial magnetic stimulation: Influence of timing and geometrical parameters and underlying mechanisms. In: Prog. Neurobiol. 2010, nr. 93, pp. 59–98. ISSN: 0301-0082.

3. GROPPA, S., COSCIUG, V., GASNAS, A. Pathophysiology and biomarkers of acute ischemic stroke. In: *Archives of the Balkan Medical Union*. 2016, nr. 51, 1 (supl. 1), pp. 190-195. ISSN 0041-6940

4. BARBEY, A.K. et al. Preservation of general intelligence following traumatic brain injury: contributions of the Met66 brain-derived neurotrophic factor. In: *PloS One*. 2014, nr. 9(2), e88733. Disponibil: DOI: 10.1371/journal.pone.0088733. ISSN: 1932-6203.

5. KIM, J.M. et al. Associations of BDNF genotype and promoter methylation with acute and long-term stroke outcomes in an East Asian cohort. In: *PloS One*. 2012, nr. 7, e51280. ISSN: 1932-6203.

6. ETIÉVANT, A. et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation induces long-lasting changes in protein expression and histone acetylation. In: *Scientific Reports*. 2015, nr. 5, p. 16873. Disponibil: DOI: 10.1038/srep16873. ISSN: 2045-2322.

7. GROPPA, S., GASNAS, A. Transcranial Magnetic Stimulation and Results of connectivity studies of acute ischemic stroke. In: *Archives of the Balkan Medical Union*. 2013, nr. 48(3), pp. 215-217. ISSN 0041-6940.
8. GASNAȘ, A., GROPPA, S. Neuroplasticitatea cerebrală în accidentul vascular cerebral. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2015, nr. 2(47), pp. 100-107. ISSN 1857-0011.
9. JOHANSSON, B.B. Functional and cellular effects of environmental enrichment after experimental brain infarcts. In: *Restor. Neurol. Neurosci*. 2004, nr. 22, pp. 163-174. ISSN: 0922-6028.
10. GROPPA, S., GASNAS, A. Transcranial magnetic stimulation in human cognition. In: *Archives of the Balkan Medical Union*. 2016, nr. 51, 1 (supl. 1), pp. 132-137. ISSN 0041-6940.
11. BARKER, A.T., JALINOUS, R., FREESTON, I.L. Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. In: *The Lancet*. 1985, nr. 325(8437), pp. 1106–1107. ISSN: 1050-5911.
12. GASNAȘ, A., GROPPA, S. Mecanismele de recuperare după un accident vascular cerebral prin utilizarea stimulării magnetice transcraniene repetitive (rSMT). In: *Archives of the Balkan Medical Union*. 2015, nr. 50, 2 (supl. 1), pp. 172-176. ISSN 0041-6940.
13. MUELLBACHER, W., ZIEMANN, U., BOROOJERDI, B., HALLETT, M. Effects of low-frequency transcranial magnetic stimulation on motor excitability and basic motor behavior. In: *Clin. Neurophysiol*. 2000, nr. 111, pp. 1002-1007. ISSN: 1388-2457.
14. GASNAS, A., GROPPA, S. Brain neuroplasticity in acute ischemic stroke. In: *Abstract book of the RoNeuro Brain Days, 6th European Teaching Course on Neurorehabilitation, 1–3 June, 2016, Cluj-Napoca, Romania*. 2016, nr. 2, pp. 31-32. ISSN 2501-7039.
15. PIRTAC, I., SAMOTIUC, E., GASNAȘ, A., GROPPA, S. Stimularea noninvazivă și kinetoterapia în recuperarea subiecților cu AVC ischemic acut. In: *Archives of the Balkan Medical Union*. 2017, vol. 52, 1 (supl. 1), pp. 48-51. ISSN 0041-6940.
16. ROSTAMI, E., KRUEGER, F., ZOUBAK, S. et al. BDNF polymorphism predicts general intelligence after penetrating traumatic brain injury. In: *PLoS One*. 2011, nr. 6(11):e27389. Disponibil: DOI: 10.1371/journal.pone.0027389. ISSN: 1932-6203.
17. McALLISTER, T.W., TYLER, A.L., FLASHMAN, L.A. et al. Polymorphisms in the brain-derived neurotrophic factor gene influence memory and processing speed one month after brain injury. In: *J. Neurotrauma*. 2012, nr. 29(6), pp. 1111–1118. Disponibil: DOI: 10.1089/neu.2011.1930. ISSN: 0897-7151.
18. PARK, C., KIM, J., NAMGUNG, E. et al. The BDNF rs6265 Polymorphism Affects the Vulnerability of the Brain Structural Network. In: *Front. Hum. Neurosci*. 2017, nr. 11:400. Disponibil: DOI: 10.3389/fnhum.2017.00400. ISSN: 1662-5161.
19. Di PINO, G., PELLEGRINO, G., CAPONE, F. et al. rs6265 BDNF Polymorphism Implies a Different Way to Recover From Stroke Rather Than a Worse

Overall Recoverability. In: *Neurorehabil. Neural Repair*. 2016, nr. 30(1), pp. 3–8. Disponibil: Doi: 10.1177/1545968315583721. ISSN: 1545-9683.

20. **GASNAȘ, A.** Rolul polimorfismului genei rs6265 în recuperarea funcțională a pacientului după accident vascular cerebral. In: *Buletin informativ al Conferinței Naționale cu participare internațională*. Iași, România, 2017, nr. 5, pp. 91-92.

21. **GASNAS, A.** Genetic aspects of SMT-induced brain neuroplasticity in ischemic stroke patients. In: *International Teaching Course on Neurorehabilitation. Abstract Book*. Eforie Nord, România. 2018, pp. 25-26.

22. HEDNA, V., BODHIT, A., ANSARI S., et al. Hemispheric differences in ischemic stroke: is left-hemisphere stroke more common?. *J Clin Neurol*. 2013;9(2):97–102. doi:10.3988/jcn.2013.9.2.97

23. SWAYNE O. B., ROTHWELL J. C., WARD N. S., GREENWOOD R. J. (2008). Stages of motor output reorganization after hemispheric stroke suggested by longitudinal studies of cortical physiology. *Cereb. Cortex* 18, 1909–1922. 10.1093/cercor/bhm218

24. KAKUDA, W., ABO, M., URUMA, G., KAITO, N., WATANABE M. (2010) Low frequency rTMS with language therapy over a 3-month period for sensory-dominant aphasia: case series of two post-stroke Japanese patients. *Brain Inj* 24:1113-1117

25. YIN, Zf., SHEN, Y., MENG, Dh., HOU, H., DAI, W., LI, Ja. (2014) The effectiveness of low-frequency transcranial magnetic stimulation for restoring upper limb function after cerebral infarction. *Zhonghua Wulixue yu Kangfu Zazhi* 36:596-600.

26. He, Xm., ZHANG, Zx., ZHANG Jw., et al. Lack of association between the BDNF gene rs6265 polymorphism and Alzheimer disease in a Chinese Han population. *Neuropsychobiology*. 2007;55:151-155.

27. VULTURAR, R., CHIȘ, A., HAMBRICH, M., KELEMEN, B., UNGUREANU, L., MIU, Ac. Allelic distribution of BDNF rs6265 polymorphism in healthy Romanian volunteers. *Transl Neurosci*. 2016;7(1):31–34. Published 2016 Apr 22. doi:10.1515/tnsci-2016-0006

28. SON, Sy., PARK, Sh., SEO, Jh., KO, Mh. Correlation of the motor evoked potentials amplitude and hand function of the affected side in stroke. *J Korean Acad Rehabil Med*. 2011;35:34–41.

29. LIM, Kb., KIM, Ja,. Activity of daily living and motor evoked potentials in the subacute stroke patients. *Ann Rehabil Med*. 2013;37:82–87.

30. LÜDEMANN-PODUBECKÁ, J., BÖSL, K., NOWAK, D. A. (2015). Repetitive transcranial magnetic stimulation for motor recovery of the upper limb after stroke. *Prog. Brain Res*. 218, 281–311. 10.1016/bs.pbr.2014.12.001

LISTA PUBLICAȚIILOR AUTORULUI LA TEMA TEZEI

1. Articole în reviste științifice

1.1. în reviste din bazele de date Web of Science și SCOPUS

- 1.1.1 GROPPA, S., GASNAȘ, A. Transcranial magnetic stimulation in human cognition. In: *Archives of the Balkan Medical Union*. 2016, nr. 51, vol.1 (supl.1), pp. 132-137. ISSN 0041-6940.
- 1.1.2 GROPPA, S., COSCIUG, V., GASNAȘ, A. Pathophysiology and biomarkers of acute ischemic stroke. In: *Archives of the Balkan Medical Union*. 2016, nr. 51, vol. 1 (supl.1), pp. 190-195. ISSN 0041-6940.
- 1.1.3 GASNAȘ, A., GROPPA, S. Mecanismele de recuperare după un accident vascular cerebral prin utilizarea stimulării magnetice transcraniene repetitive (rTMS). In: *Archives of the Balkan Medical Union*. 2015, nr. 50, vol. 2 (supl.1), pp. 172-176. ISSN 0041-6940.
- 1.1.4 GROPPA, S., GASNAȘ, A. Transcranial Magnetic Stimulation and results of connectivity studies of acute ischemic stroke. In: *Archives of the Balkan Medical Union*. 2013, nr. 48 (supl.3), pp. 215-217. ISSN 0041-6940.

1.2. în reviste din străinătate recunoscute

- 1.2.1 GASNAȘ, A. Perturbările rețelelor cerebrale după un accident vascular cerebral: studii a conectivității cerebrale. In: *Archives of the Balkan Medical Union*. 2017, nr. 52, vol. 1 (supl.1), pp. 54-59. ISSN 0041-6940.
- 1.2.2 GASNAȘ, A., CATERENIUC, D., GROPPA, ST. Persistent migraine aura without infarction. Case report. In: *Archives of the Balkan Medical Union*. 2017, nr. 52, vol. 1 (supl.1), pp. 40-44. ISSN 0041-6940.
- 1.2.3 GASNAȘ, A. et al. Up to date acoustic schwannomas and the role of auditory evoked potentials. Case report. In: *Archives of the Balkan Medical Union*. 2017, nr. 52, vol.1 (supl.1), pp. 29-33. ISSN 0041-6940.
- 1.2.4 GASNAȘ, A. et al. Myasthenia gravis - Lambert Eaton Overlap Syndrome. Literature review and case report. In: *Archives of the Balkan Medical Union*. 2017, nr. 52, vol.1 (supl.1), pp. 34-39. ISSN 0041-6940.
- 1.2.5 LEAHU, P. et al. Visual evoked potentials: clinical use in diabetes mellitus and multiple sclerosis. In: *Archives of the Balkan Medical Union*. 2017, nr. 52, vol. 1 (supl.1), pp. 74-78. ISSN 0041-6940.
- 1.2.6 PIRTAC, I. et al. Stimularea noninvazivă și kinetoterapia în recuperarea pacienților cu avc ischemic acut. In: *Archives of the Balkan Medical Union*. 2017, nr. 52, vol. 1 (supl.1), pp. 48-51. ISSN 0041-6940.

1.3. în reviste din Registrul Național al revistelor de profil

- categoria B

- 1.3.1 BARBARIU, C. et al. Manifestările clinice și managementul farmacologic al tulburărilor de mișcare după accident vascular cerebral. (Caz clinic). În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2015, nr. 2(47), pp. 229-233. ISSN 1857-0011.

- 1.3.2 GASNAȘ, A., GROPPA, S. Neuroplasticitatea cerebrală în accidentul vascular cerebral. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2015, nr. 2(47), pp. 100-107. ISSN 1857-0011.
- 1.3.3 PÎRVU, D., GASNAȘ, A., GROPPA, S. Stimularea magnetică transcraniană în tulburări de conștiință. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2015, nr. 2(47), pp. 94-100. ISSN 1857-0011.
- 1.3.4 GROPPA, ST. et al. Evoluția funcțiilor cognitive superioare la subiecții cu AVC ischemic acut, supuși medicației cu Mildronat. În: *Curierul medical*. 2012, nr. 4(328), pp. 61-63. ISSN 1875-0666.

2. Teze în culegeri științifice

2.1. în lucrările conferințelor științifice internaționale (peste hotare)

- 2.1.1 GASNAȘ, A. Genetic aspects of TMS-induced brain neuroplasticity in ischemic stroke patients. În: *Abstract book of the RoNeuro Brain Days, 8th European Teaching Course on Neurorehabilitation*. Eforie Nord, România, 2018, pp. 25-26. ISSN 2501-7039.
- 2.1.2 GLAVAN, IU., GASNAȘ, A. Genetic aspects of transcranial magnetic stimulation induced brain neuroplasticity in ischemic stroke patients. In: *11th World Stroke Congress. Abstract Book. International Journal of Stroke*. 2018, vol. 13 (2S), pp. 154. ISSN: 1747-4930.
- 2.1.3 GASNAȘ, A. Rolul polimorfismului genei Val66Met în recuperarea funcțională a pacientului după accident vascular cerebral. In: *Buletin informativ al Conferinței Naționale cu participare internațională*. Iași, România, 2017, vol. 5, pp. 91-92.
- 2.1.4 GASNAȘ, A., GROPPA, S. Brain neuroplasticity in acute ischemic stroke. In: *Abstract book of the RoNeuro Brain Days, 6th European Teaching Course on Neurorehabilitation*. Cluj-Napoca, Romania, 2016, vol. 2, pp. 31-32. ISSN 2501-7039.
- 2.1.5 GASNAȘ, A. et al. Brain neuroplasticity in acute ischemic stroke. In: *Abstract book of the RoNeuro Brain Days 5th European Teaching Course on Neurorehabilitation and 14th Congress of European Society for Clinical Neuropharmacology*. Cluj-Napoca, Romania, 2015, p. 30. ISSN 2501-7039.

3. Brevete de invenții și alte obiecte de proprietate intelectuală, materiale la saloanele de invenții

- 3.1 GROPPA, S., CHIOSA, V., GASNAȘ, A., BALANUTA, T., CIOLAC, D. Proiect inovațional și de transfer tehnologic. "Aprecierea stării funcționale a structurilor neuronale și de transmitere aferente și eferente ale sistemului nervos central și periferic prin metoda examenului complex. În: *Catalogul Expoziției Naționale Specializate "INFOINVENT 2015"*. Chișinău, 2015, pp. 151-152.
- 3.2 GROPPA, S., CIOBANU, GH., CHIOSA, V., GASNAȘ, A. Proiect inovațional și de transfer tehnologic." Implementarea stimulării magnetice transcraniene în practica neurologică în Republica Moldova". În: *Catalogul Expoziției Naționale Specializate "INFOINVENT 2013"*. Chișinău, 2013, pp. 188-189.

ADNOTARE

Gasnaș Alexandru

„Neuroplasticitatea indusă prin stimularea magnetică transcraniană la subiecții cu accident vascular cerebral ischemic”.

Teză de doctor în științe medicale, Chișinău, 2019

Structura tezei: Lucrarea este formată din: introducere, 4 capitole, concluzii generale, recomandări practice, bibliografie din 211 de titluri, 8 anexe. Teza este expusă pe 108 pagini de text de bază și este ilustrată cu 61 figuri și 9 tabele. Rezultatele sunt publicate în 21 de lucrări științifice.

Cuvinte-cheie: accident vascular cerebral, stimulare magnetică transcraniană, neuroplasticitate, polimorfismul genei BDNF (factor neurotrofic derivat din creier).

Domeniul de studiu: neurologie, reabilitare clinică.

Scopul lucrării constă în studierea particularităților plasticității cerebrale și investigarea genei umane rs6265 BDNF la subiecții cu accident vascular cerebral (AVC) ischemic în perioada acută, sub influența sau în absența stimulării magnetice transcraniane.

Obiectivele lucrării: (1) Determinarea particularităților clinico-evolutive ale subiecților cu accident vascular cerebral ischemic în perioada acută. (2) Identificarea polimorfismului rs6265 al subiecților cu AVC ischemic prin investigarea genei umane BDNF. (3) Evaluarea eficacității stimulării magnetice transcraniane (SMT) în reabilitarea subiecților cu AVC ischemic în perioada acută. (4) Estimarea corelației dintre rezultatele SMT și polimorfismul rs6265 al genei umane BDNF în reabilitarea subiecților cu AVC ischemic în perioada acută. (5) Elaborarea patternului candidatului ideal eligibil pentru stimularea magnetică transcraniană în reabilitarea după accidentul vascular cerebral ischemic.

Noutatea și originalitatea științifică a cercetării constă în: a) aprecierea eficacității stimulării magnetice transcraniane în reabilitarea subiecților cu AVC ischemic în perioada acută și elaborarea criteriilor de selecție a candidaților ideali pentru modularea neinvazivă prin SMT în accidentul vascular cerebral ischemic; b) cercetarea expresiei genei umane BDNF la subiecții cu AVC, precum și a rolului polimorfismului rs6265 în reabilitarea acestora.

Problema științifică importantă soluționată constă în elucidarea evoluției clinice a subiecților care au suportat accident vascular cerebral ischemic pe baza polimorfismului genetic și a influenței stimulării magnetice transcraniane, cu elaborarea ulterioară a unor criterii predictive pentru candidatul ideal eligibil pentru SMT, în vederea optimizării managementului terapeutic al subiecților cu accident vascular cerebral ischemic.

Semnificația teoretică a lucrării constă din evaluarea particularităților clinico-evolutive ale subiecților cu AVC ischemic în perioada acută. Studiul a adus cunoștințe suplimentare privind evaluarea factorilor și precondițiilor cu rol în reabilitarea subiecților după AVC ischemic, facilitând prognozarea individualizată a probabilității de recuperare.

Valoarea aplicativă a lucrării: Modelele predictive elaborate pot fi aplicate în practica medicală și impun o evaluare și o monitorizare foarte atentă a subiecților cu AVC, în cazul cărora se atestă cumularea mai multor factori predictivi.

Implementarea rezultatelor științifice: Optimizarea procesului de identificare timpurie a candidatului ideal pentru SMT. Implementarea acestei metode complementare de tratament în faza acută și în cea subacută a AVC în ghidurile și protocoalele instituționale și naționale.

АННОТАЦИЯ

Гаснаш Александру

„Нейропластичность, индуцированная транскраниальной магнитной стимуляцией у пациентов с ишемическим инсультом”.

**Диссертация на соискание учёной степени кандидата медицинских наук,
Кишинэу, 2019.**

Структура диссертации: введение, 4 главы, выводы и рекомендации, библиография из 211 наименований, 8 приложений, 108 страниц основного текста, 61 рисунок, 9 таблиц. Результаты исследования опубликованы в 21 научных работах.

Ключевые слова: инсульт, транскраниальная магнитная стимуляция, нейропластичность, полиморфизм гена BDNF (Нейротрофический фактор мозга).

Область исследования: неврология, клиническая реабилитация.

Цель исследования: изучение особенностей церебральной пластичности и исследование человеческого гена rs6265 BDNF у пациентов с ишемическим инсультом (ИИ) в остром периоде, под влиянием или в отсутствие транскраниальной магнитной стимуляции.

Задачи исследования: (1) Определение клинико-эволюционных особенностей субъектов с ишемическим инсультом в остром периоде. (2) Идентификация полиморфизма rs6265 у субъектов с ишемическим инсультом путем исследования гена BDNF человека. (3) Установление порога эффективности транскраниальной магнитной стимуляции (ТМС) в реабилитации пациентов с ишемическим инсультом в остром периоде. (4) Оценка корреляции между результатами транскраниальной магнитной стимуляции и полиморфизмом rs6265 гена BDNF человека в реабилитации пациентов с ишемическим инсультом в остром периоде. (5) Разработать модель идеального кандидата для транскраниальной магнитной стимуляции в реабилитации после ишемического инсульта.

Научная новизна работы состоит из: а) оценки эффективности ТМС в реабилитации субъектов с ишемическим инсультом в течение острого периода и разработки критериев отбора идеальных кандидатов для неинвазивной модуляции ТМС при ишемическом инсульте; б) изучение экспрессии человеческого гена BDNF у пациентов с инсультом, а также роли полиморфизма rs6265 в их реабилитации.

Главная решенная проблема состоит в выяснении клинической эволюции пациентов, перенесших ИИ на основе генетического полиморфизма и влияния ТМС, с дальнейшей разработкой прогностических критериев для идеального кандидата для ТМС с целью оптимизации терапевтического ведения пациентов с ИИ.

Теоретическая и практическая значимость исследования состоит в оценке клинико-эволюционных особенностей пациентов с ИИ в остром периоде. Исследование принесло дополнительные знания об оценке факторов и предпосылок с ролью в реабилитации пациентов после ИИ, облегчая индивидуальный прогноз вероятности выздоровления.

Применимая ценность: разработанные прогностические модели могут быть применены в медицинской практике и требуют очень тщательной оценки и мониторинга пациентов с инсультом, у которых объединяются несколько факторов прогнозирования.

Внедрение результатов исследования: Оптимизация процесса ранней идентификации идеального кандидата на ТМС. Введение этого комплементарного метода лечения в острой и подострой фазе инсульта в институциональных и национальных протоколах и гидах.

ANNOTATION

Gasnas Alexandru

„ Induced neuroplasticity via transcranial magnetic stimulation in subjects with ischemic stroke”.

Thesis for PhD degree in medicine, Chisinau, 2019

Structure of the thesis: The thesis consists of the following compartments: introduction, 4 chapters, general conclusions, practical recommendations, bibliography from 211 titles and 8 annexes. The thesis is exposed on 108 text pages and is illustrated with 61 figures and 9 tables. The results are published in 21 scientific papers.

Keywords: Stroke, transcranial magnetic stimulation, neuroplasticity, polymorphism of the BDNF (Brain-derived neurotrophic factor) gene.

Field of study: neurology, clinical rehabilitation.

Purpose of the study: The study of the peculiarities of cerebral plasticity in patients with ischemic stroke during the acute phase and the investigation of the rs6265 polymorphism of the BDNF human gene under the influence of transcranial magnetic stimulation (SMT).

Objectives of the study: 1) The assessment of the clinical-evolutionary features of patients with ischemic stroke during the acute phase. 2) Appreciation of the rs6265 polymorphism of patients with ischemic stroke by investigating the human BDNF gene. 3) The evaluation of the efficacy of transcranial magnetic stimulation in the rehabilitation of patients with ischemic stroke during the acute phase. 4) The analysis of correlations between transcranial magnetic stimulation results and the rs6265 polymorphism of the BDNF human gene in the rehabilitation of patients with acute ischemic stroke. 5) The highlighting of the ideal candidate pattern for Transcranial Magnetic Stimulation in rehabilitation after ischemic stroke.

Scientific novelty and originality: For the first time, BDNF human gene expression was investigated in patients with stroke during the acute phase, and the efficacy of SMT in their rehabilitation was assessed.

Solved scientific problem consists in elucidating the clinical evolution of patients who suffered an ischemic stroke based on their genetic polymorphism and the influence of SMT, with further elaboration of predictive criteria for the ideal candidate for SMT in order to optimize the therapeutic management of patients with ischemic stroke.

Theoretical significance consists in evaluating the clinical-evolutionary features of patients with ischemic stroke during the acute phase. The study brought additional knowledge on the assessment of factors and preconditions with important role in the rehabilitation of patients after ischemic stroke, facilitating an individualized prognosis and probability of recovery.

Application value: deduced predictive models will be applied in medical practice and they emphasize the importance of very careful assessment and monitoring of stroke patients, where multiple prediction factors are aggregated.

Implementation of scientific results: Optimizing the early identification process of the ideal SMT candidate and adding this complementary method of treatment in the acute and subacute phase of stroke in the institutional and national guidelines and protocols.

GASNAȘ ALEXANDRU

**NEUROPLASTICITATEA INDUSĂ PRIN STIMULAREA
MAGNETICĂ TRANSCRANIANĂ LA SUBIECȚII CU ACCIDENT
VASCULAR CEREBRAL ISCHEMIC**

321.05 – NEUROLOGIE CLINICĂ

Rezumatul tezei de doctor în științe medicale

Aprobat spre tipar: 18.10.2019

Hârtie ofset. Tipar ofset.

Coli de tipar: 2,0

Formatul hârtiei 60x84 1/16

Tiraj 50 ex

Comanda nr. 1095

SRL Tipografie-Sirius,
MD-2004, Chișinău, str. Lăpușneanu, 2
Tel. (022) 23 23 52