

**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

Teză de doctor în științe medicale

Conducător științific:

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

Autor:

CHIȘINĂU, 2019

© Gasnaş Alexandru, 2019

CUPRINS

ADNOTARE.....	5
АННОТАЦИЯ	6
ANNOTATION	7
LISTA TABELELOR	8
LISTA FIGURILOR.....	9
LISTA ABREVIERILOR.....	12
INTRODUCERE	14
1.ANALIZA SITUAȚIEI ÎN DOMENIUL MODIFICĂRILOR NEUROPLASTICE INDUSE DE ACCIDENTUL VASCULAR CEREBRAL ISCHEMIC	22
1.1. Aspectul neuroanatomic al accidentului vascular cerebral (AVC) ischemic	22
1.2. Mecanismele de plasticitate neuronală după leziunile cerebrale	25
1.3. Noțiuni generale cu privire la stimularea magnetică transcraniană (SMT)	29
1.4. Rolul polimorfismului genei umane BDNF în neuroreabilitare	39
1.5. Sinteza capitolului 1.....	47
2. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE.....	50
2.1. Caracteristica generală a studiului: lotul de cercetare, etapele și designul cercetării	50
2.2. Metodologia aplicată în decursul cercetării	52
2.3. Metodologia aplicată pentru studiul genetic	58
2.4. Protocolul stimulării magnetice transcraniene (SMT) și înregistrarea potențialului evocat motor (PEM).....	59
2.5. Metodele de evaluare statistică pentru aprecierea rezultatelor	61
2.6. Sinteza capitolului 2.....	62
3. ASOCIEREA POLIMORFISMULUI RS6265 AL GENEI BDNF CU ASPECTELE CLINICE ALE ACCIDENTULUI VASCULAR CEREBRAL ISCHEMIC, SUB INFLUENȚA STIMULĂRII MAGNETICE TRANSCRANIENE	63
3.1. Descrierea subiecților din lotul experimental și cel de control.....	63
3.2. Rezultatele investigațiilor paraclinice ale subiecților cu accident vascular cerebral	72
3.3. Rezultatele investigațiilor genetice asupra polimorfismului rs6265 al genei umane BDNF a subiecților cu accident vascular cerebral	79
3.4. Rezultatele și dinamica subiecților cu accident vascular cerebral, conform scalelor de evaluare aplicate	83
3.5. Cercetarea corelațiilor dintre parametrii clinici și cei electrofiziologici la subiecții cu accident vascular cerebral.....	95
3.6. Sinteza capitolului 3.....	113
4. ANALIZA COMPARATIVĂ ȘI DISCUȚIILE ASUPRA REZULTATELOR CERCETĂRII.....	115
CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI	120
BIBLIOGRAFIE	122

ANEXE	141
Anexa 1. Scale de evaluare neurologică	141
Anexa 2. Descrierea pacienților din lotul experimental și cel de control	147
Anexa 3. Rezultatele investigațiilor paraclinice ale subiecților cu accident vascular cerebral	150
Anexa 4. Rezultatele investigațiilor genetice asupra polimorfismului rs6265 al genei umane BDNF a subiecților cu accident vascular cerebral.....	151
Anexa 5. Rezultatele și dinamica subiecților cu accident vascular cerebral, conform scalelelor de evaluare aplicate.....	153
Anexa 6. Certificat de implementare a rezultatelor cercetărilor științifico-practice.....	160
Anexa 7. Certificat de inovator	161
Anexa 8. Certificat de înregistrare a obiectelor dreptului de autor și drepturilor conexe.....	162
DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII	164
CURRICULUM VITAE.....	165

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 candidatului 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 cumulara 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 острый период, 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 комPLEMENTАРНОГО 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.

LISTA TABELELOR

Tabelul 2.1. Calcularea numărului necesar total de subiecți pentru studiu.....	49
Tabelul 3.1. Repartizarea subiecților conform vârstei (ani, abs.)	64
Tabelul 3.2. Repartizarea pacienților conform nivelului tensiunii arteriale (% , abs.)	67
Tabelul 3.3. Analiza intervalului de timp de la debutul AVC până la startul SMT (% , abs.)	71
Tabelul 3.4. Repartizarea genotipică pe loturi, în funcție de tipul polimorfismului (abs., %)	80
Tabelul 3.5. Repartizarea genotipică în funcție de prezența/absența mutației (abs., %)	81
Tabelul 3.6. Dinamica mediei latenței și amplitudinii PEM în funcție de genotip	82
Tabelul 3.7. Distribuția valorilor testului 9-Peg Hole pe criterii de sex, vârstă și emisfera afectată de AVC în perioada acută.....	94
Tabelul 3.8. Corelația dintre PEM și testul 9 Peg Hole, lotul experimental.....	96

LISTA FIGURILOR

Figura 3.1. Repartizarea pacienților pe loturi (%)	63
Figura 3.2. Repartizarea subiecților din ambele loturi conform sexului (%)	63
Figura 3.3. Repartizarea subiecților conform vârstei (ani), pe intervale (%)	64
Figura 3.4. Repartizarea subiecților conform mediului de reședință (%).....	65
Figura 3.5. Repartizarea subiecților conform ocupației (%)	65
Figura 3.6. Repartizarea subiecților conform nivelului activității fizice cotidiene (%)	66
Figura 3.7. Repartizarea subiecților conform nivelului tabagismului (%)	66
Figura 3.8. Repartizarea subiecților conform nivelului consumului de alcool (%).....	67
Figura 3.9. Repartizarea subiecților conform prezenței fibrilației atriale (%).....	68
Figura 3.10. Repartizarea subiecților conform prezenței diabetului zaharat (%).....	68
Figura 3.11. Repartizarea subiecților conform prezenței dislipidemie (%).....	69
Figura 3.12. Repartizarea subiecților conform medicației anterioare: antiagregante (%).....	69
Figura 3.13. Repartizarea subiecților conform medicației anterioare: anticoagulante (%)	69
Figura 3.14. Repartizarea subiecților conform medicației anterioare: antihipertensive (%).....	70
Figura 3.15. Repartizarea subiecților conform medicației anterioare. Antidiabetice (%)	70
Figura 3.16. Repartizarea subiecților conform medicației anterioare: hipolipemizante (%)	71
Figura 3.17. Analiza intervalului de timp de la debutul AVC până la startul SMT (%).....	72
Figura 3.18. Repartizarea subiecților conform rezultatelor Doppler-Duplex al vaselor brahiocefalice (%).....	73
Figura 3.19. Repartizarea subiecților conform emisferei afectate de AVC (%)	73
Figura 3.20. Repartizarea subiecților conform nivelului topografic al AVC (%).....	74
Figura 3.21. Analiza RMT al subiecților lotului experimental înainte de SMT (%).....	75
Figura 3.22. Exemplul 1 de PEM înregistrat la un pacient din lotul experimental (10 serii de impulsuri)	75
Figura 3.23. Exemplul 2 de PEM înregistrat la un pacient din lotul experimental (10 serii de impulsuri)	76
Figura 3.24. Exemplul 3 de PEM înregistrat la un pacient din lotul experimental (10 serii de impulsuri)	76
Figura 3.25. Dinamica latenței PEM (lotul experimental), vizita I versus vizita II (ms).....	78
Figura 3.26. Dinamica amplitudinii PEM (lotul experimental), vizita I vs vizita II (ms).....	78
Figura 3.27. Compararea dinamicii medii a latenței și amplitudinii PEM, în funcție de emisfera afectată.....	79
Figura 3.28. Repartizarea genotipică pe loturi, în funcție de zigozitate (%).....	80

Figura 3.29. Repartizarea nivelului topografic al AVC conform genotipului subiecților (%).....	81
Figura 3.30. Media latenței și amplitudinii PEM în funcție de genotip	83
Figura 3.31. Analiza dinamicii scorului NIHSS la subiecții ambelor loturi (puncte NIHSS).....	84
Figura 3.32. Dinamica spectrului mișcărilor în membrul paretic, conform Scalei MRC(%).....	85
Figura 3.33. Dinamica gradului de dizabilitate a subiecților de la vizita I la a II-a, scala mRS ...	86
Figura 3.34. Dinamica (%) gradului de deficit cognitiv al subiecților de la vizita I la vizita a II-a, conform Mini-Mental Test Score.....	88
Figura 3.35. Histograma gradului de deficit cognitiv al subiecților de la vizita I la cea de-a II-a, conform Mini-Mental Test Score.....	88
Figura 3.36. Analiza dinamicii gradului de dependență a subiecților de la vizita I la vizita a II-a, conform indicelui Barthel (%).....	89
Figura 3.37. Histograma severității maladiei pe loturi conform scalei de prognostic Orpington (puncte) la vizita I și vizita a II-a.....	90
Figura 3.38. Diagrama Boxplot a severității maladiei pe loturi conform scalei de prognostic Orpington la vizita I și vizita a II-a.....	91
Figura 3.39. Histograma rezultatelor testului 9-Peg Hole în funcție de lotul analizat și vizită, membrul paretic.....	92
Figura 3.40. Diagrama Boxplot a rezultatelor testului 9-Peg Hole în funcție de lotul analizat și vizită, membrul paretic	92
Figura 3.41. Histograma rezultatelor testului 9-Peg Hole în funcție de lotul analizat și vizită, membrul nonparetic.....	93
Figura 3.42. Diagrama Boxplot a rezultatelor testului 9-Peg Hole în funcție de lotul analizat și vizită, membrul nonparetic	93
Figura 3.43. Analiza percepției la externare conform impresiei clinice globale (EBEWE_1994)	95
Figura 3.44. Analiza dinamicii rezultatelor scalelor de evaluare în funcție de emisfera afectată	97
Figura 3.45. Analiza percepției la externare conform impresiei clinice globale (EBEWE_1994), în funcție de emisfera afectată (%)	102
Figura 3.46. Reprezentarea grafică schematică a percepției la externare, conform impresiei clinice globale (EBEWE_1994), în funcție de genotip (%).....	103
Figura 3.47. Dinamica MRC în cazul subiecților cu mutație sau fără mutație.....	104
Figura 3.48. Dinamica scalei de prognostic Orpington în cazul subiecților cu mutație sau fără mutație	105
Figura 3.49. Dinamica scorului NIHSS în cazul subiecților cu mutație sau fără mutație	105
Figura 3.50. Dinamica testului 9-Peg Hole în cazul subiecților cu mutație sau fără mutație.....	106

Figura 3.51. Dinamica Mini-Mental Test Score în cazul subiecților cu sau fără mutație	107
Figura 3.52. Dinamica testului Barthel în cazul subiecților cu mutație sau fără mutație	107
Figura 3.53. Dinamica testului mRS scale în cazul subiecților cu mutație sau fără mutație.....	108
Figura 3.54. Dinamica mRS în raport cu timpul dintre AVC și stimulare.....	109
Figura 3.55. Dinamica Mini-Mental Test Score în raport cu timpul dintre AVC și stimulare.....	110
Figura 3.56. Dinamica Scorului NIHSS în raport cu timpul dintre AVC și stimulare.....	110
Figura 3.57. Dinamica testului Barthel în raport cu timpul dintre AVC și stimulare	111
Figura 3.58. Dinamica scalei de prognostic Orpington în raport cu timpul dintre AVC și stimulare	111
Figura 3.59. Dinamica scalei MRC în raport cu timpul dintre AVC și stimulare.....	112
Figura 3.60. Dinamica testului 9-Peg Hole pentru mâna paretică în raport cu timpul dintre AVC și stimulare	112
Figura 3.61. Dinamica testului 9-Peg Hole pentru mâna nonparetică în raport cu timpul dintre AVC și stimulare.....	113

LISTA ABREVIERILOR

- 9-HPT – scala de evaluare a dexterității degetelor (engl. *Nine-Hole Peg Test*)
- ADN – acid dezoxiribonucleic
- AMT – prag motor de acțiune (engl. *active motor threshold*)
- ARNm – ARN (acid ribonucleic) mesager
- AVC – accident vascular cerebral
- BDNF – factor neurotrofic derivat din creier (engl. *Brain-derived neutrophic factor*)
- CMA – arie motorie cingulară (engl. *cingulate motor area*)
- cTBS – forma continuă de stimulare teta burst (engl. *continuous theta burst stimulation*)
- DLPFC – cortexul prefrontal dorsolateral (engl. *dorsolateral prefrontal cortex*)
- dNTPs – deoxiribonucleotide-trifosfați
- EEG – electroencefalografie
- EMG – electromiografie
- FastAP – fosfataza alcalină rapidă (engl. *fast alkaline phosphatase*)
- FIC – facilitare intracorticală
- GABA – acid gama-aminobutiric (engl. *gamma-aminobutyric acid*)
- IIC – inhibiție intracorticală
- IMSP – instituție medico-sanitară publică
- IMU – Institutul de Medicină Urgentă
- iTBS – forma intermitentă de stimulare teta burst (engl. *intermitent theta burst stimulation*)
- LICI – interval lung de inhibiție intracorticală (engl. *long-latency intracortical inhibition*)
- M1 – cortexul motor primar
- PEM – potențial evocat motor (engl. *motor evoked potential*)
- Met – metionină
- MMP-9 – metaloproteinaza-9 matricială
- MMSE – examinare minimală a stării mentale (engl. *Mini-mental state examination*)
- MRC – test de gradare a forței musculare (engl. *Medical research council scale for muscle strength*)
- mRS – scara Rankin modificată (engl. *Modified Rankin Scale*)
- NIHSS – scala de evaluare a gravității AVC a Institutului Național de Sănătate (engl. *National Institute of Health Stroke Scale*)
- NTR – receptor de neurotrofină (engl. *neurotrophin receptor*)
- OMS – Organizația Mondială a Sănătății

PCR – reacție de polimerizare în lanț (engl. *polymerase chain reaction*)
 PET – tomografie cu emisie de pozitroni
 PMC – prag motor cortical
 PMd – cortex premotor dorsolateral (engl. *dorso-lateral premotor cortex*)
 PMv – cortex premotor ventrolateral (engl. *ventro-lateral premotor cortex*)
 PPS – puls pe secundă
 PS – perioadă silențioasă
 RC – rezervă cognitivă
 RILL – reflexul de întindere cu latență lungă
 RMN – rezonanță magnetică nucleară
 RMNf – rezonanță magnetică nucleară funcțională
 RMT – prag motor de repaus (engl. *resting motor threshold*)
 SICI – interval scurt de inhibiție intracorticală (engl. *short-latency intracortical inhibition*)
 SMA – arie motorie suplimentară (engl. *supplementary motor area*)
 SMT – stimulare magnetică transcraniană
 SMTr – stimulare magnetică transcraniană repetitivă
 SNC – sistem nervos central
 SNP – polimorfism uninucleotidic (engl. *single-nucleotide polymorphism*)
 ssDNA – ADN monocatenar (engl. *single-stranded DNA*)
 TBS – stimulare teta burst (engl. *theta burst stimulation*)
 TC – tomografie computerizată
 TrK B – tirozin kinază de tip B
 UTR – regiune netranslată (engl. *Untranslated region*)
 Val – valină

INTRODUCERE

Actualitatea și importanța problemei abordate

Creierul uman este compus din aproximativ 100 de miliarde de neuroni, controlează sentimente, gânduri, amintiri, percepții și alte acțiuni. În ciuda progreselor majore în neuroștiințe, există încă multe probleme nesoluționate. În ultimii ani, au fost dezvoltate diferite tehnici de stimulare a creierului și tehnici neuroimagistice pentru a studia funcțiile creierului [1].

Leziunile sistemului nervos central (SNC), inclusiv accidentul vascular cerebral (AVC), leziunile cerebrale traumatice și cele ale măduvei spinării cauzează pierderi de funcții devastatoare și ireversibile.

AVC-ul afectează populații foarte mari de pacienți cu suferințe fizice și emoționale majore, precum și familiile acestora, cauzând costuri semnificative pentru societate. Leziunile apărute, dincolo de provocarea unor alterări semnificative ale țesuturilor, perturbă circuitele interne complicate ale creierului și conexiunile neuronale externe, implicate în funcțiile 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, cu excepția celei de origine 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 pacienții care au suferit un accident vascular cerebral au limitări motorii funcționale prezente chiar și la 3-6 luni de la eveniment, ceea ce le afectează calitatea vieții de zi cu zi, precum și activitatea profesională [2].

Concomitent, AVC-ul este o cauză principală de morbiditate și mortalitate, cu rate de incidență de circa 200 cazuri la 100.000 de locuitori/an. Majoritatea pacienților supraviețuitori prezintă o tulburare motorie persistentă. Pareza, cauzată de deteriorarea rețelelor corticale pentru mișcare și a proiecțiilor și mecanismelor legate de acestea, este considerată o cauză majoră a dizabilității. Până la două treimi din supraviețuitorii accidentului vascular cerebral rămân cu o funcție defectuoasă la nivelul membrelor superioare [3].

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 raportată la 10.000 de locuitori. Astfel, incidența a crescut 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 [4].

Așadar, 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, de a implementa strategii de tratament în faza acută a afecțiunii, 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 depăși mecanismele inhibitoare ce blochează regenerarea și înțelegerea mecanismelor care sporesc plasticitatea neuronală.

În timpul și imediat după accidentul vascular cerebral, funcțiile neurologice asociate cu zonele de ischemie sunt pierdute. În lunile următoare se recuperează anumite funcții neurologice, dar aproximativ 50% din pacienții cu AVC rămân cu hemipareză, 30% nu pot merge, iar 26% rămân grav invalidizați, necesitând îngrijire și atenție zilnică. Recuperarea este cea mai proeminentă în primele 30 de zile, dar continuă timp de cel puțin șase luni [5]. Recuperarea funcției depinde de gradul de pierdere a țesutului și de conservarea și/sau angajarea rețelelor neuronale ce servesc ca substraturi pentru restabilirea funcțiilor pierdute ale creierului.

Reabilitarea după accidentul vascular cerebral poate fi considerată drept un proces compus din intervenții medicale, fizice, psihologice, sociale, educaționale și profesionale. Intervențiile trebuie să fie individualizate, pentru a răspunde obiectivelor fiecărui pacient în parte.

Managementul pacienților cu accident vascular cerebral în perioada acută este extrem de importantă pentru obținerea unor criterii ce ar putea duce la o recuperare motorie semnificativă. Acest lucru ar fi un avantaj incontestabil pentru planificarea, reabilitarea și motivarea pacientului.

În ultimele două decenii, au fost obținute progrese semnificative în înțelegerea mecanismelor care stau la baza recuperării funcțiilor motorii după accidentul vascular cerebral, și anume a mecanismelor plasticității cerebrale.

Termenul de "plasticitate" se referă la schimbările ce se desfășoară într-un organism biologic de-a lungul vieții ca răspuns la experiența normală și la cea anormală. Plasticitatea cerebrală presupune că structura și funcția creierului au o „capacitate de a fi modelate” și implică faptul că creierul se reorganizează continuu [6].

În trecut, pronosticurile de recuperare motorie erau efectuate doar pe baza examenului clinic. Gradul inițial de deficit motor era considerat cel mai important factor în recuperarea funcțională și cea motorie. Însă există și alte teste care pot furniza informații valoroase despre pacienții cu un deficit motor. Un exemplu ar fi măsurarea potențialelor somatosenzoriale și motorii

evocate, aceasta fiind o metodă de evaluare a integrității căilor senzoriale și motorii ale sistemului nervos.

Dezvoltarea recentă a unei metode neinvazive prin stimulare magnetică transcraniană (SMT) permite de a studia excitabilitatea cortexului motor și de a investiga funcțiile căilor motorii descendente. SMT a fost propusă pentru a prezice recuperarea motorie după un accident vascular cerebral, însă rezultatele sunt încă contradictorii, probabil din cauza variabilității mari a pacienților incluși în studiu și a diferențelor dintre metodologiile folosite.

SMT este un instrument util pentru studierea reorganizării sistemului motor și poate oferi perspective privind mecanismele adaptive după diverse leziuni cerebrale, cum ar fi accidentul vascular cerebral ischemic, și este, fără îndoială, una dintre cele mai puternice tehnici neinvazive de cercetare a creierului [7].

Pe lângă alte tehnici recente, stimularea magnetică transcranială repetitivă (SMTr) a devenit foarte populară în stimularea creierului uman, constituind un suport în inducerea unor schimbări de durată în excitabilitatea corticală. Mecanismele fiziologice ale acestui efect sunt în mare parte necunoscute, dar schimbările în transmisia sinaptică între neuroni (plasticitatea sinaptică) sunt discutate ca fiind cel mai probabil proces [7]. Potențialul său terapeutic poate fi explicat prin stimularea repetitivă cu frecvență joasă (~ 1 Hz) a rețelei corticale, care poate 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 [8]. Abia nu demult modularea inhibiției corticale a fost considerată o modalitate de alternativă de explicare a modificărilor de durată ale excitabilității corticale induse de SMTr.

Variațiile genetice pot reprezenta o parte din diversele fenomene inexplicabile în recuperarea leziunilor cerebrale. În ultimii ani, expresia și modularea genelor neurotrofice – atât a celor normale, cât și a genelor-mutant – au fost postulate ca potențiali markeri de prognostic în neuroreabilitare [9]. O gamă largă de gene aberante, incluzând factorul neurotrofic derivat din creier (BDNF), au fost implicate în modularea extinderii leziunilor cerebrale [10].

BDNF este cunoscut de asemenea pentru faptul că joacă un rol-cheie în supraviețuirea, diferențierea, plasticitatea sinaptică și înmulțirea neuronilor periferici și centrali de-a lungul maturității. BDNF este prezent și activ în condiții bazale, dar eliberarea lui este stimulată de activitate. Într-adevăr, exercițiile fizice, activarea cortexului motor, învățarea și stimularea senzorială induc o creștere a secreției BDNF și a receptorilor tirozin kinazei de tip B (TrK B) legate de tropomiozină [10].

Mutațiile missense din această genă sunt cunoscute de asemenea cu influență atât asupra morfologiei axonale, cât și asupra celei dendritice [11]. În particular, polimorfismele cu un singur

nucleotid (SNP) în genele legate de plasticitatea corticală și repararea neuronală ar putea influența capacitatea de plasticitate dependentă de activitate a unui individ și, prin urmare, reacția acestuia la reabilitare [12].

Varianta rs6265 a fost raportată că afectează secreția, activarea neuronală și efectul neuroplastic al BDNF, precum și funcțiile neurocognitive la om [13], și a fost bine studiată implicarea sa în modularea recuperării după leziuni cerebrale [14]. Acest polimorfism este prezent pe una sau pe ambele alele la aproximativ 30% din populația Statelor Unite ale Americii, iar în alte părți ale lumii poate atinge cifre și mai mari. Polimorfismul BDNF rs6265 are ca rezultat o secreție de 18-30% dependentă de activitatea proteinei BDNF, comparativ cu 100% în cazul lipsei polimorfismului. Polimorfismul dat a fost asociat cu scăderea gradului de învățare și a plasticității corticale legate de activitate la persoanele sănătoase [15] și cu recuperarea comportamentală mai lentă sau redusă după un accident vascular cerebral [15, 16, 17].

Până în prezent, faptul că subiecții cu mutație sau fără mutație pentru rs6265 ar avea un rezultat mai rău de reabilitare după AVC rămâne o chestiune de dezbatere [16, 18]. Noile descoperiri au arătat recent că plasticitatea recuperării la purtătorii Met are loc în diferite structuri ale creierului.

S-a demonstrat că SMTr crește factorul neurotrofic derivat din creier, tranzitoriu după stimulare. Unele protocoale SMTr s-au dovedit a spori eliberarea BDNF [19], care poate constitui un mecanism suplimentar ce contribuie la modificările induse de SMTr în acetilarea histonei – mecanism potențial prin care stimularea neinvazivă a creierului poate duce la modularea pe termen lung a dispoziției și a comportamentului [20].

Tratamentul cu SMTr poate îmbunătăți învățarea și memoria prin factorul neurotrofic al nucleotidului cerebral (BDNF) prin modularea plasticității sinapselor neuronale [20]. SMTr cu frecvență joasă (1 Hz) poate regla plasticitatea sinapsei neuronului hipocampic prin calea BDNF–TrkB [20].

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 candidatului 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.

VOLUMUL ȘI STRUCTURA TEZEI

Sumarul compartimentelor tezei

Teza este scrisă în limba română cu titlu de manuscris. Este expusă pe 108 pagini de text de bază redactate la calculator și conține: introducere, adnotările în limbile română, rusă și engleză, revista literaturii, materiale și metode de cercetare, rezultatele obținute, concluzii și recomandări practice. Bibliografia include 211 titluri. Lucrarea este ilustrată cu 9 tabele, 61 de figuri și conține 8 anexe.

Capitolul 1 – "Analiza situației în domeniul modificărilor neuroplastice induse de accidentul vascular cerebral ischemic" – conține analiza literaturii de specialitate dedicate aspectelor neuroanatomice ale accidentului vascular cerebral, mecanismelor de plasticitate neuronală după leziunile cerebrale, noțiunilor generale despre stimularea magnetică transcraniană, 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. Sunt prezentate particularitățile ce vizează mecanismele patofiziologice de reabilitare după AVC și sunt discutate efectele neuroanatomice ale leziunilor asupra recuperării și rolul rezervelor după leziunile cerebrale. 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.

Capitolul 2 – "Material și metode de cercetare" – prezintă caracteristica generală a loturilor experimentale și de control, care au inclus 95 de subiecți după accident vascular cerebral în teritoriul de vascularizare a arterei cerebrale medii, cu vârsta între 37 și 94 de ani. Sunt descrise criteriile de includere a subiecților în studiu și metodologia de calcul al volumului eșantionului. Este prezentat designul studiului (tip studiu clinic controlat). Capitolul oferă detalii privind metodologia aplicată în decursul studiului: metodele generale de cercetare utilizate și cele de acumulare a datelor primare. Este descrisă metodologia testării după cele opt scale de evaluare neurologică aplicate. De asemenea, este expusă și metodologia folosită pentru studiul genetic referitor la polimorfismul rs6265 al genei BDNF cercetate, precum și Protocolul stimulării magnetice transcraniene (SMT) și cel de înregistrare a potențialului evocat motor (PEM). Sunt descrise metodele de evaluare statistică pentru aprecierea rezultatelor studiului, care au stat la baza formulării concluziilor generale.

Capitolul 3 – ”Asocierea polimorfismului rs6265 al genei BDNF cu aspectele clinice ale accidentului vascular cerebral ischemic, sub influența stimulării magnetice transcraniene” – prezintă rezultatele studiului ce țin de particularitățile clinico-epidemiologice ale accidentului vascular cerebral. În acest capitol sunt descriși subiecții din ambele loturi de studiu pe baza indicatorilor demografici, geografici și sociali. Ulterior sunt expuse rezultatele examinărilor paraclinice, care au avut drept scop identificarea factorilor de risc pentru accidentul vascular cerebral și stabilirea certă a diagnosticului. Sunt prezentate rezultatele metodelor electrofiziologice aplicate pentru determinarea pragului motor de repaus (RMT) și a PEM-urilor, utilizate pentru procedura de SMT. Un alt subcapitol este dedicat rezultatelor investigațiilor genetice asupra polimorfismului rs6265 al genei umane BDNF la subiecții cu accident vascular cerebral, este efectuată analiza comparativă a loturilor pe baza genotipurilor depistate. Sunt expuse rezultatele și dinamica subiecților cu AVC conform scalelor de evaluare aplicate. Spre finalul capitolului, au fost prezentate rezultatele cercetării corelațiilor dintre parametrii clinici și cei electrofiziologici la subiecții cu accident vascular cerebral. Astfel, am obținut caracteristica candidatului ideal pentru reabilitare prin aplicarea stimulării magnetice transcraniene în perioada acută/subacută după AVC.

Capitolul 4 – ” Analiza comparativă și discuțiile asupra rezultatelor cercetării” – include discutarea tuturor rezultatelor, compararea acestora cu date similare din literatura de specialitate și sublinierea aspectelor de noutate pe plan național și internațional dezvoltate în lucrare.

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

1.1. Aspectul neuroanatomic al accidentului vascular cerebral (AVC) ischemic

Sistemul motor. Savanții Roland și Zilles au propus o definiție a zonelor motorii corticale ca zone care au proiecții ale neuronilor motori ai măduvei spinării conținând o reprezentare a aparatului somatomotor și fiind întotdeauna active în timpul planificării și executării mișcărilor voluntare, dar rareori active în alte circumstanțe [21].

Zonele corticale motorii includ cortexul frontal agranular (zonele Brodmann 4 și 6) și girusul cingular (zona Brodmann 24). Această diviziune reprezintă o suprasimplificare și poate include până la zece subdiviziuni suplimentare, realizate pe baza caracteristicilor funcționale și microscopice [21, 22]. Cortexul premotor este implicat în inițierea și planificarea mișcării voluntare; cortexul motor primar generează comenzi pentru mușchi sau grupuri musculare specifice, care sunt comunicate ulterior prin intermediul tractului corticospinal. Sistemul motor subcortical cuprinde ganglionii bazali, talamusul, cerebelul și tractul corticospinal. Ganglionii bazali, talamusul și cerebelul sunt un releu al informațiilor senzoriale și au rolul de reglare a mișcărilor fine.

Ariile motorii corticale. Cortexul motor principal (M1) este o subdiviziune a cortexului frontal agranular descris de Brodmann [23] ca ariile 4 și 6. Zona 4 este caracterizată prin lipsa celulelor granulare din stratul IV și se deosebește de cortexul premotor (zona 6) prin prezența celulelor piramidale gigante (celulele Betz) în stratul V [23]. La om, zona 4 poate fi subdivizată în zonele 4a (anterioară) și 4p (posterioară) pe baza modelelor de atașare a neurotransmițătorilor [22]. Cortexul motor principal (zona Brodmann 4) este o regiune a creierului care la om este localizată în porțiunea dorsală a lobului frontal.

Celulele Betz și alte celule piramidale din stratul V dau naștere la proiecții corticale și spinale excitatoare și au numeroase ramificații colaterale locale [22], cu sisteme orizontale de conectare în cadrul M1, care se întind pe circa 1 cm [24].

Rezistența acestor căi orizontale glutamatergice excitatoare [24] este probabil influențată de interneuronii inhibitori GABA-ergici [25]. În zona M1, aceste legături locale inhibitoare constau din celule stelate sau conuri situate în straturile III-V, cu axonii orizontali mielinizați, care fac sinapsă pe celulele piramidale [22]. Există dovezi tot mai concludente că aceste legături orizontale extinse constituie o bază pentru plasticitatea corticală.

Evidențierea legăturilor orizontale excitatoare prin reducerea inhibării GABA-ergice duce la modificări în structurile corticale la șobolani și la oameni [26]. Suplimentar conexiunilor corticocorticale orizontale locale, cortexul motor primar mai primește aferență senzorială de la activitatea mușchilor prin talamus și cortexul somatosenzorial primar [22]. Aferența suplimentară provine din cortexul premotor (cortexul premotor ventro-lateral, cortexul dorsolateral premotor caudal și zona motorie suplimentară), girusul cingular motor și aria 5 a cortexului parietal [27]. În plus, există aferențe trans-calos de la contralateralul M1 și rarele intrări trans-calos din zonele premotor contralaterale [28]. Proiecțiile celulelor piramidale din stratul M1 constau predominant în legături directe cu măduva spinării prin tractul corticospinal.

Experimentele inițiale din timpul intervenției chirurgicale la om [29] au demonstrat că stimularea electrică a suprafeței corticale a dus la mișcarea membrilor. Reprezentarea părților corpului părea a fi aranjată într-un mod ordonat, cu picioarele situate medial și cu fața lateral (aproape de fisura silviană). Date mai recente privind microstimularea intracorticală arată că există subdiviziuni mai largi ale părților corpului (față, membre superioare și inferioare, trunchi) și că în aceste zone există multiple reprezentări ale părților corpului care se suprapun [29]. Cortexul motor principal are un rol central în executarea și controlul mișcării voluntare. Experimentele ulterioare au sugerat că cortexul motor reprezintă mișcările pe baza direcției și vitezei mișcării necesare, nu pe baza mușchilor propriu-ziși [29].

Cortexul premotor modulează activitatea motorie în două moduri: 1) prin legăturile cu cortexul motor primar și 2) prin proiecțiile spre măduva spinării [29].

Cortexul premotor lateral constă din acele părți ale ariei Brodmann 6, care se află pe suprafața laterală a cortexului. Hotarul rostral al ariei Brodmann 4 formează componenta caudală a cortexului premotor lateral (ariei Brodmann 6). La om există cel puțin două subdiviziuni: dorsală și ventrală; rezultatele studiilor imagistice sugerează că pot exista și alte subdiviziuni în acestea [30].

Cortexul premotor dorsolateral (PMd) este localizat în girusul precentral rostral și girusul frontal caudal superior [31]. PMd pare să fie implicat în planificarea acțiunii, selecția răspunsului, pregătirea mișcării și ghidarea vizuală a răspunsurilor motorii, în special atunci când acțiunile sunt bazate pe asociații arbitrare [31, 32]. În ceea ce privește aspectele cognitive ale comportamentului motor, în PMd acestea par a fi procesate mai mult rostral, mai ales atunci când sarcina nu este o rutină, în timp ce PMd-ul caudal pare să fie angajat prin sarcini motorii mai simple și automate [32].

Cortexul premotor ventrolateral (PMv) este situat anterior de câmpurile vizuale frontale și caudal de aria Brodmann 44/45, dar extinderea acestei zone la om nu este bine determinată [33].

Cortexul premotor medial constă din părțile ariei Brodmann 6 situate pe suprafața medială a cortexului și ale ariei Brodmann 24 situate în șanțul cingular.

Aria motorie suplimentară (SMA) – Aria Brodmann 66 medială – este împărțită în cel puțin două alte regiuni anatomice distincte: SMA propriu-zisă și pre-SMA [33]. SMA propriu-zisă pare să conțină o reprezentare somatotopică [34] și pare a fi implicată în sarcini motorii simple (cele cu organizare temporală și spațială de bază sau cele practicate foarte mult) [30], mișcările cu *trigger* extern, pregătirea de mișcare și secvențele motorii învățate [30, 32]. Pre-SMA pare a fi mai implicată în aspectele cognitive ale controlului motor, cum ar fi procesarea indicațiilor de mișcare, mai degrabă decât selectarea răspunsului [30].

Aria motorie cingulară (CMA) constă din trei subdiviziuni ale ariei Brodmann 24, localizată în șanțul cingular [30].

Ariile motorii subcorticele. Tractul corticospinal este eferența majoră a cortexului motor, permițând cortexului cerebral să excite mușchii. Se formează din axonii celulelor piramidale din stratul V, care se proiectează prin capsula internă către piramidele bulbului rahidian. 70-90% din aceste proiecții se încrucișează, formând coloana laterală a măduvei spinării contralaterale; restul de 10-30% formează coloana ventrală ipsilaterală [35]. Proiecțiile corticospinale descendente se termină în măduva spinării, formând sinapse fie pe interneuron, fie direct pe motoneuron. Proiecțiile directe monosinaptice sunt cel mai frecvent de la axonii originari din zona mâinilor, prin urmare, pot avea un rol în mișcările de dexteritate ale mușchilor distali. O proporție semnificativă (60%) a neuronilor corticospinali la oameni provin din SMA, aria motorie cingulară și zonele premotorii [35].

Ganglionii bazali (corpul striat, nucleul subtalamic, globul palid și substanța neagră) sunt structuri subcorticele interconectate. Neuronii din stratul V al proiecției somatosenzoriale și din cortexul motor se proiectează până la putamen (parte a corpului striat) [34]; nucleul subtalamic primește aferențe de la M1, SMA și PMd [36]. Corpul striat și nucleul subtalamic se proiectează spre globul palid și substanța neagră care, la rândul lor, se proiectează spre talamus și trunchiul cerebral. Prin urmare, talamusul și ganglionii bazali fac parte dintr-o buclă corticobazală ganglionaro-talamocorticală. Deteriorarea ganglionilor bazali conduce la anomalii ale mișcării (de exemplu, bradichinezie, tremor) și tonus muscular [37].

Talamusul este o colecție de nuclee care acționează ca un releu; transmițând informația din ganglionii bazali, cerebel [38] și cordonul spinal ascendent somatosenzorial [39] spre cortex, precum și printre diferite zone corticale [40]. Nucleul lateral ventral primește aferențe de la cerebel (nucleul dințat contralateral) și se proiectează în zonele motorii corticale [41]. Nucleul anterior

ventral se proiectează de asemenea în zonele motorii corticale, dar primește aferențe de la ganglionii bazali [41].

Cerebelul are un cortex cu trei straturi, înconjurând un nucleu de materie albă, în interiorul căruia se află nucleele cerebeloase. Cerebelul primește aferențe de la tracturile spinocerebelare, care transmit informații senzoriale legate de mișcare din axele musculare, tendoane, receptorii articulari și cutanați și interneuronii spinali. Cerebelul primește de asemenea aferențe organizate topografic de la cortexul cerebral contralateral prin intermediul nucleelor cerebelare pontine. Majoritatea acestor tracturi corticopontine își au originea în ariile senzorial-motorii, cum ar fi cortexul motor primar și cel senzorial, SMA și cortexul premotor [42].

Celulele Purkinje din cortexul cerebelos se proiectează spre nucleele cerebelare [42], ceea ce influențează mișcarea prin proiecții excitatoare asupra măduvei spinării și, prin talamusul ventrolateral, către aria motorie primară, cea suplimentară și cortexul premotor [43].

Studiile [43, 44] demonstrează prezența circuitelor distincte cerebelo-talamocorticale pentru procesarea motilității la primatele neumane, cuprinzând lobulii cerebeloși IV-VI, regiuni distincte ale nucleului dințat, talamusul ventrolateral și M1. Afecțiunile cerebeloase cauzează deficiențe ale mișcării coordonate, cum ar fi ataxia, tremorul, nistagmusul și dereglări de echilibru, subliniind rolul cerebelului în comportamentul motor cu reglare fină. De asemenea, cerebelul este puternic implicat în multe aspecte ale învățării motorii [44].

1.2. Mecanismele de plasticitate neuronală după leziunile cerebrale

Accidentul vascular cerebral provoacă moartea rapidă a celulelor și o întrerupere a circuitelor funcționale din regiunile afectate. Pe măsură ce țesutul afectat se recuperează după evenimentele asociate cu moartea celulară, 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. Analiza cuprinzătoare a expresiei genelor și analizele proteomice au permis o înțelegere mecanică și moleculară mai profundă a regenerării creierului după leziuni. Aceste perspective mecanice noi contribuie la elaborarea unor noi modalități terapeutice, care să sporească mecanismele de regenerare.

Pierderea funcției în timpul accidentului vascular cerebral este cauzată parțial de leziunea neuronală din țesutul cu infarct, precum și de disfuncția celulară din zonele din jurul infarctului. Aceste zone includ partea din penumbra subperfuzată care supraviețuiește, țesutul periinfarct nonischemic și zonele de la distanță (inclusiv contralaterală) ale creierului 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 [45, 46]. Recuperarea funcției implică trei faze distincte: în primul rând, inversarea diaschizării și activarea reparației celulare, a doua fiind plasticitatea celulară funcțională, adică schimbarea proprietăților căilor neuronale existente, iar a treia – plasticitatea neuroanatomică ce conduce la formarea noilor conexiuni. Fazele doi și trei sunt implicate în învățarea normală, care constituie de asemenea forța motorie în timpul recuperării funcționale și este sporită de mediul creat după leziune. La om, procesele de recuperare implică în primul rând regiunile creierului ipsilateral, deși în cazul în care leziunea este severă, zonele cerebrale contralaterale de asemenea sunt implicate [45].

Recuperarea țesutului din zona de penumbră depinde de amplitudinea stresului celular provocat de depolarizările repetitive ce apar la câteva ore după instalarea ischemiei, precum și de edem și inflamație. Neuronii supraviețuitori, care sunt afectați de procesele catabolice, sunt reparați rapid [47, 48] și își reiau funcția metabolică, dar ar putea prezenta în continuare neurotransmisie aberantă, parțial din cauza disfuncției coloanei vertebrale.

Recuperarea este adesea limitată parțial de capacitatea redusă a creierului și a măduvei spinării de reorganizare anatomică ca urmare a leziunilor. Cu toate acestea, recuperarea funcției după lezarea corticală se corelează cu creșterea axonală îmbunătățită în vecinătatea leziunii. De exemplu, leziunile ischemice mici induc germinarea axonală orizontală între zonele care în mod normal nu sunt legate, în timp ce leziunile mai mari provoacă infiltrații axonale corticospinale [47]. La nivel celular, schimbări adaptive în morfologia neuronală (creșterea axonală, arborizarea dendritică și remodelarea coloanei vertebrale) sunt observate în special în cortexul contralateral [49]. În primele 2-4 săptămâni după AVC, funcția motorie se recuperează substanțial. Abilitățile motorii se recuperează în câteva zile de la leziune, sugerând că pentru o astfel de recuperare rapidă a funcției neuronale trebuie considerată teoria conform căreia căile „ silențioase ” sau sinapsele sunt demascate sau activate.

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 vârful recuperării se presupune că are loc după 6 luni [49, 50]. Doar circa 50% din pacienții cu AVC cu pareză inițială a brațului își recapătă funcția utilă [51].

Recuperarea depinde de gravitatea simptomelor inițiale: 79% din pacienții cu pareză ușoară ajung la o recuperare completă a funcției brațului, în timp ce numai 18% dintre pacienții cu pareză severă prezintă recuperare completă [51].

Ameliorarea funcțională este posibilă fără ameliorare obiectivă a funcției motorii, de exemplu, îmbunătățirea autoîngrijirii și a mobilității prin utilizarea unor mijloace tehnice și prin învățarea modelelor de mișcare compensatorii [52].

Efectele neuroanatomice ale leziunilor asupra recuperării / compensării. Pentru a înțelege modul în care sunt dezvoltate strategiile compensatorii, trebuie să luăm în considerare evenimentele anatomice și celulare asociate leziunii. În urma leziunilor cerebrale unilaterale, există o serie de evenimente cu efecte devastatoare asupra locului primar de afectare. Indiferent de mecanismul ce induce leziunea, consecințele încep, de regulă, cu întreruperea alimentării cu sânge a creierului, ceea ce determină celulele să moară prin excitație cauzată de excesul de glutamat eliberat [53]. În urma afectării inițiale, țesuturile devin edemate și inflamate, compromițând integritatea zonelor îndepărtate de locul leziunii primare [54, 55]. Edemul și inflamația pot determina deficite care se vor ameliora în timp [55]. Are loc de asemenea o scădere a activității metabolice în emisfera afectată, care sugerează că daunele pot afecta zonele distale de leziune – fenomen cunoscut sub denumirea de „diaschizis” [56].

Leziunile având drept consecință evenimente devastatoare, ele concomitent declanșează o cascadă de evenimente ce le permit neuronilor rămași din jurul leziunii, precum și celor distanțați de aceasta, să supraviețuiască, să se autorepare și să formeze conexiuni noi [67]. Unii cercetători au raportat chiar că unele dintre evenimentele de după leziune sunt similare cu cele observate în timpul dezvoltării normale, sugerând probabil că creierul are mecanismele sale intrinseci de a se adapta și a reacționa la schimbare [58]. Modificările cortexului perilezional (adică zona țesutului vulnerabil, dar supraviețuitor, din jurul miezului leziunii), inclusiv reorganizarea corticală, neurogeneza, germinarea axonală, plasticitatea dendritică și angiogeneza au fost asociate cu o recuperare spontană a deficitelor comportamentale ca urmare a rezoluției diaschizisului, așa cum este descris anterior [58]. În zona perilezională are loc de asemenea o creștere a expresiei genelor ce promovează creșterea observabilă la scurt timp după leziune [59]. Acest mediu modificat este, probabil, permisiv pentru schimbările ulterioare, cum ar fi creșterea axonală ce va avea loc în această regiune [69]. Mai mult, este probabil că germinarea axonală și activitatea modificată în această regiune să fie ceea ce stă la baza reorganizării reprezentărilor corticale rămase în porțiunea afectată [60].

Zona perilezională nu este singura locație modificată ca răspuns la leziune. Frost și colab. [61] au constatat că, după leziunile din zona de proiecție a mâinii din cortexul motor primar la primate, există o extindere a acestei zone în cortexul premotor ventral (PMv) al aceleiași emisfere [62]. Această extindere crescută este asociată cu germinarea axonală modificată de la PMv [62]. Ambele schimbări corelează cu îmbunătățirea comportamentului motor. După leziune, emisfera

contralezională de asemenea prezintă modificări prin creșteri dendritice, precum și sporirea germinării axonilor corticostriați [62]. Mai mult, reorganizarea emisferei contralezionale se produce de obicei pe fundal de creștere a numărului de sinapse. Unii autori au sugerat ideea că această creștere este rezultatul unui răspuns comportamental compensator [63].

Rolul rezervelor după leziunile cerebrale. În domeniul leziunilor cerebrale rămâne o disociere clară între gravitatea leziunii și simptomele ei clinice [64]. O leziune cerebrală asemănătoare la doi indivizi nu poate conduce la același grad de afectare a comportamentului. S-a emis ideea că acest fapt ar putea fi rezultatul diferențelor individuale – conceptul de „rezervă cognitivă” (RC). Rezervele cognitive sunt considerate o acumulare de rețele neuronale complexe ce permit prelucrarea unică a sarcinilor în creier [65]. Aceste rezerve pot fi mărite printr-o varietate de activități mentale care mențin creierul activ. Cu alte cuvinte, „exersarea” sau întărirea conexiunilor neuronale ale creierului va conduce la o RC mult mai mare. Acest „exercițiu” funcționează cu scopul de a oferi creierului o rețea de circuite neuronale mai plastice și mai variate [66]. RC a fost asociată cu caracteristici cum ar fi dieta echilibrată, complexitatea ocupațională [65], IQ și participarea la diverse activități asociate stilului de viață. Conform cercetătorului Murray [67], nivelul de educație poate fi de asemenea folosit ca marker pentru rezerva cognitivă. Ca atare, studiile au arătat că persoanele cu niveluri ridicate de performanță educațională au atins o mai bună recuperare funcțională pe termenele scurt și lung după diverse leziuni cerebrale, atât în caz de accident vascular cerebral ischemic, cât și de leziuni cerebrale traumatice moderate / severe [67].

O altă ipoteză este că rezerva cognitivă se bazează pe întreaga viață a omului. În acest caz, persoanele în vârstă ar trebui, teoretic, să aibă mai multă capacitate de rezervă cognitivă decât cele mai tinere, deoarece au avut mai mult timp să-și dezvolte pe deplin sistemul de comunicativitate complex și intrinsec. Cu toate acestea, trebuie subliniat faptul că procesarea cerebrală la toți cei cu RC mare este aceeași [65]. Capacitatea RC poate varia, însă modul său de acțiune nu se schimbă. O rezervă cognitivă mai mare ar oferi unui individ un prag mai mare de leziune și ar necesita o leziune de o mai mare severitate pentru apariția simptomelor clinice. Totuși, cercetările au arătat că RC influențează pozitiv redresarea funcțională nu numai la adulți, dar și la copii și adolescenți. Se pare că o RC mai mare, la orice vârstă sau moment din timpul dezvoltării, ar putea ajuta creierul să compenseze mai bine leziunile [65].

Așadar, RC poate servi ca mecanism de prevenție compensatoriu pentru diminuarea riscului de a se produce daune suplimentare și inutile după leziunile cerebrale. Se presupune că rezervele cognitive pot acționa ca un mijloc natural de compensare a sistemului nervos după leziunile cerebrale. În mod specific, o rezervă cognitivă mare ar putea oferi un teren mai favorabil

pentru apariția plasticității cerebrale, permițând conexiunilor neurale mai eficiente și mai stabile să ajute creierul să se adapteze mai bine la leziunile provocate, datorită unui prag mai înalt. În plus față de acțiunea compensatorie prin accentul pus pe conexiunile neuronale bine stabilite, persoanele care acumulează o RC puternică pe parcursul vieții pot avea o organizare neurală cerebrală unică, astfel încât creierul comunică într-o manieră holistică mai degrabă prin intermediul mai multor variante neuronale, decât printr-un număr limitat de căi neuronale. Deoarece nivelul redundanței la cei cu RC mare este ridicat, este puțin probabil ca o leziune a creierului să perturbe toate căile de comunicație, favorizând astfel o recuperare cognitivă mai rapidă și mai puțin intruzivă prin utilizarea unor circuite neuronale alternative. Rămâne de a demonstra dacă rezerva cognitivă este o formă de compensare preventivă (adică creierul compensează pierderile naturale, deoarece există pierderi sinaptice în timp ce îmbătrânim, iar neuronii compensează pierderea prin creșterea numărului de sinapse) [65]. Însă, dacă există o leziune, această compensare se epuizează din cauza îmbătrânirii naturale.

1.3. Noțiuni generale cu privire la stimularea magnetică transcraniană (SMT)

Mecanisme de bază ale SMT. Stimularea magnetică transcraniană a fost utilizată pentru prima dată în stimularea creierului uman în anul 1985 de către Barker [68]. În timpul SMT, un câmp magnetic puternic, scurt și variabil în funcție de timp este transmis creierului printr-o bobină. Impulsul magnetic induce un câmp electric în cortex, producând activarea neuronală atunci când celulele piramidale și interneuronii inhibitori sunt depolarizați [69]. SMT se bazează pe inducția electromagnetică, descrisă de legea lui Faraday:

$$\nabla \times E_1 = -\frac{\partial B}{\partial t}, \quad (1.1)$$

unde un câmp magnetic în schimbare B induce un câmp electric E_1 .

Creierul este un conductor; prin urmare, în creier este produs un flux de curent sau curenți turbionari. În consecință, curenții produc, la rândul lor, o activare neuronală. Atunci când B se schimbă lent sau este static, nu apare nicio excitație neuronală. Puterea lui B folosită în SMT este de ordinul 1-2 T; timpul de creștere este de aproximativ 100 μ s. Extensia spațială a câmpului electric indus variază de la circa 7 mm până la 3 cm, în funcție de bobină, intensitatea stimulului și aria-țintă [70]. SMT stimulează zonele superficiale mai puternic decât zonele adânci. În plus, în SMT nu se activează numai zona-țintă, ci și țesuturile din jurul și deasupra acesteia și siturile interconectate indirect din creier, care sunt importante pentru studiul conectivității acestuia [71]. Rezoluția temporală a SMT este de sub milisecundă, ceea ce permite modularea în timp real a creierului.

Câmpul magnetic produs de bobină poate fi calculat prin legea Biot-Savart:

$$B(r, t) = \frac{\mu_0}{4\pi} I(t) \oint_C \frac{dl(r') \times (r - r')}{|r - r'|^3}, \quad (1.2)$$

unde elementul vectorial diferențial dl este dirijat de-a lungul bobinei C , $I(t)$ este curentul electric și $r - r'$ este vectorul de la elementul de sârmă (r') până la punctul la care se calculează câmpul (r). Distribuția câmpului electric indus în țesut depinde de: (1) forma bobinei de inducție, (2) poziția și orientarea bobinei în raport cu țesutul și (3) structura de conductibilitate a țesutului.

Câmpul electric total E din țesut este suma a două părți, $E = E_1 + E_2$. Câmpul electric E_1 este indus de câmpul magnetic în schimbare B din bobină și poate fi scris în termenii potențialului vectorial A ca $E_1 = -\partial A / \partial t$. Debitul curentului cauzat de E_1 produce acumularea sarcinilor electrice pe conductor (exemplu – capul) sau în gradienti de conductivitate (σ) pe calea curenților și, prin urmare, pe potențialul V . În situația cvasistatică, E_2 apare din potențialul V și este exprimată ca gradient negativ al potențialului scalar: $E_2 = -\nabla V$. Apoi, totalul E este:

$$E = E_1 + E_2 = -\frac{\partial A}{\partial t} - \nabla V \quad (1.3)$$

Rezistența câmpului electric pentru stimularea creierului ar trebui să fie de ordinul a 30-100 mV/mm pentru a determina activarea neuronală semnificativă [71, 72].

Prin urmare, modificările mici în orientarea bobinei SMT pe scalp pot modifica eficacitatea stimulării și pot duce la excitarea altor populații de neuroni corticali [73]. Fibra nervoasă este stimulată de diferența spațială a câmpului electric de-a lungul axei axonului. Dacă axonul este paralel cu câmpul electric, nu există nicio schimbare a voltajului de-a lungul lungimii axonului; totuși, dacă axonul se înclină în afara orientării paralele, de exemplu deasupra ansei șanțului central, atunci diferența spațială crește și probabilitatea de stimulare este mai mare [73]. Stimularea preferențială a mușchilor intrinseci ai mâinii poate fi realizată prin furnizarea de curenți care trec perpendicular pe șanțul central, din posterior spre anterior, excitând fibrele orizontale, aliniate în această direcție [74].

Latența răspunsurilor electromiografice (EMG), măsurate în mușchii membrelor superioare după SMT, sugerează că SMT excită celulele piramidale ale căror axoni formează căile corticospinale descendente. SMT cu un singur puls produce o activitate repetitivă în cortex, ducând la o serie de efluxuri descendente prin tractul corticospinal. Acestea sunt descrise ca unde indirecte sau „I”, în comparație cu undele directe sau „D”, provocate de stimularea electrică directă a cortexului motor. Răspunsurile EMG la SMT (potențiale evocate motorii) rezultă din însumarea fluxurilor undelor I și sunt, prin urmare, susceptibile la variațiile excitabilității sinapselor intermediare [75].

Geometria și mărimea bobinei SMT determină aria cortexului în care sunt induși curenții [76]. Folosind o bobină de forma cifrei opt sau tip con dublu, precum și intensități puternice de stimulare, este posibil de stimulat țesutul la o distanță de 3-4 cm de suprafața bobinei [76]; cu toate acestea, cea mai mare stimulare apare la distanța de 2-3 cm de la bobină. Interacțiunea dintre curbura cortexului și reducerea rapidă a rezistenței câmpului magnetic în raport cu creșterea distanței de la suprafața bobinei SMT, dau o rezoluție spațială a SMT de aproximativ 1 cm [77, 78], adică efectele diferențiale ale stimulării pot fi obținute cu mișcări ale bobinei de 1 cm, dar efectele stimulilor individuali sunt mai răspândite. Având în vedere că rezistența câmpului magnetic produs în timpul unui impuls SMT scade progresiv cu distanța în creștere de la centrul bobinei, stimularea directă efectivă are loc într-o zonă limitată de cortex aproape de centrul bobinei [68, 78] și deci toate efectele SMT observate în afara acestei zone sunt considerate a fi mediate de conexiunile corticocorticeale și corticosubcorticeale.

Tehnicile SMT utilizate pentru studiul sistemului motor. SMT cu pulsuri unice sau multiple pot fi utilizate pentru a obține informații electrofiziologice despre excitabilitatea cortexului motor. Stimularea magnetică transcraniană repetitivă (SMTr) cu frecvențe, intensități și durate diferite poate fi folosită pentru a modula excitabilitatea cortexului. Este bine stabilit faptul că SMTr la 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 [79]. Aceste modificări ale excitabilității pot continua și după stimulare timp de cel puțin câteva minute [79, 80, 81].

SMT poate fi utilizat de asemenea pentru a întrerupe activitatea corticală în timpul unei sarcini cognitive sau motorii, fie cu stimuli unici, fie ca grupuri foarte scurte (mai puțin de 500 ms) de stimuli SMTr repetitivi. Se consideră că această tehnică, uneori menționată ca o abordare tip „leziune virtuală”, acționează prin efectul imediat al SMT – creșterea zgomotului neuronal – la locul stimulării, care împiedică activitatea corticală organizată [81, 82].

Efectele SMT asupra excitabilității sistemului motor pot fi evaluate direct, prin măsurarea potențialului evocat motor (PEM), sau indirect, prin neuroimagică funcțională (de exemplu, tomografie cu emisie de pozitroni, imagistică prin rezonanță magnetică funcțională, electroencefalografie) și măsurări ale comportamentului motor (de exemplu, generarea forței, viteza de mișcare, precizia mișcării, timpul de reacție, precizia răspunsului, învățarea secvenței). Fiecare dintre aceste metode are puncte forte și puncte slabe. Tehnicile electrofiziologice oferă o măsurare directă, obiectivă a excitabilității corticale și/sau corticospinale.

Este posibil de a obține date directe referitor la excitabilitatea cortexului motor primar și de a examina modificările apărute în capacitatea de reacție a cortexului motor primar la influxurile

din zonele motorii îndepărtate. Nu este posibilă evaluarea excitabilității structurilor subcorticale utilizând SMT; nici nu este posibil să fie examinate efectele modificărilor survenite în excitabilitatea zonei M1 asupra excitabilității altor zone. Neuroimagistica funcțională permite caracterizarea efectelor SMT asupra activității sinaptice pe tot creierul, atât în repaus, cât și în timpul efectuării sarcinii, dar nu oferă o măsurare directă a excitabilității [83].

Este important faptul că nici modificările în excitabilitatea corticală măsurate direct, nici modificările activității sinaptice măsurate cu neuroimagistica funcțională nu rezultă în mod necesar în modificările performanței sarcinilor motorii. Utilizarea indicatorilor funcționali ai activității creierului, cum ar fi schimbările în timpul de reacție, precizia performanței și rata de învățare, pot furniza aceste informații. Cu toate acestea, există mai multe potențiale probleme cu privire la interpretarea acestor modificări sau la lipsa acestor modificări în timpul testelor.

Măsurarea excitabilității cortexului motor și a tractului corticospinal prin SMT. SMT poate fi utilizată într-o varietate de moduri pentru a măsura excitabilitatea cortexului motor și a tractului corticospinal. Așa cum a fost descris mai sus, se consideră că toate efectele SMT sunt generate transsinaptic; prin urmare, orice impuls SMT reflectă capacitatea de reacție a zonei stimulate la un stimul, adică eficacitatea cu care sinapsele răspund la un stimul.

Pragul motor (PM) reprezintă cea mai mică intensitate a stimulului SMT care poate provoca un potențial motor evocat de aproximativ 50 μ V. Se crede că PM reflectă excitabilitatea membranei neuronale, deoarece este mărit de medicamentele ce modifică conductibilitatea membranei [83]. Acesta poate fi măsurat în mușchi în stare de repaus sau de acțiune (PMR și, respectiv, PMA) și tinde să fie mai mare pentru mușchii mai mari și mai proximali [83]. Deși pragul motor depinde de excitabilitatea axonilor corticospinali, este de asemenea sensibil la potențialul membranal al motoneuronilor corticospinali: cu cât sunt mai apropiați de prag, cu atât este mai mic pragul SMT. Aceasta explică de ce PMA este mai mic decât PMR pentru orice mușchi dat.

Pragul motor de repaus (PMR) reprezintă intensitatea stimulării necesare pentru a activa neuronii corticospinali; prin urmare, se presupune că stimularea cu intensitatea PMR sau mai mult va activa de asemenea conexiunile corticocorticale [82, 83]. În această lucrare, PMR va fi utilizat pentru a defini pragul de stimulare folosit în studiile descrise mai jos.

Stimularea subpragală se referă la stimularea cu intensitatea mai mică de PMR, în timp ce stimularea suprapragală descrie stimulii cu intensități egale sau mai mari de PMR, astfel provocând mișcări musculare.

Amplitudinea potențialului evocat motor (PEM) obținut de la un mușchi periferic reprezintă o măsură a excitabilității cortexului, a subcortexului și a tractului spinal. O curbă de

recrutare a PEM-ului descrie rata de creștere a amplitudinii PEM odată cu intensitatea stimulului. Aceasta oferă o măsură a excitabilității unei zone mai mari de cortex decât doar PM [84].

Perioada silențioasă (PS) descrie o scurtă încetare a activității musculare atunci când este furnizat un singur impuls de SMT în timpul contracției voluntare a mușchilor. Durata fazei târzii a PS oferă o măsură a excitabilității interneuronilor inhibitori corticali (probabil GABA-ergici) [83].

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.

Paradigma impulsurilor asociate folosită cel mai frecvent [85] aplică un stimul de condiționare subpragat pentru a condiționa amplitudinea PEM-ului provocată de un stimul de testare suprapragat.

La intervalele dintre stimuli de 1-5 ms, amplitudinea PEM de testare este inhibată (inhibiție intracorticală: IIC), iar la intervalele dintre stimuli mai lungi (8-30 ms), răspunsul este facilitat (facilitarea intracorticală: FIC). Se pare că aceste fenomene apar în cortex [74, 85]. Agoniștii GABA și antagoniștii glutamatergici cresc IIC și scad FIC, pe când medicamentele ce modifică conductibilitatea membranei nu au niciun efect [26].

Efectele locale ale SMT de 1 Hz. SMT de 1 Hz modulează excitabilitatea proiecțiilor corticospinale de la locul de stimulare, demonstrată prin amplitudinea redusă [83, 86, 88] și panta redusă a curbelor de recrutare a PEM-urilor [87] în mușchii relaxați ai mâinii. S-a dovedit că SMT de 1 Hz crește pragul motor de repaus pentru mușchii intrinseci ai mâinii [87].

În plus față de o aferență corticospinală redusă și un răspuns atenuat la influxul senzorial, procesarea neuronală intracorticală în zona senzorial-motorie corespunzătoare mâinii este modificată de SMT de 1 Hz. Folosind paradigma impulsurilor asociate a lui Kujirai [85], s-a demonstrat că SMT de 1 Hz diminuează interacțiunile de facilitare dintre circuitele intracorticale la locul de stimulare [88].

SMT de 1 Hz reduce amplitudinea reflexului de întindere cu latență lungă (RILL) [88]. Aceasta poate reflecta excitabilitatea scăzută a proiecțiilor corticospinale sau sensibilitatea redusă a zonei motorii primare corespunzătoare mâinii la aferența senzorială, adică la intrările corticocorticale.

Folosind o varietate de tehnici de impulsuri asociate descrise mai sus, Civardi [89] a demonstrat că, la un interval între stimuli de 6 ms, stimularea cortexului premotor (3-5 cm anterior zonei motorii corespunzătoare mâinii) cu stimulenți de condiționare sub- și suprapragali conduce la inhibarea și facilitarea răspunsurilor din zona motorie ipsilaterală [89].

Modularea excitabilității cortexului premotor prin SMT poate induce modificări mai persistente în excitabilitatea zonei M1 ipsilaterale. SMT de 1 Hz asupra M1 și PMd reduce amplitudinea PEM rezultate de la M1 [83]. Direcția schimbărilor distribuite în excitabilitatea corticală pare să fie dependentă de frecvență și direcția efectelor asupra amplitudinii PEM-urilor pare a fi similară pentru stimularea M1 și PMd. Cu toate acestea, alte opțiuni de măsurare a excitabilității corticocorticale, cum ar fi excitabilitatea cu impulsuri asociate, ar putea să nu urmeze o astfel de relație simplă. De exemplu, SMT de 1 Hz subpragală asupra PMd crește facilitarea intracorticală de la 7 ms timp de până la o oră [83], în timp ce SMT de 1 Hz subpragală asupra M1 scade facilitarea intracorticală [88].

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 [90, 91], sugerând că efectele distribuite stimulării premotorii nu se limitează numai la o modulare imediată a excitabilității motorii.

Efectele interemisferice ale SMT. Cracco și colab. au fost primii care au demonstrat răspunsurile evocate de SMT transcalosale [92]. Ferbert et al. au arătat că stimulii de condiționare aplicați asupra cortexului motor al unei emisfere au provocat inhibarea PEM din partea cortexului motor contralateral cu 5-6 ms mai târziu. Mochizuki et al. (2004) au folosit stimuli de condiționare de intensitate mai mică pentru a demonstra inhibarea PME și PSE la 150 ms după stimularea zonei motorii contralaterale și a cortexului premotor ventral [92].

Alte studii [93–96] au demonstrat de asemenea prezența interacțiunilor inhibitoare între zonele motorii primare omoloage prin inducerea perioadelor silențioase în mușchii activi ipsilateral de locul de stimulare. Ugawa [94] și Hanajima [94] raportează prezența interacțiunilor subtile de facilitare între cortexul motor la intervale scurte de timp (4-5 ms), urmate de inhibiții tardive.

Aceste studii confirmă faptul că stimularea cortexului motor primar are efecte imediate asupra eficacității sinaptice în zone ale creierului distribuite, efectul asupra cortexului motor contralateral fiind cel mai ușor de măsurat. Pe lângă aceste efecte imediate, SMT livrată cortexului motor primar poate modifica excitabilitatea cortexului motor contralateral și magnitudinea efectelor interemisferice pentru perioade mai lungi.

Un studiu inițial efectuat de Wassermann et al. [97] a arătat că SMT de 1 Hz la o intensitate suprapragală a determinat o excitabilitate redusă a cortexului motor contralateral, aceasta fiind măsurată prin reducerea pantei curbei de recrutare a PEM [97].

Studii recente au arătat efecte opuse ale SMT de 1 Hz asupra excitabilității emisferelor stimulate și asupra celor contralaterale. SMT de 1 Hz suprapragală a redus amplitudinea PEM în

emisfera stimulată, scăzând totodată inhibiția intracorticală și crescând panta curbelor de recrutare a PEM-ului în emisfera contralaterală [105]. Gerloff et al. [98] au găsit amplitudinile PEM-urilor crescute în emisfera contralaterală și o reducere a fazei timpurii a inhibiției pulsurilor asociate de la emisfera stimulată (condiționată) până la emisfera nestimulată (test). Efectuând o serie de experimente de control, cercetătorii au concluzionat că aceste efecte au fost predominant mediate mai degrabă de circuitele corticocorticale, decât de mecanismele spinale sau feedbackul aferent.

SMT asupra cortexului motor primar are ca rezultat o serie de schimbări de durată în excitabilitatea zonelor de distribuție a creierului (măsurate în cortexul motor contralateral); direcția schimbărilor diferă între efectele locale și cele distribuite. Mecanismele exacte ale efectelor interemisferice ale SMT nu sunt înțelese complet, dar SMT asupra cortexului motor primar conduce, fără îndoială, la o serie de schimbări de durată în excitabilitatea zonelor de distribuție ale creierului, mediate prin căile corticocorticale directe sau corticosubcortical-corticocorticale (indirecte) [98].

Inhibarea corticală. Rezultatele studiilor SMTr umane privind inhibarea corticală, testarea inhibiției corticale pe termenele scurt și lung (SICI, LICI) și a perioadei silențioase corticale (CSP) în cortexul primar al motorului și inhibarea aferentă a pulsului asociat (PPAI) în cortexul somatosenzorial sunt destul de incoerente. Inhibitorii interacțiunilor sinaptice s-au constatat, în general, a fi reduse prin SMTr convențional de înaltă frecvență, dar a crescut după acțiunea de facilitare a stimulentei intermitente la spargere (iTBS) și a scăzut după protocolul depresiv al TBS continue (cTBS) [7]. Acest lucru este în contradicție cu descoperirea ulterioară a lui Stagg [99] cu niveluri corticale crescute ale inhibitorului de transmisie GABA care urmează cTBS de cortex motor uman .

Profilul de siguranță a SMT de 1 Hz. Tehnicile de SMT cu un singur puls au un prag de siguranță excelent la subiecții sănătoși. Preocuparea majoră privind siguranța atunci când se utilizează SMT este posibilitatea de a induce crize convulsive. Au fost raportate mai multe cazuri de crize convulsive induse de SMT, care au condus la stabilirea unor ghiduri conservative de stimulare [97]. O componentă importantă a procedurilor de siguranță la utilizarea SMT este examinarea atentă a subiecților, pentru a exclude persoanele cu antecedente de leziuni ale capului, de neurochirurgie, tulburări neuropsihiatrice, utilizarea medicamentelor ce scad pragurile de generare a crizelor și un istoric personal sau familial de epilepsie. Utilizarea SMT de 1 Hz la intensități pragale sau subpragale nu a fost asociată cu crize convulsive la adulții sănătoși. Protocoalele de stimulare folosite în studiile raportate se încadrează în totalitate în limitele ghidurilor publicate de Wassermann [97, 100].

Mai multe studii au investigat în special efectele SMT de 1 Hz. Astfel, Wassermann et al. [97] au raportat că SMT de 1 Hz suprapragală nu are efect asupra memoriei imediate și celei întârziate, asupra fluenței verbale, nivelurilor de prolactină sau înregistrărilor EEG standard cu 16 canale. Mottaghy et al. au comparat, în 2003, imaginile prin rezonanță magnetică ponderată prin difuzie până și după SMT de 1 Hz [101]. Ei au raportat o scădere mică a coeficientului de difuzie la locul de stimulare, care s-a normalizat în cinci minute. Autorii sugerează că această constatare reprezintă o afectare temporară a funcției pompei ionice Na-K. Liebetanz et al. au furnizat, în 2003, SMT de 1 Hz suprapragală la șobolani timp de cinci zile [102]. Spectroscopia cu rezonanță magnetică in vivo și histologia post-mortem nu au detectat nicio modificare a metaboliților cerebrali și nu s-au raportat rezultate histologice anormale. Autorii subliniază că acest lucru nu exclude posibilitatea unor schimbări acute, dar constatările lor oferă un sprijin suplimentar pentru siguranța SMT de 1 Hz.

Utilizarea stimulării magnetice transcraniene repetitive. Terapia fizică reprezintă un instrument esențial pentru recuperarea motorie; cu toate acestea, efectele rezultatului sunt frecvent limitate, în special atunci când aceste strategii sunt aplicate pacienților cronici. Astfel, este necesară o abordare mai eficientă în reabilitarea consecințelor după AVC [103]. În condiții normale, se consideră că există un echilibru de funcție între emisfere, coordonat prin inhibiție interemisferică [112]. Conform modelului concurenței interemisferice, acest echilibru este afectat după accidentul vascular cerebral; excitabilitatea emisferei contralezionale este amplificată, în timp ce emisfera afectată este supusă unei inhibiții interemisferice exagerate.

Aceste modificări ale excitabilității pot constitui o cauză semnificativă a recuperării funcționale reduse [104]. Ca urmare, o posibilă strategie pentru reabilitarea accidentului vascular cerebral este modularea plasticității prin stimularea magnetică transcranială repetitivă (SMTr), încercând de a restabili patternul normal de activitate [105]. SMTr este un instrument neinvaziv și nedureros de stimulare a creierului, fiind aplicat pentru a modula excitabilitatea corticală la locul de stimulare și, transsinaptic, în locurile îndepărtate. [105]. Parametrii de stimulare, în principal cei de frecvență, influențează efectul său modulator în ceea ce privește rezultatul de excitație sau inhibiție. SMTr de frecvență joasă (≤ 1 Hz) este utilizat deseori pentru a reduce excitabilitatea corticală, pe când SMTr de frecvență înaltă (adesea definit ca fiind ≥ 5 Hz) este folosit pentru a facilita excitabilitatea corticală [105].

Intervenții pentru îmbunătățirea funcției motorii. Wang [106] a comparat eficacitatea inhibării regiunii M1 contralezionale cu efectul suprimării cortexului premotor contralezional pentru aprecierea reabilitării funcției motorii și a observat că inhibarea regiunii M1 a condus la o îmbunătățire a funcției motorii. A fost apreciată de asemenea influența severității deficitului motor

asupra efectului pe care cortexul premotor dorsal (PMd) contralezional îl exercită asupra emisferei afectate. Se presupune că PMd contralezional are un efect potențial pozitiv asupra pacienților cu deficit motor grav al mâinii, în contrast cu un efect potențial negativ asupra recuperării deficitului motor ușor până la moderat. Din aceste considerente, se presupune că inhibarea PMd contralezionale efectuată cu ajutorul SMTr urmează să fie aplicată pentru reabilitarea deficitelor motorii doar în formele ușoare până la moderate [104]. În cadrul studiului [107] SMTr inhibitoare a fost aplicată la emisfera neafectată, pe când în 12 studii a fost stimulată emisfera afectată, iar 19 studii au abordat ambele emisfere fie prin stimulare bilaterală, fie prin studierea fiecăreia separat. Cercetările privind modificările excitabilității după SMTr au evidențiat creșterea așteptată în emisfera afectată sau o scădere în emisfera neafectată [105]. Du [105] a observat o excitabilitate semnificativ crescută în emisfera afectată și o excitabilitate semnificativ redusă în cea neafectată după aplicarea SMTr de 1 Hz la emisfera neafectată. Totuși, când au stimulat emisfera afectată cu 3 Hz, autorii au raportat doar o schimbare semnificativă pentru emisfera afectată. Lüdemann-Podubeká et al. [104], la rândul lor, nu au identificat modificări semnificative în amplitudinea potențialului motor evocat, în perioada silențioasă corticală (parametru de măsurare a inhibiției intracorticale) sau în perioada silențioasă ipsilaterală după stimularea cu 1 Hz a zonei PMd neafectate. Aceasta s-a întâmplat probabil, din cauza că testele neurofiziologice efectuate nu erau sensibile la activarea conexiunilor specifice din zona PMd. Este important să se verifice dacă aceste modificări observate în excitabilitate corelează cu îmbunătățirea motorie. Totuși, Malcolm [108], Nowak [109] și Lüdemann-Podubeká [105] nu au găsit nici o corelație semnificativă; astfel, apar întrebări cu privire la relația dintre modificările fiziologice și îmbunătățirile motorii.

Naghdi [110] a evaluat raportul dintre amplitudinea PEM ca o măsură neurofiziologică a excitabilității neuronului motor, dar nu a fost găsită nicio îmbunătățire semnificativă a acestei variabile, chiar dacă a fost observată o dinamică pozitivă a spasticității. Cu toate acestea, corelații semnificative au fost descrise de mai mulți autori. Du [105] a constatat corelații semnificative între îmbunătățirea motorie și modificările excitabilității asupra emisferei afectate, dar nu și asupra emisferei neafectate. Volz et al. [111] au raportat o ameliorare semnificativă a conectivității funcționale între aria motore M1 ipsilezională și ariile motorii bilaterale după stimularea M1 ipsilesional, care a corelat cu îmbunătățirea motorie.

Factorii clinici care determină rezultatele stimulării. Se consideră că SMTr poate avea efecte potențial benefice chiar și la pacienții vârstnici, precum și la cei cu un timp mai îndelungat de la debutul accidentului vascular cerebral. În orice caz, Chang [112] a raportat o îmbunătățire mai evidentă la pacienții mai tineri și a sugerat că etapa subacută este cea mai bună perioadă pentru a aplica SMTr. În ciuda acestui fapt, 64% din studiile incluse în această analiză au recrutat pacienți

care au suferit un accident vascular cerebral cu șase sau mai multe luni înainte (media post-AVC). Mai mult, s-a susținut că efectele SMTr nu sunt influențate de localizarea leziunii, pe când alți cercetători consideră că răspunsul la această stimulare poate fi chiar invers, în funcție de localizarea leziunii primare [112]. În studiul lui Kakuda et al. [113], SMTr de frecvență înaltă asupra zonei M1 afectate a redus semnificativ activitatea excesivă a emisferei contralezionale și a îmbunătățit semnificativ funcția motorie la pacienții cu AVC subcortical, însă nu și la cei cu AVC cortical. Acești cercetători nu au descoperit vreo influență semnificativă a subtipului de accident vascular cerebral (hemoragie intracerebrală sau infarct cerebral) sau a localizării leziunii (corticală sau subcorticală) asupra ameliorării motorii.

Rezultatele funcționale de reabilitare. În ciuda variațiilor în proiectarea experimentală, aproape toate studiile analizate prezintă îmbunătățirea funcției motorii după stimulare. Chieffo et al. [114] au aplicat o stimulare de 20 Hz pe suprafețele corticale motorii ale membrilor inferioare bilateral și au raportat că pacienții nu numai că au înregistrat o îmbunătățire prin SMTr, ci aceasta a continuat să crească după intervenție. Acest lucru ar putea fi explicat prin efectele modulatorii de lungă durată, potențate de utilizarea membrilor paretice în activitățile zilnice. Kakuda și colab. [113] au determinat o influență semnificativă a severității deficitului motor înainte de intervenție asupra măsurilor ulterioare de îmbunătățire, iar Koyama et al. [115] – lipsa dovezilor privind eficacitatea SMTr în ameliorarea funcției motorii a pacienților cu deficit sever. Constatările raportate de unii autori au sugerat că inhibarea emisferei contralezionale ar fi mai eficientă decât excitația emisferei afectate în ceea ce privește reabilitarea funcțiilor motorii, în timp ce altele au descris efectul opus sau nicio diferență.

Takeuchi și colab. [116] au demonstrat o îmbunătățire mai evidentă atunci când au fost stimulate ambele emisfere (stimulare bilaterală), decât atunci când se stimulează doar emisfera neafectată. Lüdemann-Podubecká et al. [104] au constatat că recuperarea motorie a fost dependentă de emisfera dominantă și au raportat ameliorări semnificative la pacienții care au suferit un accident vascular cerebral în emisfera dominantă, dar nu la cei cu AVC în emisfera nondominantă. Totodată, accidentul vascular cerebral din emisfera dominantă părea a fi legat de o recuperare mai redusă în timpul antrenamentului motor, sugerând că acești pacienți ar beneficia de efectul adjuvant al SMTr inhibitor, în comparație cu bolnavii la care s-a produs un AVC în emisfera nondominantă. Tretriluxana et al. [117] au studiat influența dimensiunii obiectului asupra apucării acestuia după SMTr de 1 Hz pe suprafața de proiecție a mușchiului extensor digitorum communis neafectat. S-a determinat că mișcările pacienților înainte de intervenție au fost mai coordonate la atingerea și apucarea obiectelor mai mari. După stimulare, o îmbunătățire mai pronunțată a fost observată în cinematica și coordonarea pentru obiectele mai mici, ceea ce indică un impact al

dificultății sarcinii asupra răspunsului la tratament. Acest lucru ar putea fi explicat printr-o implicare mai mare a zonei M1 contralaterale în îndeplinirea sarcinilor complexe, prin recrutarea mai largă a rețelelor corticosubcorticale [117].

În ceea ce privește studiile cu rezultate ce nu susțin eficacitatea SMTr în reabilitare, Higgins și colab. [118] au observat un efect tranzitoriu al SMTr asupra excitabilității care nu s-a transformat într-un efect semnificativ asupra comportamentului ca adjuvant al terapiei axate pe sarcină. Blesneag et al. [119] au aplicat 10 ședințe de 1 Hz sau placebo-SMTr în zona M1 contralateral la pacienții care au suportat un AVC cu 10 zile înainte de includere în studiu și au raportat că, în ciuda observării unei îmbunătățiri evidente după stimularea reală la 45 de zile post-AVC, la 90 de zile grupul cu stimulare placebo a înregistrat o îmbunătățire mult mai evidentă. Diferențele dintre grupuri nu au fost semnificative în nici un moment. În acest fel, grupul SMTr cu frecvență redusă nu a prezentat efecte pe termen lung asupra funcției motorii suplimentare față de cele observate în grupul cu stimulare placebo, care, potrivit autorilor, ar putea fi datorată lipsei de stratificare a pacienților pe baza localizării leziunii și gravității deficitului. Alți cercetători de asemenea nu au demonstrat un efect semnificativ al SMTr asupra funcției motorii [116]. Higgins [118] a prezentat explicații posibile pentru această lipsă a efectului, incluzând factori legați de protocolul de stimulare. În plus, se consideră că efectul terapiei adjuvante este multiplicativ la efectul terapiei comportamentale; prin urmare, dacă terapia comportamentală a avut un impact redus, efectul terapiei adjuvante ar putea trece neobservat.

1.4. Rolul polimorfismului genei umane BDNF în neuroreabilitare

Importanța neurotrofinei BDNF. BDNF este o neurotrofină dependentă de activitate [120], cu o distribuție larg răspândită în cortexul cerebral, hipocamp, trunchiul cerebral, corpul striat și ariile septale [121].

Factorul neurotrofic derivat din creier (BDNF) este un membru al familiei de neurotrofine a factorilor de creștere a nervilor și este cunoscut ca fiind esențial pentru dezvoltarea și menținerea integrității neuronilor [121].

În creierul uman, BDNF este sintetizat ca precursor numit pro-BDNF, care este apoi scindat pentru a produce BDNF matur. Trebuie remarcat faptul că pro-BDNF se leagă preferențial de receptorul neurotrofinei p75 și activează căile apoptotice, pe când BDNF matur se leagă în mod specific la receptorul tirozin kinazei tip B (TrK B) legată de tropomiozină și conduce la supraviețuirea, diferențierea și plasticitatea neuronală [122]. Secreția dependentă de activitate este calea principală pentru eliberarea BDNF din neuroni, iar pro-BDNF a fost identificat ca fiind forma predominantă a BDNF eliberată prin această cale dependentă de activitate [122]. Pe baza

consecințelor biologice ale polimorfismului BDNF rs6265, s-a emis ipoteza că traficul intracelular afectat rezultat din polimorfism ar putea conduce la o reducere a secreției și eliberării pro-BDNF proapoptotic.

Pro-BDNF, proteina precursoră formei mature BDNF, este transformată în BDNF prin proteaze extracelulare, cum ar fi metaloproteinaza-9 matricială (MMP-9). În acest sens, BDNF matur și pro-BDNF au funcții fiziologice importante prin efectele lor opuse (prin Trk B și, respectiv, p75NTR) [123]. BDNF matur ar putea fi implicat în creșterea excitabilității creierului, pe când pro-BDNF pare să joace un rol în reducerea excitabilității acestuia [123].

Variația genetică a BDNF (SNPs). Un polimorfism comun cu un singur nucleotid (SNP) este cel mai frecvent tip de variație genetică la om, reprezentând o schimbare într-o singură nucleotidă; SNP-urile sunt comune (aproximativ 1 din 300 nucleotide) și pot conduce la o substituție de aminoacizi, o modificare a stabilității ARNm sau, cel mai adesea, un SNP nu are niciun efect considerabil, deși un SNP " silențios " poate afecta un sistem atunci când este expus ulterior la o provocare.

Deși există peste 1768 de mutații de tip missense raportate în BDNF [124], doar două sunt cunoscute cu influență asupra nivelului expresiei BDNF – rs6265 (c.196G > A, p.V66M, NM_001143814.1) [13, 125], și o repetiție de microsatelit a dinucleotidei GT desemnată ca regiune polimorfă complexă legată de BDNF, localizată la UTR 5' [125].

SNP-ul pentru BDNF (polimorfismul BDNF rs6265, de asemenea cunoscut sub numele de 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 prodomeniu (rs6265), ceea ce influențează eliberarea dependentă de activitate a proteinei BDNF [126] și induce afectarea funcției proteice și, într-o oarecare măsură, rezultă într-o plasticitate mai puțin pronunțată a cortexului motor [15, 127].

Tranziția de la Val la Met la nivelul codonului 66 al genei BDNF conduce la scăderea concentrației de produse proteice BDNF active. Având în vedere că BDNF joacă un rol important în transmiterea sinaptică ce implică receptori N-metil-diaspartat de glutamat [128], s-a sugerat că polimorfismul BDNF rs6265 poate modula plasticitatea neuronală [129]. De asemenea, s-au observat modificări ale plasticității neuronale în ceea ce privește potențarea pe termen lung sau depresia pe termen lung în raport cu polimorfismul BDNF rs6265 în creierul uman [129], precum și în cazul modelelor animale [128].

Alte SNP-uri ale BDNF – rs1048220 și rs1048221 – se află în situl crucial de clivaj al proteazei pentru pro-BDNF și se raportează că afectează scindarea pro-BDNF, iar rs1048220 și rs104218 au fost asociate cu boala Alzheimer [130]. Cu toate acestea, niciuna dintre aceste mutații

nedorite nu a fost explorată în leziunile cerebrale, cu excepția rs6265 (BDNF Val66-Met) [131, 132].

R *R KY R *Y R _ _ YR YR M R
 541 GGGCCCAAGGCAGGTTCAAGAGGCTTGACATCATTGGCTGACACTTTCGAACACGTGATA 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

Gene: BDNF ENSG00000176697

Chromosome 11: 27,654,893-27,722,058

rs6265

c.196 G>A, p.V66M

NM_001143814.1

Într-un studiu din 2017, Park C. și colab. [127] au evaluat efectul polimorfismului BDNF asupra proprietăților rețelelor neuronale și stabilității (anume stabilitatea organizațională a sistemului complex de rețele neuronale) acestora la nivel de substanță albă, pe bază de grafice statistice. Acest proces a fost realizat prin simularea daunelor la nivel de materie cenușie (noduri) sau la nivelul conexiunilor materiei albe (margini). Având în vedere faptul că nodurile (ca regiuni ale creierului) și marginile (ca legături fizice între regiunile creierului) sunt componente-cheie în analiza rețelelor bazată pe teoria graficelor statistice [133], a fost necesar să se investigheze endofenotipul rețelei de materie albă pe baza polimorfismului BDNF rs6265 [127].

Deși nu au existat diferențe între măsurările la nivel de rețea globală la cele două genotipuri (inclusiv eficiența globală, eficiența locală și modularitatea), s-a constatat efectul polimorfismului BDNF rs6265 asupra proprietăților de stabilitate ale rețelelor la nivel de substanță albă. În special, rețelele structurale la nivelul substanței albe ale grupului purtător de alelă Met au arătat o vulnerabilitate mai mare în caz de leziuni, în comparație cu cele ale grupului Val fără mutație. În concluzie, rețeaua structurală a materiei albe a fost la fel de stabilă la leziuni aleatorii în ambele grupuri genotipice, însă structura substanței albe a fost mai vulnerabilă în caz de leziuni la nivelul substanței cenușii, decât purtătorii de alele Met [127].

S-a raportat că polimorfismul BDNF rs6265 este asociat cu disfuncții cognitive și emoționale prin modificarea excitabilității cortexului cerebral a structurilor substanței cenușii sau integrității materiei albe [134, 135].

Un studiu anterior pe modele de rozătoare a arătat că polimorfismul BDNF rs6265 este asociat cu modularea activității receptorilor glutamatergici, care ulterior induce modificări în depresia pe termen lung la nivel de hipocamp [136]. Mai exact, cogniția, emoțiile, precum și multe alte tulburări cerebrale, incluzând depresia majoră, epilepsia, schizofrenia [135, 137] și accidentul vascular cerebral [138], sunt influențate de efectele polimorfismului BDNF rs6265 asupra modificărilor din substanța cenușie și cea albă. De exemplu, purtătorii alelelor Met, în comparație cu subiecții fără mutație, au prezentat deficit de volum în materia cenușie în zonele temporală, frontală și talamus. Totodată, subiecții fără mutație au prezentat dereglarea integrității tracturilor de fibre ale materiei albe în zonele frontală, temporală și occipitală, comparativ cu purtătorii de alele Met [137].

Un alt studiu a constatat că polimorfismul BDNF rs6265 a fost asociat cu o susceptibilitate scăzută la declinul cognitiv, predominant în domeniile de fluentă verbală și capacitatea de multitasking. În mod particular, s-a constatat că alela Met a oferit un efect protector împotriva declinului cognitiv la pacienții mai în vârstă [139].

În ultimii ani, multiple date din literatura de specialitate au arătat că pacienții vârstnici cu alele Met prezintă un risc mai scăzut de afectare cognitivă [11, 140, 141]. Un studiu longitudinal, care a implicat 384 de pacienți cu boala Parkinson, a constatat că purtătorii de alele Met au prezentat mai rar afectarea sarcinilor executive, decât subiecții fără mutație [140]. Aceste rezultate sunt în concordanță cu cele ale altor cercetări, în care persoanele în vârstă cu alele Met au prezentat performanțe în ceea ce privește memoria și îndeplinirea sarcinilor [11, 141].

Astfel, s-a sugerat ideea că purtătorii alelei Met pot atenua efectele negative ale îmbătrânirii asupra performanței memoriei începând cu a treia decadă a vieții, indicând că SNP-ul decris poate duce la o creștere a secreției BDNF, mascând astfel orice modificări ale cogniției, legate de vârstă [142].

Un alt studiu a remarcat de asemenea că persoanele în vârstă purtătoare de alele Met au volume mai mari ale creierului la nivel de hipocampus și cerebel bilateral, zone ce contribuie la memorie și la luarea deciziilor, precum și volume mai mici ale lobilor occipital și temporal pe dreapta, zone ce contribuie la starea de alertă și excitabilitate. Prin urmare, autorii au emis ipoteza că SNP-ul BDNF influențează nu numai variațiile cognitive, ci și cele anatomice [141].

Studiile de genetică imagistică cu utilizarea metodelor de RMN cu regmul DTI au sugerat că polimorfismul BDNF rs6265 are efect asupra structurilor materiei albe [137, 143]. De exemplu,

purtătorii alelelor Met au prezentat valori anizotropice fracționale mai mari, precum și valori inferioare ale difuziei radiale [143] în zonele corpului calos, lobii prefrontal și occipital, comparativ cu subiecții fără mutație. Aceste constatări dovedesc faptul că la purtătorii alelelor Met există o vulnerabilitate lezională mai redusă a structurilor materiei albe, comparativ cu subiecții fără mutație. De asemenea, se poate sublinia faptul că purtătorii alelelor Met nu sunt întotdeauna inferiori față de subiecții fără mutație la nivel de rezistență a rețelelor neuronale. Alela Met pare a fi favorabilă în unele erori de neurodezvoltare și neurodegenerare, astfel încât poate prezenta chiar și efecte protectoare, comparativ cu purtătorii de alele Val [144].

Un volum amplu de dovezi este în favoarea unei plasticități defectuoase la purtătorii de alelă Met. De exemplu, aceștia au o memorie de scurtă durată mai scăzută și prezintă o activare anormală a hipocampului. Cu toate acestea, nu au fost înregistrate dovezi obiective în favoarea unei recuperări mai slabe după accidentul vascular cerebral la purtătorii de alelă Met [145].

Totuși, în ceea ce privește alte maladii ale SNC, există studii anterioare care au indicat că nivelurile serice ale BDNF-ului matur, dar nu și ale pro-BDNF-ului, au fost semnificativ mai scăzute la pacienții cu depresie, comparativ cu subiecții sănătoși (de control) [146].

BDNF și implicarea acestuia în accidentul vascular cerebral modelat de SMTr. În căutarea factorilor de predicție individualizați ai recuperării, factorii genetici atrag recent un interes deosebit, în special cei care au legătură cu factorul neurotrofic derivat din creier (BDNF) [146].

După un accident vascular cerebral, nivelul cerebral al BDNF crește, afectând supraviețuirea neuronală, diferențierea și plasticitatea creierului [147, 148].

O capacitate absolută a purtătorilor Met de a se restabili după AVC este reprezentată de prevalența extrem de ridicată a polimorfismului rs6265 în populație, care variază de la 30% la caucazieni până la 70% la asiatici [149].

RMN funcțională în timpul mișcării membrilor afectate a evidențiat scăderea activării creierului în rândul pacienților cu polimorfismul BDNF rs6265, în comparație cu pacienții care nu au acest polimorfism, în special în cortexul senzorial-motor primar (ipsilezional) contralateral la mișcare [150].

O altă strategie în acest sens este definirea endofenotipurilor valide. Definiția unui endofenotip poate fi rezumată ca un măsurător (de exemplu, comportamental, imagistic sau biochimic) care este strâns legat de un anumit genotip și este util pentru a distinge subgrupurile biologice care arată același comportament. Astfel, un endofenotip este o componentă a unui fenotip complex, care este legat direct de genotipul de bază [151].

La pacienții cu accident vascular cerebral, cea mai mare diferență între grupurile genotipice a fost observată în cortexul senzorial-motor primar contralateral la mișcările cu mâna, la fel ca la subiecții sănătoși [15]. Dovezile acumulate sugerează că BDNF mediază, cel puțin parțial, beneficiile terapeutice ale SMTr după AVC [152].

Dacă Kim și colab. au descoperit că polimorfismul rs6265 a fost asociat cu rezultate slabe pe termen scurt și pe termen lung, asociindu-se cu agravarea handicapului fizic și a funcției cognitive [164], conform cercetătorilor Cramer și Procaccio, purtătorii de Met, după un accident vascular cerebral ischemic suportat, au avut rezultate mai slabe în prima lună după AVC, dar acestea au dispărut ulterior [165].

Mai mult, rezultatele mai rele și memoria mai slabă au fost raportate pe larg la purtătorii de Met cu hemoragie subarahnoidă, însă nu la pacienții hemoragici care au dezvoltat AVC ischemic [16]. În final, Manso și colab. [18], pe un eșantion foarte mare (546 de pacienți) nu au găsit o corelație semnificativă între haplotipul BDNF și recuperare, ci doar o interacțiune semnificativă a BDNF cu alți trei factori de creștere [18].

Investigând impactul haplotipului BDNF asupra acestei rearanjări post-AVC, a fost descris recent că, purtătorii Met în stadiul acut, au prezentat un dezechilibru interemisferic de nouă ori mai slab de excitabilitate corticală, în comparație cu pacienții cu AVC purtători de ValVal [74].

Deși traducerea pe oameni a rezultatelor studiilor pe animale trebuie abordată cu maximă prudență, se poate presupune că la oameni de asemenea recuperarea cronică a purtătorilor de Met se bazează mai mult pe plasticitatea subcorticală, pe când recuperarea pacienților ValVal ar putea să se bazeze mai mult pe modificările plastice corticale [145].

În cazul în care, la pacienții cu AVC purtători de ValVal, plasticitatea intracorticală ar putea fi principalul determinant al recuperării datorită modificărilor funcționale corticale, în ValVal apare un dezechilibru de excitabilitate corticală interemisferică, comparativ cu purtătorii Met [74].

Reglarea expresiei genei și a proteinei a devenit o măsură comună de prognostic al rezultatelor în studiile pe animale folosind SMTr, cu obiective variind de la factori neurotrofici la neurotransmițători. Prezintă interes deosebit efectul SMTr asupra reglării factorului neurotrofic derivat din creier – factor trofic implicat puternic în plasticitatea sinaptică, supraviețuirea și regenerarea neuronală [153, 154]. 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 reglare a BDNF în probele

serice după SMTr de înaltă intensitate, iar studiile pe rozătoare confirmă acest lucru – reglarea are loc chiar în creier [155], chiar și atunci când intensitatea stimulării este foarte scăzută [19, 156].

Cu toate acestea, nu se observă fenomenul de *up-regulare* în toate regiunile creierului [154]. Confirmând posibilitatea utilizării BDNF ca biomarker, nivelurile de BDNF la șobolani, după SMTr cu frecvență înaltă sau joasă, depind de starea de conștiență (alert versus anesteziat) [154]. SMTr cu frecvență redusă nu a reușit să modifice expresia BDNF la animalul trezit sau anesteziat, în timp ce stimularea cu frecvență înaltă a indus fenomenul de *up-regulare* BDNF în animalul treaz, însă fenomenul de *down-regulare* BDNF în animalul anesteziat.

Ca factor neurotrofic important, BDNF este implicat în controlul conexiunilor neuronale, reglează dezvoltarea sinapsei și întărește plasticitatea sinapselor [157]. Mai mult decât atât, se consideră că polimorfismul unic nucleotidic rs6265 (SNP) în gena BDNF corelează cu cortexul prefrontal, volumul hipocampusului și funcția de memorie. O metaanaliză a arătat că genotipul rs6265 BDNF are un impact major asupra performanței memoriei și structurii și funcției fiziologice a hipocampusului. Nivelurile plasmatice ale BDNF sunt asociate pozitiv cu nivelurile creierului din BDNF [158]. În concordanță cu aceasta, unele studii au raportat o posibilă asociere între varianta genei rs6265 BDNF și eficacitatea tratamentului cu SMTr [159].

Stimularea neinvazivă a creierului cortexului cerebral ar fi mai eficace la subiecții purtători de ValVal, pe când strategiile alternative ce vizează structurile subcorticale intacte activează structurile la nivelul cortexului, adică cu agonisti ai dopaminei, s-ar putea dovedi utile pentru a favoriza recuperarea pacienților după un accident vascular cerebral.

Ședințele zilnice de SMTr de 5 Hz timp de cinci zile au crescut semnificativ nivelele serice de BDNF (BDNF mature + pro-BDNF) la oamenii sănătoși, ducând la activarea semnalizării BDNF-TrkB [160]. Mai mult, polimorfismul rs6265 al genei BDNF influențează negativ efectul SMTr asupra hemiparezei post-AVC a membrilor superioare [159]. Aceste constatări sugerează ideea că modificările observate în sângele periferic se datorează modulărilor semnalizării BDNF-TrkB în creier, induse de SMTr [160].

Chang et al. au aplicat 10 ședințe de SMTr cu frecvență crescută pentru a induce excitabilitate în aria de proiecție corticală a mâinii din emisfera afectată, urmărind creșterea recuperării clinice, și au descoperit că pacienții purtători de Met, în AVC subacut au avut o îmbunătățire mai proastă decât grupul de control cu ValVal [159]. Totuși, ameliorarea minoră a fost limitată la zona de stimulare directă a creierului (membrile superioare), și nu s-au găsit diferențe în recuperarea membrului inferior afectat. Acest lucru poate fi explicat prin specularea faptului că, la acești pacienți, au existat două modalități diferite de recuperare: o recuperare

corelată cu SMTr dependentă de haplotipul BDNF și una independentă de haplotipul BDNF, care nu a fost influențată de SMTr [145].

Un alt studiu al accidentului vascular cerebral indus la șobolani și SMT ulterioară a arătat că printre genele cu o expresie semnificativ down-regulată de MCAO (ocluzia arterei medii cerebrale), BDNF a crescut semnificativ prin stimularea SMT de 5 Hz [161].

Un studiu recent arată că SMTr de două săptămâni cu frecvență redusă crește concentrațiile plasmatice ale BDNF mature și MMP-9 la pacienții cu AVC. Mai multe studii au arătat că polimorfismul genei BDNF rs6265 are un efect negativ asupra rezultatelor terapiei prin SMTr [159, 162]. Alt studiu [152] arată că rezultatul terapiei cu SMTr nu este modificat de acest polimorfism, deși autorii recunosc numărul mic de pacienți incluși în cercetare.

Un alt studiu [163] a investigat impactul SMTr cu frecvență redusă asupra dismneziei post-AVC și impactului BDNF rs6265 SNP și au arătat că SMTr cu frecvență redusă din partea dreaptă a DLPFC ar putea îmbunătăți funcțiile cognitive și de memorie la pacienții cu AVC. Mai mult, efectul poate dura două luni după tratament.

O serie de studii s-au concentrat pe impactul SMTr asupra nivelurilor BDNF periferice, însă rezultatele sunt inconsistente. Un număr mic de autori consideră că nivelurile periferice ale BDNF la pacienții deprimați ar putea fi modificate prin SMTr, pe când alții susțin că modificările periferice ale nivelurilor BDNF nu au nicio legătură cu stimularea electrică sau magnetică. Două studii pe subiecți sănătoși au arătat că stimularea magnetică de înaltă sau joasă frecvență la cortexul prefrontal dorsolateral (DLPFC) sau la cortexul motor a determinat scăderea BDNF periferice [162], despre care se credea că este asociată cu inhibarea mediată de SMTr a neurotransmițătorului glutamatergic sau cu depolarizarea SMTr mediată a inhibitorilor ce sintetizează și eliberează BDNF [163].

Cu toate acestea, un studiu randomizat, controlat, dublu-orb la pacienții cu afazie după accidentul vascular cerebral tratați cu SMTr cu frecvență redusă a arătat că simptomele de afazie s-au micșorat și că nivelele plasmatice ale BDNF au scăzut, în timp ce nivelele BDNF au crescut în grupul cu placebo. În concordanță cu aceste constatări, studiul de față a arătat de asemenea că concentrația plasmatică a BDNF a scăzut în grupul SMTr, dar nu și în grupul cu placebo, și că nivelurile plasmatice ale BDNF nu au fost asociate cu afectarea funcției cognitive, a memoriei sau cu o recuperare mai bună [163].

Mai mult, la două luni după tratament, nivelurile plasmatice ale BDNF au fost ușor crescute în grupul SMTr, dar nu au fost mai mari decât în grupul cu placebo. Aceste rezultate, deși neașteptate, au oferit mai multe dovezi privind efectul SMTr asupra BDNF, iar acest efect ar putea să nu fie asociat cu regiunea sau cu frecvența de stimulare, ci doar cu o serie de stimulări [163].

Un alt studiu a identificat o interacțiune nouă a polimorfismului BDNF rs6265, statutului funcției motorii și amplitudinii îmbunătățirii obținute cu reabilitarea în cazul accidentului vascular cerebral cronic. Acest polimorfism nu exclude, dar poate reduce amplitudinea îmbunătățirii motorii în terapia cu SMTr, în special pentru pacienții cu funcție motorie reziduală mai bună, dar nu și în caz de deficit major. Îmbunătățirea în post-terapie a fost semnificativ mai mică pentru purtătorii de alele Met cu funcție motorie moderată sau ridicată, dar nu și la cei cu deficit major [164].

Modelele distinct diferite de îmbunătățire pentru purtătorii BDNF Met față de nonpurtători devin evidente atunci când datele se examinează în funcție de nivelul rezidual al funcției motorii a pacientului. Situația la purtătorii Met cu funcție motorică ridicată sau moderată s-au îmbunătățit cu 50% și, respectiv, 25%, comparativ cu nonpurtătorii, pe când polimorfismul rs6265 nu a avut un efect semnificativ asupra pacienților cu funcție motorie scăzută [164].

Totodată, un număr de studii sugerează că polimorfismul BDNF rs6265 (variante Met) poate fi asociat cu o recuperare și un rezultat funcțional mai slab după AVC. De exemplu, dintre 105 pacienți cu hemoragie subarahnoidă, cei cu polimorfism BDNF rs6265 au avut rezultate mai slabe și, în prezența unui infarct, au prezentat rezultate mai rele la testele de învățare și memorie [165]. Dintre cei 341 de pacienți cu malformație arteriovenoasă intactă care au suferit o intervenție chirurgicală, cei cu polimorfismul BDNF rs6265 au prezentat rezultate mai slabe. În cazul a 286 de pacienți cu AVC, cei cu polimorfismul dat au avut rezultate mai slabe la 1 an post-AVC. Din 255 de pacienți cu accident vascular cerebral înrolați în studiile clinice GAIN, cei cu polimorfismul BDNF rs6265 au avut o recuperare mai redusă a funcției / structurii corporale (schimbarea scorului NIHSS) la o lună, dar nu la trei luni post-AVC [17].

Un studiu din 2016 arată că indivizii cu alela minoră (care corespund purtătorilor Met: fără mutație Met / cu mutație Met) au avut în general rezultate mai slabe ale testelor neuropsihologice, în comparație cu cei cu alela G de tip sălbatic (corespunzând subiecților fără mutație). Evaluarea comparativă a mărimii efectului cu ajutorul măsurătorului (SS-domeniu specific) a demonstrat că pacienții cu alela G de tip sălbatic au fost de 5,86 ori mai predispuși să efectueze mai bine testul în domeniile de atenție, de 1,8 ori în cel memorie, de 2,82 ori în funcția executivă și de 2,1 ori mai mare în cogniția globală (scorul total al indicelui), în comparație cu alela A minoră în timp. Aceasta înseamnă că ar putea exista un efect de protecție al alelei G în rs6265, cu performanțe mai bune în domeniile atenției, funcției executive, memoriei și cunoașterii generale [166].

1.5. Sinteza capitolului 1

Modul în care este organizat sistemul motor este important atunci când se analizează plasticitatea acestui sistem. Principalele zone ale cortexului motor implicate în producerea

mișcărilor voluntare ale membrilor superioare la om includ cortexul motor primar (M1), cortexul premotor, împărțit în cortexul premotor dorsal și cel ventral (PMd și PMv); aria motorie suplimentară (SMA), împărțită în SMA propriu-zisă și pre-SMA, și aria motorie cingulară. Structurile subcorticale implicate în controlul motricității includ talamusul, ganglionii bazali și cerebelul. Aceste zone au proiecții directe spre neuronii și rețelele motorii de la nivelul măduvei spinării.

Pierderea funcției în timpul accidentului vascular cerebral este cauzată parțial de leziunea neuronală din țesutul cu infarct, precum și de disfuncția celulară din zonele adiacente infarctului. La om, procesele de recuperare implică în primul rând regiunile creierului ipsilateral, deși, în caz de leziune severă, sunt implicate de asemenea zonele contralaterale ale creierului. Funcția motorie se recuperează substanțial în primele 2-4 săptămâni după AVC, iar vârful recuperării se presupune că are loc după șase luni. Recuperarea depinde de gravitatea simptomelor inițiale și de rezultatul diferențelor individuale, adică de rezerva cognitivă.

SMT excită celulele piramidale, ale căror axoni formează căile corticospinale descendente, și poate schimba excitabilitatea sistemului motor în funcție de frecvența stimulării. După accidentul vascular cerebral, excitabilitatea emisferei contralezionale este amplificată, pe când emisfera afectată este supusă unei inhibiții interemisferice exagerate. Ca urmare, o strategie de reabilitare ar fi modularea plasticității prin SMTr. Astfel, SMTr de frecvență joasă tinde să reducă excitabilitatea zonei stimulate, ceea ce duce la o îmbunătățire semnificativă a funcției motorii, comparativ cu alte protocoale de stimulare. Există însă divergențe de opinii referitor la efectul SMTr corelat cu timpul dintre debutul AVC și aplicarea stimulării, cu localizarea AVC și tipul acestuia, precum și cu vârsta subiecților. Efectele SMT asupra excitabilității sistemului motor pot fi evaluate direct, prin măsurarea potențialului evocat motor (PEM). Se presupune că lipsa PEM în mușchii mâinii este asociată cu un rezultat funcțional scăzut post-AVC, iar prezența PEM este asociată cu rezultate funcționale bune.

Factorii genetici atrag actualmente un interes deosebit, în special cei care au legătură cu factorul neurotrofic derivat din creier (BDNF). După AVC, nivelul cerebral al BDNF crește, pentru activarea supraviețuirii neuronale, diferențierii și plasticității creierului. A fost raportat că polimorfismul rs6265 afectează funcția proteică a neurotrofinei BDNF și rezultă într-o plasticitate deficitară a cortexului motor, fiind asociat cu modificarea excitabilității cortexului cerebral. Totuși, este sugerată ideea că alela Met are un efect protector împotriva declinului cognitiv la subiecții mai în vârstă, însă purtătorii de mutație au o vulnerabilitate mai mare în caz de leziuni subcorticale, în comparație cu cele ale genotipului nonmutant. Există divergențe referitor la plasticitatea defectuoasă la purtătorii de alelă Met, deoarece studii recente au arătat că purtătorii Met prezintă

un dezechilibru interemisferic de nouă ori mai slab în stadiul acut, comparativ cu subiecții fără mutație. Dovezile acumulate arată că BDNF mediază, cel puțin parțial, beneficiile terapeutice ale SMTr după un accident vascular cerebral, iar stimularea neinvazivă a cortexului cerebral ar fi mai eficace la subiecții purtători de alelă ValVal.

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 accident vascular cerebral, în teritoriul de vascularizare a arterei cerebrale medii (confirmat imagistic prin tomografie computerizată sau rezonanță magnetică cerebrală), 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 stimularea magnetică transcraniană, iar 48 de subiecți au constituit lotul de control.

Studiul a obținut avizul favorabil al Comitetului de Etică a Cercetării USMF ”Nicolae Testemițanu” în cadrul ședinței din 16 octombrie 2016, iar consimțământul informat a fost semnat de fiecare subiect înainte de inițierea studiului. Ținând cont de faptul că studiul include analize genetice, pentru această etapă a fost elaborat, aprobat și semnat un consimțământ informat suplimentar.

Pentru a realiza scopul și obiectivele cercetării, numărul necesar de subiecți pentru cercetare a fost calculat în baza formulelor (2.1) și (2.2), conform [167]:

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

$$\text{și } n_2 = rn_1, \quad (2.2)$$

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).

$$\bar{p} = \frac{(P_1 + rP_2)}{r + 1}, \quad (2.3)$$

$$\bar{q} = 1 - \bar{p} \quad (2.4)$$

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

În Tabelul 2.1 este reflectată modalitatea de calcul al numărului necesar de subiecți pentru cercetare.

Tabelul 2.1. Calcularea numărului necesar total de subiecți pentru studiu

Nivelul de semnificație pentru testarea pe două niveluri (1-alfa):	95
Puterea (1-beta, % șansa de depistare):	80
Ratio volumului eșantionului, subiecți fără SMT / cu SMT:	1
Proporția subiecților care nu au beneficiat de SMT, dar au prezentat ameliorare după SMT [Tosun A. et al, 2017]:	21
Proporția subiecților care au beneficiat de SMT și au prezentat ameliorare după SMT [Tosun A. et al, 2017]:	74
Odds Ratio:	11
Rata dintre risc și prevalență:	3.6
Diferența dintre risc și prevalență:	53
Rezultate	<i>Kelsey et al., 1996</i>
Numărul necesar al subiecților care să beneficieze de SMT	14
Numărul necesar al subiecților care să nu beneficieze de SMT	14
Numărul total de subiecți pentru studiu (minim necesar)	28

Subiecții incluși în cercetare au întrunit următoarele criterii de **includere**: (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 antidepressantelor 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, pacienții 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.

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.

Pentru aprecierea unor caracteristici epidemiologice descriptive ale subiecților cu accident vascular cerebral ischemic, am folosit datele colectate din Sistemul informațional de date medicale "Hipocrate" pentru subiecții spitalizați în secția "Neurologie. Boli cerebrovasculare" din incinta

IMSP Institutul de Medicină Urgentă, în perioada 2017-2018. Astfel, au fost analizați indicatorii demografici, geografici și personali ai subiecților.

Chestionarul clinico-anamnestic a fost utilizat pentru interviuarea ambelor loturi, atât de cercetare, cât și de control. Chestionarul a fost structurat pentru etapa cercetării, astfel încât să permită cumulara rezultatelor necesare, și a inclus o serie de întrebări concrete. Acest chestionar a fost completat pentru fiecare pacient inclus în studiu. Metoda-standard de interviuare a permis evidențierea factorilor de risc în dezvoltarea accidentului vascular cerebral, iar informația a fost transferată din documentația medicală.

În compartimentul dedicat descrierii acestor parametri au fost menționate: localizarea AVC (emisfera dreaptă sau stângă), nivelul topografic (cortical sau subcortical), debutul afecțiunii, durata până la adresare la medic și cea de până la inițierea SMT, precum și dinamica parametrilor obținuți prin aplicarea scalelor de evaluare neurologică.

După extragerea datelor, toate chestionarele completate au fost supuse verificării cantitative și calitative. Datele analizate au fost codificate, ceea ce a permis unificarea prelucrării statistice.

Scale de evaluare neurologică aplicate:

- ✓ Impresia clinică globală conform EBEWE–1994
- ✓ Mini-Mental Test Score
- ✓ Testul Barthel
- ✓ Scala de prognostic Orpington
- ✓ Scorul NIHSS
- ✓ Testul 9-Peg Hole
- ✓ Scala mRS
- ✓ Scala MRC

Printre cele mai utilizate instrumente de evaluare de scurtă durată existente în neurologie și psihiatrie se numără ***Impresia clinică globală conform EBEWE–1994*** (Tabelul A1.1, Anexa A1) – o scală cu trei componente, care măsoară gravitatea bolii, îmbunătățirea globală și răspunsul terapeutic. Impresia clinică globală este evaluată pe o scară de 7 puncte, gradul de severitate a bolii fiind apreciat printr-o serie de răspunsuri de la +3 (*foarte mult îmbunătățit*) până la -3 (*foarte mult înrăutățit*). Rezultatele evaluării răspunsului la tratament trebuie să țină seama atât de eficacitatea terapeutică, cât și de reacțiile adverse legate de tratament.

Mini-Mental Test Score (MMSE) (Tabelul A1.2, Anexa A1) este un instrument care poate fi folosit pentru a evalua sistematic și profund starea mentală a pacientului. Reprezintă un

chestionar din 11 întrebări care testează șase domenii ale funcției cognitive: orientarea, memorizarea, atenția, calculul, amintirea și limbajul. Scorul maxim este de 30 de puncte. Un scor ≤ 23 este un indicator al afectării cognitive. Efectuarea MMSE durează doar 5-10 minute, prin urmare, este ușor de utilizat în mod repetat. De la elaborarea sa în 1975, acest test a fost validat și utilizat pe scară largă atât în practica clinică, cât și în cercetare. În plus, atunci când este folosit în mod repetat, instrumentul este capabil să măsoare modificările survenite în starea cognitivă a subiecților care beneficiază de o anumită intervenție. Totodată, instrumentul se bazează în mare măsură pe răspunsul verbal, citire și scris. Astfel, subiecții care au deficiențe de auz și de vedere, sunt intubați, sau cei cu dereglări de vorbire pot obține rezultate slabe, chiar dacă sunt intacti cognitiv.

Testul Barthel (Tabelul A1.3, Anexa A1) reprezintă o scală ordinală utilizată pentru a măsura performanța în activitățile cotidiene. Fiecare element de performanță este evaluat pe această scală cu un număr dat de puncte atribuite fiecărui nivel [168]. Utilizează zece variabile ce descriu performanța cotidiană și mobilitatea. Factorii din mediul înconjurător afectează scorul fiecărui element, de aceea acestea ar trebui să fie descrise în detaliu și atașate la indicele Barthel [169]. Scala a fost introdusă în 1965 și era constituită dintr-un scor de la 0 la 100. În 1988 s-a menționat că sistemul inițial de notare oferă o impresie exagerată de acuratețe și s-a propus ulterior o modificare, cu un scor total de 20. Scala este utilizată în mod extensiv, pentru a monitoriza modificările funcționale la persoanele aflate în reabilitare, în special la prezicerea rezultatelor funcționale legate de AVC.

Scala de prognostic Orpington (Tabelul A1.4, Anexa A1) a fost dezvoltată în urma combinării scalei de prognostic Edinburgh [170] cu testul mental Hodkinson [171] ca mijloc de evaluare a severității accidentului vascular cerebral. Scala le permite clinicienilor și cercetătorilor să stratifice subiecții într-un grup de prognostic *bun*, *intermediar* sau *slab* prin utilizarea unor limite prestabilite. De asemenea, acest instrument este foarte eficient pentru prezicerea rezultatelor funcționale [172]. Scala Orpington este alcătuită din patru subscale: deficitul motor în braț, propriocepția, echilibrul și cogniția. Scorurile variază de la 1,6 la 6,8. Scorurile mai mari indică un AVC mai sever și un prognostic mai rău. Kalra și Crome (1993) [172] au stabilit intervale pentru a clasifica subiecții în grupuri de prognostic. Scorurile $<3,2$ reprezintă subiecții cu deficit neurologic ușor și cu un prognostic bun; scorurile $= 3,2-5,2$ sunt reprezentative pentru subiecții cu deficit neurologic moderat și un prognostic intermediar; scorurile $> 5,2$ sunt asociate cu deficit

neurologic sever și un prognostic slab. Testul durează aproximativ 5 minute [173] și sunt necesare doar chestionarul și un creion.

Scorul NIHSS (Tabelul A1.5, Anexa A1) este un instrument folosit pentru cuantificarea obiectivă a deficitelor cauzate de un accident vascular cerebral. NIHSS este compus din 11 elemente, fiecare înregistrând o abilitate specifică între 0 și 4 puncte. Pentru fiecare element, un scor de 0 indică un mod normal de funcționare, iar un scor mai mare indică un anumit nivel al deficitului. Scorul individual al fiecărui element este însumat pentru a calcula scorul total al pacientului NIHSS. Scorul maxim posibil este de 42, scorul minim fiind de 0 puncte [174].

NIHSS a fost conceput ca o evaluare standardizată a subiecților cu accident vascular cerebral, utilizată de studiile clinice multicentrice [175]. Această scală s-a dovedit a fi un predictor excelent al rezultatelor obținute de pacient. Un scor de bază NIHSS mai mare de 16 indică o probabilitate mare de moarte a pacientului, pe când un scor mai mic de 6 indică o probabilitate mare de recuperare bună. În medie, o creștere de 1 punct în scorul NIHSS al unui pacient scade cu 17% probabilitatea unui rezultat excelent [176].

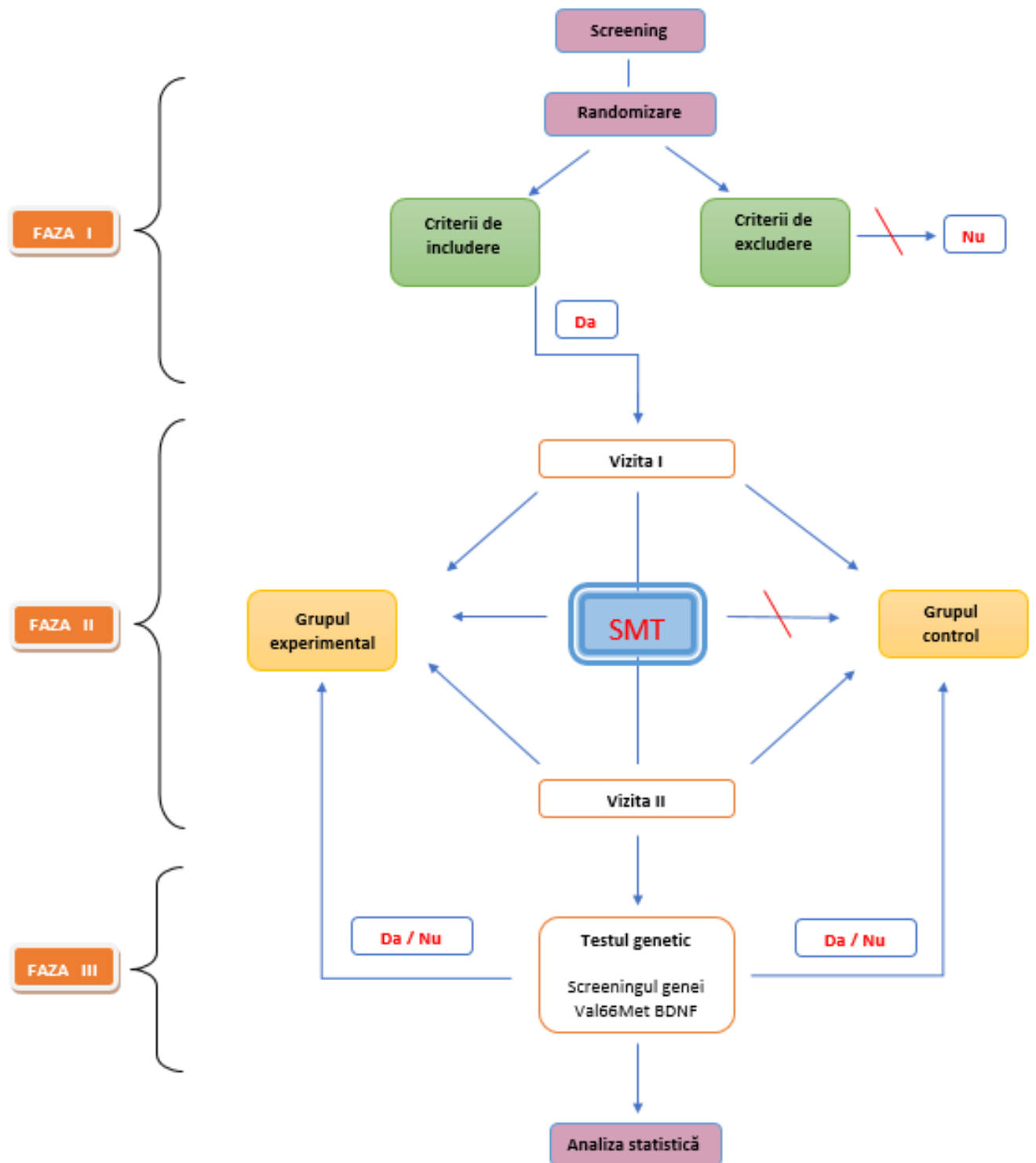
Testul 9-Peg Hole (9-HPT) (Tabelul A1.6, Anexa A1) a fost elaborat pentru a măsura dexteritatea degetelor, cunoscută și sub numele de ”dexteritate manuală fină”. Acesta poate fi utilizat într-o gamă largă de subiecți, inclusiv pacienți cu accident vascular cerebral. Totodată, este un test relativ ieftin și poate fi realizat rapid. 9-Peg Hole trebuie utilizat în asociere cu alte teste de performanță motorie la nivelul extremităților superioare, pentru a estima funcția acestora cu mai multă precizie. Instrumentul dat a fost inițial introdus de Kellor, Frost, Silberberg, Iversen și Cummings în 1971 [177]. În 1985, normele pentru test la persoanele sănătoase au fost stabilite de Mathiowetz, Weber, Kashman și Volland [178]. Există dovezi privind valabilitatea și sensibilitatea testului în detectarea deficitelor minore ale funcției mâinii. Totuși, subiecții prezintă deseori rezultate mai slabe la prima testare, din cauza lipsei familiarizării cu sarcina. Se recomandă trei sau patru încercări înainte de evaluarea de bază, pentru a obține date precise.

Scala mRS (Tabelul A1.7, Anexa A1) este cea mai populară metodă de măsurare a răspunsului la o intervenție și este o scală ordinală cu șase categorii variind de la 0 (*fără simptome*) la 5 (*dependență fizică completă*). A șasea categorie poate fi adăugată pentru a indica moartea. Scala Rankin originală a fost elaborată în Scoția, în 1957, și a fost utilizată pentru a evalua dizabilitatea la subiecții cu accident vascular cerebral acut, cu scor de la 1 la 5 [179]. Scala Rankin a fost modificată în 1988, ca parte a studiului rolului aspirinei în prevenirea AVC [180], și a fost

redenumită ”scara mRS”. A fost inclusă o categorie suplimentară (0 = *niciun simptom*). Autorii au sugerat că, dacă rezultatul este exprimat de capacitatea de a efectua activități în afara domiciliului, ar trebui să fie aplicat scorul 0-1. Sulter și colab. (1999) [181] consideră că dinamica negativă poate fi definită în cazul în care pacientul întrunește următoarele condiții: moartea, instituționalizarea legată de AVC, scorul mRS >3 sau scorul Barthel <60 [181].

Scala MRC (Tabelul A1.8, Anexa A1) a fost publicată pentru prima dată în 1942, într-un document intitulat ”Ajutor pentru investigarea leziunilor nervilor periferici (Memorandumul de război nr. 7)” [182]. Aceasta a devenit o resursă standardizată care ulterior a fost reprodusă de mai multe ori și a fost menționată pe larg într-un număr vast de acte / lucrări. În anul 1970, documentul a fost republicat cu titlul ”Ajutor pentru examinarea sistemului nervos periferic (Memorandumul de război nr. 45)” [182]. Această metodă implică testarea mușchilor extremităților superioare și inferioare față de rezistența examinătorului și gradarea rezistenței pacientului pe o scală de la 0 la 5. Testarea forței musculare poate ajuta un practician să aprecieze obiectiv slăbiciunea menționată de pacient drept simptom proeminent. Mușchii destinați testării ar trebui să fie aleși metodic, pe baza diagnosticului suspectat.

Designul studiului



2.3. Metodologia aplicată pentru studiul genetic

Investigațiile genetice au fost efectuate în Laboratorul de neurogenetică a Institutului de Neurologie, University College London, Marea Britanie. Mostrele de sânge colectate de la subiecții din ambele loturi de studiu, au fost transmise prin curier specializat pentru transportarea substanțelor biologice de origine neinfecțioasă, conform standardelor internaționale de transportare și transfer al sângelui. Permisie specială de import a mostrelor nu a fost necesară pentru mostrele de origine neinfecțioasă.

Alicoturile de ADN sunt pastrate în Departamentul de Neurogenetică al Spitalului Național de Neurologie și Neurochirurgie din Marea Britanie acreditat și evaluat regulat de către Serviciul Național de Sănătate din Marea Britanie, în congelator la -70°C și anonimizate de către Laboratorul de neurogenetică. Frigiderele sunt încuiate la cheie, având acces limitat și strict monitorizat al personalului care le poate accesa.

După examinare, ADN-ul a fost stocat conform cerințelor de păstrare a ADN-ului avizate de către organele de etică din Marea Britanie, conform legislației descrise în *Human Tissue Act 2004* și amendamentele de rigoare.

Costurile analizelor genetice au fost acoperite din cadrul grantului de cercetare (ID grant 540868, organizația donatoare – Association of British Neurologists), pe care Dr. Chelban Viorica îl deține.

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 foarte mare de copii ale fragmentelor scurte de ADN dintr-o mostră foarte mică de material genetic. Pentru efectuarea procedurii de secvențiere Sanger a fost stabilite șase etape. În prima etapă a fost efectuată reacția de amplificare (în total 15 μ l), care a inclus: 7,5 μ l *Fast-start Master Mix* (în total 712,5 μ l), 5 μ l H₂O (în total 475 μ l), 0,75 μ l *primer forward* (în total 71,25 μ l), 75 μ l *primer reverse* (în total 71,25 μ l), la care s-au adăugat 95 μ l de ADN. După centrifugare, amestecul a fost introdus în eprubete *Eppendorf* (950010061 *Mastercycler®* ep 384 *Thermal Cycler*), pentru a fi rulate pe cicluri termice la un program de de la 65° la 55°. A doua etapă a fost verificarea produselor PCR pe gel de agaroză (electroforeză pe gel). A fost preparat gel de agaroză 2%: prin amestec a 3 μ l de colorant cu 7 μ l de produs PCR. A treia etapă a constat în purificarea enzimatică a produsului PCR: prin amestecul de *Fast-AP*, o fosfatază alcalină ce îndepărtează dNTP-urile neutilizate și exonuclează I care îndepărtează ssADN din produsele PCR. (Dimerii primerului nu sunt eliminați.) Acest amestec a fost stocat la -20°C și supus ciclului termic (37° timp de 30 min., după 80° timp de 15 min.). A patra etapă a fost pregătirea reacției de secvențiere. În fiecare reacție de secvențiere a fost compus amestecul

de: 4,5 μ l H₂O (în total 427,5 μ l), tampon de secvențiere 2 μ l (în total 190 μ l), *Primer* (Forward sau Reverse) 1 μ l (în total 95 μ l), *Big Dye* 0,5 μ l ($\times 95 = 47.5$ μ l) și produs de PCR purificat 2 μ l, fiind adăugat ultimul (în total 190 μ l). Amestecul se centrifughează scurt și se execută pe ciclu termic la 94°C timp de 1 minut, apoi 25 cicluri la 94° timp de 30 secunde, 50° timp de 15 secunde, 60° timp de 4 minute. După centrifugare, produsul a fost lăsat la +4°C în frigider peste noapte, iar curățarea și analiza *Sephadex* a fost efectuată a doua zi. A cincea etapă a constat în curățarea secvențierii cu plăci *Sephadex*. Pentru preparare a fost folosit amestecul de 40 ml apă distilată (autoclavată) și 2,9 grame de *Sephadex*. După amestec, produsul *Sephadex* a fost lăsat să se hidrateze timp de cel puțin 30 de minute la temperatura camerei. Apoi a fost pregătită placa de purificare propriu-zisă prin adăugarea a 350 μ l de *Sephadex* bine amestecat în fiecare celulă a plăcii, la care a fost pipetat întregul volum al reacției de secvențiere (10 μ l) de pe placa de secvențiere pe coloanele *Sephadex*. Conținutul a fost centrifugat timp de 5 minute la 910 xg (volumul final după filare a fost de ~ 10 μ l). A șasea etapă a fost secvențierea. După secvențiere a fost efectuată analiza rezultatelor.

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

Primul pas în utilizarea clinică a stimulării magnetice transcraniene a fost determinarea pragului motor cortical (PMC) pentru mușchiul-țintă. PMC este foarte relevant pentru aplicarea clinică a SMT, deoarece permite ajustarea intensității stimulului pentru examinarea ulterioară la fiecare pacient individual, întrucât PMC reflectă excitabilitatea integrală a proiecțiilor corticomotorii, incluzând excitabilitatea la nivelul măduvei spinării.

În practica clinică, PMC a fost determinat în timp ce mușchiul-țintă era complet relaxat. Acest prag este denumit de regulă ”prag motor de repaus” (PMC poate fi determinat de asemenea în timpul unei contracții tonice ușoare a mușchiului-țintă cu aproximativ 20% din rezistența maximă și în acest caz ar fi denumit ”prag motor de acțiune”).

Au fost descrise diferite proceduri pentru determinarea PMC, care pot fi utilizate în funcție de setările clinice și suportul tehnic disponibil. Subiecții pot fi examinați în timp ce stau pe șezute sau sunt întinși pe un pat sau fotoliu. Deși poziția culcat poate fi mai bună pentru o relaxare completă, am folosit poziția de ședere, care este la fel de confortabilă și adecvată pentru toate înregistrările.

Când pacientul a fost examinat pentru prima dată, i s-a explicat ce se va întâmpla și am folosit inițial câțiva stimuli de intensitate scăzută (cca 20% din PMC), pentru a-i oferi posibilitatea de a se obișnui cu SMT. Am cerut subiecților să-și țină ochii deschiși, pentru a ne asigura că aceștia au conștiența păstrată în timpul examinării.

Examinările clinice prin SMT au fost efectuate într-un mediu medical cu standarde de siguranță implementate și proceduri prestabilite pentru eventuale intervenții de urgență în cazul crizelor induse secundar.

Primul pas al examenului prin SMT a fost de a identifica locația pe scalpul în care SMT provoacă cel mai mare potențial evocat motor. Pentru aceasta, s-au folosit bobina tip fluture și procedura de poziționare standardizată, bazată pe reperele externe. Această "poziționare-standard a bobinei" o plasează deasupra locului optim de stimulare la majoritatea subiecților.

Un mod fezabil din punct de vedere clinic de a verifica dacă poziția-standard a bobinei a fost optimă pentru a determina PEM-urile în mușchiul-țintă a constat în reducerea intensității stimulului în poziția-standard și determinarea unui PEM cu o amplitudine medie de 0,5-1 mV, iar ulterior – schimbarea poziției bobinei cu 1 cm în direcțiile anterioară, posterioară, mediană și laterală, evocând câte trei PEM-uri în fiecare locație.

Dacă SMT pe unul dintre locurile nou-testate a evocat în mod clar PEM-uri mai evidente comparativ cu situl primar, noul sit a fost utilizat pentru SMT ulterioară.

Mai apoi, stimularea cu impulsuri unice a fost efectuată la o intensitate predeterminată suprapragală, care a stabilit un PMC de 140% în repaus și 5-6 PEM-uri au fost înregistrate la nivelul mușchiului-țintă în timpul contracției izometrice tonice. La majoritatea subiecților, o intensitate de stimulare de 140% din PMC de repaus a fost suficientă pentru a evoca un PEM maxim.

Dacă amplitudinea PEM părea să fie redusă, au fost aplicați 5-6 stimuli la o intensitate mai mare (cca 170% PMC de repaus), pentru a testa dacă amplitudinea PEM-ului poate fi crescută la intensități mai mari.

PEM-urile au fost de obicei înregistrate cu electrozi de suprafață bipolară după pregătirea de rutină a pielii și aplicarea gelului pentru electrozi. Impedanța folosită a fost mai mică de 5 kX, doar unele înregistrări au fost obținute la impedanțe puțin mai mari – între 5 și 10 kX – pentru obținerea PEM-urilor de o calitate suficientă.

Folosind electrozi bipolară, așa-numitul „electrod activ” a fost atașat la pielea care acoperă „punctul motor” al mușchiului-țintă, care este regiunea cu cea mai mare concentrație de fibre musculare. Electrocul de împământare a fost atașat pe o zonă inactivă electric, între bobina SMT și electrozii de suprafață.

Intensitatea stimulului pentru SMT a fost exprimată în raport cu PMC de repaus. Semnalul EMG a fost preamplificat astfel încât PEM-ul să fie clar vizibil pe ecran, fără a „tăia” vârfurile PEM. De regulă, un factor de amplificare de 1000 a fost suficient. Semnalul EMG a fost apoi filtrat

prin bandă și digitalizat folosind un convertor analog-digital. Limita pentru filtru a fost setată la 1 Hz, ceea ce a contribuit la reducerea artifactelor de stimulare.

Configurația generală a PEM-urilor obținute a fost una polifazică. În anumite patologii, latența PEM devine foarte lungă, amplitudinea – foarte scăzută sau PEM-ul devine imposibil de înregistrat, din cauza slabei sincronizări a sinapsei neuromusculare sau a întreruperii tractului corticospinal la un anumit nivel, ca și la subiecții cu AVC.

Amplitudinea PEM-urilor a fost măsurată prin diferența de voltaj dintre deflexiunea negativă maximă și cea pozitivă maximă a celui mai mare PEM obținut la pacient (numită „amplitudine vârf–vârf”). Pentru mușchii membrelor distale, măsurarea amplitudinii vârf–vârf este suficient de precisă în majoritatea cazurilor, cu condiția ca PEM-urile să fi fost înregistrate corespunzător.

Latența PEM-urilor reflectă timpul de conducere prin tractul corticomotor și a fost măsurată pe baza devierii/deflexiunii inițiale, indiferent de polaritatea sa, cu condiția ca aceasta să fie specifică. Pentru fiecare mușchi, cea mai scurtă latență a PEM-ului la pacient a fost selectată din cele 5-6 testări.

Protocolul de stimulare magnetică transcraniană aplicat subiecților din lotul experimental. La subiecții randomizați din lotul experimental, SMT a fost aplicată conform următorului protocol de stimulare: s-a folosit 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). Bobina magnetică a fost imobilizată cu un mâner special conceput în poziția optimă pentru stimularea primului mușchi interesos dorsal. Capul fiind fixat, 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 (1 pps), la 90% din RMT, fiind definit ca cea mai mică intensitate de stimulare ce ar putea produce un potențial evocat motor (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 a fost de 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 variabile categoricale; teste de corelație parametrică și neparametrică în funcție de tipul datelor – Pearson și Spearman.

S-au efectuat teste pentru a analiza dacă dinamica datelor în timp este statistic semnificativă: testul t pentru eşantioane perechi pentru date parametrice şi testul Wilcoxon Signed Rank pentru date neparametrice.

Diferenţele dintre eşantioane au fost analizate cu ajutorul următoarelor teste: testul Mann-Whitney U pentru eşantioane independente în cazul datelor neparametrice, testul t pentru eşantioane independente şi two-way mixed ANOVA în cazul datelor parametrice. Valorile $p < 0,05$ au fost considerate semnificative.

2.6. Sinteza capitolului 2

Întru realizarea obiectivelor cercetării, a fost efectuat un studiu epidemiologic primar, analitic, experimental, individual – studiu clinic controlat. Cercetarea a fost realizată pe un lot de 95 de subiecţi după accident vascular cerebral, în teritoriul de vascularizare a arterei cerebrale medii, dintre care 47 de subiecţi au fost incluşi în lotul experimental, prin selecţie aleatorie echilibrată, stratificată pe baza criteriilor de eligibilitate pentru stimularea magnetică transcraniană, iar 48 de subiecţi au constituit lotul de control.

Metodologia aplicată în decursul studiului a inclus metode generale de cercetare (clinică, paraclinică, epidemiologică analitică), precum şi aplicarea celor opt scale de evaluare neurologică, care au elucidat particularităţile aspectelor clinice şi paraclinice la subiecţii cu AVC.

Studiul genetic referitor la polimorfismul rs6265 al genei BDNF a permis divizarea subiecţilor ambelor loturi conform genotipului prezentat şi a definitivat particularităţile accidentului vascular cerebral şi ale reabilitării post-AVC, în funcţie de aspectul genetic.

Aplicarea stimulării magnetice transcraniene şi înregistrarea potenţialului evocat motor au permis compararea loturilor de studiu referitor la excitabilitatea corticală şi influenţarea acesteia prin intermediul protocolului de inhibiţie aplicat.

Metodele de evaluare statistică aplicate (teste de asociere, teste de corelaţie parametrică şi nonparametrică) au facilitat analiza rezultatelor studiului, care au stat la baza formulării concluziilor generale şi elaborării caracteristicii candidatului ideal pentru reabilitare cu aplicarea stimulării magnetice transcraniene în perioada acută/subacută după un accident vascular cerebral.

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 efectuat a inclus 95 de subiecți după accident vascular cerebral, 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). Repartizarea pacienților în cele două loturi este reflectată în Figura 3.1 și Tabelul A2.1 din Anexa 2 (p.147).

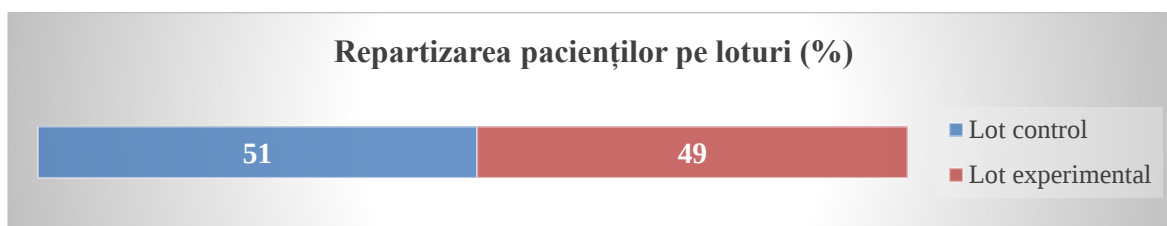


Fig. 3.1. Repartizarea pacienților pe loturi (%)

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). Atât în lotul experimental, cât și în cel de control, a fost atestată o prevalență a numărului de bărbați asupra numărului de femei. În Figura 3.2 este arătată repartizarea pacienților din ambele loturi conform sexului. Iar Tabelul A2.2 din Anexa 2 reflectă numeric repartizarea pacienților pe sexe.

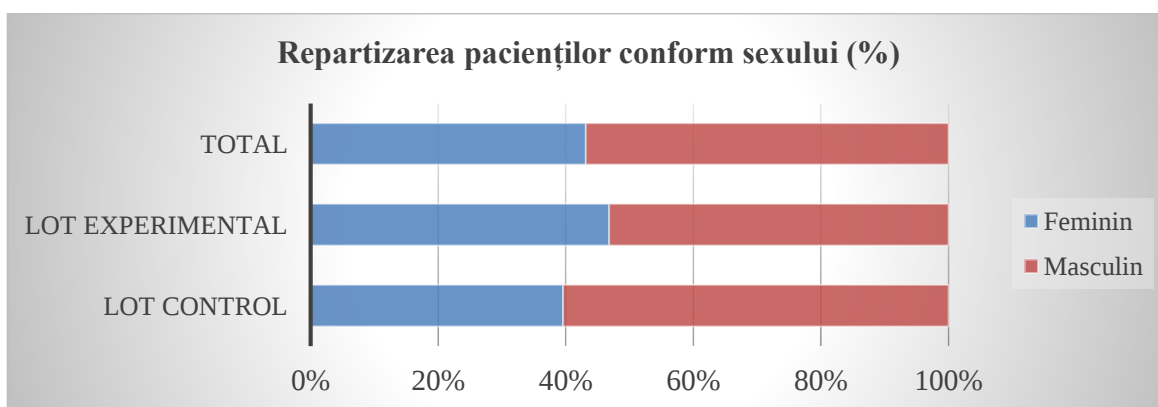


Fig. 3.2. Repartizarea subiecților din ambele loturi conform sexului (%)

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). Rezultatele repartizării conform vârstei sunt prezentate în Figura 3.3 și Tabelul A2.3, Figura A2.1 și Figura A2.2 din Anexa 2.

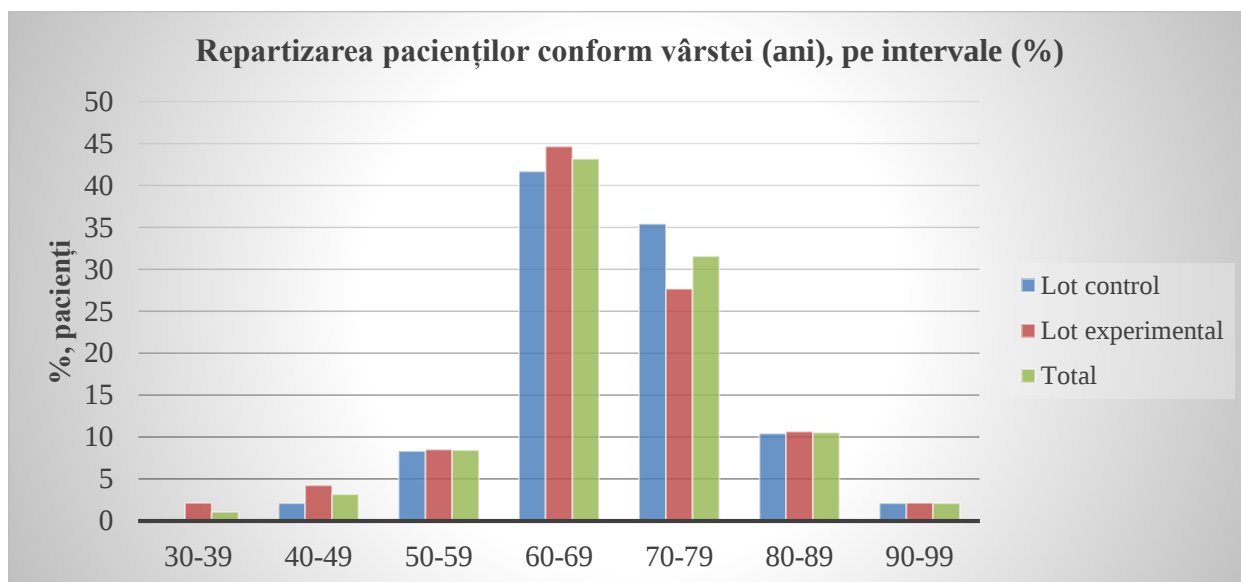


Fig. 3.3. Repartizarea subiecților conform vârstei (ani), pe intervale (%)

Media de vârstă în ambele loturi din studiu a fost de 68,8 ani, cu marja pentru lotul de control de 48-91 ani, iar pentru cel experimental marja a fost de 37-94 ani. Acest fapt este reflectat în Tabelul 3.1.

Tabelul 3.1. Repartizarea subiecților conform vârstei (ani, abs.)

	Vârsta (ani)				
	Minimum	Maximum	Media	Mediana	Abs.
Lot control	48.0	91.0	69.4	69.0	48
Lot experimental	37.0	94.0	68.3	67.0	47
Total	37.0	94.0	68.8	68.0	95

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. Acest fapt se datorează localizării centrului de studiu (IMSP Institutul de Medicină Urgentă, or. Chișinău, Republica

Moldova, spital municipal) și, respectiv, adresabilității, rezultatele fiind prezentate în Figura 3.4 și Tabelul A2.4 din Anexa 2.

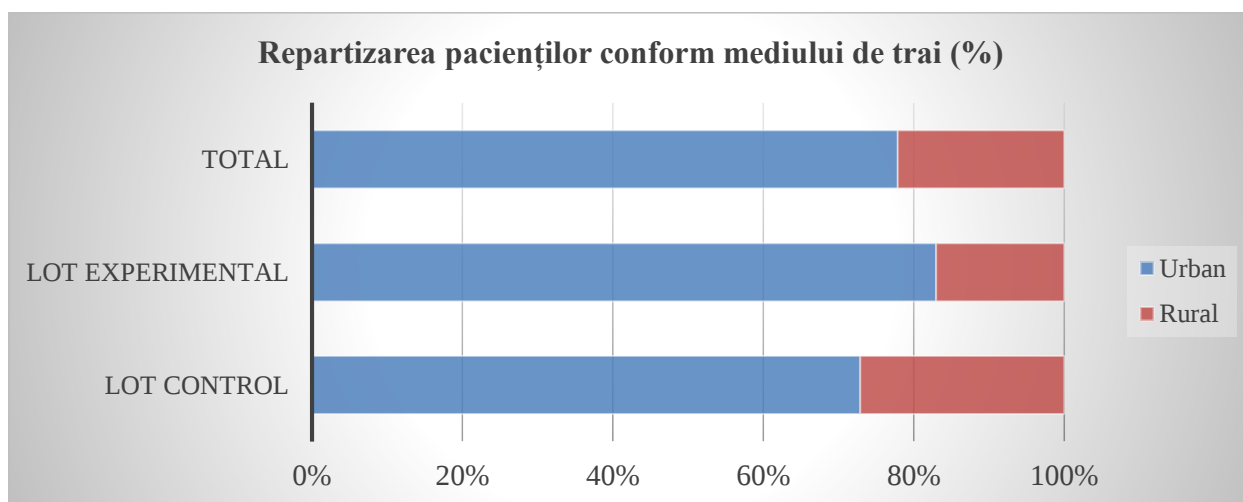


Fig. 3.4. Repartizarea subiecților conform mediului de reședință (%)

Din numărul total de subiecți luați în studiu, 74% (70 de subiecți) au fost pensionari. Această cifră se corelează cu intervale de vârstă a persoanelor în etate predominante, constatate anterior în Figura 3.3. În funcție de angajarea în câmpul muncii, în lotul experimental 2 (4%) subiecți au fost atestați ca fiind șomeri. Repartizarea subiecților conform ocupației este reflectată în Figura 3.5, iar numeric – în Tabelul A2.5, Anexa 2.

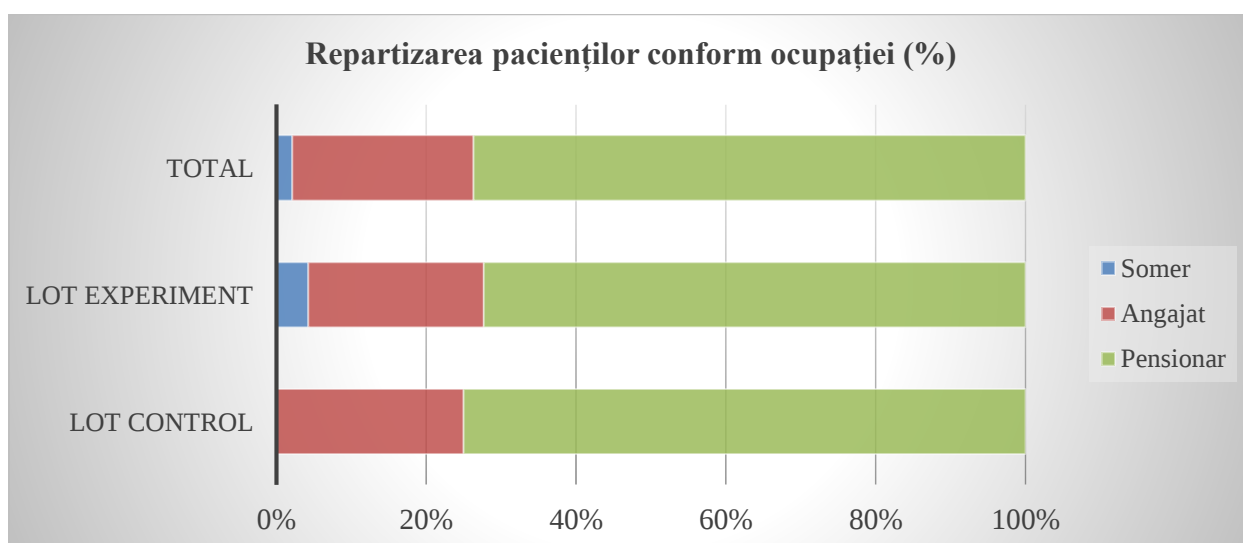


Fig. 3.5. Repartizarea subiecților conform ocupației (%)

Cercetând nivelul activității fizice cotidiene efectuate de către subiecții din ambele loturi, s-a constatat că 63% sau 2/3 dintre ei duc un mod de viață relativ activ, pe când 37% (35 subiecți)

au menționat că sunt predominant sedentari. Nivelul de activitate fizică cotidiană este prezentat în Figura 3.6 și Tabelul A2.6, Anexa 2.

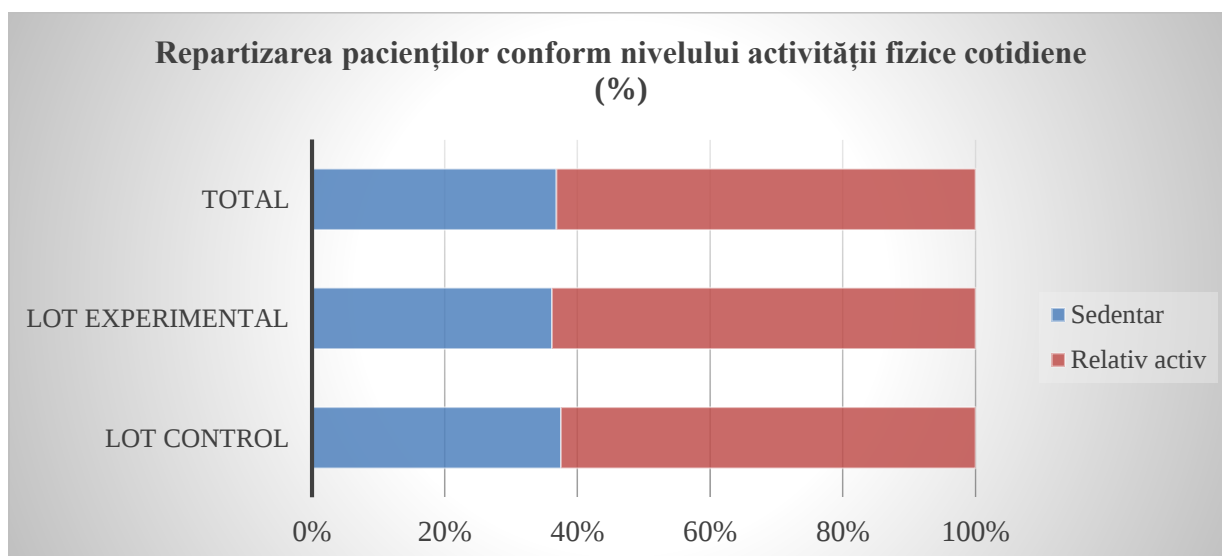


Fig. 3.6. Repartizarea subiecților conform nivelului activității fizice cotidiene (%)

În același timp, în studiul realizat a fost făcută o analiză a consumului de tutun sub formă de țigări. Astfel, s-a constatat, că în lotul experimental au prevalat subiecții care utilizau mai puțin de 10 țigări pe zi la momentul interviului și constituiau 47% din numărul total al lotului, urmați de foști fumători ce reprezentau 21% din numărul total al lotului experimental și de cei care fumau între 10 și 20 de țigări pe zi, constituind 15%. În lotul de control însă nu au existat nefumători, iar 13 persoane sau 27% din subiecții lotului de control utilizau peste 20 de țigări pe zi. Nivelul tabagismului în cele două loturi este prezentat în Figura 3.7.

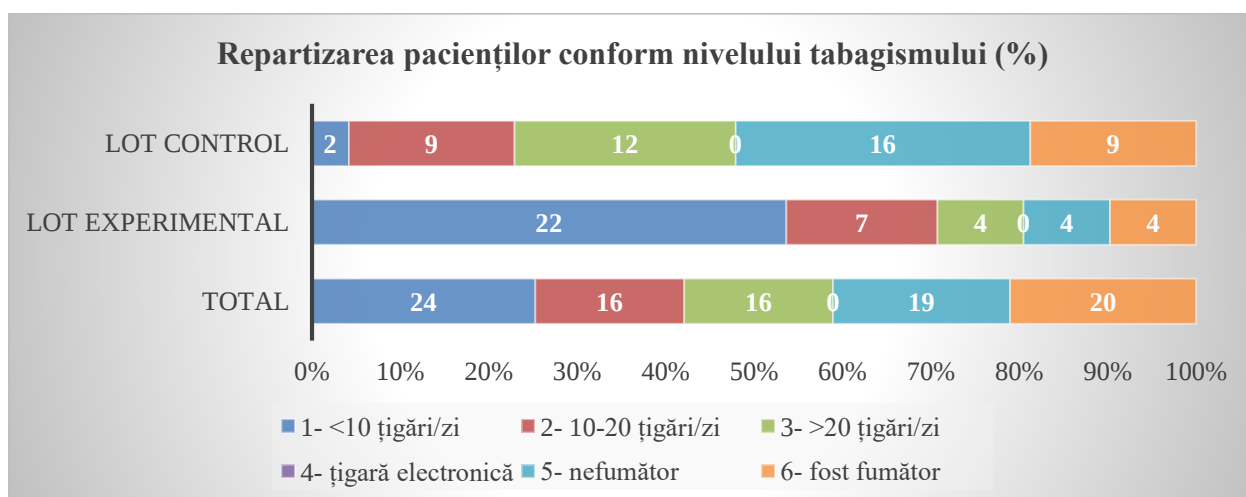


Fig. 3.7. Repartizarea subiecților conform nivelului tabagismului (%)

De asemenea, în studiu a fost făcută o analiză a consumului de alcool. Astfel, 33 de subiecți sau 70% din lotul experimental nu au folosit alcool anterior accidentului vascular cerebral. Pe când în lotul de control, 25 subiecți sau 52% au utilizat alcool înainte de AVC. Totodată, în rândul subiecților din lotul experimental s-au înregistrat și 6% cazuri de consum abuziv de alcool. Nivelul consumului de alcool este reflectat în Figura 3.8.

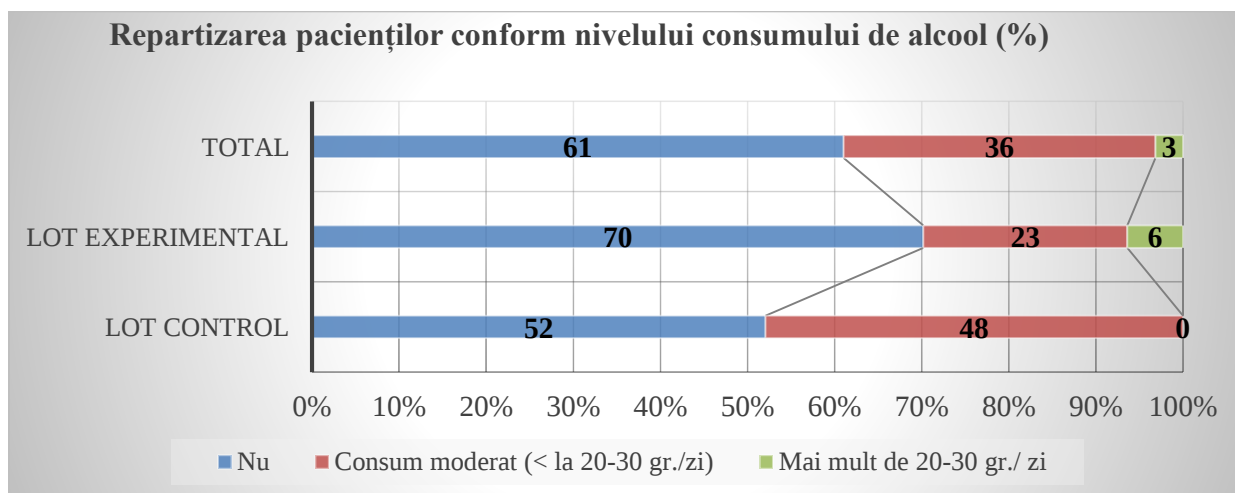


Fig. 3.8. Repartizarea subiecților conform nivelului consumului de alcool (%)

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 sau 47% din lotul experimental prezentau hipertensiune gr. I, 14 persoane sau 30% au prezentat hipertensiune de gr. II, iar 10 subiecți sau 21% – hipertensiune de gr. III.

În lotul de control, 18 (38%) persoane au avut hipertensiune de gr. I, iar restul 29 (60%) – hipertensiune de gr. II. Repartizarea conform nivelului tensiunii arteriale este reflectată în Tabelul 3.2 și Figura A2.3, Anexa 2.

Tabelul 3.2. Repartizarea pacienților conform nivelului tensiunii arteriale (% , abs.)

	Hipertensiune arterială (MMHG)									
	Nu		Gr. I		Gr. II		Gr. III		Total	
	(90-139 / 60-89)		(140-159 / 90-99)		(160-179 / 100-109)		(180+ / 110+)			
	%	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

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. Prezența fibrilației atriale este expusă în Figura 3.9 și Tabelul A2.7, Anexa 2.

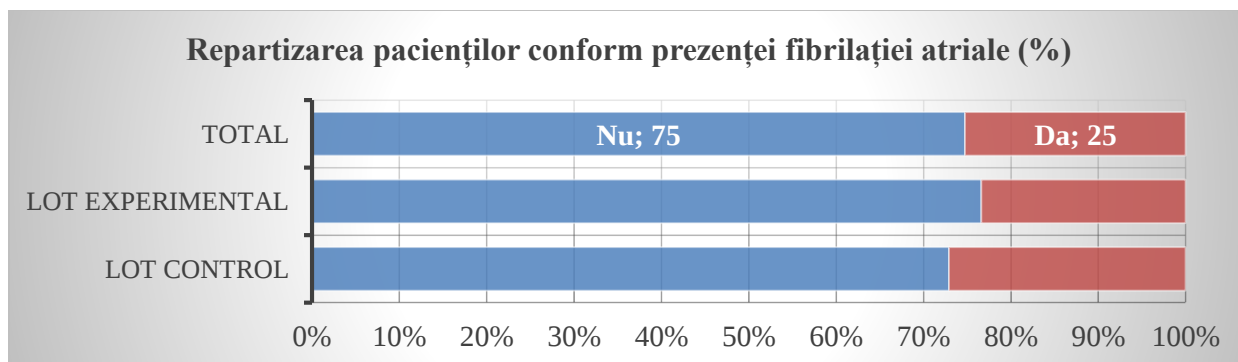


Fig. 3.9. Repartizarea subiecților conform prezenței fibrilației atriale (%)

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. Repartizarea subiecților conform prezenței diabetului zaharat este reflectată în Figura 3.10. și Tabelul A2.8, Anexa 2.

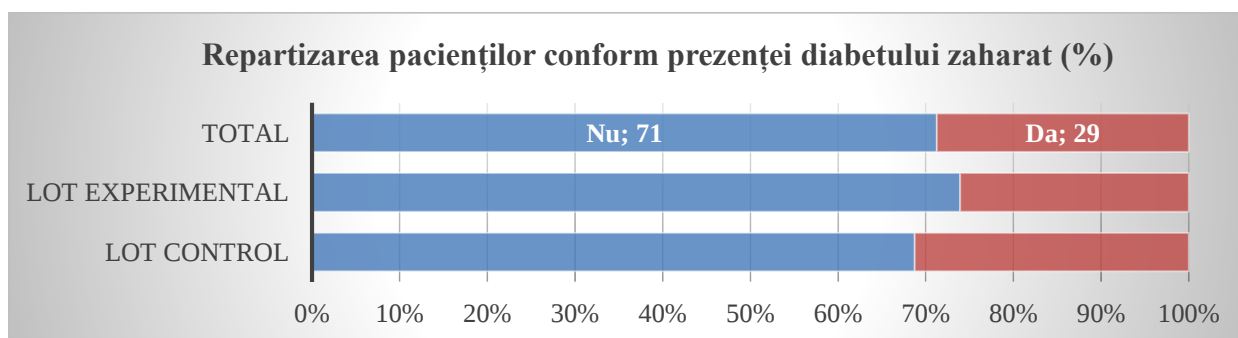


Fig. 3.10. Repartizarea subiecților conform prezenței diabetului zaharat (%)

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. Repartizarea subiecților conform prezenței dislipidemiei este arătată în Figura 3.11 și Tabelul A2.9, Anexa 2.

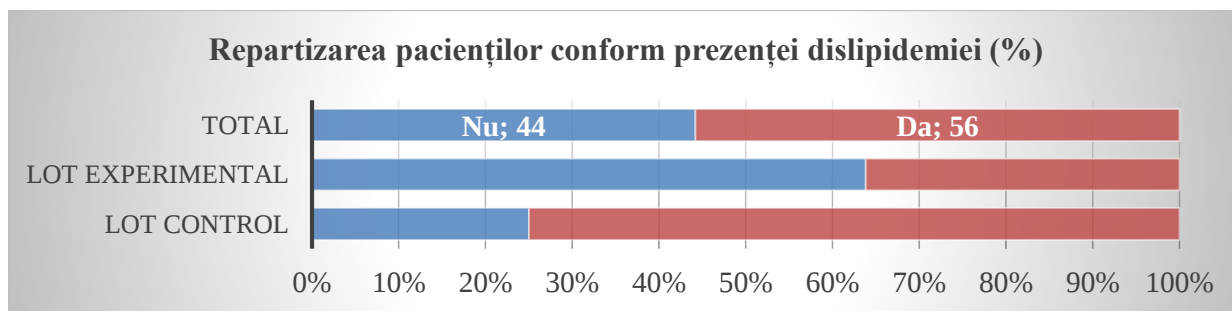


Fig. 3.11. Repartizarea subiecților conform prezenței dislipidemiei (%)

În studiul nostru 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 (Figura 3.12).

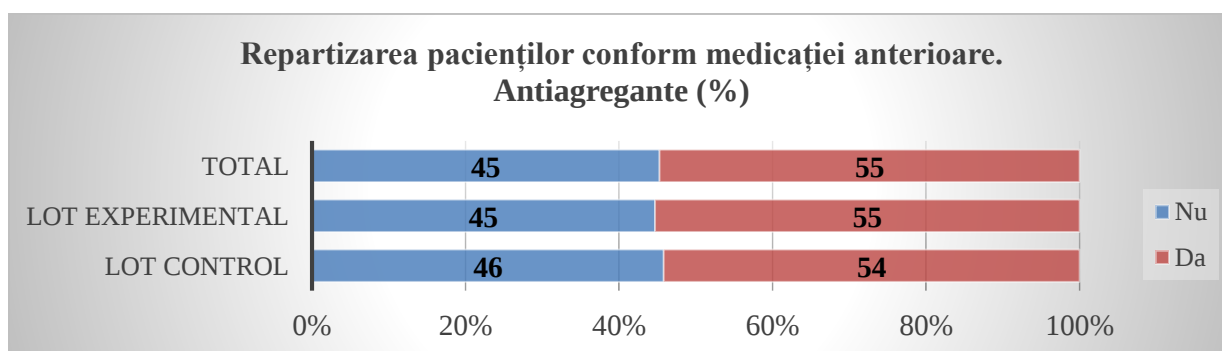


Fig. 3.12. Repartizarea subiecților conform medicației anterioare: antiagregante (%)

Totodată, a fost examinată și administrarea 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 acest lot doar 1 persoană (8%) utiliza heparine cu masă moleculară mică. În lotul experimental, 2 (18%) subiecți cu fibrilație atrială au folosit anterior anticoagulante. Rezultatele sunt redate în Figura 3.13.

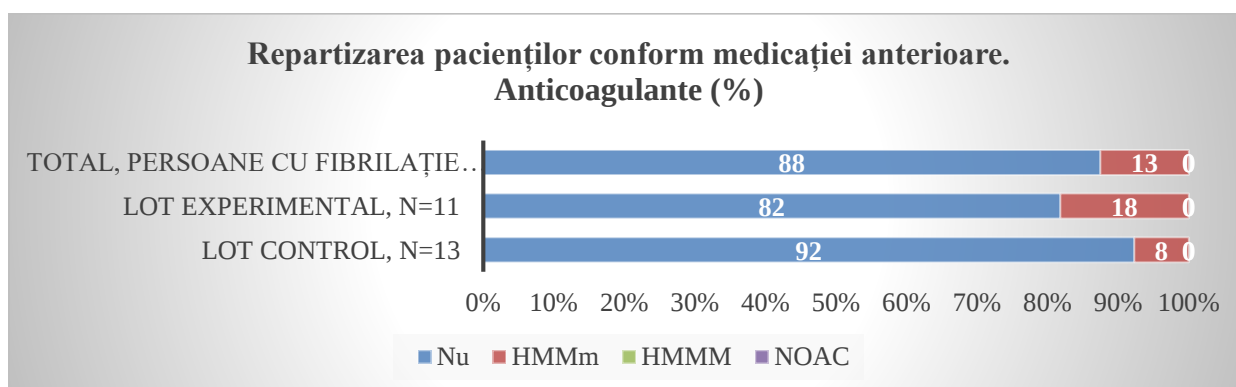


Fig. 3.13. Repartizarea subiecților conform medicației anterioare: anticoagulante (%)

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 niciun tip de terapie antihipertensivă la momentul spitalizării. Rezultatele obținute sunt prezentate în Figura 3.14.

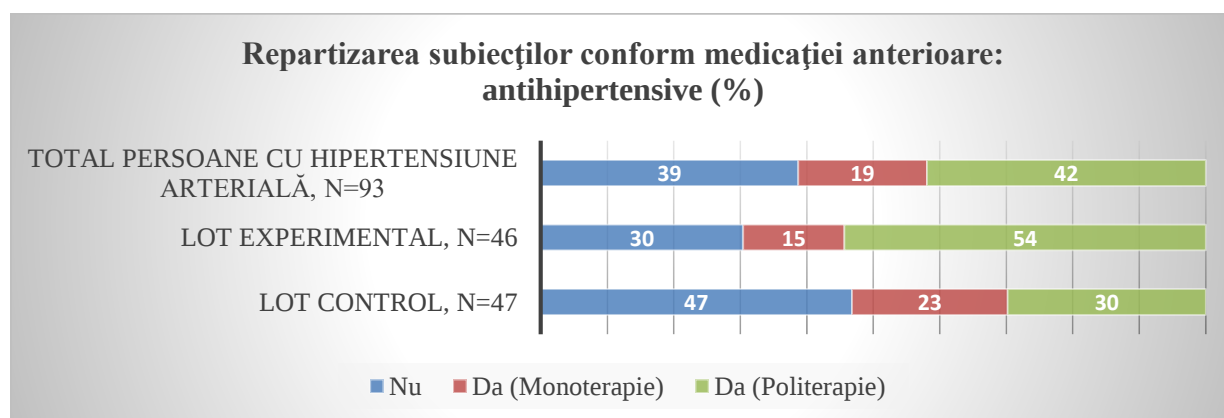


Fig. 3.14. Repartizarea subiecților conform medicației anterioare: antihipertensive (%)

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%). Repartizarea subiecților conform medicației anterioare este arătată în Figura 3.15.

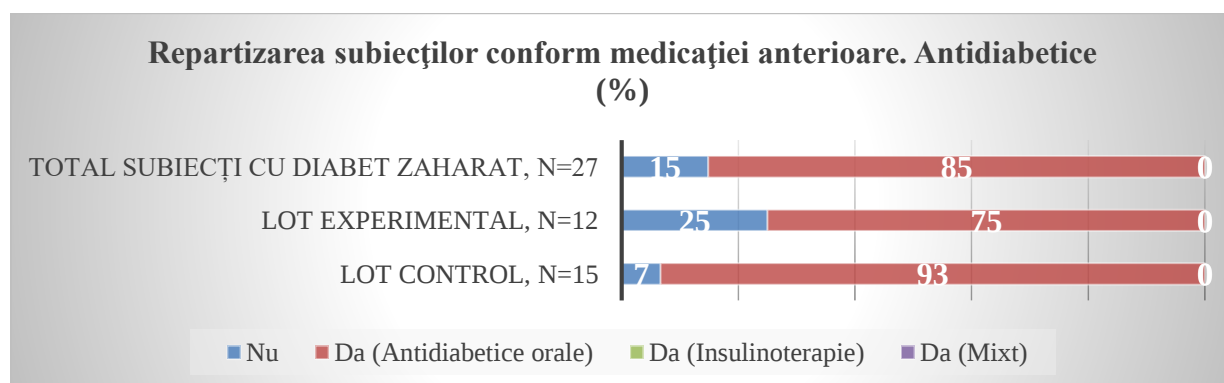


Fig. 3.15. Repartizarea subiecților conform medicației anterioare. Antidiabetice (%)

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. Acest lucru este arătat în Figura 3.16.

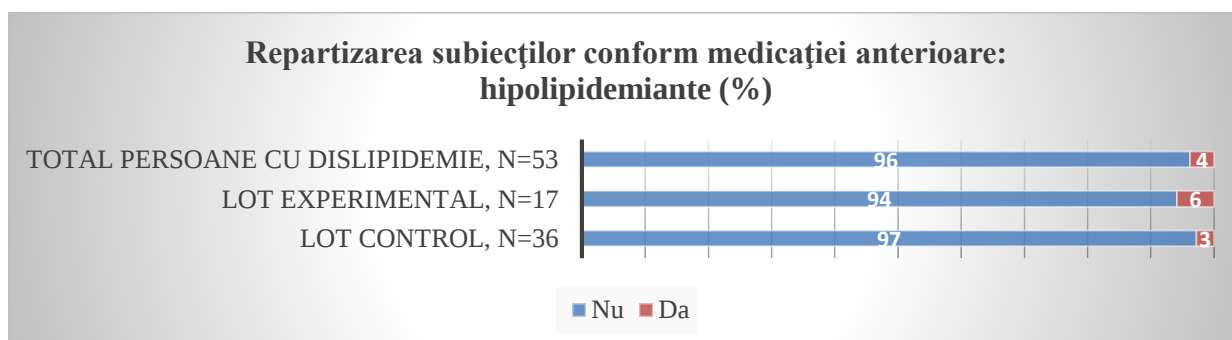


Fig. 3.16. Repartizarea subiecților conform medicației anterioare: hipolipidemiante (%)

Datele prezentate anterior, referitoare la factorii de risc pentru maladii cerebrovasculare, nu au fost obiectiv de cercetare, însă prezintă o modalitate de verificare a omogenizării subiecților în cele două loturi: experimental și de control.

Din momentul spitalizării, subiecților incluși în studiu în lotul experimental le-a fost efectuată procedura SMT. După cum se observă din Tabelul 3.3, 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 stimulare transcraniană la un interval de peste 48 h de la debutul accidentului vascular cerebral. Acest lucru s-a datorat faptului că pacienții respectivi au avut o spitalizare tardivă în decursul zilei.

Tabelul 3.3. Analiza intervalului de timp de la debutul AVC până la startul 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

Având în vedere datele prezentate în Tabelul 3.3, se poate face și o diagramă a intervalului de timp de la debutul accidentului vascular cerebral până la prima aplicare a SMT, ceea ce a și fost făcut în Figura 3.17.

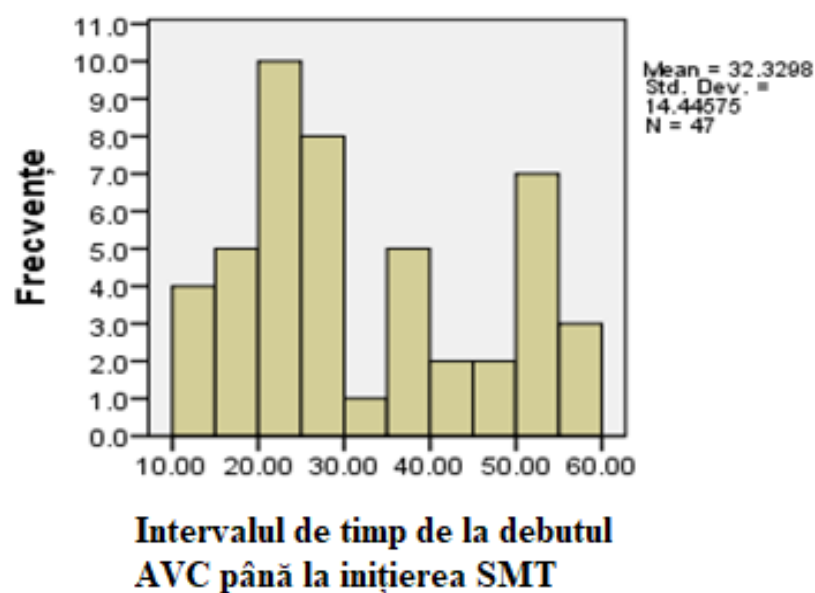
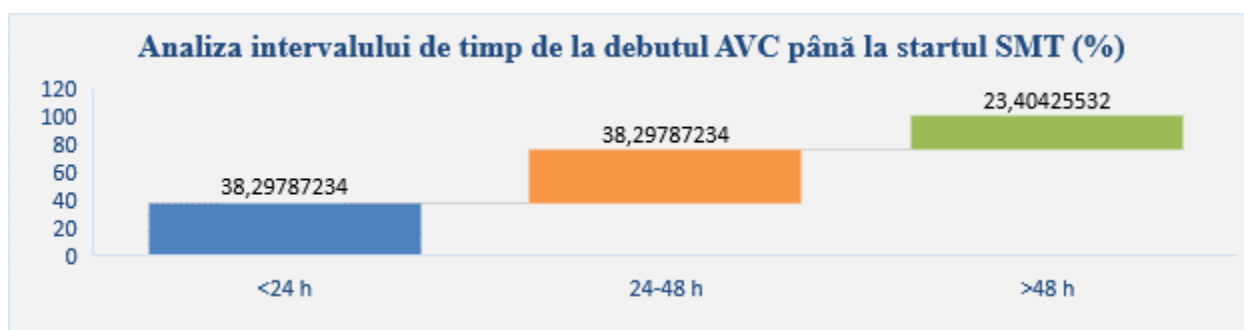


Fig. 3.17. Analiza intervalului de timp de la debutul AVC până la startul SMT (%)

3.2. Rezultatele investigațiilor paraclinice ale subiecților cu accident vascular cerebral

În studiul nostru, pentru evidențierea stenozelor 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%. Aceste date sunt reflectate în Figura 3.18 și Tabelul A3.1, Anexa 3.

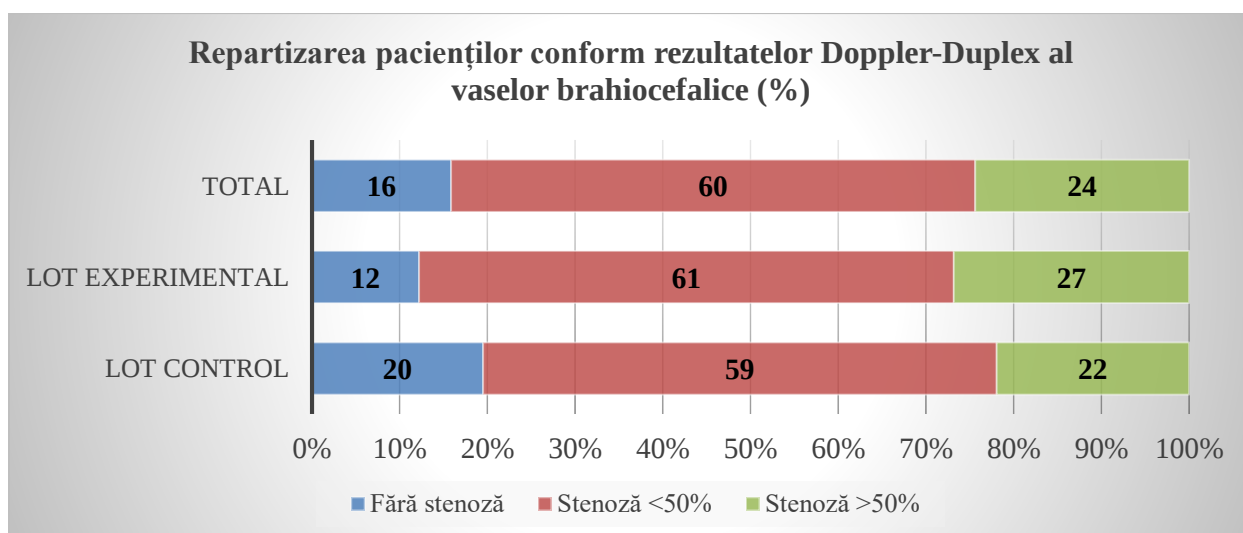


Fig. 3.18. Repartizarea subiecților conform rezultatelor Doppler-Duplex al vaselor brahiocefalice (%)

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. 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. Repartizarea subiecților conform emisferei afectate de AVC este arătată în Figura 3.19.

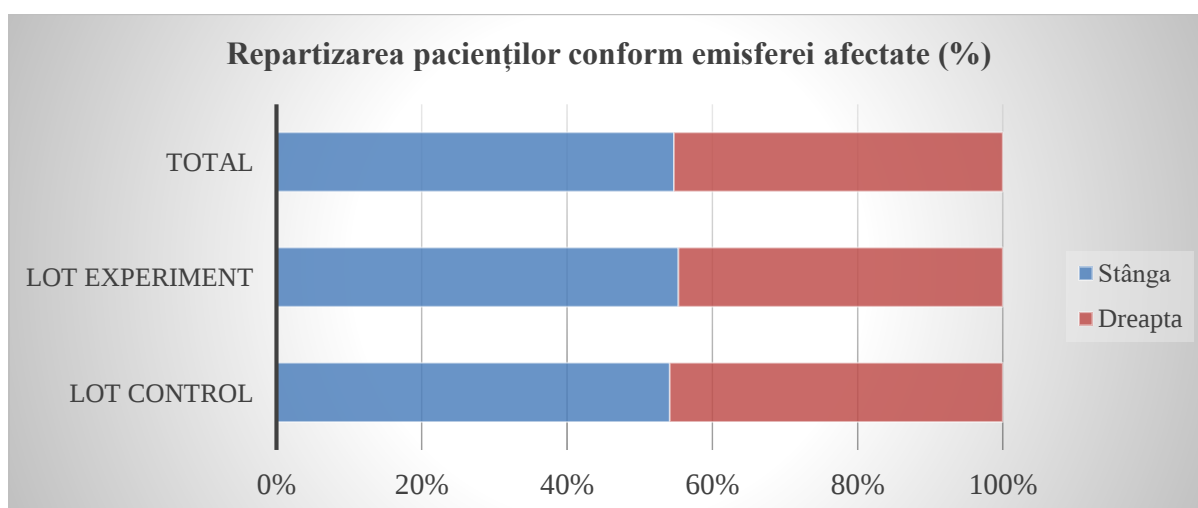


Fig. 3.19. Repartizarea subiecților conform emisferei afectate de AVC (%)

În cele două loturi s-a înregistrat o anumită omogenitate și în ceea ce privește nivelul topografic afectat de AVC. Astfel, în lotul experimental s-au atestat 21 (45%) de subiecți care au prezentat AVC la nivel cortical, 17 (36%) au prezentat AVC la nivel subcortical și 9 subiecți, ceea ce reprezintă 19% din numărul total de cazuri din lotul experimental, au suportat AVC mixt. În lotul de control, 20 (42%) de subiecți au dezvoltat AVC la nivel cortical, 22 (46%) – la nivel subcortical și 6 (13%) subiecți au prezentat nivel mixt de afectare. Repartizarea subiecților conform nivelului topografic al AVC este prezentată în Figura 3.20.

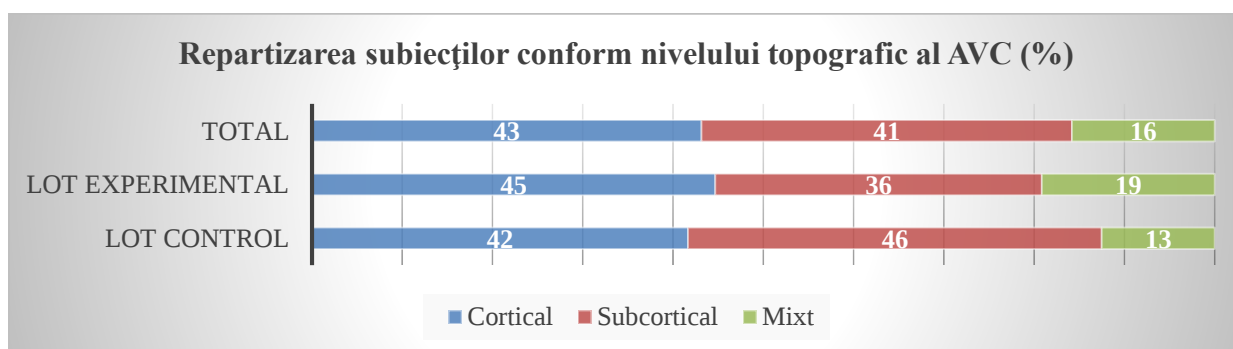
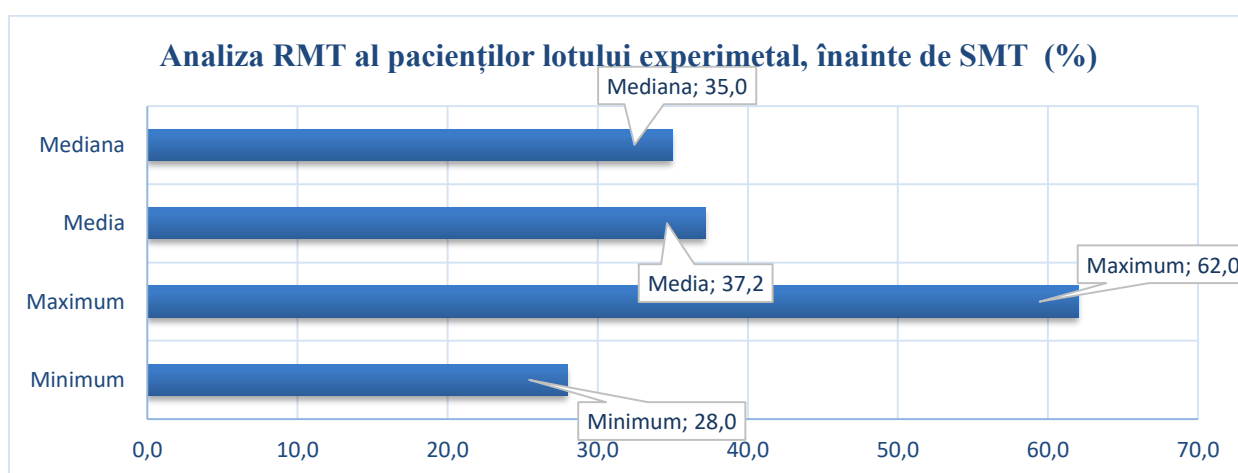


Fig. 3.20. Repartizarea subiecților conform nivelului topografic al AVC (%)

Pentru protocolul de stimulare magnetică transcraniană a fost determinat RMT în procente 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 redată în Figura 3.21.



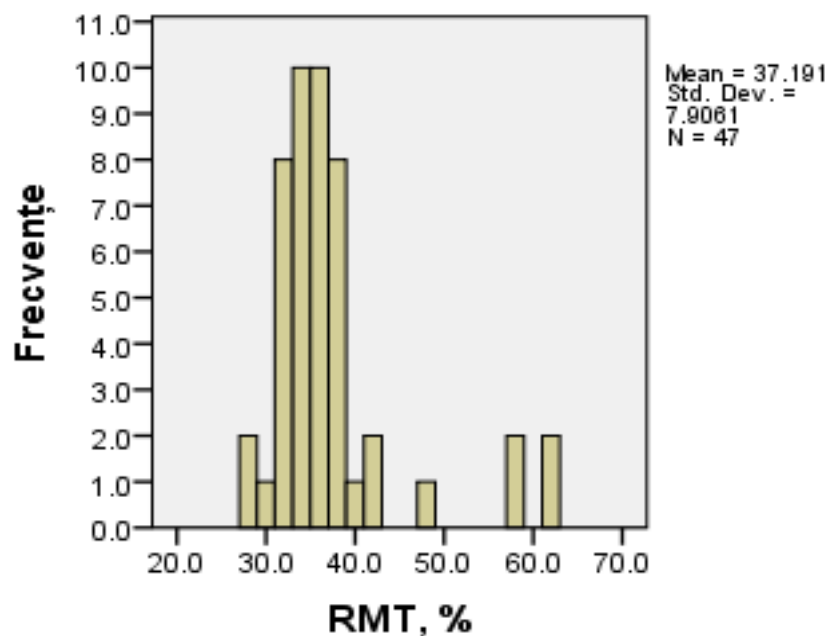


Fig. 3.21. Analiza RMT al subiecților lotului experimental înainte de SMT (%)

În Figurile 3.22-3.24 sunt prezentate valorile PEM, înregistrate doar la subiecții din lotul experimental. S-a constatat 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. Acest fapt a fost confirmat și statistic prin aplicarea testelor T-Student și Wilcoxon în eșantioanele-perechi.

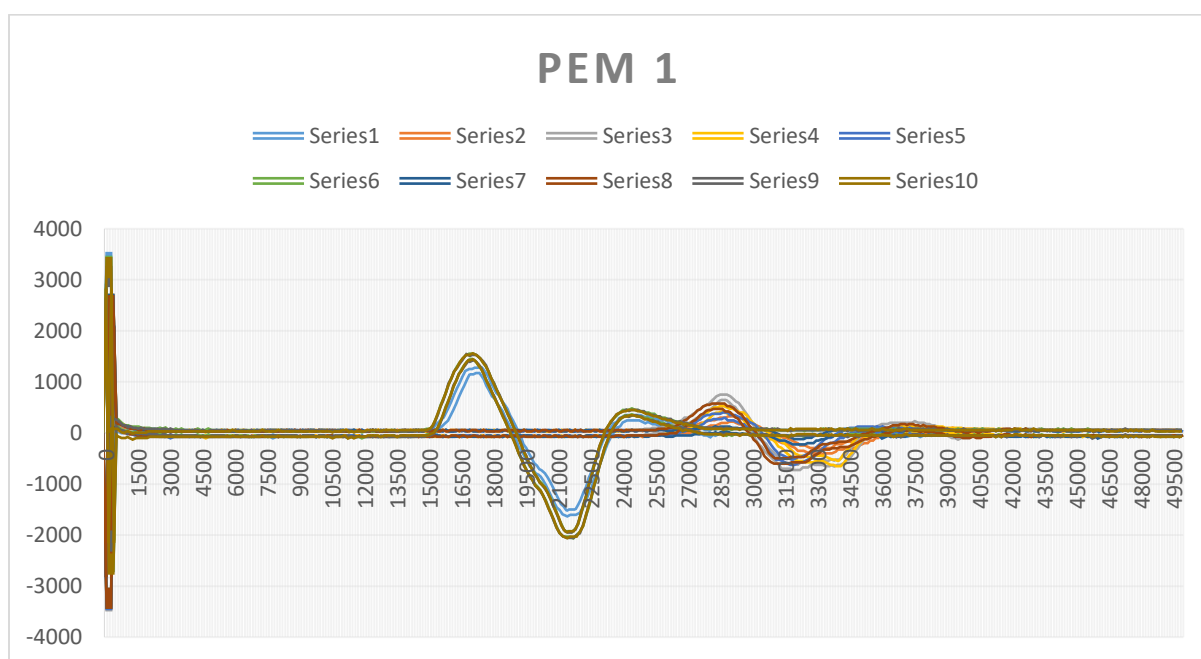


Fig. 3.22. Exemplul 1 de PEM înregistrat la un pacient din lotul experimental (10 serii de impulsuri)

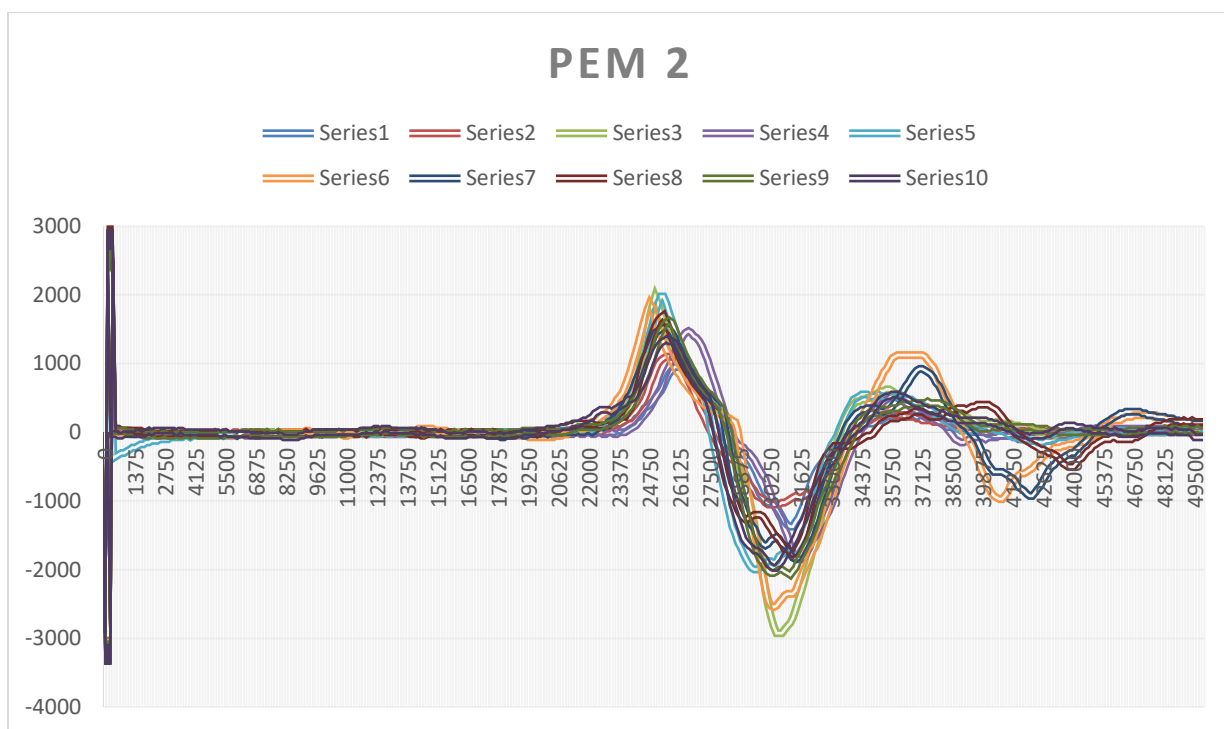


Fig. 3.23. Exemplul 2 de PEM înregistrat la un pacient din lotul experimental (10 serii de impulsuri)

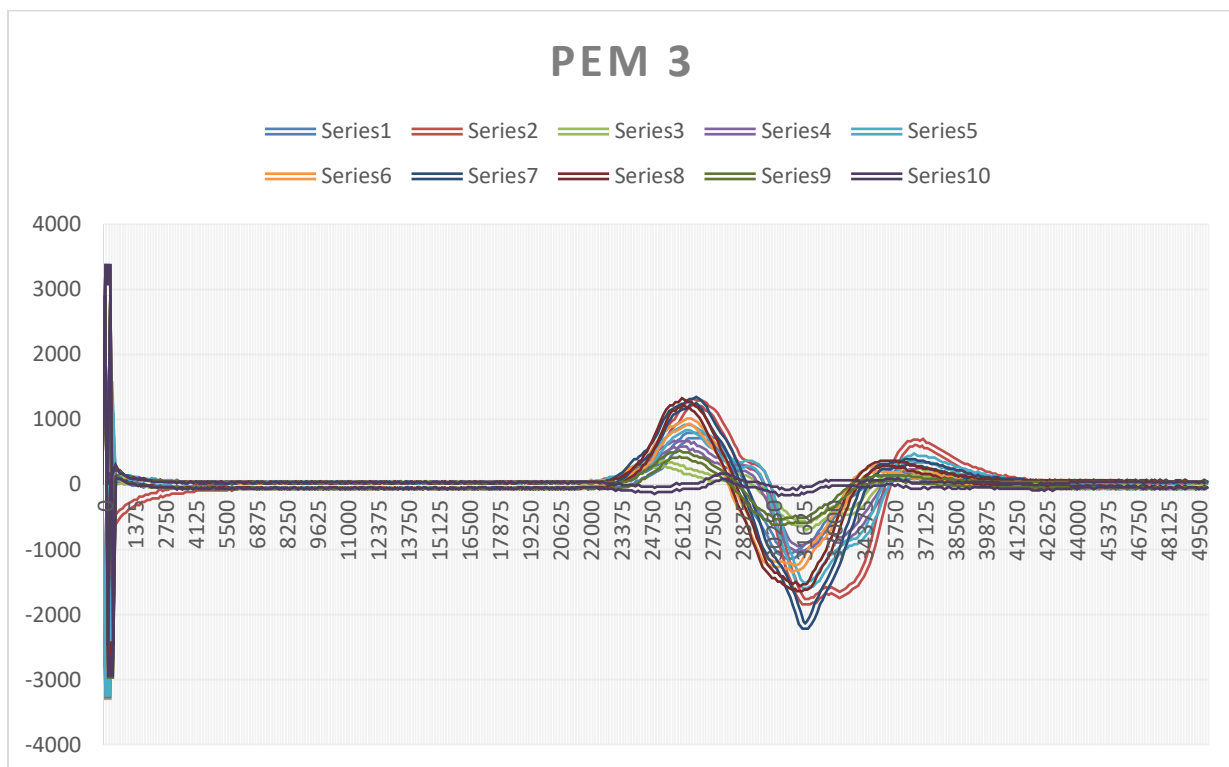
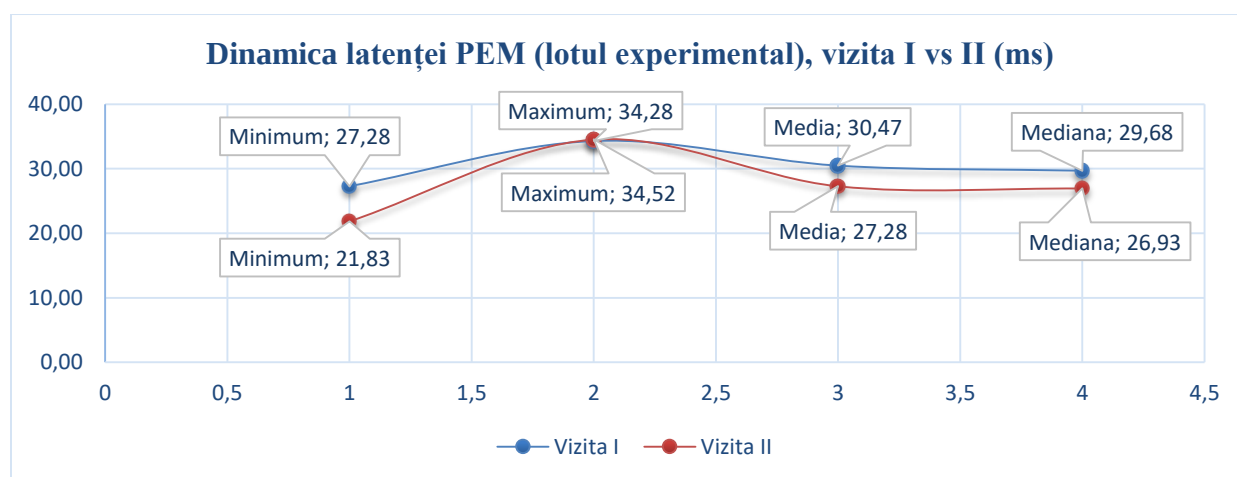


Fig. 3.24. Exemplul 3 de PEM înregistrat la un pacient din lotul experimental (10 serii de impulsuri)

Deoarece conform testului Shapiro-Wilk datele sunt distribuite în mod normal pentru un $p=0,454$, variabila *dinamica latenței* are o distribuție normală. Prin urmare, putem aplica testul t-Student pentru eșantioane-perechi în scopul de a analiza dacă îmbunătățirea la nivel de latență este statistic semnificativă. În rezultatul aplicării testului respectiv 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 (conform medianei) este statistic semnificativă.

Întrucât variabila *dinamica amplitudinii*, calculată ca diferența dintre rezultatele în cadrul vizitei I și rezultatele în cadrul vizitei II, nu este parametrică, conform testului Shapiro-Wilk pentru un $p=0,033$, asupra eșantioanelor-perechi s-a aplicat testul Wilcoxon pentru date neparametrice. În rezultatul aplicării acestuia s-a obținut valoarea lui $z=4,619$, pentru un $p<0,0005$, ceea ce a demonstrat existența unei creșteri statistic semnificative a amplitudinii – de la 0,92 la 1,67.

Astfel, prin aplicarea testelor statistice și obținerea valorilor statistic semnificative a fost demonstrat că dinamica acestor valori duce la îmbunătățirea semnificativă a conducerii impulsului nervos. Rezultatele obținute sunt oglindite în Figura 3.25 și Figura 3.26



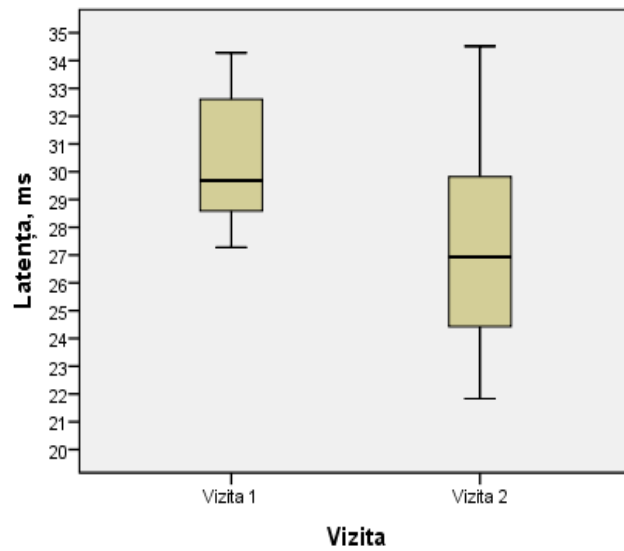


Fig. 3.25. Dinamica latenței PEM (lotul experimental), vizita I versus vizita II (ms)

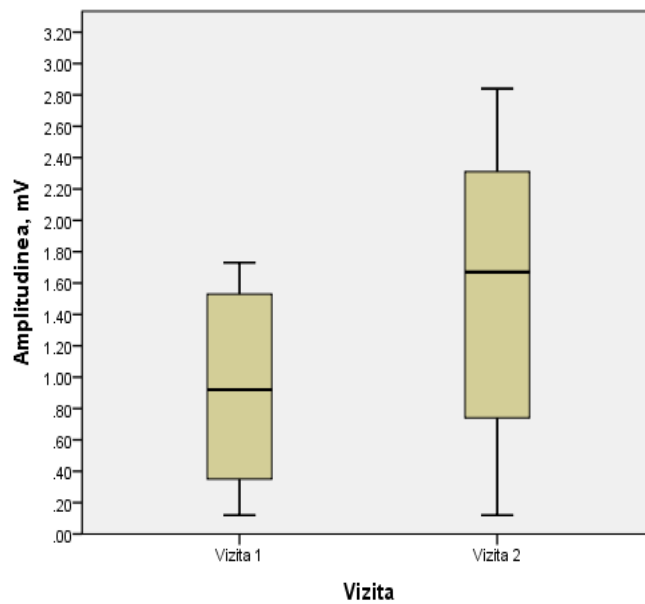
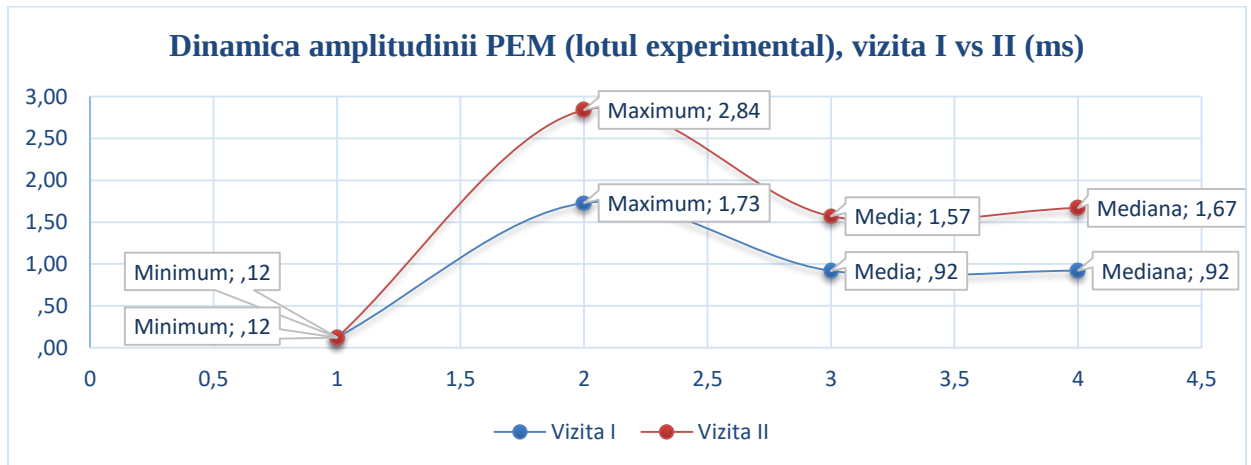


Fig. 3.26. Dinamica amplitudinii PEM (lotul experimental), vizita I vs vizita II (ms)

Analizând dinamica latenței în funcție de emisfera afectată, observăm că diferența dintre cele două eșantioane este una mică – 0,06 ms. Odată ce variabila dinamica latenței este una parametrică (conform testului Shapiro-Wilk), putem aplica testul t-Student pentru eșantioane independente. În rezultatul aplicării acestui test 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 (deoarece variabila dinamica amplitudinii nu este parametrică) pentru eșantioane independente, 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). Rezultatele obținute sunt reflectate în Figura 3.27.

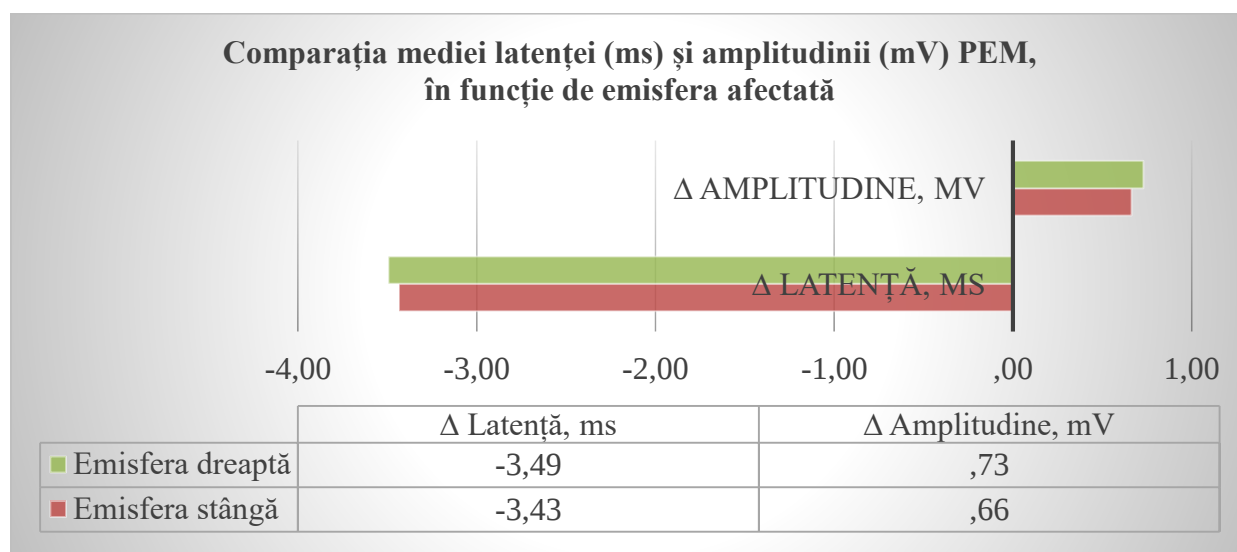


Fig. 3.27. Comparația dinamicii medii a latenței și amplitudinii PEM, în funcție de emisfera afectată

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

În cadrul cercetării noastre, pacienții participanți au fost investigați din punct de vedere genetic pentru a determina apartenența la varianta subiecților fără mutație sau a celor cu mutație. Astfel, în lotul experimental, 72% (34 subiecți) au prezentat varianta fără mutație (G/G sau A/A) a alelelor genei BDNF, comparativ cu varianta cu mutație (G/A) – 28% (13 subiecți).

În lotul de control a fost observată o distribuție similară: 73% (35 subiecți) fără mutație și 27% (13 subiecți) cu mutație. Rezultatele sunt reflectate în Figura 3.28 și Tabelul A4.1, Anexa 4.

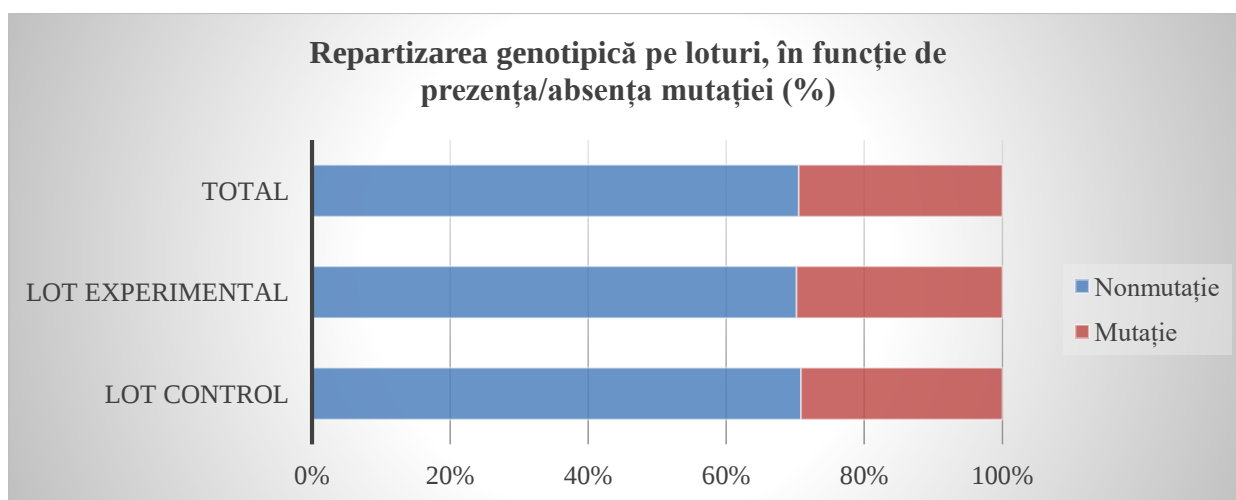


Fig. 3.28. Repartizarea genotipică pe loturi, în funcție de zigozitate (%)

Totuși, este necesar de menționat că varianta fără mutație A/A reprezintă o formă de polimorfism al genei BDNF și trebuie luată în considerație ulterior drept formă de mutație genică, în același context cu varianta cu mutație G/A. Această formă genotipică a fost prezentă doar la doi subiecți din studiu, unul din lotul experimental și unul din lotul de control. Rezultatele repartizării genotipice pe loturi, în funcție de tipul polimorfismului, sunt afișate în Tabelul 3.4 și Figura A4.1, Anexa 4.

Tabelul 3.4. Repartizarea genotipică pe loturi, în funcție de tipul polimorfismului (abs., %)

	G/G (norma)		G/A (polimorfism)		A/A (polimorfism)		Total	
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%
Lot control	34	71	13	27	1	2	48	100
Lot experimental	33	70	13	28	1	2	47	100
Total	67	71	26	27	2	2	95	100

Astfel, putem menționa că în lotul experimental, 71% (34 subiecți) nu au prezentat mutație la nivelul genei BDNF. În lotul de control, 70% (33 subiecți) din numărul total nu au prezentat mutație la nivelul genei BDNF. Rezultatele obținute sunt oglindite în Tabelul 3.5 și Figura A4.2, Anexa 4.

Tabelul 3.5. Repartizarea genotipică în funcție de prezența/absența mutației (abs., %)

		%	ABS.
LOT CONTROL	G/G (nonmutație)	70	33
	G/A+A/A (mutație)	30	14
LOT EXPERIMENTAL	G/G (nonmutație)	71	34
	G/A+A/A (mutație)	29	14
TOTAL	G/G (nonmutație)	71	67
	G/A+A/A (mutație)	29	28
NUCLEOTIDE: G – GUANINĂ, A - ADENINĂ			

Concomitent, a fost analizată influența genotipului subiecților asupra localizării accidentului vascular cerebral. În acest scop a fost comparată, din punct de vedere statistic, incidența diferitor nivele topografice la subiecții fără mutație și la cei cu mutație. Ca rezultat al analizei statistice, s-a observat că nivelul subcortical s-a depistat la subiecții cu mutație în proporție de 31%, iar la cei fără mutație – de 45%; nivelul cortical – 54% la persoanele cu mutație și, respectiv, 39% la cele fără mutație. Nivelul mixt de afectare a fost omogen în ambele loturi – 15% la subiecții cu mutație și 16% la cei fără mutație. Rezultatele analizei sunt reflectate în Figura 3.29.

A fost demonstrat statistic 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 mutație prevalează AVC la nivel cortical, iar la cei fără mutație prevalează AVC la nivel subcortical.

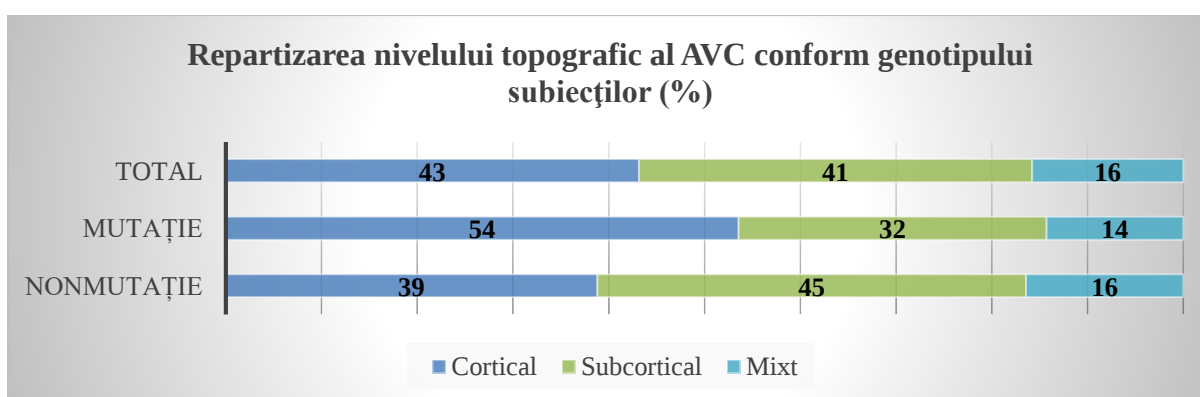


Fig. 3.29. Repartizarea nivelului topografic al AVC conform genotipului subiecților (%)

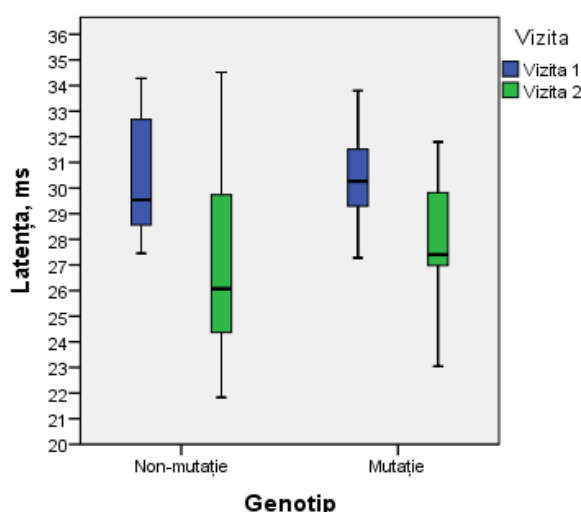
În același timp, a fost cercetat dacă a existat vreo diferență a răspunsului la SMT între subiecții din categoriile cu mutație și fără mutație. S-a constatat că în rândul persoanelor fără mutație, amplitudinea a crescut cu 0,69 mV, iar în rândul celor cu mutație, creșterea amplitudinii

a fost de 0,70 mV. Din punct de vedere statistic, aceste diferențe nu sunt semnificative. Testul Mann-Whitney U pentru eșantioane independente, cu un $p=0,1881$, demonstrează că dinamica amplitudinii nu este semnificativ diferită între subiecții cu mutație și cei fără mutație.

După cum a fost menționat anterior, dinamica latenței este o variabilă parametrică conform testului Shapiro-Wilk. Astfel, pentru a vedea dacă diferența dintre dinamica latenței la subiecții cu mutație e semnificativă față de subiecții fără mutație, a fost efectuat testul t-Student pentru eșantioane independente. Din analiza mediilor se observă că dinamica latenței la persoanele fără mutație a fost mai bună decât la cele cu mutație (în primul caz, descreșterea a constituit $3,68 \pm 0,60$ ms, pe când în cazul persoanelor cu mutație, descreșterea a constituit $2,79 \pm 0,64$ ms). Testul t-Student pentru eșantioane independente cu un $p=0,428$ demonstrează că diferența dintre eșantioane nu este statistic semnificativă. Dinamica mediei latenței și amplitudinii PEM în funcție de genotip este reprezentată în Tabelul 3.6 și Figura 3.30

Tabelul 3.6. Dinamica mediei latenței și amplitudinii PEM în funcție de genotip

	Latența, ms (vizita I)	Latența, ms (vizita II)	Amplitudinea, mV (vizita I)	Amplitudinea, mV (vizita II)	Δ latență	Δ
						Amplitudine
Nonmutație	30,4	27	1	1,61	-4	0,7
Mutație	30,64	28,2	0,7	1,42	-3	0,65



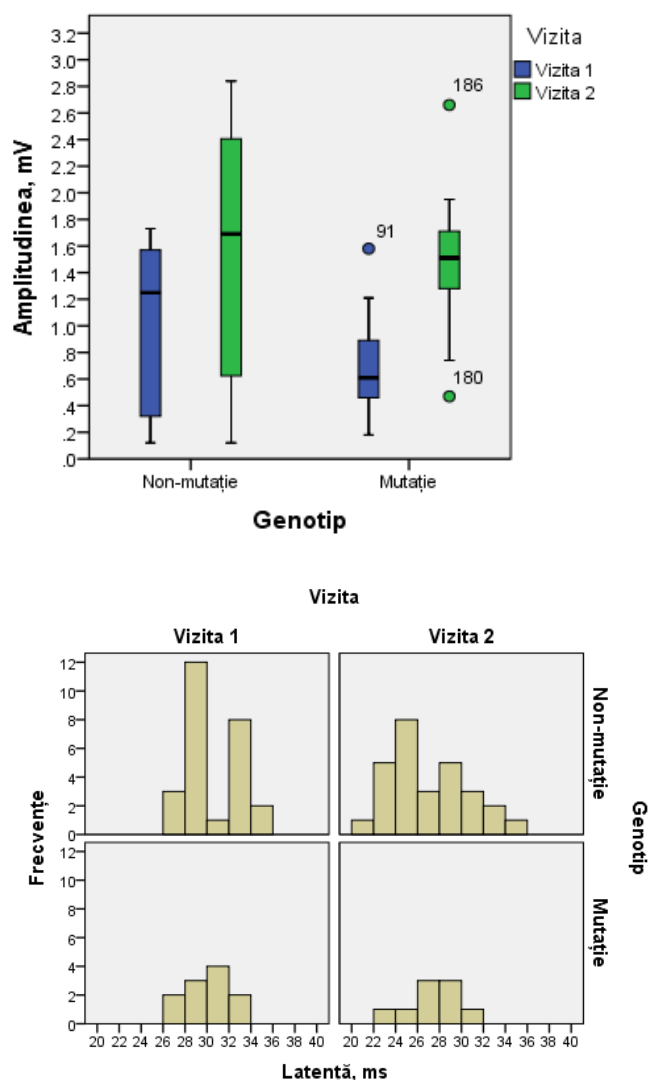


Fig. 3.30. Media latenței și amplitudinii PEM în funcție de genotip

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. Pentru a efectua o analiză statistică detaliată, pe parcursul cercetării vom folosi mai multe variabile independente. Una dintre acestea este variabila *timp*, care semnifică timpul trecut de la AVC până la stimulare.

- **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. Rezultatele sunt prezentate în Figura 3.31, Figurile A5.1 și A5.2, Anexa 5. Totodată, a fost întreprinsă încercarea de a efectua testul two-way mixed ANOVA, însă ipoteza de omogenitate a varianțelor nu s-a adeverit, de aceea ANOVA nu putea fi efectuată.

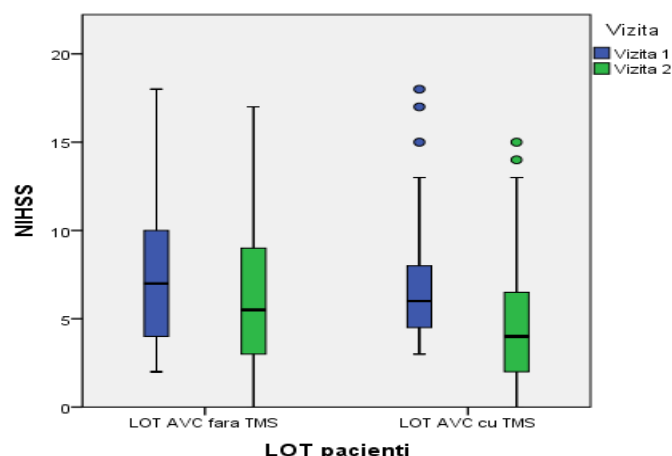


Fig. 3.31. Analiza dinamicii scorului NIHSS la subiecții ambelor loturi (puncte NIHSS)

- **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%. Rezultatele analizei spectrului mișcărilor în membrul paretic, conform Scalei MRC, vizita I și vizita II (%) sunt oglindite în Figurile A5.3 și A5.4, Anexa 5.

În scopul identificării existenței unei interacțiuni între variabila *timp* și variabila *lotul căruia îi aparține subiectul* asupra variabilei *dinamica Scalei MRC*, a fost efectuată analiza two-way mixed ANOVA.

La examinarea reziduurilor (diferența dintre valoarea observată și valoarea prognozată) testului t-Student pentru valori mai mari de ± 3 , nu au fost identificate valori aberante (outlier). După cum a fost demonstrat prin graficul Normal Q-Q, care este o metodă pentru compararea a două distribuții de probabilități prin reprezentarea grafică a cuantificărilor una față de cealaltă, datele au o distribuție normală.

Omogenitatea varianțelor a fost demonstrată de testul Levene de omogenitate a varianțelor, pentru un $p > 0,05$. Omogenitatea covarianței cu un $p > 0,05$ a fost demonstrată prin testul Box's M. Testul de sfericitate Mauchly's, care este un instrument important al măsurilor repetate ANOVA și se referă la starea în care varianțele diferențelor dintre toate perechile posibile de condiții (adică nivelurile variabilei independente) sunt egale, nu a fost necesar de aplicat, deoarece variabila de grupare are doar două nivele.

În urma aplicării acestor teste, se poate de făcut concluzia că între variabila *timp* și variabila *lotul căruia îi aparține subiectul* asupra variabilei *dinamica scalei MRC* nu a fost înregistrată o interacțiune statistic semnificativă. Valoarea lui $F(1, 93) = 0,768$, pentru un $p = 0,383$, η^2 parțial = 0,008. În schimb a fost înregistrat un efect statistic semnificativ al variabilei *timp* asupra variabilei *dinamica scalei MRC* , $F(1, 93) = 7.328$, cu un $p = 0,008$, η^2 parțial = 0,073. Scorul MRC a înregistrat o creștere în medie de la 2,949 la 3,319.

De asemenea, 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 dinamicii spectrului mișcărilor în membrul paretic conform scalei MRC sunt prezentate în Figura 3.32.

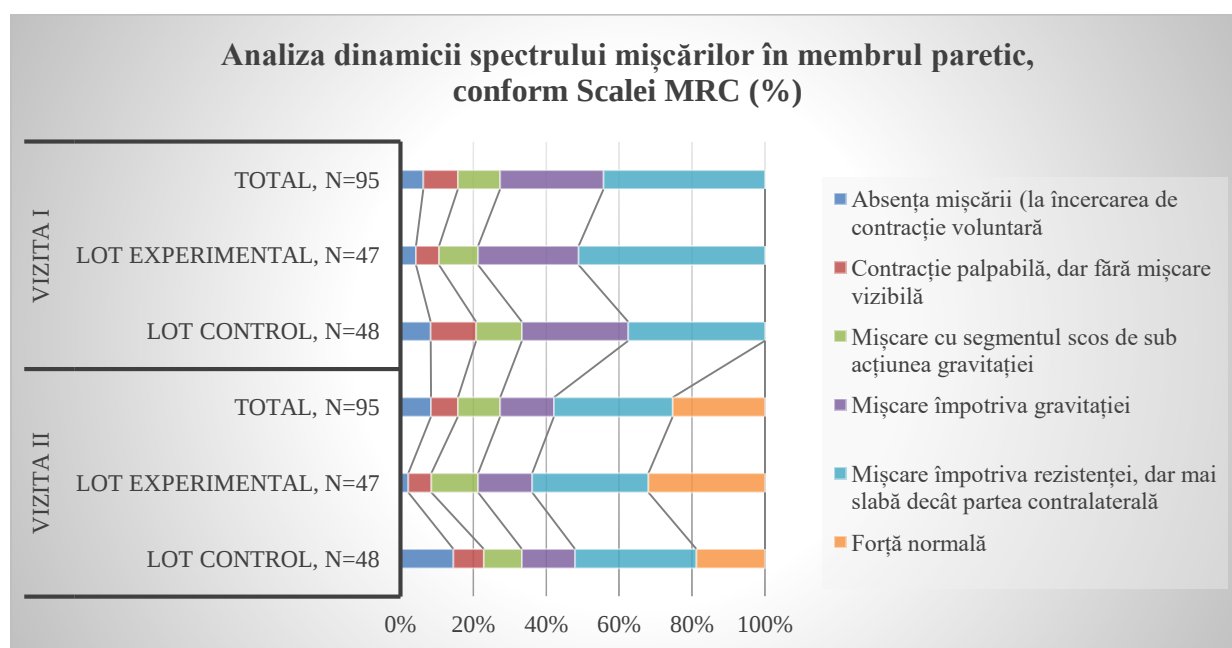


Fig. 3.32. Dinamica spectrului mișcărilor în membrul paretic, conform Scalei MRC(%)

- **Scala mRS.** Subiecții ambelor loturi au fost examinați conform scalei mRS. Potrivit acestei scale, pacienții 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 studiu nu au fost incluse persoane cu

dizabilitate severă (conform criteriilor de excludere). Dinamica gradului de dizabilitate de la vizita I la a II-a conform mRS este dată în Figura 3.33 și Figurile A5.5, A5.6, Anexa 5.

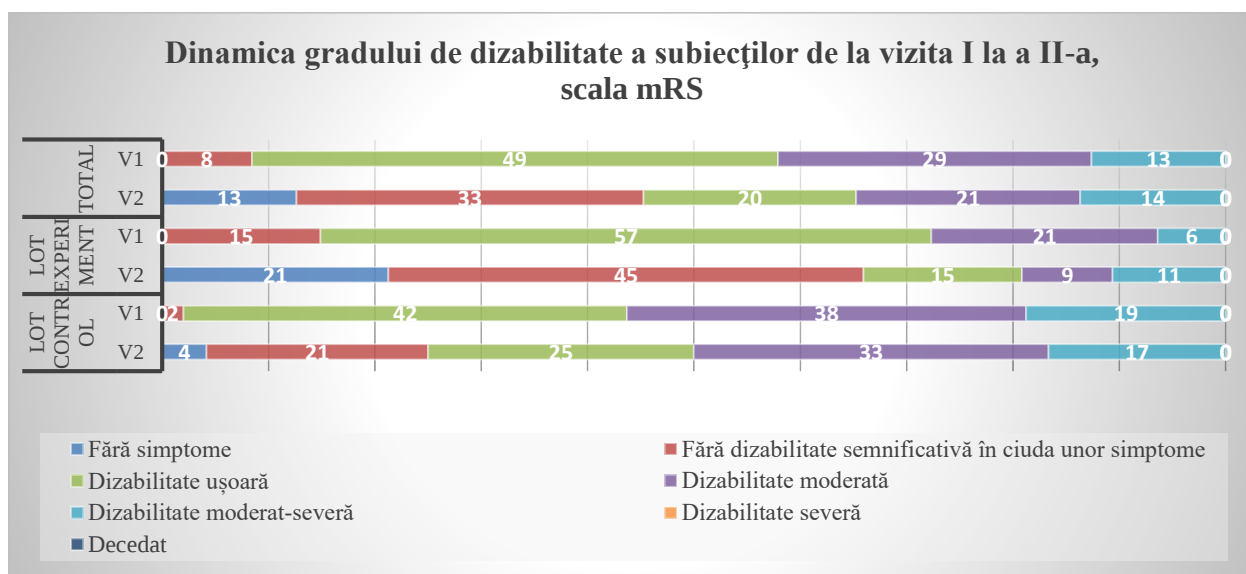


Fig. 3.33. Dinamica gradului de dizabilitate a subiecților de la vizita I la a II-a, scala mRS

Analiza datelor separat pe loturi ne-a permis să constatăm că în lotul experimental în general cota persoanelor cu dizabilități moderate și moderat-severe a fost din start mai mică decât în lotul de control (27% versus 57%). În lotul experimental, cota subiecților fără dizabilitate semnificativă, în ciuda unor simptome, a fost de 15%, iar în cel de control, această cotă a constituit doar 2%. La vizita a doua, cota persoanelor fără simptome sau fără dizabilitate semnificativă, în ciuda unor simptome, a constituit 66% în lotul experimental și 25% în cel de control.

Totodată, am cercetat dacă scorurile mRS au evoluat diferit de la prima vizită la a doua în funcție de lotul căruia aparține subiectul sau, altfel spus, dacă persoanele care au fost supuse SMT au avut scorurile semnificativ mai bune la a doua vizită, comparativ cu cele care nu au fost stimulate. În acest scop, a fost efectuată analiza two-way mixed ANOVA. Detaliile analizei efectuate sunt prezentate mai jos.

La fel ca și la examinarea penru scala MRC, la analiza reziduurilor testului t-Student pentru valori mai mari de ± 3 nu au fost identificate valori aberante (outlier). După cum a fost demonstrat prin graficul Normal Q-Q, datele au o distribuție normală. Prin testul Levene de omogenitate a varianțelor cu un $p > 0,05$ a fost demonstrată existența omogenității varianțelor. A fost dovedită omogenitatea covarianței pentru un $p > 0,05$ prin aplicarea testului Box's M. Testul de sfericitate Mauchly's nu a fost aplicat din considerentele că variabila de grupare are doar două nivele.

În urma aplicării acestor teste, a fost înregistrată o interacțiune statistic semnificativă între SMT și timp asupra rezultatelor mRS, $F(1, 93) = 4,84$, cu un $p = 0,030$, η^2 parțial $= 0,049$. În cadrul lotului de control, scorurile mRS au fost statistic semnificativ mai mari la prima vizită (diferența medie de scoruri $= 0,54$, $SE = 0,16$, $p = 0,001$). De asemenea, și la vizita a II-a, în lotul de control scorurile mRS au fost statistic semnificativ mai mari (diferența medie de scoruri $= 0,95$, $SE = 0,24$, $p < 0,001$).

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). Aceste rezultate sunt ilustrate în Figurile 3.34 și 3.35, precum și Figurile A5.7 și A5.8, Anexa 5.

A fost întreprinsă o încercare de a efectua testul two-way mixed ANOVA, însă ipoteza de omogenitate a varianțelor nu a fost adevărată și, din aceste considerente, testul nu putea fi efectuat.

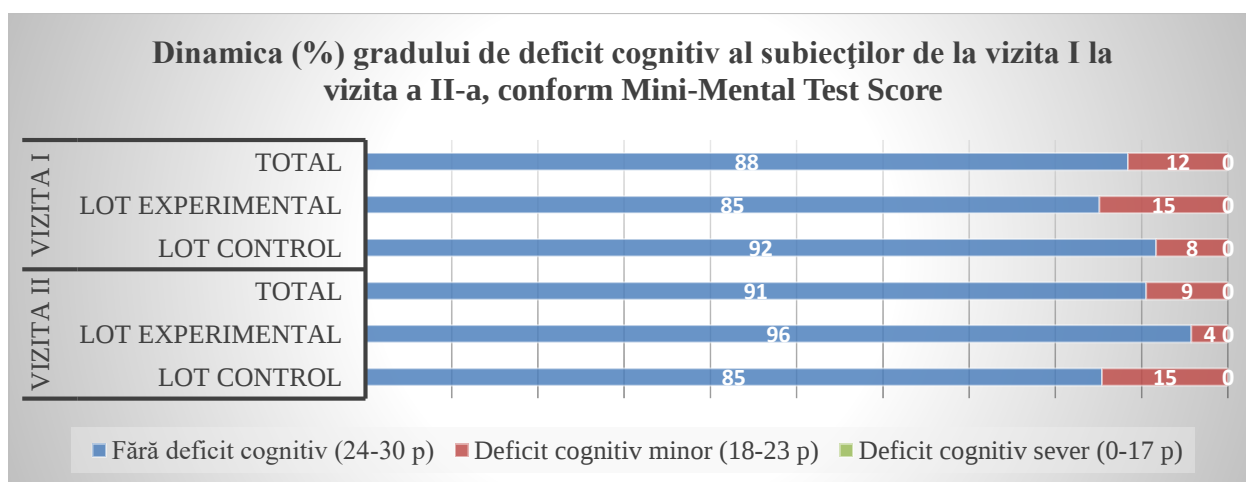


Fig. 3.34. Dinamica (%) gradului de deficit cognitiv al subiecților de la vizita I la vizita a II-a, conform Mini-Mental Test Score

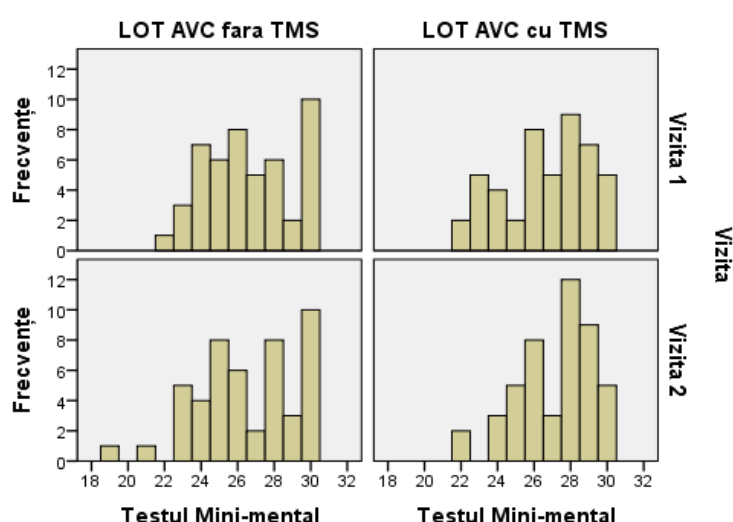


Fig. 3.35. Histograma gradului de deficit cognitiv al subiecților de la vizita I la cea de-a II-a, conform Mini-Mental Test Score

- **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 aceleiași 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.

Totodată, la prima vizită s-a atestat că subiecții din lotul de control erau foarte dependenți sau parțial dependenți, conform indicelui Barthel, cu o cotă de 71% (34 subiecți), iar la a doua vizită, numărul acestora a ajuns la 58% (28 subiecți), dintre care 1 pacient a devenit absolut

dependent. În cadrul lotului de control, numărul persoanelor cu grad de dependență minimă la prima vizită a constituit 29% (14 subiecți); spre a doua vizită, de asemenea a evoluat pozitiv, ajungând până la 41% (20 subiecți) din numărul total al lotului respectiv. Aceste date sunt reflectate în Figura 3.36 și Figurile A5.9 și A5.10, Anexa 5.

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.

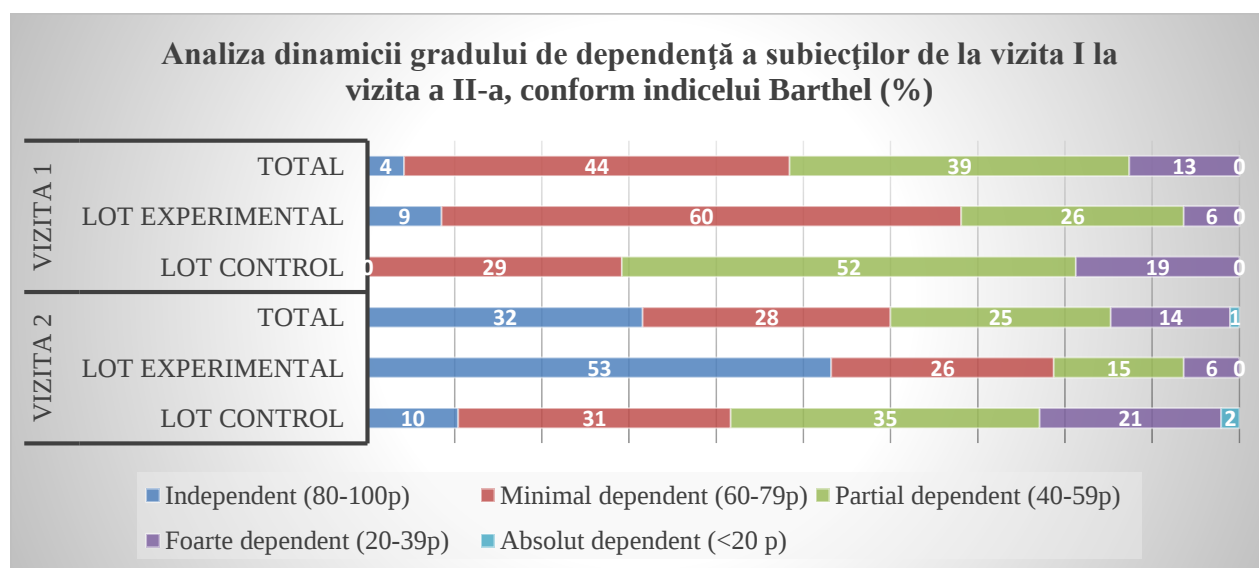


Fig. 3.36. Analiza dinamicii gradului de dependență a subiecților de la vizita I la vizita a II-a, conform indicelui Barthel (%)

- **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. Aceste rezultate sunt prezentate în Figurile A5.11 și A5.12, Anexa 5.

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.

Se constată un efect statistic semnificativ al variabilei *lotul subiectului* și variabilei *rezultatele scorurilor textului Orpington*, valorile obținute fiind următoarele: $F(1, 93) = 4,405$,

pentru un $p=0,039$, η^2 parțial $=0,045$. Aceste cifre ne vorbesc despre faptul că rezultatele subiecților supuși testului Orpington sunt diferite în funcție de lotul căruia aceștia aparțin. Totodată, nu se constată vreo interacțiune semnificativă între variabila *lotul subiectului* și variabila *timp* asupra rezultatelor testului Orpington. Astfel, $F(1, 93) = 0,072$, pentru un $p = 0,789$, η^2 parțial $=0,001$. Aceste rezultate statistice sunt redată grafic și pot fi analizate în Figurile 3.37 și 3.38.

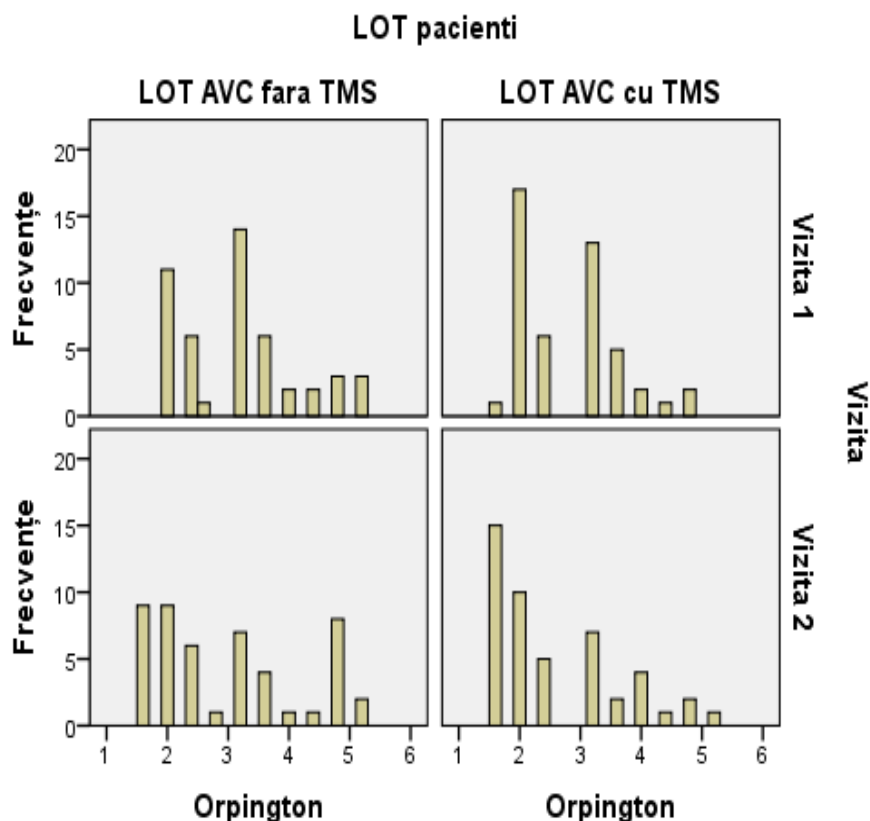


Fig. 3.37. Histograma severității maladiei pe loturi conform scalei de prognostic Orpington (puncte) la vizita I și vizita a II-a

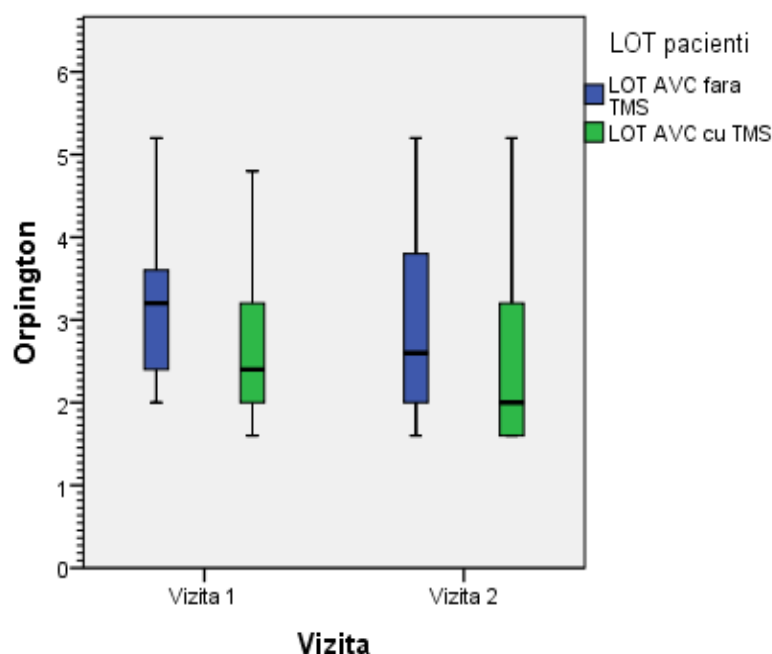


Fig. 3.38. Diagrama Boxplot a severității maladiei pe loturi conform scalei de prognostic Orpington la vizita I și vizita a II-a

- **Testul 9-Peg Hole.** 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) au avut rezultate inițiale în cadrul acestui test, pe când în lotul de control doar 67% (32 subiecți) au putut îndeplini testul 9-Peg Hole la prima vizită. Aceste rezultate sunt oglindite în Figura A5.13, Anexa 5.

Ce ține de acest test, se mai poate menționa că din numărul total de subiecți antrenați în studiul nostru, 69 au avut rezultat la prima vizită. În cadrul vizitei a doua, numărul de subiecți cu rezultat la testul 9-Peg Hole de asemenea a fost egal cu 69. Tot aici trebuie de precizat că 58 de pacienți au avut rezultat atât în cadrul vizitei I, cât și în cadrul vizitei a II-a.

Specificând rezultatele testului 9-Peg Hole pe loturi, se poate relata că la prima vizită 59% (19 subiecți) din lotul de control au obținut valori de 20-39 secunde la testul respectiv pentru membrul paretic. În lotul experimental, procentul persoanelor care s-au integrat în același interval de timp a ajuns la 68% (25 subiecți). Acest fapt este arătat în Figura A5.14, Anexa 5.

Pentru membrul nonparetic, majoritatea covârșitoare a pacienților din ambele loturi – 95% (65 subiecți) – au obținut rezultate similare. Rezultatele acestui test sunt prezentate în Figura A5.15, Anexa 5.

În Figurile 3.39 și 3.40 sunt prezentate histograma și diagrama Boxplot pentru rezultatele testului 9-Peg Hole, membrul paretic.

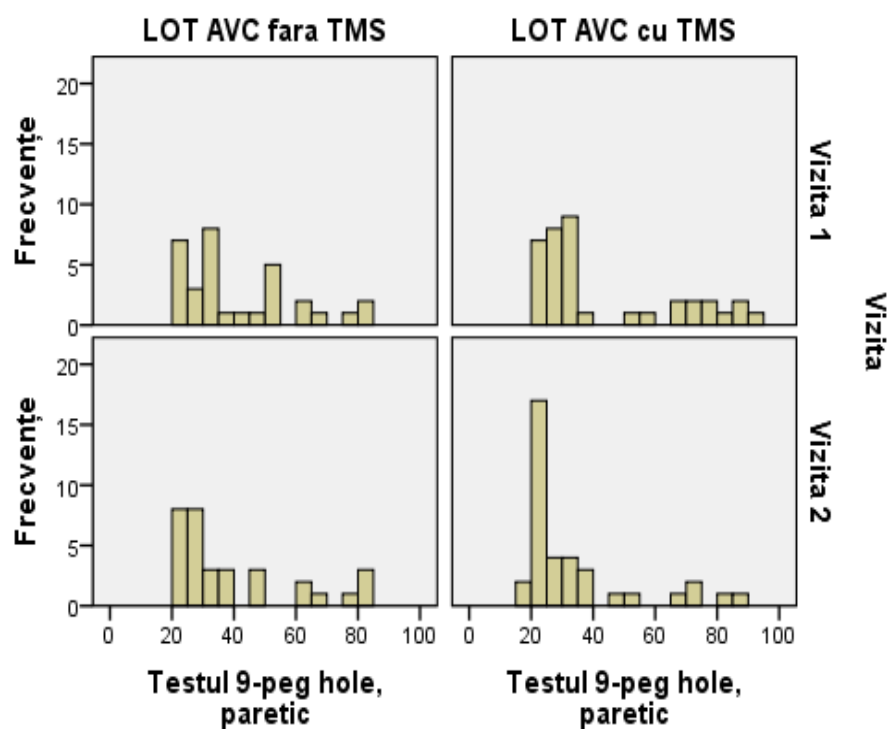


Fig. 3.39. Histograma rezultatelor testului 9-Peg Hole în funcție de lotul analizat și vizită, membrul paretic

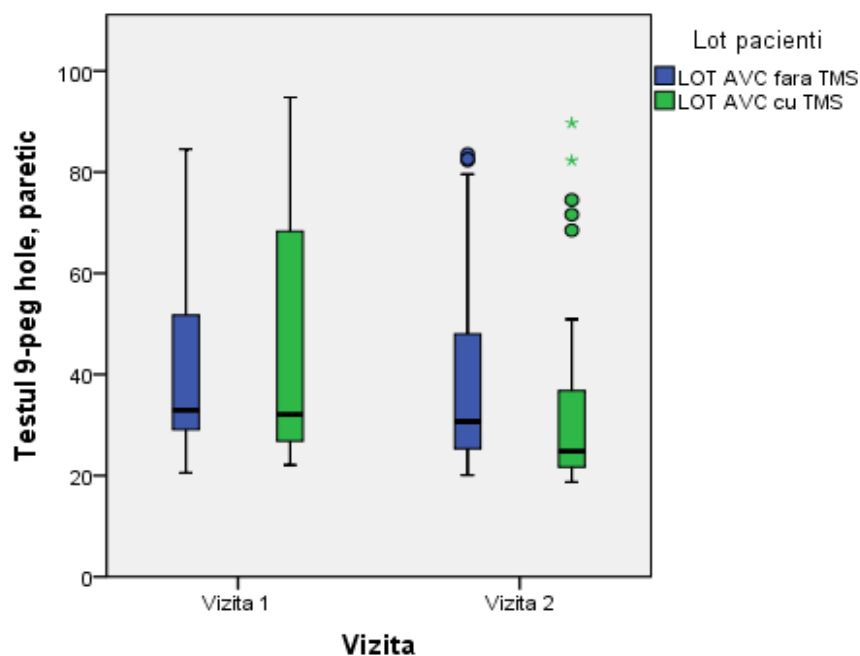


Fig. 3.40. Diagrama Boxplot a rezultatelor testului 9-Peg Hole în funcție de lotul analizat și vizită, membrul paretic

În Figurile 3.41 și 3.42 sunt redată histograma și diagrama Boxplot pentru rezultatele testului 9-Peg Hole, membrul nonparetic.

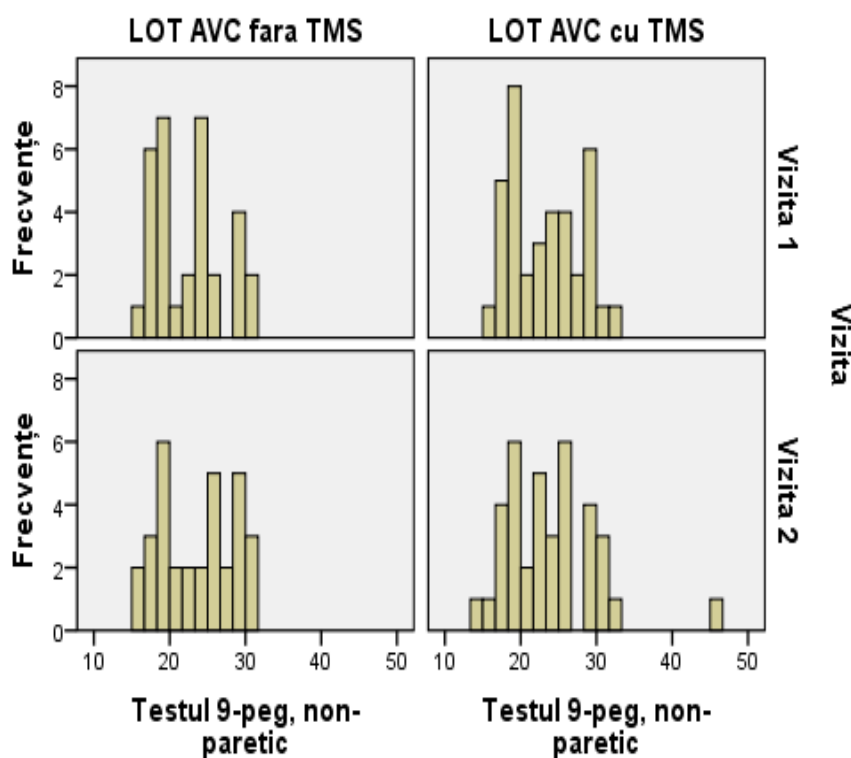


Fig. 3.41. Histograma rezultatelor testului 9-Peg Hole în funcție de lotul analizat și vizită, membrul nonparetic

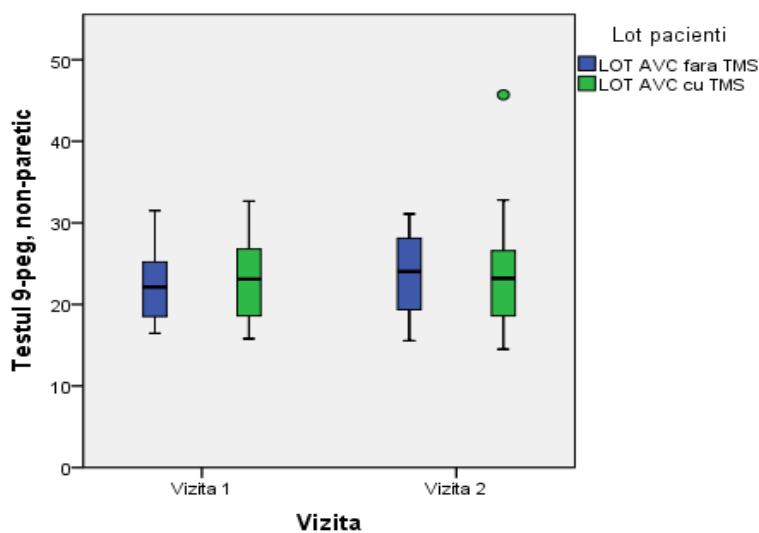


Fig. 3.42. Diagrama Boxplot a rezultatelor testului 9-Peg Hole în funcție de lotul analizat și vizită, membrul nonparetic

Grație unei analize scrupuloase, am putut crea Tabelul 3.7 de distribuție a 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.

Tabelul 3.7. Distribuția valorilor testului 9-Peg Hole pe criterii de sex, vârstă și emisfera afectată de AVC în perioada acută

Sexul Vârsta		Mâna paretică (vizita 1)			Mâna paretică (vizita 2)			Mâna nonparetică (vizita 1)			Mâna nonparetică (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	22.1 0		1	18.7 0		1	15.8 0		1	14.5 0	
	40-49	1	24.3 0		1	19.6 0		1	16.8 0		1	18.4 0	
	50-59	2	39.5 5	21.4 3	2	41.1 5	27.7 9	2	17.2 5	0.5 0	2	17.8 0	0.85
	60-69	10	31.3 4	9.51	1 2	34.5 8	19.2 0	10	18.7 2	1.6 5	12	19.4 5	2.52
	70-79	11	43.6 4	19.8 9	1 0	34.9 5	17.9 8	11	25.0 2	4.0 7	10	25.4 4	4.54
	80-89	3	33.9 7	1.10	4	34.3 1	11.7 2	3	29.0 3	0.4 6	4	29.2 3	0.42
	90-99	0			1	30.3 0		0			1	45.7 0	
	Femei		36.4 6	15.4 6	3 1	33.9 5	17.0 5	28	22.0 2	4.9 3	31	23.1 9	6.54
Masculin	30-39	0			0			0			0		
	40-49	1	39.5 6		1	23.5 0		1	17.4 5		1	17.8 0	
	50-59	5	54.5 7	26.2 0	3	44.2 1	33.2 5	5	20.5 9	3.3 7	3	22.9 7	2.25
	60-69	24	42.8 5	22.1 7	1 9	34.3 5	19.4 2	24	21.8 0	2.8 8	19	21.8 1	3.08
	70-79	10	55.6 9	24.9 7	1 3	45.2 5	24.0 3	10	28.1 1	4.1 5	13	27.8 2	3.89
	80-89	1	32.1 0		2	34.4 0	18.1 0	1	29.3 0		2	28.3 5	2.62
	90-99	0			0			0			0		
	Bărbați	41	47.0 7	23.1 2	3 8	38.5 7	21.7 7	41	23.2 6	4.4 3	38	24.2 0	4.44

- **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). Rezultatele conform EBEWE_1994 percepute la externare în ambele loturi sunt redată în Figura 3.43.

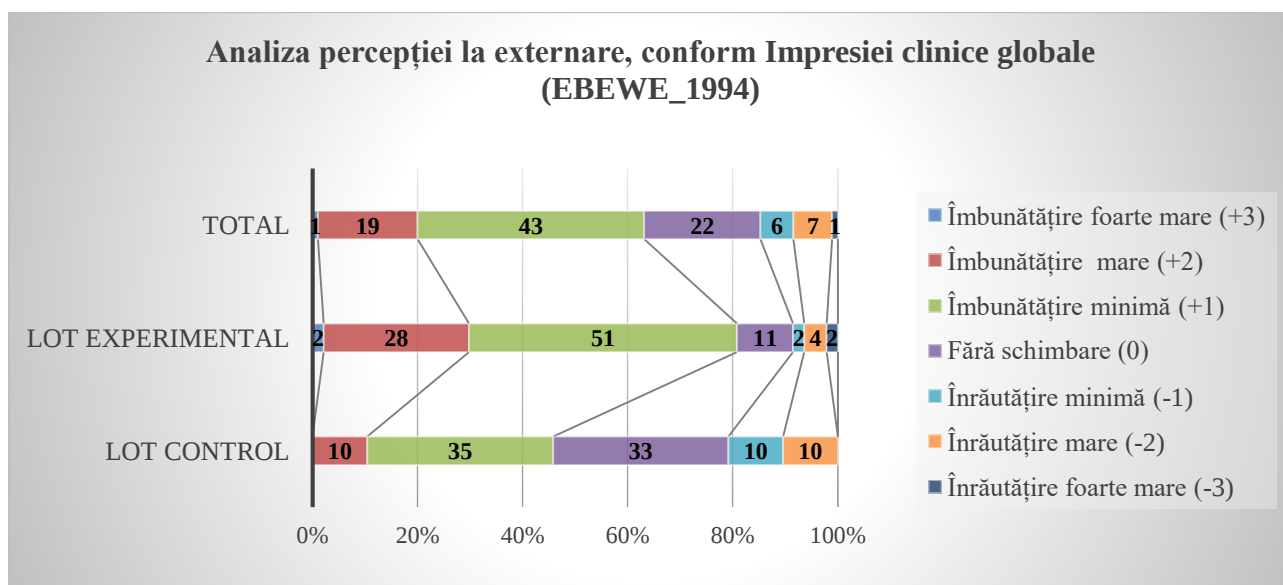


Fig. 3.43. Analiza percepției la externare conform impresiei clinice globale (EBEWE_1994)

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

În cercetarea noastră a fost studiată și corelația dintre parametrii clinici și cei electrofiziologici în loturile de studiu.

Pentru criteriul PEM, în lotul experimental a fost aplicată corelația Spearman, la care se recurge atunci când datele sunt prezentate de la început sub forma rangurilor. Am utilizat această corelație în scopul determinării relației dintre variabila *dinamica scalei mRS* și variabila *prezența PEM* în cazul lotului experimental. Variabila dinamica scalei mRS este calculată ca diferența dintre scorul acestei scale în cadrul vizitei a II-a și scorul ei în cadrul vizitei I. Cu cât diferența dintre aceste două valori, în cifre absolute, este mai mică, cu atât dinamica acestui indicator este mai puternică. Variabila prezența PEM a fost codificată în felul următor:

- 1 – Nu a avut PEM nici la vizita I, nici la vizita a II-a (5 subiecți).
- 2 – A avut PEM la vizita I, dar nu a avut PEM la vizita a II-a (5 subiecți).
- 3 – Nu a avut PEM la vizita I, dar a avut PEM la vizita a II-a (5 subiecți).
- 4 – A avut PEM și la vizita I, și la vizita a II-a (32 subiecți).

Analizând datele obținute în rezultatul aplicării acestui test, putem afirma că între variabila dinamica scalei mRS și variabila prezența PEM în lotul experimental există o corelație moderată negativă, care este statistic semnificativă: $rs(45) = -0,464$, pentru un $p = 0,001$. Prin urmare, putem afirma că aplicarea SMT pacienților cu AVC a indus la subiecții 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 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. Pentru a determina această relație, au fost realizate următoarele codificări:

1. NA-NA (nu a fost posibilă efectuarea testului nici la prima, nici la a doua vizită).
2. La prima vizită a fost obținut un rezultat, însă la a doua vizită – nu (nu este posibil de calculat dinamica).
3. Dinamică negativă.
4. La prima vizită nu a fost obținut un rezultat, iar la a doua vizită a fost obținut un rezultat (nu este posibil de calculat dinamica).
5. Dinamică pozitivă.

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: $r_{s(45)}=0,901$, 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. Rezultatele corelației analizate sunt reflectate în Tabelul 3.8.

Tabelul 3.8. Corelația dintre PEM și testul 9 Peg Hole, lotul experimental

	Dinamica mRS		Dinamica 9 Peg Hole test				
	Media	Abs.	Din N/A – spre ”rezultat”	Dinamica pozitivă	Dinamică negativă	N/A-N/A	Din ”rezultat” spre N/A
A avut PEM și la V1, și la V2.	-1,03	32	0	29	3	0	0
Nu a avut PEM la V1, la V2 a avut.	-1,00	5	5	0	0	0	0
A avut PEM la V1, la V2 nu a avut.	0,80	5	0	0	0	0	5
Nu a avut PEM nici la V1, nici la V2.	-0,40	5	0	0	0	5	0

- **Analiza în funcție de emisfera afectată**

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 dinamica rezultatelor, conform scalelor clinice aplicate, la cei care aveau emisfera stângă afectată de AVC. Dar, după cum arată testele statistice, o dependență vizibilă a dinamicii rezultatelor în funcție de emisfera afectată a existat doar la testul 9-Peg Hole pentru membrul paretic. Astfel, din rezultatele obținute putem concluziona că subiecții cu afectarea emisferei stângi de AVC au avut scorul testului 9-Peg Hole mai mic decât cei cu emisfera dreaptă afectată.

Rezultatele aplicării testelor statistice pentru evaluarea dependenței dintre variabila *dinamica rezultatelor testului 9-Peg Hole* și variabila *emisfera afectată* sunt prezentate în Figura 3.44.

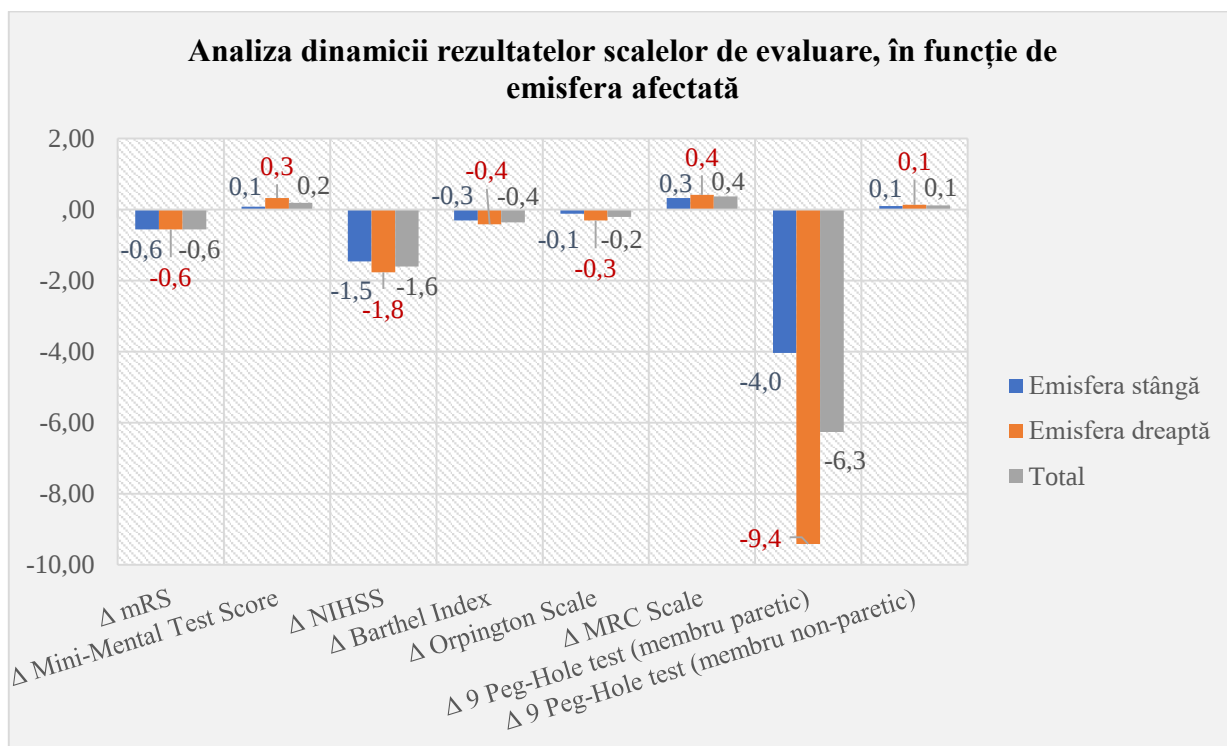


Fig. 3.44. Analiza dinamicii rezultatelor scalelor de evaluare în funcție de emisfera afectată

În scopul identificării existenței unei interacțiuni între variabila *timp* și variabila *emisfera afectată* asupra variabilei *dinamica scalei mRS*, a fost efectuată analiza two-way mixed ANOVA.

La examinarea reziduurilor testului t-Student pentru valori mai mari de ± 3 nu au fost identificate valori aberante (*outlier*). Reziduurile t-Student pentru variabilele indicate mai sus au o distribuție aproximativ normală, după cum demonstrează graficul Normal Q-Q Plot. Prin testul Levene de omogenitate a varianțelor cu un $p > 0,05$ a fost demonstrată existența omogenității varianțelor. Prin aplicarea testului Box's M a fost înregistrată omogenitatea covarianței cu un p

$>0,05$. La fel ca și cazurile precedente, testul de sfericitate Mauchly's nu a fost necesar, deoarece variabila de grupare are doar două nivele.

În urma aplicării acestor teste, nu a fost înregistrată o interacțiune statistic semnificativă între variabila *emisfera afectată* și variabila *timp* asupra variabilei *dinamica scalei mRS*, rezultatele fiind: $F(1, 93) = 0,000$, $p = 0,998$, η^2 parțial $= 0,000$. În schimb a fost înregistrat un efect statistic semnificativ al variabilei *timp* asupra variabilei *dinamica scalei mRS*. Astfel, $F(1, 93) = 33,468$, $p = 0,000$, η^2 parțial $= 0,265$ (variabila *dinamica scalei mRS* a scăzut în medie de la 2,46 la 1,90). Efectul variabilei *emisfera afectată* asupra variabilei *dinamica scalei mRS* nu este statistic semnificativ: $F(1, 93) = 1,719$, $p = 0,193$, η^2 parțial $= 0,018$. Rezultatul mediu al variabilei *dinamica scalei mRS* în cazul emisferei stângi este de 2,067, iar în cazul celei drepte – 2,326.

Având în vedere aceste rezultate, putem afirma că variabila *dinamica scalei mRS* nu depinde de localizarea AVC (emisfera stângă sau cea dreaptă), în schimb depinde de timp.

Analiza two-way mixed ANOVA a fost efectuată și pentru a determina dacă există o interacțiune între variabila *timp* și variabila *emisfera afectată* asupra variabilei *dinamica rezultatelor Mini-Mental Test Score*.

La examinarea reziduurilor testului t-Student pentru valori mai mari de ± 3 , a fost identificată o valoare aberantă (outlier) în cazul rezultatelor din cadrul vizitei a doua. Reziduurile t-Student au o distribuție aproximativ normală, precum arată graficul Normal Q-Q Plot. Prin testul Levene de omogenitate a varianțelor a fost demonstrată omogenitatea varianțelor, cu un $p > 0,05$. Prin aplicarea testului Box's M a fost înregistrată omogenitatea covarianței cu un $p > 0,05$. Testul de sfericitate Mauchly's nu a fost necesar, fiindcă variabila de grupare are doar două nivele.

Ca rezultat al aplicării testului ANOVA, nu a fost înregistrată o interacțiune statistic semnificativă între variabila *emisfera afectată* și variabila *timp* asupra variabilei *dinamica rezultatelor Mini-Mental Test Score*. Astfel: $F(1, 93) = 0,987$, $p = 0,323$, η^2 parțial $= 0,011$. De asemenea, nu a fost înregistrată o interacțiune statistic semnificativă a variabilei *timp* cu variabila *dinamica rezultatelor Mini-Mental Test Score*: $F(1, 93) = 2,586$, $p = 0,111$, η^2 parțial $= 0,027$. Nici în cazul variabilei *emisfera afectată* nu a fost observată o interacțiune statistic semnificativă asupra variabilei *dinamica rezultatelor Mini-Mental Test Score*: $F(1, 93) = 0,086$, $p = 0,770$, η^2 parțial $= 0,001$.

Ținând cont de aceste date, putem face concluzia că *dinamica rezultatelor Mini-Mental Test Score* nu depinde nici de timp, nici de localizarea AVC-ului (emisfera stângă sau cea dreaptă).

A fost efectuată o analiză statistică și pentru a determina dacă există interacțiune între variabila *timp* și variabila *emisfera afectată* asupra variabilei *dinamica scorului NIHSS*. Această analiză de asemenea a fost efectuată prin aplicarea testului two-way mixed ANOVA.

La examinarea reziduurilor testului t-Student pentru valori mai mari de ± 3 , nu au fost identificate valori aberante (outlier). Precum o demonstrează graficul Normal Q-Q Plot, datele nu au o distribuție normală, însă a fost luată decizia de a efectua testul ANOVA, deoarece există omogenitatea varianțelor demonstrată de testul Levene de omogenitate a varianțelor cu un $p > 0,05$. De asemenea, a fost înregistrată și omogenitatea covarianței cu un $p > 0,05$, prin testul Box's M. Testul de sfericitate Mauchly's nu a fost necesar, din cauza că variabila de grupare are doar două nivele.

Astfel, în urma analizei rezultatelor testului ANOVA nu a fost identificată vreo interacțiune statistic semnificativă între variabila *emisfera afectată* și variabila *timp* asupra variabilei dinamica scorului NIHSS: $F(1, 93) = 1,101$, $p = 0,618$, η^2 parțial = 0,003. Dar efectul variabilei *timp* asupra variabilei *dinamica scorului NIHSS* a fost semnificativ statistic: $F(1, 93) = 27,880$, $p = 0,000$, η^2 parțial = 0,231 (rezultatul a scăzut în medie de la 7,396 la 5,782). Efectul variabilei *emisfera afectată* asupra variabilei *dinamica scorului NIHSS* nu este statistic semnificativ: $F(1, 93) = 2,241$, $p = 0,138$, η^2 parțial = 0,024.

Astfel, în urma acestei analize am depistat un efect pozitiv al timpului asupra rezultatelor scorului NIHSS, dar nu putem afirma același lucru despre efectul localizării AVC (emisfera stângă sau cea dreaptă) asupra rezultatelor scorului NIHSS; altfel zis, scorul NIHSS obținut de subiecții cu AVC nu diferă în funcție de emisfera afectată, dar poate fi influențat de timpul trecut de la debutul accidentului vascular cerebral până la momentul aplicării SMT.

Analiza two-way mixed ANOVA a fost efectuată și în scopul identificării existenței unei interacțiuni între variabila *timp* și variabila *emisfera afectată* asupra variabilei *dinamica testului Barthel*.

După analiza reziduurilor testului t-Student pentru valori mai mari de ± 3 , nu au fost identificate valori aberante (outlier). După cum demonstrează graficul Normal Q-Q Plot, reziduurile au o distribuție aproximativ normală; astfel, a fost luată decizia de a efectua testul ANOVA. Existența omogenității varianțelor a fost demonstrată de testul Levene de omogenitate a varianțelor cu un $p > 0,05$. Prin testul Box's M a fost înregistrată omogenitatea covarianței cu un $p > 0,05$. Aplicarea testului de sfericitate Mauchly's nu a fost necesară, deoarece variabila de grupare conține doar două nivele.

Analizând datele obținute prin aplicarea acestui test, putem menționa că nu a fost identificată o interacțiune statistic semnificativă între variabila *emisfera afectată* și variabila *timp* asupra variabilei *dinamica testului Barthel*: $F(1, 93) = 0,356$, $p = 0,552$, η^2 parțial = 0,004. A fost înregistrat efectul statistic semnificativ al variabilei *timp* asupra variabilei *dinamica testului Barthel*: $F(1, 93) = 15,285$, $p < 0,001$, η^2 parțial = 0,141 (rezultatul variabilei *dinamica testului*

Barthel a scăzut în medie de la 2,612 la 2,249). Efectul de bază al variabilei *emisfera afectată* asupra variabilei *dinamica testului Barthel* nu este statistic semnificativ, având valorile: $F(1, 93) = 1,523$, $p=0,220$, η^2 parțial = 0,016.

Așadar, și în acest caz putem afirma că există un efect pozitiv al timpului asupra dinamicii testului Barthel, dar nu putem spune același lucru despre efectul localizării AVC (emisfera stângă sau cea dreaptă) asupra dinamicii testului respectiv.

Testul two-way mixed ANOVA a fost aplicat și pentru a constata o interacțiune între variabila *timp* și variabila *emisfera afectată* asupra variabilei *dinamica scalei de prognostic Orpington*.

La examinarea reziduurilor testului t-Student pentru valori mai mari de ± 3 , nu au fost identificate valori aberante (outlier). După cum arată graficul Normal Q-Q Plot, datele nu au o distribuție normală, însă a fost luată decizia de a efectua testul ANOVA, deoarece a fost atestată omogenitatea varianțelor, demonstrată de testul Levene de omogenitate a varianțelor cu un $p>0,05$. Omogenitatea covarianței ($p>0,05$) a fost demonstrată prin aplicarea testului Box's M. Testul de sfericitate Mauchly's nu a fost necesar, fiindcă variabila de grupare are doar două nivele.

În urma analizei efectuate nu a fost înregistrată o interacțiune statistic semnificativă între variabila *emisfera afectată* și variabila *timp* asupra variabilei *dinamica scalei de prognostic Orpington*: $F(1, 93) = 0,990$, $p=0,322$, η^2 parțial = 0,011. Totuși, a fost înregistrat un efect statistic semnificativ al variabilei *timp* asupra variabilei *dinamica scalei de prognostic Orpington*: $F(1, 93) = 5,100$, $p=0,026$, η^2 parțial = 0,052. Valoarea variabilei *dinamica scalei de prognostic Orpington* a scăzut în medie de la 2,987 la 2,783 puncte. Efectul de bază al emisferei afectate asupra variabilei *dinamica scalei de prognostic Orpington* nu este statistic semnificativ: $F(1, 93) = 0,673$, $p=0,414$, η^2 parțial = 0,007.

Prin urmare, din nou putem afirma că s-a înregistrat un efect pozitiv al timpului asupra dinamicii indicatorului Orpington, dar nu putem afirma același lucru despre efectul localizării AVC (emisfera stângă sau cea dreaptă) asupra dinamicii indicatorului respectiv.

Pentru a elucida efectul de interacțiune între variabila *timp* și variabila *emisfera afectată* asupra variabilei *dinamica scalei MRC*, a fost efectuată analiza prin testul two-way mixed ANOVA.

Efectuând analiza reziduurilor testului t-Student pentru valori mai mari de ± 3 , nu au fost identificate valori aberante (outlier). Datele nu au o distribuție normală, după cum se vede și din graficul Normal Q-Q Plot. Dar există omogenitatea varianțelor, demonstrată de testul Levene de omogenitate a varianțelor cu un $p>0,05$. Totodată, a fost înregistrată omogenitatea covarianței cu un $p>0,05$, demonstrată de testul Box's M. Din acest motiv, a fost luată decizia de a aplica testul

ANOVA. Testul de sfericitate Mauchly's nu a fost necesar, din cauza că variabila de grupare are doar două nivele.

O interacțiune statistic semnificativă între variabila *emisfera afectată* și variabila *timp* asupra variabilei *dinamica scalei MRC* nu a fost înregistrată. Valorile obținute sunt: $F(1, 93) = 0,111$, $p=0,740$, η^2 parțial = 0,001. În schimb, a fost determinat efectul de bază semnificativ al variabilei *timp* asupra variabilei *dinamica scalei MRC*: $F(1, 93) = 7,333$, $p=0,008$, η^2 parțial = 0,073. Variabila *dinamica scalei MRC* a crescut în medie de la 2,947 la 3,316 puncte. Efectul de bază al variabilei *emisfera afectată* asupra variabilei *dinamica scalei MRC* nu este statistic semnificativ: $F(1, 93) = 0,886$, $p=0,49$, η^2 parțial = 0,009.

Astfel, putem afirma că există un efect pozitiv al timpului asupra dinamicii scalei MRC, dar nu putem spune același lucru despre efectul localizării AVC (emisfera stângă sau dreaptă) asupra dinamicii scalei MRC.

Analiza two-way mixed ANOVA a fost efectuată și în scopul identificării existenței unei interacțiuni între variabila *timp* și variabila *emisfera afectată* asupra variabilei *dinamica testului 9-Peg Hole pentru mâna paretică*.

La examinarea reziduurilor testului t-Student pentru valori mai mari de ± 3 , a fost identificată o valoare aberantă (outlier) în cazul rezultatelor din cadrul vizitei doi. Datele nu au o distribuție normală, după cum arată și graficul Normal Q-Q Plot, însă a fost luată hotărârea de a efectua testul ANOVA, deoarece a fost demonstrată omogenitatea varianțelor, prin aplicarea testului Levene de omogenitate a varianțelor cu un $p>0,05$, și deoarece a fost înregistrată omogenitatea covarianței cu un $p>0,05$, demonstrată prin aplicarea testului Box's M. Testul de sfericitate Mauchly's nu a fost necesar, fiindcă variabila de grupare are doar două nivele.

În urma analizei rezultatelor testului ANOVA, nu a fost înregistrată o interacțiune statistic semnificativă între variabila *emisfera afectată* și variabila *timp* asupra variabilei *dinamica testului 9-Peg Hole* pentru mâna paretică. Rezultatele obținute sunt: $F(1, 56) = 2,054$, $p=0,157$, η^2 parțial = 0,035. A fost înregistrat efectul de bază semnificativ al variabilei *timp* asupra variabilei *dinamica testului 9-Peg Hole* pentru mâna paretică: $F(1, 56) = 12,853$, $p=0,001$, η^2 parțial = 0,187. Rezultatul testului respectiv a scăzut în medie de la 40,3705 la 34,1069. Efectul de bază al variabilei *emisfera afectată* asupra variabilei *dinamica testului 9-Peg Hole* pentru mâna paretică nu este statistic semnificativ: $F(1, 56) = 0,000$, $p=0,983$, η^2 parțial = 0,000 (durata medie în cazul emisferei stângi este de 37,196 sec., iar în cazul celei drepte – de 37,300 sec.).

Așadar, putem afirma că avem un efect pozitiv al timpului asupra dinamicii testului 9-Peg Hole pentru mâna paretică, dar nu putem susține același lucru despre efectul localizării AVC (emisfera stângă sau cea dreaptă) asupra dinamicii testului respectiv.

Pentru a determina dacă există o interacțiune între variabila *timp* și variabila *emisfera afectată* asupra variabilei dinamice **testului 9-Peg Hole pentru mâna nonparetică** , a fost întreprinsă intenția de efectuare a analizei two-way mixed ANOVA.

La examinarea reziduurilor testului t-Student pentru valori mai mari de ± 3 , nu au fost identificate valori aberante (outlier). Datele au o distribuție aproximativ normală, cum o arată și graficul Normal Q-Q Plot. Dar în acest caz nu există omogenitatea varianțelor, după cum a fost demonstrat de testul Levene de omogenitate a varianțelor cu un $p=0,002$. Din aceste considerente, testul two-way mixed ANOVA nu a putut fi efectuat.

Analiza dinamicii rezultatelor tuturor scalelor de evaluare folosite în cercetare, în funcție de emisfera afectată, este prezentată în Figura 3.44, prezentată mai sus. Având în vedere datele obținute în cercetare, putem constata că, în ultima zi a protocolului de studiu (a 7-a zi), aproximativ 63% din subiecții cu AVC localizat în emisfera dreaptă și același număr de subiecți cu leziuni ale emisferei stângi au raportat o îmbunătățire la finele spitalizării. În același timp, 14% (6 subiecți) cu AVC în emisfera dreaptă, comparativ cu 16% (8 subiecți) cu leziuni ale emisferei stângi, au menționat înrăutățirea subiectivă a stării de sănătate pe parcursul spitalizării. Însă, aceste diferențe nu sunt semnificative din punct de vedere statistic. După testul Pearson Chi-Square, se obține: $\chi^2(6) = 6,096$, cu un $p=0,413$.

Analiza percepției la externare, conform *impresiei clinice globale* (EBEWE_1994), este reflectată în Figura 3.45.

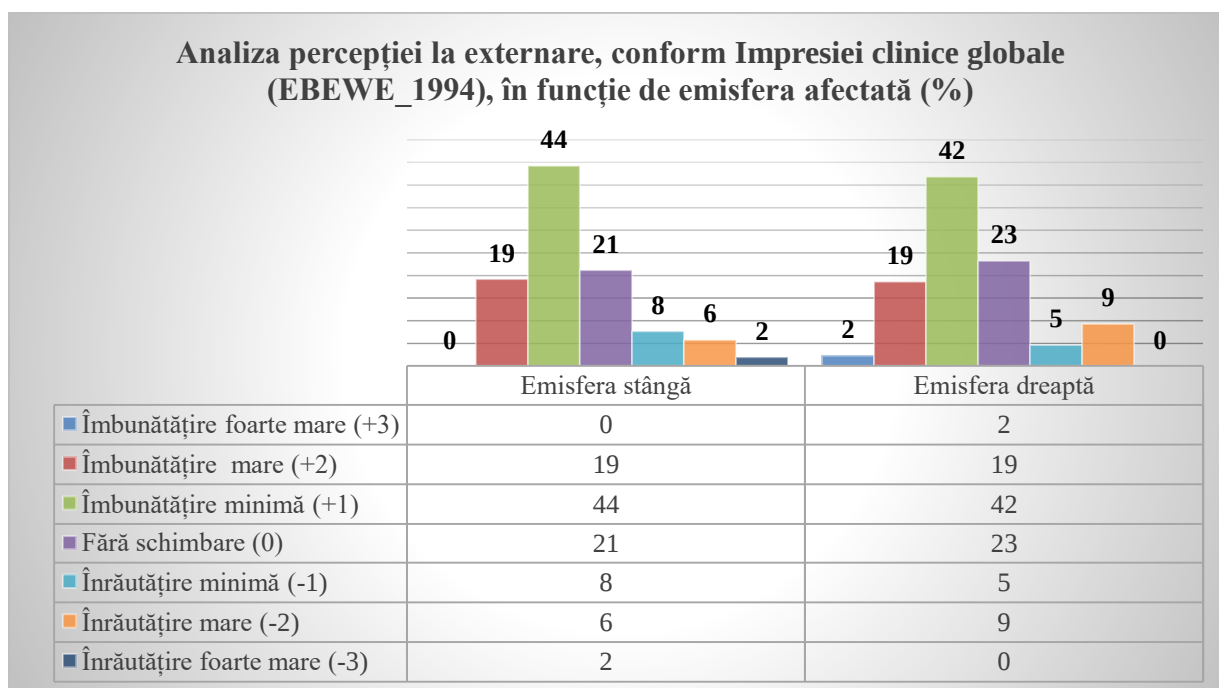


Fig. 3.45. Analiza percepției la externare conform impresiei clinice globale (EBEWE_1994), în funcție de emisfera afectată (%)

Analizând rezultatele genetice, se poate observa că cele mai slabe rezultate, conform indicatorului *impresia clinică globală EBEWE_1994*, s-au înregistrat la persoanele cu mutație 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).

În același timp, cele mai bune rezultate, după indicatorul respectiv, au fost observate în cazul persoanelor care intră în categoria nonmutație, 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, cu regret, 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. După testul Pearson Chi-Square se obține: $\chi^2(1,18) = 13,705$, $p=0,748$, Cramer's $V=0,219$.

Analiza percepției la externare, conform impresiei clinice globale (EBEWE_1994), în funcție de genotip este reflectată în Figura 3.46.

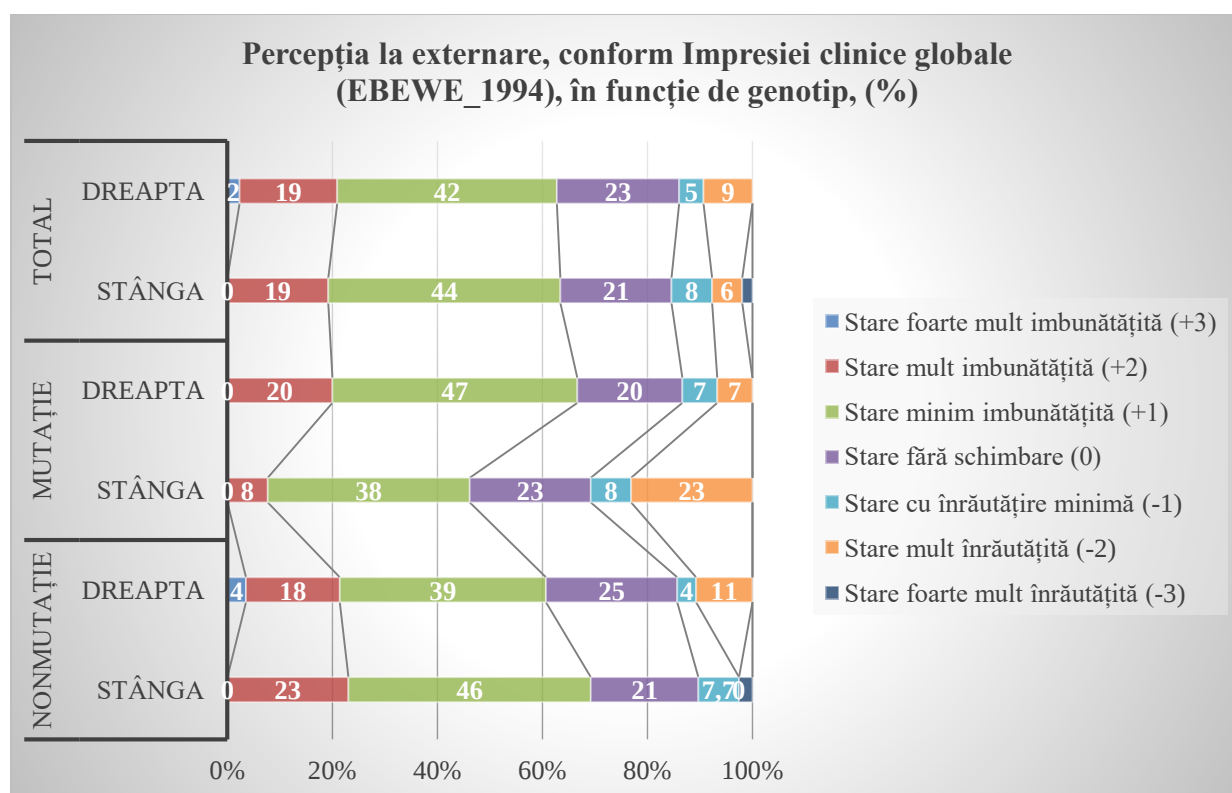


Fig. 3.46. Reprezentarea grafică schematică a percepției la externare, conform impresiei clinice globale (EBEWE_1994), în funcție de genotip (%)

- **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 mutație au înregistrat rezultate mai bune decât cei cu mutație, 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 mutație a genei și cele fără mutație a genei. Prin aplicarea testului *Independent Sample Mann-Whitney U*, a fost stabilit că valoarea lui $U = 340$, pentru un $p=0,009$, iar pentru indicatorul dinamica MRC, valorile calculate prin testul respectiv au fost: $U = 138$, cu un $p=0,023$. Din cauza numărului insuficient de mare al subiecților și a complexității scalelor verificate, pentru celelalte scale nu au fost înregistrate diferențe statistice semnificative.

În cazul scalelor Orpington și MRC, dinamica subiecților fără mutație a fost una pozitivă atât pentru lotul experimental, cât și pentru cel de control. Dar rezultatele în lotul experimental la subiecții fără mutație sunt net superioare față de subiecții fără mutație din lotul de control. Acest lucru este ilustrat în Figurile 3.47 și 3.48.

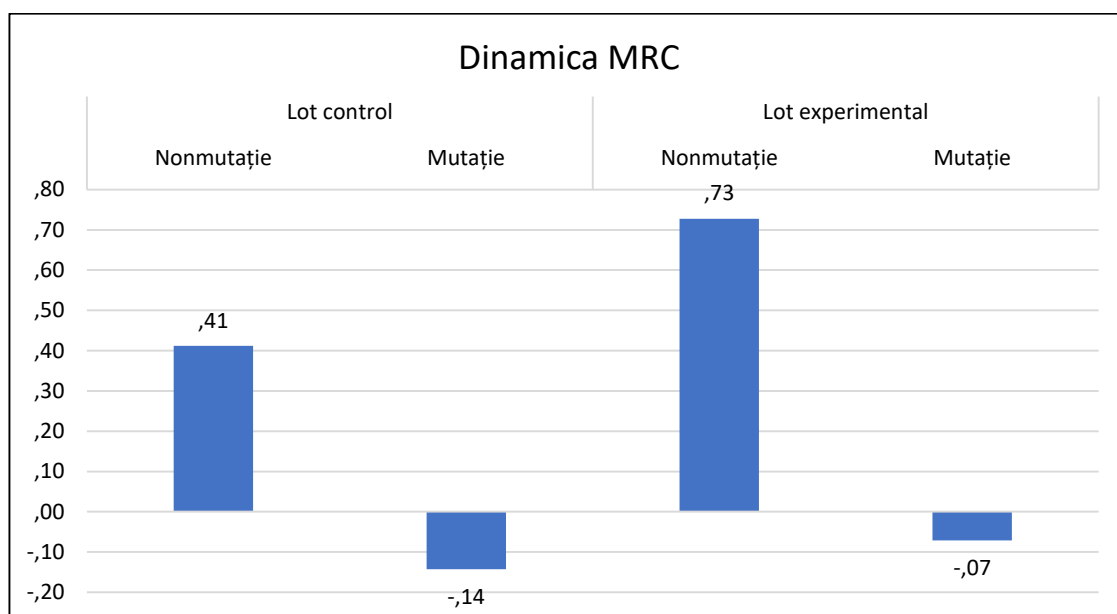


Fig. 3.47. Dinamica MRC în cazul subiecților cu mutație sau fără mutație

În cazul scalei Orpington, se mai observă că, deși diferența dintre rezultatele lotului experimental și celui de control este foarte mică, subiecții fără mutație au o dinamică pozitivă în ambele loturi, pe când cei cu mutație au dinamică negativă atât în cazul lotului de control, cât și în cazul celui experimental. În lotul experimental, la subiecții fără mutație rezultatele sunt net

superioare celor ale subiecților fără mutație din lotul de control. Dinamica scalei de prognostic Orpington în cazul persoanelor cu mutație și celor fără mutație este reflectată în Figura 3.48

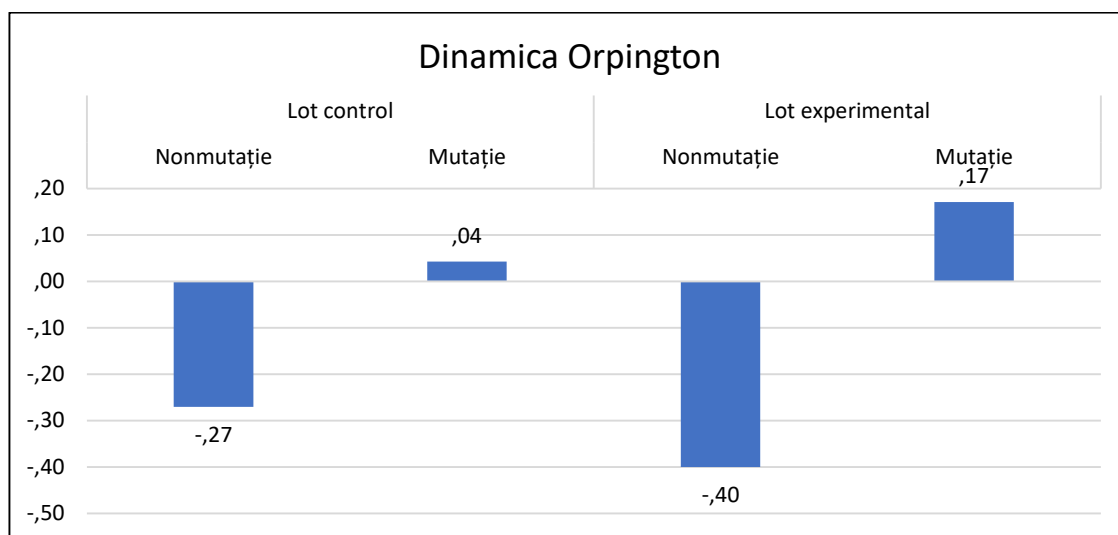


Fig. 3.48. Dinamica scalei de prognostic Orpington în cazul subiecților cu mutație sau fără mutație

În cazul scalei NIHSS, subiecții fără mutație din lotul de control au dinamica mai bună (descreștere cu 1,52 puncte în comparație cu 0.62 puncte în cazul subiecților cu mutație). În lotul experimental, diferența dintre pacienții fără mutație și cei cu mutație este una foarte mică, însă subiecții cu mutație au totuși un rezultat puțin mai bun decât cei fără mutație (descreștere cu 2 puncte în comparație cu 1,91 puncte în cazul subiecților fără mutație). Dinamica scorului NIHSS este reflectată în Figura 3.49.

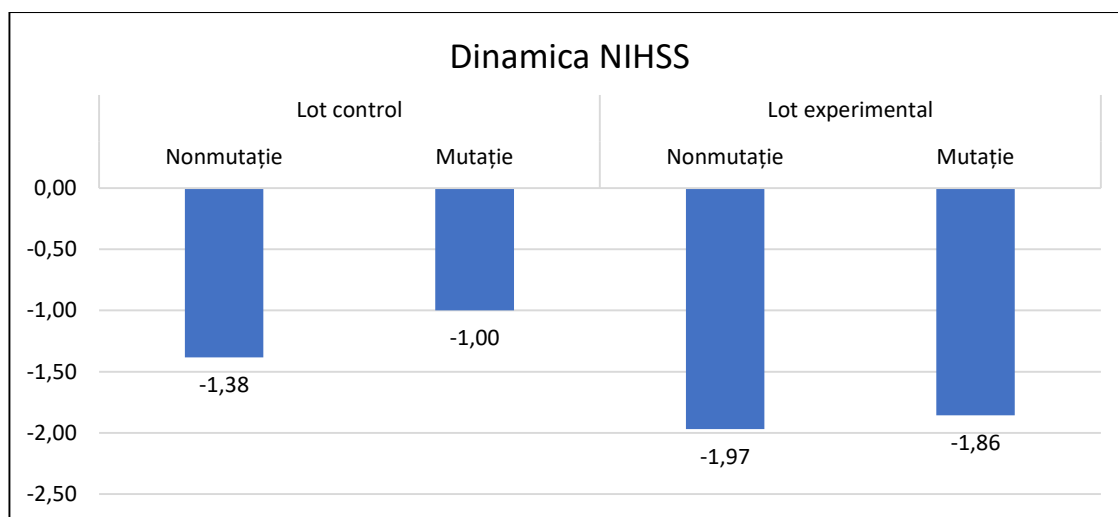


Fig. 3.49. Dinamica scorului NIHSS în cazul subiecților cu mutație sau fără mutație

Pentru testul 9-Peg Hole la membrul paretic, cea mai bună dinamică au înregistrat-o subiecții fără mutație din lotul experimental. Astfel, aceștia au obținut o valoare de 9,43, comparativ cu 3,1 atestată la subiecții fără mutație din lotul de control. Deși statistic nu a fost înregistrată o diferență semnificativă, totuși putem vorbi despre o diferență numerică vădit superioară a persoanelor fără mutație din lotul experimental, comparativ cu cele fără mutație din cel de control. Lipsa dovezii statistice se explică prin numărul mic de subiecți în loturi, complexitatea testului, precum și prin rezerva cerebrală diminuată anterior accidentului vascular cerebral.

Rezultatele obținute în cercetare privind dinamica testului 9-Peg Hole sunt prezentate în Figura 3.50.

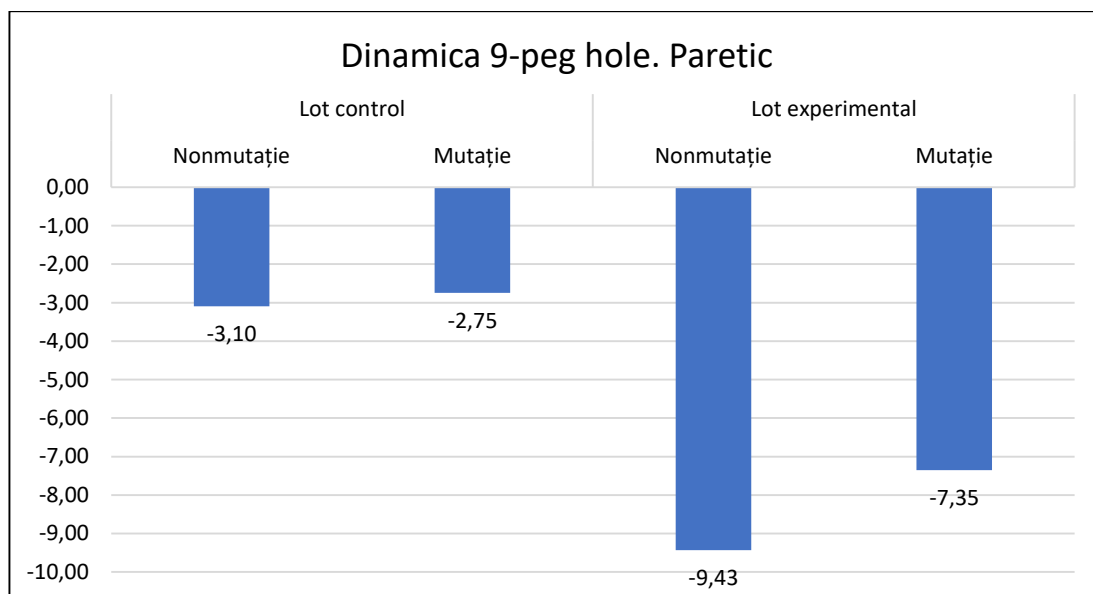


Fig. 3.50. Dinamica testului 9-Peg Hole în cazul subiecților cu mutație sau fără mutație

În cazul aplicării Mini-Mental Test Score, cea mai bună dinamică au înregistrat-o subiecții fără mutație din lotul experimental, cu o valoare medie de 0,58 puncte. În același timp, cel mai rău scor este înregistrat de către pacienții cu mutație din lotul de control. Valoarea medie înregistrată de aceștia este de 0,57 puncte, având o dinamică negativă. Diferența dintre subiecții fără mutație din lotul experimental și cel de control are valoarea medie de 0,52 puncte (ceea ce denotă o capacitate cognitivă superioară a celor fără mutație). Această valoare denotă de asemenea o diferență numerică substanțială între subiecții fără mutație din lotul experimental și cei fără mutație din lotul de control. Lipsa dovezii statistice este cauzată de numărul mic de subiecți în loturi, complexitatea și subiectivitatea testului, precum și de rezerva cerebrală diminuată anterior AVC. Rezultatele înregistrate sunt prezentate în Figura 3.51.

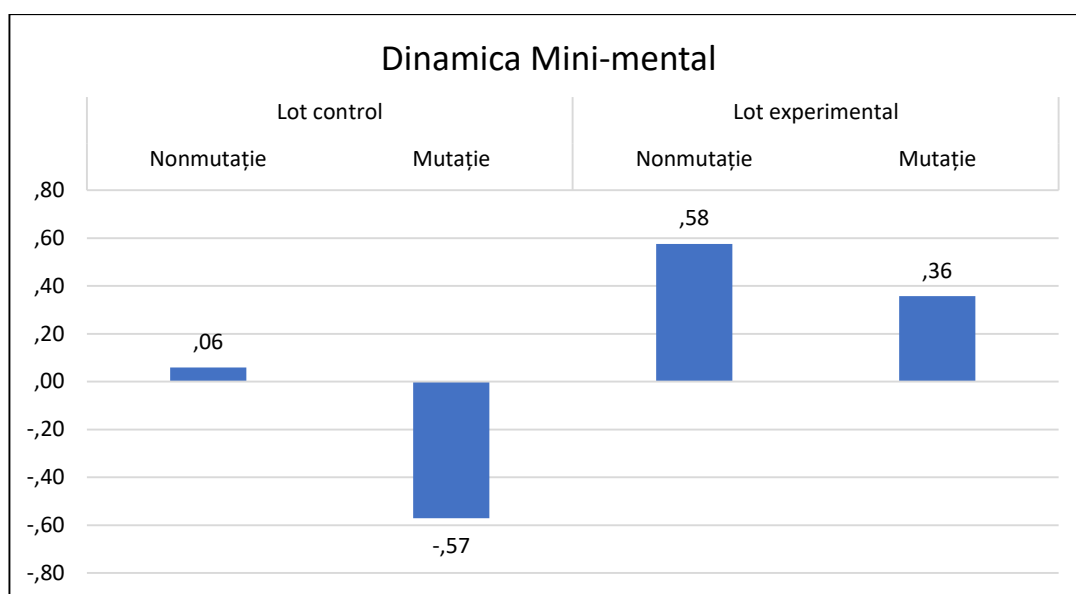


Fig. 3.51. Dinamica Mini-Mental Test Score în cazul subiecților cu sau fără mutație

În cazul testului Barthel, cea mai bună dinamică o au subiecții fără mutație din lotul experimental. Scorurile înregistrate de aceștia sunt de -0,64, pe când scorurile obținute de subiecții fără mutație 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 mutație din lotul experimental, comparativ cu pacienții fără mutație din cel de control. Cel mai rău scor a fost înregistrat de către subiecții cu mutație din lotul de control. Rezultatele privind dinamica testului Barthel sunt prezentate în Figura 3.52.

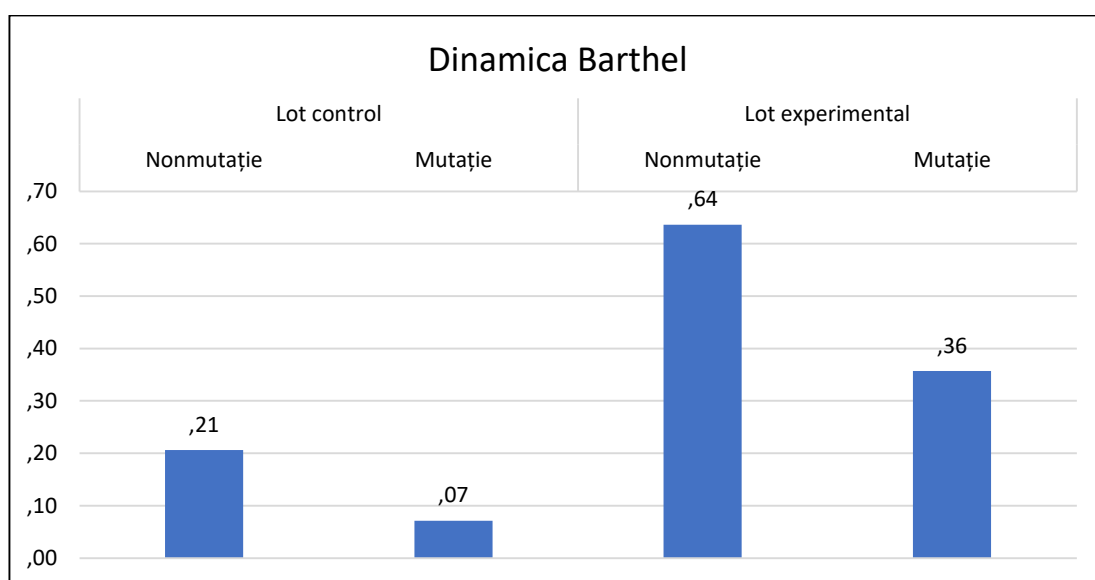


Fig. 3.52. Dinamica testului Barthel în cazul subiecților cu mutație sau fără mutație

În cazul aplicării testului mRS scale, cea mai bună dinamică o au subiecții fără mutație din lotul experimental, cu valoarea de -0,88, comparativ cu cei fără mutație din lotul de control, a căror valoare a fost înregistrată în mărime de -0,44. Aceste cifre denotă că scorurile testului mRS scale înregistrate în lotul experimental sunt de două ori mai bune decât scorurile aceluiasi test în lotul de control. Aici putem vorbi despre o superioritate numerică substanțială a subiecților fără mutație din lotul experimental, comparativ cu cei fără mutație din lotul de control. Cele mai rele rezultate sunt înregistrate de subiecții cu mutație ai lotului de control, aceste valori fiind de doar -0,14.

Rezultatele ce oglindesc dinamica testului mRS scale sunt prezentate în Figura 3.53.

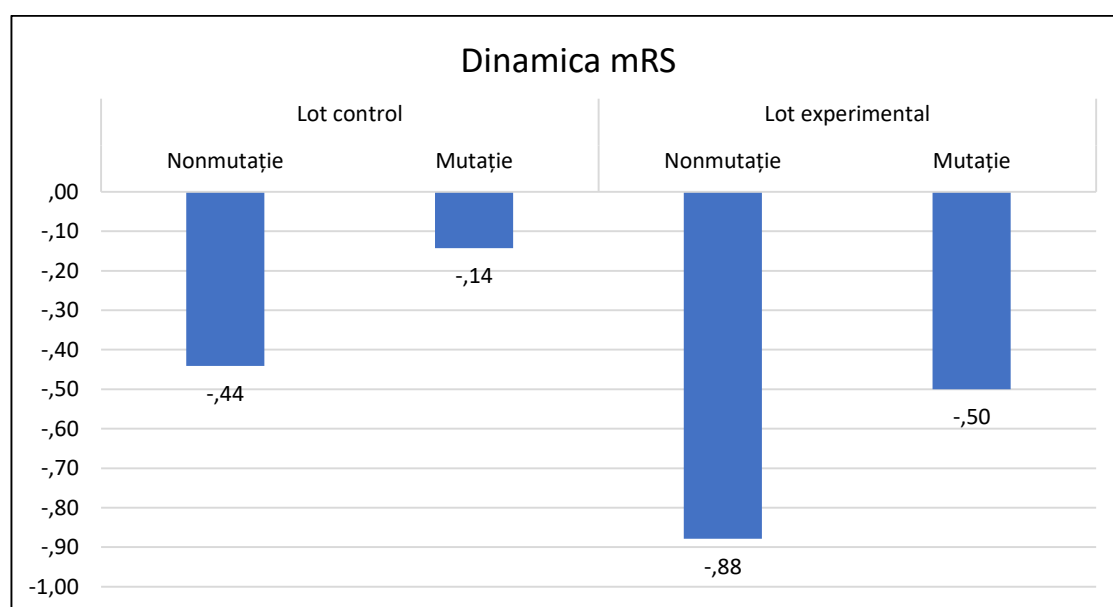


Fig. 3.53. Dinamica testului mRS scale în cazul subiecților cu mutație sau fără mutație

- ***Legătura intervalului de timp dintre AVC și stimulare cu dinamica stării subiectului***

Prin intermediul metodei de analiză scatterplot, s-a încercat definirea existenței unei legături între variabila *timp* (interval între debutul AVC și startul SMT) și dinamica scalelor de evaluare aplicate. Astfel, se observă lipsa unei legături liniare sau de altă natură între aceste variabile, punctele fiind împrăștiate pe scatterplot fără o tendință vizibilă, ceea ce clinic poate fi tradus prin expresia: momentul aplicării SMT nu este important pentru rezultatele scontate. Testele statistice efectuate pentru a analiza legătura dintre variabilele menționate de asemenea demonstrează lipsa unei corelații sau asociații între variabila timp și dinamica scalelor de evaluare utilizate.

După cum demonstrează 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.

Dinamica mRS a fost calculată ca diferență între rezultatele mRS la vizita a II-a și rezultatele mRS la vizita I. Variabila *dinamica mRS* este neparametrică și din acest motiv s-a aplicat corelația Spearman, $rs(45) = 0,047$, $p=0,755$. Timpul care a trecut din momentul AVC până în momentul inițierii stimulării nu corelează semnificativ statistic cu dinamica mRS. Acest lucru se poate observa și în Figura 3.54

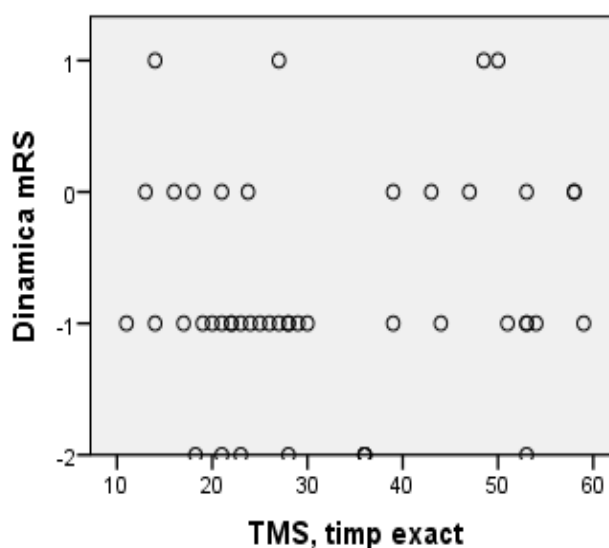


Fig. 3.54. Dinamica mRS în raport cu timpul dintre AVC și stimulare

Dinamica la Mini-Mental Test Score a fost calculată ca diferență între rezultatele la testul Mini-Mental la vizita a II-a și vizita I. Variabila *dinamica Mini-mental* este neparametrică și s-a aplicat corelația Spearman, $rs(45) = 0.114$, $p=0.447$. Nu există o corelație statistic semnificativă între dinamica la Mini-Mental Test Score și timpul trecut de la AVC până la stimulare. Acest lucru se poate observa în Figura 3.55.

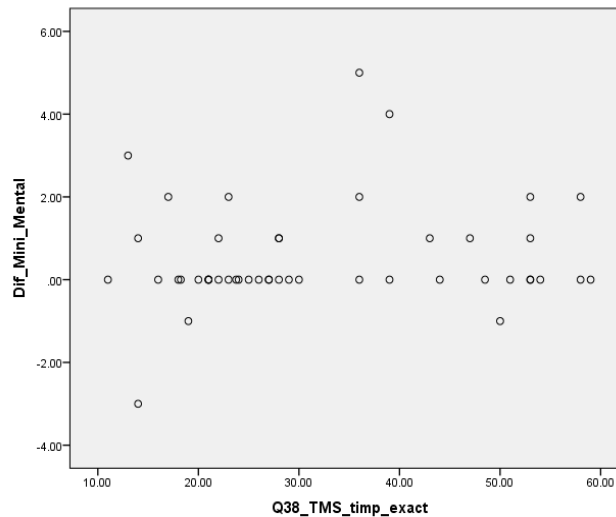


Fig. 3.55. Dinamica Mini-Mental Test Score în raport cu timpul dintre AVC și stimulare

Dinamica la scorul NIHSS a fost calculată ca diferență între rezultatele scorului respectiv la vizita a II-a și vizita I. Variabila *dinamica scorului NIHSS* este neparametrică. Astfel, în acest caz a fost aplicată corelația Sperman, $rs(45) = 0,051$, $p=0,732$. Corelația dintre dinamica scorului NIHSS și timpul trecut de la AVC până stimulare nu este statistic semnificativă, ceea ce se poate vedea în Figura 3.56

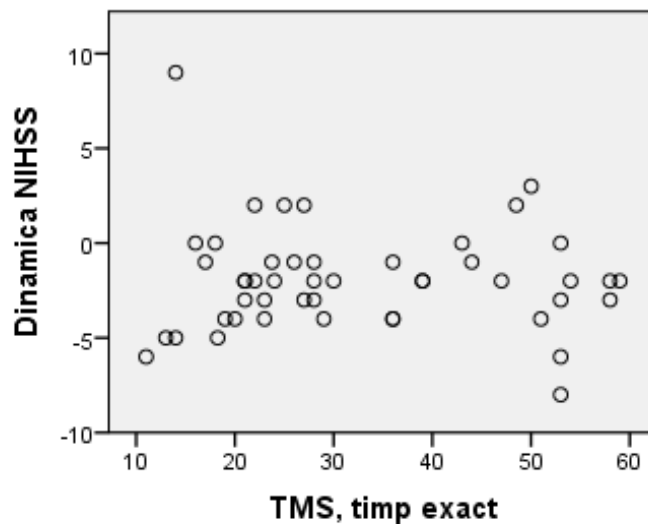


Fig. 3.56. Dinamica Scorului NIHSS în raport cu timpul dintre AVC și stimulare

Dinamica la testul Barthel s-a calculat ca diferență între rezultatele testului la vizita a II-a și vizita I. Variabila *dinamica Barthel* este neparametrică, în acest caz putând fi aplicată corelația Spearman, $rs(45) = -0,74$, $p=0,623$. În consecință s-a văzut că această corelație dintre dinamica

testului Barthel și timpul trecut de la AVC până la stimulare nu este statistic semnificativă. Acest lucru este arătat în Figura 3.57.

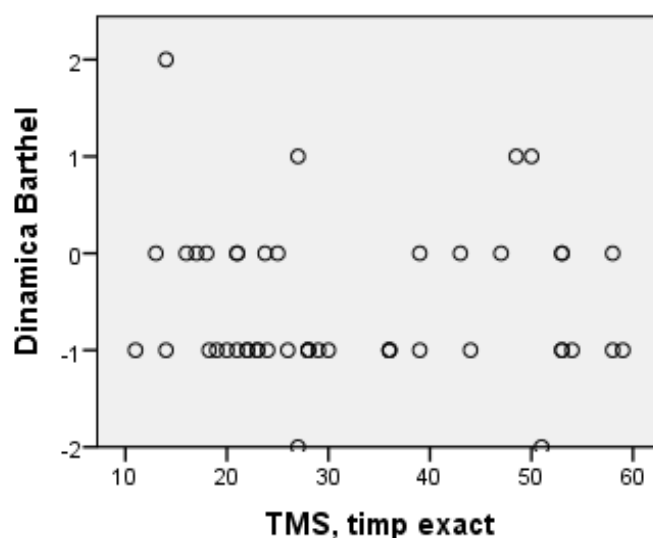


Fig. 3.57. Dinamica testului Barthel în raport cu timpul dintre AVC și stimulare

Dinamica la scala de prognostic Orpington s-a calculat ca diferență între rezultatele testului la vizita a II-a și vizita I. Variabila *dinamica scalei de prognostic Orpington* este neparametrică și s-a aplicat corelația Spearman, $r_s(45) = -0,009$, $p=0,953$. Corelația dintre dinamica scalei respective și timpul trecut de la AVC până la stimulare nu este statistic semnificativă. Aceasta este reflectată în Figura 3.58.

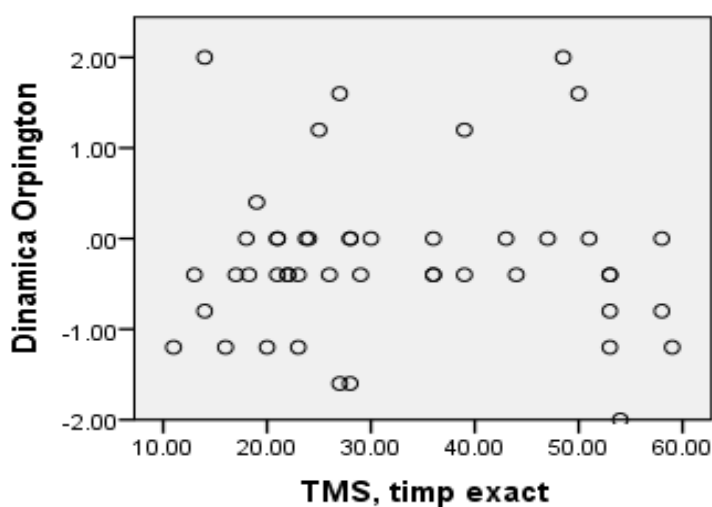


Fig. 3.58. Dinamica scalei de prognostic Orpington în raport cu timpul dintre AVC și stimulare

Dinamica scalei MRC s-a calculat ca diferență între rezultatele obținute la vizita a II-a și la vizita I. Variabila *dinamica scalei MRC* este neparametrică și s-a aplicat corelația Spearman, $r_s(45) = -0,102$, $p=0,493$. Corelația dintre dinamica acestei scale și timpul trecut de la AVC până la stimulare nu este statistic semnificativă. În Figura 3.58 sunt prezentate rezultatele respective.

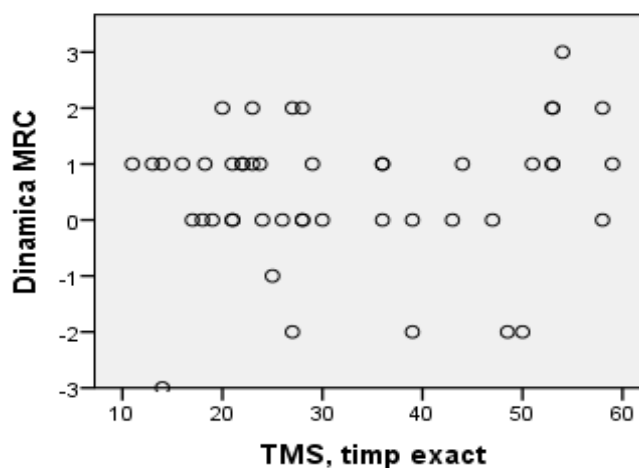


Fig. 3.59. Dinamica scalei MRC în raport cu timpul dintre AVC și stimulare

Dinamica testului 9-Peg Hole pentru mâna paretică s-a calculat ca diferență între rezultatele la vizita a II-a și la vizita I. Variabila *dinamica testului 9-Peg Hole pentru mâna paretică* este neparametrică și s-a aplicat corelația Spearman, $r_s(30) = 0,145$, $p=0,428$. Corelația între dinamica testului 9-Peg Hole pentru mâna paretică și timpul trecut de la AVC până la stimulare nu este statistic semnificativă. În Figura 3.59 sunt prezentate rezultatele obținute.

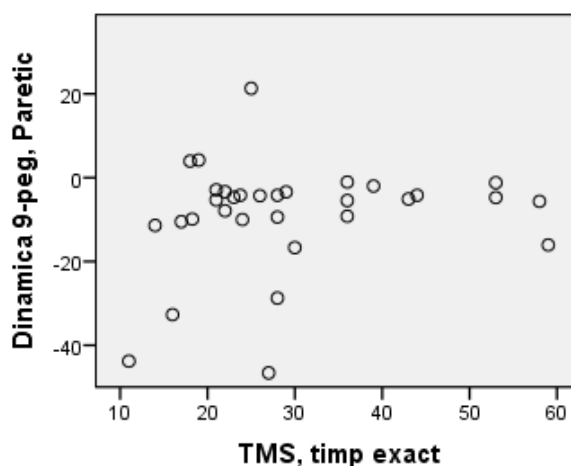


Fig. 3.60. Dinamica testului 9-Peg Hole pentru mâna paretică în raport cu timpul dintre AVC și stimulare

Dinamica testului 9-Peg Hole pentru mâna nonparetică a fost calculată ca diferență între rezultatele la vizita a II-a și la vizita 1. Variabila *dinamica testului 9-Peg Hole pentru mâna nonparetică* este neparametrică, de aceea s-a aplicat corelația Spearman, $rs(30) = -0,052$, $p=0,777$. Corelația dintre dinamica 9-Peg-Hole pentru mâna nonparetică și timpul trecut de la AVC până la stimulare nu este statistic semnificativă și este prezentată în Figura 3.60.

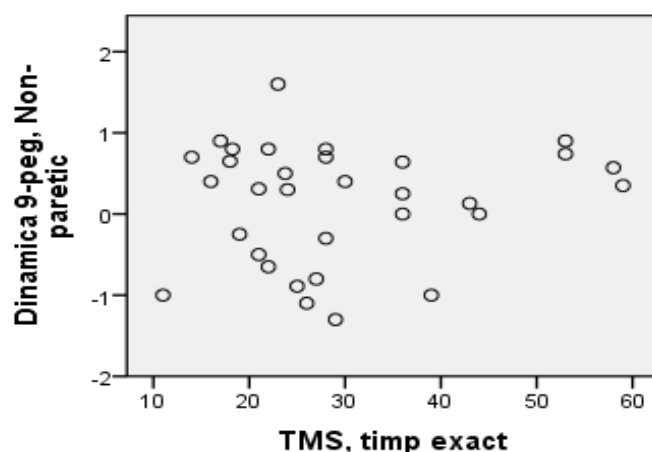


Fig. 3.61. Dinamica testului 9-Peg Hole pentru mâna nonparetică în raport cu timpul dintre AVC și stimulare

Dinamica latenței PEM s-a calculat ca diferență între latența înregistrată la vizita a II-a și la vizita I. Deși variabila *dinamica latenței PEM* are o distribuție normală, analizând graficul scatterplot, nu putem concluziona că relația dintre dinamica latenței și timpul trecut de la AVC până la stimulare este liniară. Din aceste considerente, aplicăm corelația Spearman, $rs(30) = -0,032$, $p=0,860$. Astfel, se dovedește că corelația dintre dinamica latenței PEM și timpul trecut de la AVC până la stimulare nu este statistic semnificativă.

Dinamica amplitudinii PEM a fost calculată ca diferență între amplitudinea înregistrată la vizita a II-a și la vizita I. Variabila *dinamica amplitudinii PEM* este neparametrică, de aceea am utilizat corelația Spearman, $rs(30) = 0,192$, $p=0,293$. Corelația dintre dinamica amplitudinii PEM și timpul trecut între AVC și momentul stimulării este statistic nesemnificativă.

3.6. Sinteza capitolului 3

În cazul lotului experimental (cu aplicare a SMT), există o diferență semnificativă pentru indicatorii *dinamica Orpington* și *dinamica MRC* între persoanele cu mutație a genei și persoanele fără mutație. Persoanele fără mutație sunt candidați mai buni pentru SMT, comparativ cu cele cu mutație, conform scalelor Orpington și MRC.

Cele mai bune rezultate se observă în cazul persoanelor care intră în categoria nonmutație, care de asemenea au avut AVC în emisfera stângă, însă această tendință nu este statistic semnificativă. Concomitent, rezultatele studiului conform impresiei clinice globale arată o tendință de reabilitare mai favorabilă la subiecții fără mutație, decât la cei cu mutație.

Între genotip și nivelul topografic nu există o legătură statistică. Indiferent de localizarea AVC – cortical sau subcortical –, pacientul este candidat pentru SMT.

Analizând dinamica latenței și a amplitudinii PEM în funcție de emisfera afectată, observăm că diferența dintre cele două eșantioane nu este statistic semnificativă. Indiferent de localizarea AVC – în emisfera dreaptă sau cea stângă –, pacientul este candidat pentru SMT.

Totodată, cele mai bune rezultate se atestă în cazul persoanelor ce intră în categoria nonmutație, care de asemenea au avut AVC în emisfera stângă, însă această tendință nu este una semnificativă statistic. Totuși, se observă o tendință de ameliorare clinică mai vadită la pacienții care au suportat AVC în emisfera stângă, comparativ cu dreapta, dar pentru confirmare sunt necesare un eșantion mai mare și cercetări suplimentare.

Pentru lotul experimental (cu aplicare a SMT), a fost înregistrat un efect semnificativ al folosirii SMT asupra scorurilor mRS. Aplicarea SMT pacienților cu AVC ischemic, în perioada acută, este cert benefică, comparativ cu privarea pacienților de această terapie.

Există o corelație moderată negativă între prezența PEM și dinamica mRS, care este statistic semnificativă. Prezența PEM reprezintă un indicator semnificativ statistic pentru reabilitarea bolnavilor cu AVC ischemic, conform scalei mRS.

Există o corelație puternică pozitivă între prezența PEM și rezultatele testului 9-Peg Hole, care este statistic semnificativă. Prezența PEM reprezintă un indicator statistic semnificativ pentru reabilitarea subiecților cu AVC ischemic, conform rezultatelor testului 9-Peg Hole.

4. ANALIZA COMPARATIVĂ ȘI DISCUȚIILE ASUPRA REZULTATELOR CERCETĂRII

Atât în lotul experimental, cât și în lotul de control, a fost atestată o prevalență a numărului de bărbați asupra numărului de femei, printre subiecții cu accident vascular cerebral ischemic. Aceste date se reflectă din punct de vedere istoric în felul următor: în timp ce numărul femeilor și al bărbaților cu accident vascular cerebral ischemic era similar în 1990, acesta a crescut în timp, și această creștere a fost mai pronunțată pentru bărbați. În același timp, există o tendință spre o scădere a incidenței accidentului vascular cerebral ischemic în rândul femeilor în perioada 1990 - 2013, fără a se constata o schimbare semnificativă pentru bărbați [183]. Din punct de vedere istoric, din 1970 până în 2008, datele privind populația indică rate de incidență bărbați-femei în scădere de la 1,49 (vârste 35-44 ani) până la 1,21 (vârste 75-84 ani) [184].

Media de vârstă în ambele loturi din studiu a fost de 68,8 ani, cu marja pentru lotul de control de 48-91 ani, iar pentru cel experimental marja a fost de 37-94 ani.

În general, accidentul vascular cerebral este o boală a îmbătrânirii. Incidența accidentelor vasculare cerebrale crește odată cu vârsta, dublarea incidenței are loc odată cu fiecare deceniu, după vârsta de 55 de ani [185]. Vârsta medie de accident vascular cerebral ischemic este de aproximativ 69,2 ani [186] – date confirmate de studiul nostru.

În urma investigării prin intermediul tomografiei computerizate sau a rezonanței magnetice cerebrale, în cele două loturi de cercetare a fost evidențiată o omogenitate în ceea ce privește emisfera afectată de AVC. Astfel, în lotul de control, 26 (54%) subiecți au prezentat AVC în emisfera stângă, 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.

Aceste date statistice se regăsesc și în alte studii epidemiologice, care 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% ($p = 0,0073$) [187].

În cele două loturi de studiu, s-a înregistrat o anumită omogenitate și în ceea ce privește nivelul topografic afectat de AVC. Astfel, în lotul experimental s-au atestat 21 (45%) de subiecți care au prezentat AVC la nivel cortical, 17 (36%) au prezentat AVC la nivel subcortical și 9 subiecți, ceea ce reprezintă 19% din numărul total de cazuri din lotul experimental, au suportat

AVC mixt. În lotul de control, 20 (42%) de subiecți au dezvoltat AVC la nivel cortical, 22 (46%) – la nivel subcortical și 6 (13%) subiecți au prezentat nivel mixt de afectare.

Pentru alți 355 pacienți studiați încă acum 30 de ani, 237 (66,7%) au prezentat un accident vascular cerebral cortical și 118 (33,3%) au avut un accident vascular cerebral subcortical [188].

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) [189].

Efectul rTMS este mai eficient în îmbunătățirea activităților zilnice de viață și a funcției motorii în subgrupele de pacienți cu infarct subcortical și cu un protocol care folosește SMT repetitivă cu frecvență redusă asupra emisferei neafectată [190]. Un alt studiu, recent apărut, precizează că SMT repetitivă are un efect pozitiv asupra recuperării motorii la pacienții cu accident vascular cerebral, în special pentru cei cu accident vascular cerebral subcortical, iar SMT repetitivă cu frecvență redusă aplicată asupra emisferei neafectate este mai benefică decât SMT repetitivă de înaltă frecvență aplicată asupra emisferei afectate [191].

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 [192]. În acest studiu am utilizat stimularea cu frecvență joasă de 1 Hz, în concordanță cu cercetările actuale [193] și am arătat că excitabilitatea corticală a lotului experimental a fost semnificativ îmbunătățită după tratament.

Totodată, am verificat dacă diferența dintre dinamica latenței și a amplitudinii PEM este sau nu dependentă de emisfera afectată, și am depistat că această diferență nu este statistic semnificativă. Așadar, putem concluziona că dinamica latenței și dinamica amplitudinii nu depind de emisfera afectată.

Referitor la acest subiect, un studiu vechi [194] a arătat că intensitatea de frecvență joasă a stimulului aplicat, a evocat potențiale de acțiune motorii în mușchiul abductor minimi digiti (ADM) contralateral, iar acestea au fost semnificativ mai mici pentru emisfera stângă decât pentru cea dreaptă. Potențialul motor de acțiune pentru mușchiul biceps, pe de altă parte, a fost semnificativ mai mare decât cel pentru mușchiul abductor minimi digiti, dar nu a existat nici o

diferență dependentă de emisfera afectată. Un studiu recent la acest subiect a analizat variațiile emisferice ale excitabilității corticale și nu a relevat asimetrii majore în legătură cu lateralitatea sau dexteritatea (dreptaci/stângaci). În mod similar, nu a fost găsită nici o asimetrie clară atunci când s-au analizat variațiile emisferice, măsurând gradul de inhibiție trans-calosală [195].

În cercetarea noastră, am încercat să determinăm o dependență între dinamica rezultatelor, conform scalelor clinice aplicate, la subiecții ce aveau afectată emisfera dreaptă, comparativ cu cea stângă. Dar, după cum arată testele statistice, o dependență vizibilă a dinamicii rezultatelor în funcție de emisfera afectată a existat doar la testul 9-Peg Hole pentru membrul paretic.

Există date contradictorii privind efectul de lateralizare emisferică asupra prognosticului accidentului vascular cerebral ischemic acut. Unele dintre aceste variabilități poate fi legată de heterogenitatea populațiilor studiate, în special în ceea ce privește nivelul ocluziei arteriale. În plus, se știe puțin despre relația dintre lateralizarea accidentului vascular cerebral și predictorii recuperării. Un studiu din 2010 arată că lateralizarea emisferică influențează predictorii clinici și imagistici ai recuperării. În special, NIHSS prezice recuperarea, însă numai pentru AVC-urile din emisfera stângă. Această constatare ar putea avea implicații importante pentru predicția recuperării în faza acută post-accident vascular cerebral [196]. Precum am menționat anterior, AVC-urile ischemice la nivelul emisferei stângi par să fie mai frecvente și au deseori un rezultat mai rău decât omologii lor din emisfera dreaptă [187].

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 [197]. 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 [198].

În același timp, a fost cercetat dacă a existat vreo diferență a valorilor PEM între subiecții cu sau fără polimorfism. S-a constatat că în rândul persoanelor fără polimorfism, amplitudinea PEM a crescut cu 0,69 mV, iar în rândul celor cu polomorfism, creșterea amplitudinii a fost de 0,70 mV. Din punct de vedere statistic, aceste diferențe nu sunt semnificative. Testul Mann-Whitney U pentru eșantioane independente, cu un $p=0,1881$, demonstrează că dinamica amplitudinii PEM nu este semnificativ diferită între subiecții cu sau fără polimorfism – adică genotipul subiecților nu influențează recuperarea post accident vascular cerebral, sub influența SMT.

Un studiu recent, confirmă că subiecții cu polimorfism rs6265 nu au prezentat rezultate diferite de omologii lor fără polimorfism Val66Val în ceea ce privește performanța motorie la momentul inițial după accident vascular cerebral, și nici după antrenamentul motricității [199]. Chiar dacă pragul și amplitudinea potențialului motor evocat nu diferă între cei cu și fără polimorfism, totuși excitabilitatea emisferei neafectate este semnificativ mai mare decât excitabilitatea emisferei afectate, la cei fără polimorfism; indicii pragului motor de epaus au fost $0,016 \pm 0,050$ și $0,139 \pm 0,028$ pentru pacienții cu și, respectiv, fără polimorfism [$t = 2,270$, $P = 0,036$] [200].

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 căutarea predictorilor individuali de recuperare post-AVC, polimorfismul rs6265 al factorului neurotrofic derivat din creier (BDNF) atrage un mare interes, deoarece are un impact negativ asupra funcției neurotrofinei. Deoarece recuperarea accidentului vascular cerebral se bazează pe procesele plastice cerebrale, în care BDNF este implicat, ideea predominantă este în favoarea unei recuperări mai slabe a purtătorilor alelei Met (cu polimorfism rs6265). Unele studii sugerează însă că purtătorii alelei Met nu diferă în ceea ce privește capacitatea absolută de recuperare post-accident vascular cerebral, dar diferă în funcție de modul în care se recuperează. În special, prezența polimorfismului rs6265 amplifică mai mult plasticitatea subcorticală, în timp ce subiecții fără polimorfism se bazează mai mult pe procesele plastice intracorticeale [201]. Un alt studiu a arătat că prezența polimorfismului rs6265 a fost asociată cu un rezultat mai rău doar în faza inițială după AVC (de la admitere până la ziua 7 – exact ca și în studiul nostru), dar nu la o lună după debutul AVC [202]. Luate împreună, studiile clinice sugerează rezultate slabe în recuperarea după AVC la subiecții cu polimorfism rs6265, în special în faza acută după AVC [203].

În cadrul studiului nostru, corelația Spearman a confirmat statistic faptul că prezența PEM imediat după debutul accidentului vascular cerebral reprezintă un factor semnificativ pentru reabilitarea pacienților cu AVC ischemic, acestea fiind confirmat și clinic prin rezultatele testului 9-Peg Hole ($rs(45)=0,901$, pentru un $p<0,005$).

Schimbările în excitabilitatea corticală după accident vascular cerebral sunt cel mai bine observate în orele inițiale după AVC și pot fi modificate în timp. Acestea pot varia începând cu incapacitatea de a determina PEM-ul inițial, ceea ce sugerează un prognostic negativ [204]. Prezența PEM la stimularea emisferei afectate în faza acută după accident vascular cerebral ischemic a fost asociată cu rezultate mai bune în majoritatea studiilor, în timp ce unele studii totuși nu consideră acest criteriu drept un bun indicator de prognostic [205].

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 [206] și că prognosticul este cu atât mai favorabil, cu cât avem o dinamică mai pozitivă a valorilor PEM [207].

Prin intermediul metodei de analiză *scatterplot*, s-a încercat definirea existenței unei legături între variabila *time* (interval între debutul AVC și startul SMT) și dinamica scalelor de evaluare aplicate. Astfel, se observă lipsa unei legături liniare sau de altă natură între aceste variabile, punctele fiind împrăștiate pe scatterplot fără o tendință vizibilă, ceea ce clinic poate fi tradus prin expresia: momentul aplicării SMT nu este important pentru rezultatele scontate sau - timpul dintre AVC și stimulare nu este un factor de influență asupra rezultatelor stimulării.

Literatura menționează că, datorită riscului crescut de crize epileptice provocate, în faza acută după accident vascular cerebral, primele studii de fezabilitate au fost concepute pentru a testa inhibarea zonei motorii primare (M1) contralaterale (neafectate) prin SMT repetitivă, la tocmai 3-12 luni după debutul accidentului vascular [208]. Pacienții erau inițial supuși unui protocol dintr-un singur puls [209] sau sesiuni repetate (20-30 min pe zi pe parcursul a 5 zile lucrătoare) [208].

O analiză a bazei de date Cochrane a capacității SMT repetitive de a îmbunătăți funcția motorie după accident vascular cerebral a selectat 19 studii randomizate controlate, cu 588 subiecți, între 2002 și 2012, indiferent de timpul aplicării stimulării magnetice transcraniene după accident vascular cerebral (de la 4 h până la 6 ani), de tipul ischemic sau hemoragic, de localizarea corticală sau subcorticală, de gravitatea inițială, dar au exclus studii în care s-au evaluat numai parametrii electrofiziologici. Studiul nu a reușit să confirme utilitatea SMT repetitive în reabilitarea după accident vascular cerebral [210].

Concomitent, Hsu și colab.[190] au selectat 18 studii, cu 392 de pacienți, între 1990 și 2011 și, spre deosebire de revizuirea Cochrane, s-a arătat că SMT repetitivă a fost mai eficientă în ameliorarea activităților zilnice și a funcției motorii în subgrupele de pacienți cu AVC subcortical cu un protocol care utilizează SMT repetitivă cu frecvență joasă asupra emisferei neafectate.

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 [211] – protocol utilizat și în studiul nostru.

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

Cercetarea efectuată vizează elaborarea patternului candidatului ideal eligibil pentru stimularea magnetică transcraniană în reabilitarea după AVC ischemic și aprecierea polimorfismului rs6265 al genei BDNF la subiecții cu accident vascular cerebral ischemic la populația din Republica Moldova.

În urma cercetării efectuate se pot face următoarele **concluzii generale**:

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. BESTMANN, S. and FEREDUES, E. Combined neurostimulation and neuroimaging in cognitive neuroscience: past, present, and future. In: *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2013, nr. 1296(1), pp. 11–30. ISSN: 0077-8923.
2. MCMILLAN, T., and BOND, M. The Glasgow Outcome Scale-40 years of application and refinement. In: *Nature Reviews Neurology*. 2016, vol. 12, nr. 8, pp. 477–485. ISSN: 1759-4758.
3. JORGENSEN, H.S., and OLSEN, T.S. Outcome and time course of recovery in stroke. Part I: Outcome. The Copenhagen Stroke Study. In: *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, 1995, nr. 76, pp. 399-405. ISSN: 0003-9993.
4. 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.
5. DUNCAN, P.W., LAI, S.M., KEIGHLEY, J. Defining post-stroke recovery: implications for design and interpretation of drug trials. In: *Neuropharmacology*. 2000, nr. 39, pp. 835-841. ISSN: 0028-3908.
6. PASCUAL-LEONE, A., AMEDI, A., FREGNI, F., MERABET, L.B. The plastic human brain cortex. In: *Ann. Rev. Neurosci.* 2005, nr. 28, pp. 377-401. ISSN: 0147-006X.
7. 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.
8. RIDDING, M.C., and ZIEMANN, U. Determinants of the induction of cortical plasticity by non-invasive brain stimulation in healthy subjects. In: *J. Physiol.* 2010, nr. 588, pp. 2291–2304. ISSN: 0022-3751.
9. 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.
10. BERRETTA, A., TZENG, Y.C., CLARKSON, A.N. Post-stroke recovery: the role of activity-dependent release of brain-derived neurotrophic factor. In: *Expert Rev. Neurother.* 2014, nr. 14, pp. 1335-1344. ISSN: 1473-7175.
11. HUANG, C.C. et al. Effect of BDNF rs6265 polymorphism on regional white matter hyperintensities and cognitive function in elderly males without dementia. In:

- Psychoneuroendocrinology*. 2014, nr. 39, pp. 94–103. Disponibil: DOI: 10.1016/j.psyneuen.2013.09.027. ISSN: 0306-4530.
12. LINDGREN, A. Stroke genetics: a review and update. In: *J. of Stroke*. 2014, nr. 16, pp. 114–123. Disponibil: DOI: 10.5853/jos.2014.16.3.114. ISSN: 2287-6391.
 13. 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.
 14. CUNNINGHAM, F. et al. Ensembl. In: *Nucleic Acids Res*. 2015, nr. 43, pp. 662–669. Disponibil: DOI: 10.1093/nar/gku101. ISSN: 0305-1048.
 15. MCHUGHEN, S.A. et al. BDNF rs6265 polymorphism influences motor system function in the human brain. In: *Cerebral cortex*. 2010, nr. 20, pp. 1254-1262. ISSN: 1566-6816.
 16. 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.
 17. CRAMER, S., PROCACCIO, V. Correlation between genetic polymorphisms and stroke recovery: analysis of the GAIN Americas and GAIN International Studies. In: *Eur. J. Neurol*. 2012, nr. 19, pp. 718-724. ISSN: 1351-5101.
 18. MANSO, H. et al. Evidence for epistatic gene interactions between growth factor genes in stroke outcome. In: *Eur. J. Neurol*. 2012, nr. 19, pp. 1151-1153. ISSN: 1351-5101.
 19. MAKOWIECKI, K., and RODGER, J. Low-intensity repetitive transcranial magnetic stimulation improves abnormal visual cortical circuit topography and upregulates BDNF in mice. In: *J. Neurosci*. 2014, nr. 34, pp. 10780–10792. ISSN: 0270-6474.
 20. 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.
 21. GEYER, S., MATELLI, M., LUPPINO, G., ZILLES, K. Functional neuroanatomy of the primate isocortical motor system. In: *Anat. Embryol*. 2000, nr. 202, pp. 443-474. ISSN: 0340-2061.
 22. GEYER, S. et al. Two different areas within the primary motor cortex of man. In: *Nature*. 1996, nr. 382, pp. 805-807. ISSN: 0028-0836.
 23. BRODMANN, K. Beitrage zur histologischen Lokalisation der Grosshirnringe: Die Regio Rolandica. In: *J. Neurol. Psychol*. 1903, nr. 2, pp. 79-132. ISSN: 2332-3469.

24. HESS, G., JACOBS, K.M., DONOGHUE, J.P. N-methyl-D-aspartate receptor mediated component of field potentials evoked in horizontal pathways of rat motor cortex. In: *Neuroscience*. 1994, nr. 61, pp. 225-235. ISSN: 0306-4522.
25. HESS, G., AIZENMAN, C.D., DONOGHUE, J.P. Conditions for the induction of longterm potentiation in layer II/III horizontal connections of the rat motor cortex. In: *J. Neurophysiol.* 1996, nr. 75, pp. 1765-1778. ISSN: 0022-3077.
26. ZIEMANN, U., HALLETT, M., COHEN, L.G. Mechanisms of deafferentation-induced plasticity in human motor cortex. In: *J. Neurosci.* 1998, nr. 18, pp. 7000-7007. ISSN: 0270-6474.
27. TOKUNO, H., TANJI, J. Input organization of distal and proximal forelimb areas in the monkey primary motor cortex: a retrograde double labeling study. In: *J. Comp. Neurol.* 1993, nr. 333, pp. 199-209. ISSN: 1550-7149.
28. ROUILLER, E.M. et al. Transcallosal connections of the distal forelimb representations of the primary and supplementary motor cortical areas in macaque monkeys. In: *Exp. Brain Res.* 1994, nr. 102, pp. 227-243. ISSN: 0014-4819.
29. SANES, J.N., SCHIEBER, M.H. Orderly somatotopy in primary motor cortex: does it exist? In: *Neuroimage*. 2001, nr. 13, pp. 968-974. ISSN: 2213-1582.
30. PICARD, N., STRICK, P.L. Imaging the premotor areas. In: *Curr. Opin. Neurobiol.* 2001, nr. 11, pp. 663-672. ISSN: 0959-4388.
31. RIZZOLATTI, G., LUPPINO, G., MATELLI, M. The organization of the cortical motor system: new concepts. In: *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1998, nr. 106, pp. 283-296. ISSN: 0013-4694.
32. PASSINGHAM, R. Functional organisation of the motor system. In: Frackowiak, R., et al. (eds.) *Human Brain Function*. San Diego: Academic Press, 1997, pp. 243-274. ISBN: 9780080472959.
33. GREZES, J., DECETY, J. Functional anatomy of execution, mental simulation, observation, and verb generation of actions: a meta-analysis. In: *Hum. Brain Mapp.* 2001, nr. 12, pp. 1-19. ISSN: 1065-9471.
34. FINK, G.R., FRACKOWIAK, R.S., PIETRZYK, U., PASSINGHAM, R.E. Multiple nonprimary motor areas in the human cortex. In: *J. Neurophysiol.* 1997, nr. 77, pp. 2164-2174. ISSN: 0022-3077.
35. NATHAN, P.W., SMITH, M.C., DEACON, P. The corticospinal tracts in man. Course and location of fibres at different segmental levels. In: *Brain*. 1990, nr. 113 (Pt 2), pp. 303-324. ISSN: 0006-8950.

36. PARENT, A., HAZRATI, L.N. Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. In: *Brain Res. Rev.* 1995, nr. 20, pp. 91-127. ISSN: 0165-0173.
37. CROSSMAN, A.R. Functional anatomy of movement disorders. In: *J. Anat.* 2000, nr. 196 (Pt4), pp. 519-525. ISSN: 0021-8782.
38. HOLSAPPLE, J.W., PRESTON, J.B., STRICK, P.L. The origin of thalamic inputs to the "hand" representation in the primary motor cortex. In: *J. Neurosci.* 1991, nr. 11, pp. 2644-2654. ISSN: 0270-6474.
39. LEMON, R.N., van der BURG, J. Short-latency peripheral inputs to thalamic neurones projecting to the motor cortex in the monkey. In: *Exp. Brain Res.* 1979, nr. 36, pp. 445-462. ISSN: 0014-4819.
40. SHERMAN, S.M., GUILLERY, R.W. The role of the thalamus in the flow of information to the cortex. In: *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2002, nr. 357, pp. 1695-1708. ISSN: 0962-8436.
41. MATELLI, M., LUPPINO, G. Thalamic input to mesial and superior area 6 in the macaque monkey. In: *J. Comp. Neurol.* 1996, nr. 372, pp. 59-87. ISSN: 1550-7149.
42. VOOGD, J., GLICKSTEIN, M. The anatomy of the cerebellum. In: *Trends Neurosci.* 1998, nr. 21, pp. 370-375. ISSN: 0166-2236.
43. KELLY, R.M., STRICK, P.L. Cerebellar loops with motor cortex and prefrontal cortex of a nonhuman primate. In: *J. Neurosci.* 2003, nr. 23, pp. 8432-8444. ISSN: 0270-6474.
44. DOYON, J., PENHUNE, V., UNGERLEIDER, L.G. Distinct contribution of the corticostriatal and cortico-cerebellar systems to motor skill learning. In: *Neuropsychologia.* 2003, nr. 41, pp. 252-262. ISSN: 0028-3932.
45. KIM, Y.R. et al. Measurements of BOLD/CBV ratio show altered fMRI hemodynamics during stroke recovery in rats. In: *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2005, nr. 25, pp. 820-829. ISSN · 0271-678X.
46. 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.
47. KATSMAN, D., ZHENG, J., SPINELLI, K., CARMICHAEL, S.T. Tissue microenvironments within functional cortical subdivisions adjacent to focal stroke. In: *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2003, nr. 23, pp. 997-1009. ISSN · 0271-678X.
48. 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.

49. 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.
50. JORGENSEN, H.S. et al. Stroke recurrence: predictors, severity, and prognosis. The Copenhagen Stroke Study. In: *Neurology.* 1997, nr. 48, pp. 891-895. ISSN: 0028-3878.
51. PAGE, S.J., GATER, D.R., BACH, Y.R. Reconsidering the motor recovery plateau in stroke rehabilitation. In: *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 2004, nr. 85(8), pp. 1377-1381. ISSN: 0003-9993.
52. SHELTON, F.D., VOLPE, B.T., REDING, M. Motor impairment as a predictor of functional recovery and guide to rehabilitation treatment after stroke. In: *Neurorehabil. Neural Repair.* 2001(a), nr. 15(3), pp. 229-237. ISSN: 1545-9683.
53. CHODOBSKI, A., ZINK, B.J., and SZMYDYNGER-CHODOBSKA, J. Blood-brain barrier pathophysiology in traumatic brain injury. In: *Translational Stroke Research.* 2011, vol. 2, nr. 4, pp. 492–516. ISSN: 1868-4483.
54. LO, E.H., DALKARA, T., and MOSKOWITZ, M.A. Mechanisms, challenges and opportunities in stroke. In: *Nature Reviews. Neuroscience.* 2003, vol. 4, nr. 5, pp. 399–415. ISSN: 1471-003X.
55. CARMICHAEL, S.T. The 3 Rs of stroke biology: radial, relayed, and regenerative. In: *Neurotherapeutics.* 2016, vol. 13, nr. 2, pp. 348–359. ISSN: 1933-7213.
56. van MEER, M.P., van der MAREL, K., WANG, K., et al. Recovery of sensorimotor function after experimental stroke correlates with restoration of resting-state interhemispheric functional connectivity. In: *The Journal of Neuroscience.* 2010, vol. 30, nr. 11, pp. 3964–3972. ISSN: 0270-6474.
57. SCHOCH, K.M., MADATHIL, S.K., and SAATMAN, K.E. Genetic manipulation of cell death and neuroplasticity pathways in traumatic brain injury. In: *Neurotherapeutics.* 2012, vol. 9, nr. 2, pp. 323–337. ISSN: 1933-7213.
58. ZEILER, S.R., HUBBARD, R., GIBSON, E.M. et al. Paradoxical motor recovery from a first stroke after induction of a second stroke: reopening a postischemic sensitive period. In: *Neurorehabilitation and Neural Repair.* 2016, vol. 30, nr. 8, pp. 794–800. ISSN: 1545-9683.
59. HARRIS, N.G., MIRONOVA, Y. A., and SUTTON, R.L. Pericontusion axon sprouting is spatially and temporally consistent with a growth-permissive environment after traumatic brain injury. In: *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology.* 2010, vol. 69, nr. 2, pp. 139–154. ISSN: 0022-3069.
60. CARMICHAEL, S.T. Emergent properties of neural repair: elemental biology to therapeutic concepts. In: *Annals of Neurology.* 2016, vol. 79, nr. 6, pp. 895–906. ISSN: 0364-5134.

61. FROST, S.B., BARBAY, S., FRIEL, K.M. et al. Reorganization of remote cortical regions after ischemic brain injury: a potential substrate for stroke recovery. In: *Journal of Neurophysiology*. 2003, vol. 89, nr. 6, pp. 3205–3214. ISSN: 0022-3077.
62. PLAUTZ, E.J., BARBAY, S., FROST, S.B. et al. Post-infarct cortical plasticity and behavioral recovery using concurrent cortical stimulation and rehabilitative training: a feasibility study in primates. In: *Neurological Research*. 2003, vol. 25, nr. 8, pp. 801–810. ISSN: 0161-6412.
63. KIM, S.Y., ALLRED, R.P. ADKINS, D.L. et al. Experience with the “good” limb induces aberrant synaptic plasticity in the perilesion cortex after stroke. In: *The Journal of Neuroscience*. 2015, vol. 35, nr. 22, pp. 8604–8610. ISSN: 0270-6474.
64. NUNNARI, D., BRAMANTI, P., and MARINO, S. Cognitive reserve in stroke and traumatic brain injury patients. In: *Neurological Sciences*. 2014, vol. 35, nr. 10, pp. 1513–1518. ISSN: 1590-1874.
65. SCHNEIDER, E.B., SUR, S., RAYMONT, V. et al. Functional recovery after moderate/severe traumatic brain injury: a role for cognitive reserve? In: *Neurology*. 2014, vol. 82, nr. 18, pp. 1636–1642. ISSN: 0028-3878.
66. 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.
67. MURRAY, A.D., STAFF, R.T., McNEIL, C.J. et al. The balance between cognitive reserve and brain imaging biomarkers of cerebrovascular and Alzheimer’s diseases. In: *Brain*. 2011, vol. 134, part 12, pp. 3687–3696. ISSN: 0006-8950.
68. BARKER, A.T., JALINOU, R., and FREESTON, I.L. Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. In: *The Lancet*. 1985, nr. 325(8437), pp. 1106–1107. ISSN: 1050-5911.
69. RIDDING, M.C. and ROTHWELL, J.C. Is there a future for therapeutic use of transcranial magnetic stimulation? In: *Nature Reviews Neuroscience*. 2007, nr. 8(7), pp. 559–567. ISSN: 1471-003X.
70. DENG, Z.-D., LISANBY, S.H., and PETERCHEV, A.V. Electric field depth–focality tradeoff in transcranial magnetic stimulation: simulation comparison of 50 coil designs. In: *Brain Stimul*. 2013, nr. 6(1), pp. 1–13. ISSN: 1935-861X.
71. ILMONIEMI, R.J., VIRTANEN, J., RUOHONEN, J. et al. Neuronal responses to magnetic stimulation reveal cortical reactivity and connectivity. In: *Neuroreport*. 1997, nr. 8(16), pp. 3537–3540. ISSN: 0959-4965.
72. HERNANDEZ-PAVON, J.C., SARVAS, J., and ILMONIEMI, R.J. SMT–EEG: From basic research to clinical applications. In: *Abstract book of the 13th Mexican Symposium on Medical Physics, AIP Conference Proceedings*, 2014, pp. 15–21. Disponibil: DOI: 10.1063/1.4901355.

73. AMASSIAN, V.E., EBERLE, L., MACCABEE, P.J., CRACCO, R.Q. Modelling magnetic coil excitation of human cerebral cortex with a peripheral nerve immersed in a brain-shaped volume conductor: the significance of fiber bending in excitation. In: *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology/Evoked Potentials Section*. 1992, nr. 85(5), pp. 291–301. ISSN 0168-5597.
74. Di LAZZARO, V., PROFICE, P., RANIERI, F. et al. I-wave origin and modulation. In: *Brain Stimul.* 2012, nr. 5(4), pp. 512–525. ISSN: 1935-861X.
75. PLATZ, T. and ROTHWELL, J.C. Brain stimulation and brain repair – rSMT: from animal experiment to clinical trials – what do we know? In: *Restorative Neurology and Neuroscience*. 2010, nr. 28(4), pp. 387–398. ISSN: 0922-6028.
76. TERAOKA, Y., UGAWA, Y. Basic mechanisms of SMT. In: *J. Clin. Neurophysiol.* 2002, nr. 19, pp. 322-343. ISSN: 0736-0258.
77. BRASIL-NEITO J.P., McSHANE L.M., FUHR P. et al. Topographic mapping of the human motor cortex with magnetic stimulation: factors affecting accuracy and reproducibility. In: *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1992, nr. 85, pp. 9-16. ISSN: 0013-4694.
78. WASSERMANN, E.M., McSHANE, L.M., HALLETT, M., COHEN, L.G. Noninvasive mapping of muscle representations in human motor cortex. In: *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1992, nr. 85, pp. 1-8. ISSN: 0013-4694.
79. PASCUAL-LEONE, A., TORMOS, J.M., KEENAN, J. et al. Study and modulation of human cortical excitability with transcranial magnetic stimulation. In: *J. Clin. Neurophysiol.* 1998, nr. 15, pp. 333-343. ISSN: 0736-0258.
80. 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.
81. GASNAȘ, A. Perturbările rețelelor cerebrale după un accident vascular cerebral: studii ale conectivității cerebrale. In: *Archives of the Balkan Medical Union*. 2017, vol. 52, 1 (supl. 1), pp. 54-59. ISSN 0041-6940.
82. WALSH, V., RUSHWORTH, M. A primer of magnetic stimulation as a tool for neuropsychology. In: *Neuropsychologia*. 1999, nr. 37, pp. 125-135. ISSN: 0028-3932.
83. CHEN, R., GERLOFF, C., CLASSEN, J. et al. Safety of different inter-train intervals for repetitive transcranial magnetic stimulation and recommendations for safe ranges of stimulation parameters. In: *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1997, nr. 105, pp. 415-421. ISSN: 0013-4694.

84. HALLETT, M., CHEN, R., ZIEMANN, U., COHEN, L.G. Reorganization in motor cortex in amputees and in normal volunteers after ischemic limb deafferentation. In: *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1999, Suppl. 51, pp. 183-187. ISSN: 0013-4694.
85. KUJIRAI, T., CARAMIA, M.D., ROTHWELL, J.C. et al. Corticocortical inhibition in human motor cortex. In: *J. Physiol.* 1993, nr. 471, pp. 501-519. ISSN: 0022-3751.
86. WASSERMANN, E.M., GRAFMAN, J., BERRY, C. et al. Use and safety of a new repetitive transcranial magnetic stimulator. In: *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1996, nr. 101, pp. 412-417. ISSN: 0013-4694.
87. 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.
88. ROMERO, J.R., ANSCHEL, D., SPARING, R. et al. Subthreshold low frequency repetitive transcranial magnetic stimulation selectively decreases facilitation in the motor cortex. In: *Clin. Neurophysiol.* 2002, nr. 113, pp. 101-107. ISSN: 1388-2457.
89. CIVARDI, C., CANTELLO, R., ASSELMAN, P., ROTHWELL, J.C. Transcranial magnetic stimulation can be used to test connections to primary motor areas from frontal and medial cortex in humans. In: *Neuroimage.* 2001, nr. 14, pp. 1444-1453. ISSN: 2213-1582.
90. BAUMER, T., LANGE, R., LIEPERT, J. et al. Repeated premotor rSMT leads to cumulative plastic changes of motor cortex excitability in humans. In: *Neuroimage.* 2003, nr. 20, pp. 550-560. ISSN: 2213-1582.
91. 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.
92. MOCHIZUKI, H., TERAOKA, Y., OKABE, S. et al. Effects of motor cortical stimulation on the excitability of contralateral motor and sensory cortices. In: *Exp. Brain. Res.* 2004, nr. 158(4), pp. 519-526. ISSN: 0014-4819.
93. MEYER, B.U., RORICHT, S., WOICIECHOWSKY, C. Topography of fibers in the human corpus callosum mediating interhemispheric inhibition between the motor cortices. In: *Ann. Neurol.* 1998, nr. 43, pp. 360-369. ISSN: 0364-5134.
94. UGAWA, Y., HANAJIMA, R., KANAZAWA, I. Interhemispheric facilitation of the hand area of the human motor cortex. In: *Neurosci. Lett.* 1993, nr. 160, pp. 153-155. ISSN: 0304-3940.
95. HANAJIMA, R., UGAWA, Y., MACHII, K. et al. Interhemispheric facilitation of the hand motor area in humans. In: *J. Physiol.* 2001, nr. 531, pp. 849-859. ISSN: 0022-3751.

96. SCHAMBRA, H.M., SAWAKI, L., COHEN, L.G. Modulation of excitability of human motor cortex (M1) by 1 Hz transcranial magnetic stimulation of the contralateral M1. In: *Clin. Neurophysiol.* 2003, nr. 114, pp. 130-133. ISSN: 1388-2457.
97. WASSERMANN, E.M. Risk and safety of repetitive transcranial magnetic stimulation: report and suggested guidelines from the International Workshop on the Safety of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation, June 5-7, 1996. In: *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1998, nr. 108, pp. 1-16. ISSN: 0013-4694.
98. GERLOFF, C., COHEN, L.G., FLOETER, M.K. et al. Inhibitory influence of the ipsilateral motor cortex on responses to stimulation of the human cortex and pyramidal tract. In: *J. Physiol.* 1998, nr. 510 (Pt 1), pp. 249-259. ISSN: 0022-3751.
99. STAGG, C.J., WYLEZINSKA, M., MATTHEWS, P.M. et al. Neurochemical effects of theta burst stimulation as assessed by magnetic resonance spectroscopy. In: *J. Neurophysiol.* 2009, nr. 101(6), pp. 2872-2877. ISSN: 0022-3077.
100. 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.
101. MOTTAGHY, F.M., GANGITANO, M., HORKAN, C. et al. Repetitive SMT temporarily alters brain diffusion. In: *Neurology.* 2003, nr. 60, pp. 1539-1541. ISSN: 0028-3878.
102. LIEBETANZ, D., FAUSER, S., MICHAELIS, T. et al. Safety aspects of chronic low-frequency transcranial magnetic stimulation based on localized proton magnetic resonance spectroscopy and histology of the rat brain. In: *J. Psychiatr. Res.* 2003, nr. 37, pp. 277-286. ISSN: 0022-3956.
103. LÜDEMANN-PODUBECKÁ, J., BÖSL, K., THEILIG, S. et al. The effectiveness of 1 Hz rSMT over the primary motor area of the unaffected hemisphere to improve hand function after stroke depends on hemispheric dominance. In: *Brain Stimul.* 2015, nr. 8, pp. 823-830. ISSN: 1935-861X.
104. LÜDEMANN-PODUBECKA, J., BÖSL, K., NOWAK, D.A. Inhibition of the contralesional dorsal premotor cortex improves motor function of the affected hand following stroke. In: *Eur. J. Neurol.* 2016, nr. 23, pp. 823-830. ISSN: 1351-5101.
105. DU, J., TIAN, L., LIU, W. et al. Effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on motor recovery and motor cortex excitability in patients with stroke: a randomized controlled trial. In: *Eur. J. Neurol.* 2016, nr. 23, pp. 1666-1672. ISSN: 1351-5101.

106. WANG, C.-C., WANG, C.-P., TSAI, P.-Y. et al. Inhibitory repetitive transcranial magnetic stimulation of the contralesional premotor and primary motor cortices facilitate poststroke motor recovery. In: *Restor. Neurol. Neurosci.* 2014, nr. 32, pp. 825-835. ISSN: 0922-6028.
107. CONFORTO, A.B., ANJOS, S.M., SAPOSNIK, G. et al. Transcranial magnetic stimulation in mild to severe hemiparesis early after stroke: a proof of principle and novel approach to improve motor function. In: *J. Neurol.* 2012, nr. 259, pp. 1399-1405. ISSN: 0340-5354.
108. MALCOLM, M.P., TRIGGS, W.J., LIGHT, K.E. et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation as an adjunct to constraint-induced therapy. In: *Am. J. Phys. Med. Rehabil.* 2007, nr. 86, pp. 707-715. ISSN: 0894-9115.
109. NOWAK, D.A., GREFKES, C., DAFOTAKIS, M. et al. Effects of low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation of the contralesional primary motor cortex on movement kinematics and neural activity in subcortical stroke. In: *Arch. Neurol.* 2008, nr. 65, pp. 741-747. ISSN: 1538-3687.
110. NAGHDI, S., ANSARI, N.N., RASTGOO, M. et al. A pilot study on the effects of low frequency repetitive transcranial magnetic stimulation on lower extremity spasticity and motor neuron excitability in patients after stroke. In: *J. Bodyw Mov. Ther.* 2015, nr. 19, pp. 616-623. ISSN: 1360-8592.
111. VOLZ, L.J., REHME, A.K., MICHELY, J. et al. Shaping early reorganization of neural networks promotes motor function after stroke. In: *Cereb. Cortex.* 2016, nr. 26, pp. 2882-2894. ISSN: 1566-6816.
112. CHANG, W.H., KIM, Y.H., BANG, O.Y. et al. Long-term effects of rSMT on motor recovery in patients after subacute stroke. In: *J. Rehabil. Med.* 2010, nr. 42, pp. 758-764. ISSN: 1650-1977.
113. KAKUDA, W., ABO, M., NAKAYAMA, Y. et al. High-frequency rSMT using a double cone coil for gait disturbance. In: *Acta Neurol. Scand.* 2013, nr. 128, pp. 100-106. ISSN: 0001-6314.
114. CHIEFFO, R., FERRARI, F., BATTISTA, P. et al. Excitatory deep transcranial magnetic stimulation with H-coil over the right homologous Broca's region improves naming in chronic post-stroke aphasia. In: *Neurorehabil. Neural Repair.* 2014, nr. 28, pp. 291-298. ISSN: 1545-9683.
115. KOYAMA, S., TANABE, S., WARASHINA, H. et al. NMES with rSMT for moderate to severe dysfunction after stroke. In: *Neurorehabilitation.* 2014, nr. 35, pp. 363-368. ISSN print: 1053-8135.
116. TAKEUCHI, N., TADA, T., TOSHIMA, M. et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation over bilateral hemispheres enhances motor function and training effect of paretic hand in patients after stroke. In: *J. Rehabil. Med.* 2009, nr. 41, pp. 1049-1054. ISSN: 1650-1977.

117. TRETRILUXANA, J., KANTAK, S., TRETRILUXANA, S. et al. Improvement in paretic arm reach-to-grasp following low frequency repetitive transcranial magnetic stimulation depends on object size: a pilot study. In: *Stroke Res. Treat.* 2015:498169. ISSN: 2090-8105.
118. HIGGINS, J., KOSKI, L., XIE, H. Combining rSMT and taskoriented training in the rehabilitation of the arm after stroke: a pilot randomized controlled trial. In: *Stroke Res. Treat.* 2013:539146. ISSN: 2090-8105.
119. BLESNEAG, A.V., SLAVOACA, D.F., POPA, L. et al. Low-frequency rSMT in patients with subacute ischemic stroke: clinical evaluation of short and long-term outcomes and neurophysiological assessment of cortical excitability. In: *J. Med. Life.* 2015, nr. 8, pp. 378-387. ISSN: 1844-122X.
120. KORLEY, F.K., DIAZ-ARRASTIA, R., WU, A.H. et al. Circulating Brain-Derived Neurotrophic Factor Has Diagnostic and Prognostic Value in Traumatic Brain Injury. In: *J. Neurotrauma.* 2016, nr. 33(2), pp. 215–225. Disponibil: DOI: 10.1089/neu.2015.3949. ISSN: 0897-7151.
121. WANG, H., ZHANG, Y., QIAO, M. Mechanisms of extracellular signal-regulated kinase/cAMP response element-binding protein/brain-derived neurotrophic factor signal transduction pathway in depressive disorder. In: *Neural Regen. Res.* 2013, nr. 8(9), p. 843. Disponibil: DOI: 10.3969/j.issn.1673-5374.2013.09.009. ISSN: 1673-5374
122. ADACHI, N., NUMAKAWA, T., RICHARDS, M. et al. New insight in expression, transport, and secretion of brain-derived neurotrophic factor: implications in brain-related diseases. In: *World J. Biol. Chem.* 2014, nr. 5(4), pp. 409–428. ISSN: 1949-8454.
123. HASHIMOTO, K. Sigma-1 receptor chaperone and brain-derived neurotrophic factor: emerging links between cardiovascular disease and depression. In: *Prog. Neurobiol.* 2013, nr. 100, pp. 15–29. Disponibil: DOI: 10.1016/j.pneurobio.2012.09.001. ISSN: 0301-0082.
124. 1000 Genomes Project Consortium. An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. In: *Nature.* 2012, nr. 491(7422), pp. 56–65. Disponibil: DOI: 10.1038/nature11632. ISSN: 0028-0836.
125. 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.
126. KUCZEWSKI, N., PORCHER, C., and GAIARSA, J.L. . Activity-dependent dendritic secretion of brain-derived neurotrophic factor modulates synaptic plasticity. In: *Eur. J. Neurosci.* 2010, nr. 32, pp. 1239–1244. Disponibil: DOI: 10.1111/j.1460-9568.2010. 07378. ISSN: 0953-816X.

127. 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.
128. WOO, N.H., TENG, H.K., SIAO, C.J. et al. . Activation of p75NTR by proBDNF facilitates hippocampal long-term depression. In: *Nat. Neurosci.* 2005, nr. 8, pp. 1069–1077. Disponibil: DOI: 10.1038/nn1510. ISSN: 1097-6256.
129. ANTAL, A., CHAIEB, L., MOLIADZE, V. et al. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene polymorphisms shape cortical plasticity in humans. In: *Brain Stimul.* 2010, nr. 3, pp. 230–237. Disponibil: DOI: 10.1016/j.brs.2009.12.003. ISSN: 1935-861X.
130. LIN, W.J., SALTON, S.R. The regulated secretory pathway and human disease: insights from gene variants and single nucleotide polymorphisms. In: *Front. Endocrinol.* 2013, nr. 4, p. 96. Disponibil: DOI: 10.3389/fendo.2013.00096. ISSN: 1124-1292.
131. 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.
132. FAILLA, M.D., CONLEY, Y.P., WAGNER, A.K. Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in Traumatic Brain Injury-Related Mortality Interrelationships Between Genetics and Acute Systemic and Central Nervous System BDNF Profiles. In: *Neurorehabil. Neural Repair.* 2016, nr. 30(1), pp. 83–93. Disponibil: DOI: 10.1177/ 1545968315586465. ISSN: 1545-9683.
133. SPORNS, O. From simple graphs to the connectome: networks in neuroimaging. In: *Neuroimage.* 2012, nr. 62, pp. 881–886. Disponibil: DOI: 10.1016/j.neuroimage.2011.08.085. ISSN: 2213-1582.
134. HARIRI, A.R., GOLDBERG, T.E., MATTAY, V.S. et al. Brain-derived neurotrophic factor rs6265 polymorphism affects human memory-related hippocampal activity and predicts memory performance. In: *J. Neurosci.* 2003, nr. 23, pp. 6690–6694. ISSN: 0270-6474.
135. HARRISBERGER, F., SMIESKOVA, R., SCHMIDT, A. et al. BDNF rs6265 polymorphism and hippocampal volume in neuropsychiatric disorders: a systematic review and meta-analysis. In: *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2015, nr. 55, pp. 107–118. Disponibil: DOI: 10.1016/j.neubiorev.2015.04.017. ISSN: 0149-7634.
136. MIZUI, T., ISHIKAWA, Y., KUMANOGOH, H. et al. BDNF pro-peptide actions facilitate hippocampal LTD and are altered by the common BDNF polymorphism rs6265. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2015, nr. 112, E3067–E3074. Disponibil: DOI: 10.1073/pnas.1422336112. ISSN: 0027-8424.

137. CHIANG, M.-C., BARYSHEVA, M., TOGA, A.W., et al. BDNF gene effects on brain circuitry replicated in 455 twins. In: *Neuroimage*. 2011, nr. 55, pp. 448–454. Disponibil: DOI: 10.1016/j.neuroimage.2010.12.053. ISSN: 2213-1582.
138. RAMOS-CEJUDO, J., GUTIÉRREZ-FERNÁNDEZ, M., OTERO-ORTEGA, L. et al. Brain-derived neurotrophic factor administration mediated oligodendrocyte differentiation and myelin formation in subcortical ischemic stroke. In: *Stroke*. 2015, nr. 46, pp. 221–228. Disponibil: DOI: 10.1161/STROKEAHA.114.006692. ISSN: 0039-2499.
139. NG, T., TEO, S.M., YEO, H.L. et al. Brain-derived neurotrophic factor genetic polymorphism (rs6265) is protective against chemotherapy-associated cognitive impairment in patients with early-stage breast cancer. In: *Neuro-Oncology*. 2016, nr. 18(2), pp. 244-251. Disponibil: DOI:10.1093/neuonc/nov162. ISSN: 1522-8517.
140. Van der KOLK, N.M., SPEELMAN, A.D., van NIMWEGEN M. et al. BDNF polymorphism associates with decline in set shifting in Parkinson's disease. In: *Neurobiol. Aging*. 2014, nr. 36(3):1605.e1–6. ISSN: 0197-4580.
141. BROOKS, S.J., NILSSON, E.K., JACOBSSON, J.A. et al. BDNF polymorphisms are linked to poorer working memory performance, reduced cerebellar and hippocampal volumes and differences in prefrontal cortex in a Swedish elderly population. In: *PLoS One*. 2014, nr. 9(1):e82707. ISSN: 1932-6203.
142. RICHTER-SCHMIDINGER, T., ALEXOPOULOS, P., HORN, M. et al. Influence of brain-derived neurotrophic-factor and apolipoprotein E genetic variants on hippocampal volume and memory performance in healthy young adults. In: *J. Neural Transm.* 2011, nr. 118(2), pp. 249–257. ISSN: 0300-9564.
143. FORDE, N.J., RONAN, L., SUCKLING, J. et al. Structural neuroimaging correlates of allelic variation of the BDNF rs6265 polymorphism. In: *Neuroimage*. 2014, nr. 90, pp. 280–289. Disponibil: DOI: 10.1016/j.neuroimage.2013.12.050. ISSN: 2213-1582.
144. PEZAWAS, L., MEYER-LINDENBERG, A., GOLDMAN, A. et al. Evidence of biologic epistasis between BDNF and SLC6A4 and implications for depression. In: *Mol. Psychiatry*. 2008, nr. 13, pp. 709–716. Disponibil: DOI: 10.1038/mp.2008.32. ISSN: 1359-4184.
145. 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.
146. YOSHIDA, T., ISHIKAWA, M., NIITSU, T. et al. Decreased serum levels of mature brain-derived neurotrophic factor (BDNF), but not its precursor proBDNF, in patients with major

- depressive disorder. In: *PLoS One*. 2012, nr. 7: e42676. Disponibil: Doi: 10.1371/journal.pone.0042676. ISSN: 1932-6203.
147. **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.
148. ZHANG, Y., PARDRIDGE, W.M. Blood-brain barrier targeting of BDNF improves motor function in rats with middle cerebral artery occlusion. In: *Brain Research*. 2006, nr. 1111, pp. 227-229. ISSN: 0006-8993.
149. HE, X.M., ZHANG, Z.X., ZHANG, J.W. et al. Lack of association between the BDNF gene rs6265 polymorphism and Alzheimer disease in a Chinese Han population. In: *Neuropsychobiology*. 2007, nr. 55, pp. 151-155. ISSN: 0302-282X.
150. KIM, D.Y., QUINLAN, E.B., GRAMER, R., CRAMER, S.C. BDNF rs6265 Polymorphism Is Related to Motor System Function After Stroke. In: *Physical Therapy*. 2016, nr. 96(4), pp. 533–539. Disponibil: DOI: <http://doi.org/10.2522/ptj.20150135>. ISSN: 0031-9023.
151. BEAUCHAINE, T.P. The role of biomarkers and endophenotypes in prevention and treatment of psychopathological disorders. In: *Biomarkers in medicine*. 2009, nr. 3, pp. 1-3. ISSN: 1752-0363.
152. NIIMI, M., HASHIMOTO, K., KAKUDA, W. et al. Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor in Beneficial Effects of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation for Upper Limb Hemiparesis after Stroke. In: *PLoS One*. 2016, nr. 11 (3):e0152241. Disponibil: DOI: 10.1371/journal.pone.0152241. ISSN: 1932-6203.
153. **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.
154. TANG, A., THICKBROOM, G., RODGER, J. Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation of the Brain: Mechanisms from Animal and Experimental Models. In: *Neuroscientist*. 2015, vol. 23, nr. 12, pp. 1-13. Disponibil: DOI: <https://doi.org/10.1177/1073858415618897>. ISSN: 1073-8584.
155. CASTILLO-PADILLA, D.V., FUNKE, K. Effects of chronic iTBSrSMT and enriched environment on visual cortex early critical period and visual pattern discrimination in dark-reared rats. In: *Dev. Neurobiol.* 2015, nr. 76, pp. 19-33. Disponibil: DOI: <https://doi.org/10.1002/dneu.22296> (2015). ISSN: 0146-8227.

156. RODGER, J., MO, C., WILKS, T. et al. Transcranial pulsed magnetic field stimulation facilitates reorganization of abnormal neural circuits and corrects behavioral deficits without disrupting normal connectivity. In: *FASEB J.* 2012, nr. 26(4), pp. 1593–1606. ISSN: 0892-6638.
157. COHEN-CORY, S., KIDANE, A.H., SHIRKEY, N.J., MARSHAK, S. Brain-derived neurotrophic factor and the development of structural neuronal connectivity. In: *Dev. Neurobiol.* 2010, nr. 70, pp. 271–288. ISSN: 0146-8227.
158. MUNNO, D., STERPONE, S., FANIA, S. et al. Plasma brain derived neurotrophic factor levels and neuropsychological aspects of depressed patients treated with paroxetine. In: *Panminerva Med.* 2013, nr. 55, pp. 377–384. ISSN: 0031-0808.
159. CHANG, W.H. et al. BDNF Polymorphism and Differential rSMT Effects on Motor Recovery of Stroke Patients. In: *Brain Stimul.* 2014, nr. 7, pp. 553–558. ISSN: 1935-861X.
160. WANG, H.Y., CRUPI, D., LIU, J. et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation enhances BDNF-TrkB signaling in both brain and lymphocyte. In: *J. Neurosci.* 2011, nr. 31, pp. 11044–11054. Disponibil: DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2125-11.2011. ISSN: 0270-6474.
161. LJUBISAVLJEVIC, M.R., JAVID, A., OOMMEN, J. et al. The Effects of Different Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation (rSMT) Protocols on Cortical Gene Expression in a Rat Model of Cerebral Ischemic-Reperfusion Injury. In: *PLoS One.* 2015, nr. 10(10): e0139892. Disponibil: DOI:10.1371/journal.pone.0139892. ISSN: 1932-6203.
162. SCHALLER, G., SPERLING, W., RICHTER-SCHMIDINGER, T. et al: Serial repetitive transcranial magnetic stimulation (rSMT) decreases BDNF serum levels in healthy male volunteers. In: *J. Neural Transm.* 2014, nr. 121, pp. 307–313. ISSN: 0300-9564.
163. LU, H., ZHANG, T., WEN, M., SUN, L. Impact of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation on Post-Stroke Dysmnnesia and the Role of BDNF rs6265 SNP. In: *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research.* 2015, nr. 21, pp. 761-768. Disponibil: DOI:10.12659/MSM.892337. ISSN: 1234-1010.
164. SHINER, C.T., PIERCE, K.D., THOMPSON-BUTEL, A.G. et al. BDNF Genotype Interacts with Motor Function to Influence Rehabilitation Responsiveness Poststroke. In: *Frontiers in Neurology.* 2016, nr. 7, p. 69. Disponibil: DOI:10.3389/fneur.2016.00069. ISSN: 1664-2295.
165. VILKKI, J., LAPPALAINEN, J., JUVELA, S. et al. Relationship of the met allele of the brain-derived neurotrophic factor rs6265 polymorphism to memory after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. In: *Neurosurgery.* 2008, nr. 63, pp. 198-203. ISSN: 0148-396X.
166. NARAYANAN, V., VEERAMUTHU, V., AHMAD-ANNUAR, A. et al. Missense Mutation of Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Alters Neurocognitive Performance in Patients

- with Mild Traumatic Brain Injury: A Longitudinal Study. In: *PLoS One*. 2016, nr. 11(7):e0158838. Disponibil: DOI:10.1371/journal.pone.0158838. ISSN: 1932-6203.
167. TOSUN, A., TÜRE, S., ASKIN, A. et al. Effects of low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation and neuromuscular electrical stimulation on upper extremity motor recovery in the early period after stroke: a preliminary study. In: *Topics in Stroke Rehabilitation*. 2017, nr. 24(5), pp. 361–367. Disponibil: DOI:10.1080/10749357.2017.1305644. ISSN: 1074-9357.
168. O'SULLIVAN, S.B., SCHMITZ, T.J. *Physical Rehabilitation*. Fifth Edition. Philadelphia, PA: F.A. Davis Company, 2007. 385 p. ISBN-13: 978-0-8036-1247-1.
169. Mahoney FI, Barthel DW. Functional evaluation: the Barthel Index. In: *Maryland state medical journal*. 1965, nr. 14, pp.61–65. ISSN: 0025-4363.
170. PRESCOTT, R.J., GARRAWAY, W.M., AKHTAR, A.J. Predicting functional outcome following acute stroke using a standard clinical examination. In: *Stroke*. 1982, nr. 13(5), pp. 641–647. ISSN: 0039-2499.
171. QURESHI, K.N., HODKINSON, H.M. Evaluation of a ten-question mental test in the institutionalized elderly. In: *Age Ageing*. 1974, nr. 3, pp. 152–157. ISSN: 0002-0729.
172. KALRA, L., CROME, P. The role of prognostic scores in targeting stroke rehabilitation in elderly patients. In: *J. Am. Geriatr. Soc.* 1993, nr. 41(4), pp. 396–400. ISSN: 0002-8614.
173. CELIK, C., AKSEL, J., KARAOGLAN, B. Comparison of the Orpington Prognostic Scale (OPS) and the National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) for the prediction of the functional status of patients with stroke. In: *Disabil. Rehabil.* 2006, nr. 28, pp. 609–612. [PubMed: 16690572]. ISSN: 0963-8288.
174. HAGE, V. The NIH stroke scale: a window into neurological status. In: *Nursing Spectrum*. 2011, nr. 24(15), pp. 44–49. ISSN: 1557-8038.
175. BROTT, T., ADAMS, H.P., OLINGER, C.P. et al. Measurements of acute cerebral infarction – a clinical examination scale. In: *Stroke*. 1989, nr. 20, pp. 864–870. Disponibil: DOI: 10.1161/01.str.20.7.864. ISSN: 0039-2499.
176. ADAMS, H.P. Jr., DAVIS, P.H., LEIRA, E.C. et al. Baseline NIH Stroke Scale score strongly predicts outcome after stroke. In: *Neurology*. 1999, nr. 53, pp. 126–131. ISSN: 0028-3878.
177. KELLOR, M., FROST, J., SILBERBERG, N. et al. Hand strength and dexterity. In: *Am. J. Occup. Ther.* 1971, nr. 25, pp. 77–83. ISSN: 0272-9490.
178. MATHIOWETZ, V., WEBER, K., KASHMAN, N., VOLLAND, G. Adult norms for the nine hole peg test of finger dexterity. In: *Occupational Therapy Journal of Research*. 1985, nr. 5, pp. 24-33. ISSN: 0276-1599.

179. RANKIN, J. Cerebral vascular accidents in patients over the age of 60. II. Prognosis. In: *Scott. Med. J.* 1957, nr. 2(5), pp. 200–215. ISSN: 0036-9330.
180. BONITA, R., BEAGLEHOLE, R. Modification of Rankin Scale: Recovery of motor function after stroke. In: *Stroke*. 1988, nr. 19(12), pp. 1497-1500. ISSN: 0039-2499.
181. SULTER, G., STEEN, C., De KEYSER, J. Use of the Barthel index and modified Rankin scale in acute stroke trials. In: *Stroke*. 1999, nr. 30, pp. 1538-1541. ISSN: 0039-2499.
182. Medical Research Council (Great Britain). Aids to the examination of the peripheral nervous system. H.M.S.O, London, 1976. ISBN: 978-0-11-450033-7.
183. Barker-Collo S, Bennett DA, Krishnamurthi RV, et al. Sex Differences in Stroke Incidence, Prevalence, Mortality and Disability-Adjusted Life Years: Results from the Global Burden of Disease Study 2013. *Neuroepidemiology*. 2015;45(3):203–214. doi:10.1159/000441103
184. Appelros P, Stegmayr B, Terent A. Sex differences in stroke epidemiology: A systematic review. *Stroke* 2009; 40: 1082–1090.
185. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Benjamin EJ, Berry JD, Borden WB, et al. Executive summary: Heart disease and stroke statistics--2012 update: A report from the american heart association. *Circulation*. 2012; 125:188–197. [PubMed: 22215894].
186. Boehme, A. K., Esenwa, C., & Elkind, M. S. (2017). Stroke Risk Factors, Genetics, and Prevention. *Circulation research*, 120(3), 472–495. doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.308398.
187. Hedna VS, Bodhit AN, 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
188. Dulli, D., D'Alessio, D. J., Palta, M., Levine, R. L., & Schutta, H. S. (1998). Differentiation of Acute Cortical and Subcortical Ischemic Stroke by Risk Factors and Clinical Examination Findings. *Neuroepidemiology*, 17(2), 80–89. doi:10.1159/000026157.
189. 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
190. Hsu W, Cheng C, Liao K, Lee I, Lin Y. Effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on motor functions in patients with stroke: a metaanalysis. *Stroke* (2012) 43:1849–57. doi: 10.1161/STROKEAHA.111.649756
191. Pan W, Wang P, Song X, Sun X and Xie Q (2019) The Effects of Combined Low Frequency Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation and Motor Imagery on Upper Extremity Motor Recovery Following Stroke. *Front. Neurol.* 10:96. doi: 10.3389/fneur.2019.00096

192. 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
193. Yin ZF, Shen Y, Meng DH, Hou H, Dai WJ, 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.
194. Macdonell, R.A., Shapiro, B.E., Chiappa, K.H., Helmers, S.L., Cros, D., Day, B.J., et al., 1991. Hemispheric threshold differences for motor evoked potentials produced by magnetic coil stimulation. *Neurology* 41, 1441–1444.
195. Davidson T, Tremblay F. Hemispheric differences in corticospinal excitability and in transcallosal inhibition in relation to degree of handedness. *PLoS One*. 2013;8(7):e70286. Published 2013 Jul 25. doi:10.1371/journal.pone.0070286
196. Yoo AJ, Romero J, Hakimelahi R, et al. Predictors of functional outcome vary by the hemisphere of involvement in major ischemic stroke treated with intra-arterial therapy: a retrospective cohort study. *BMC Neurol*. 2010;10:25. Published 2010 Apr 23. doi:10.1186/1471-2377-10-25
197. 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.
198. Vulturar R, Chiş 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
199. Morin-Moncet, O., Latulipe-Loiselle, A., Therrien-Blanchet, J. M., & Theoret, H. (2018). BDNF rs6265 polymorphism is associated with altered activity-dependent modulation of short-interval intracortical inhibition in bilateral M1. *PloS one*, 13(6), e0197505. doi:10.1371/journal.pone.0197505
200. Di Lazzaro V, Pellegrino G, Di Pino G, et al. rs6265 BDNF Gene Polymorphism Influences Human Motor Cortex Plasticity in Acute Stroke. *Brain stimulation*. 2015;8(1):92-96. doi:10.1016/j.brs.2014.08.006.
201. G. Di Pino, G. Pellegrino, F. Capone et al., “rs6265 BDNF polymorphism implies a different way to recover from stroke rather than a worse overall recoverability, ” *Neurorehabilitation and Neural Repair*, vol. 30, no. 1, pp. 3–8, 2016.

202. Mirowska-Guzel, D., et al., 2012. BDNF -270 C>T polymorphisms might be associated with stroke type and BDNF -196 G>A corresponds to early neurological deficit in hemorrhagic stroke. *J Neuroimmunol.* 249, 71-5
203. Balkaya, M., & Cho, S. (2018). Genetics of stroke recovery: BDNF rs6265 polymorphism in stroke recovery and its interaction with aging. *Neurobiology of Disease.* doi:10.1016/j.nbd.2018.08.009
204. Manganotti P, Patuzzo S, Cortese F, Palermo A, Smania N, Fiaschi A. Motor disinhibition in affected and unaffected hemisphere in the early period of recovery after stroke. *Clin Neurophysiol.* 2002;113:936–43.
205. Pizzi A, Carrai R, Falsini C, Martini M, Verdesca S, Grippo A. Prognostic value of motor evoked potentials in motor function recovery of upper limb after stroke. *J Rehabil Med.* 2009;41:654–60.
206. 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.
207. Lim KB, Kim JA. Activity of daily living and motor evoked potentials in the subacute stroke patients. *Ann Rehabil Med.* 2013;37:82–87.
208. Fregni F., Boggio P. S., Valle A. C., Rocha R. R., Duarte J., Ferreira M. J., et al. . (2006). A sham-controlled trial of a 5-day course of repetitive transcranial magnetic stimulation of the unaffected hemisphere in stroke patients. *Stroke* 37, 2115–2122. 10.1161/01.str.0000231390.58967.6b
209. Takeuchi N., Chuma T., Matsuo Y., Watanabe I., Ikoma K. (2005). Repetitive transcranial magnetic stimulation of contralesional primary motor cortex improves hand function after stroke. *Stroke* 36, 2681–2686. 10.1161/01.str.0000189658.51972.34
210. Hao Z., Wang D., Zeng Y., Liu M. (2013). Repetitive transcranial magnetic stimulation for improving function after stroke. *Cochrane Database Syst. Rev.* 5:CD008862. 10.1002/14651858.cd008862
211. 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

ANEXE

Anexa 1. Scale de evaluare neurologică

Tabelul A1.1. Impresia clinică globală (EBEWE 1994)

Item	A 7-a zi
Foarte mult îmbunătățit	+3
Mult îmbunătățit	+2
Îmbunătățire minimă	+1
Fără schimbare	0
Înrăutățire minimă	-1
Mult înrăutățit	-2
Foarte mult înrăutățit	-3

Adaptat după: Guy, W., editor. *ECDEU Assessment Manual for Psychopharmacology*. Rockville, MD: US Department of Health, Education, and Welfare Public Health Service Alcohol, Drug Abuse, and Mental Health Administration. 1976.

Tabelul A1.2. Testul Mini-Mental Score (MMSE)

Orientarea Punctaj _____ (max. 5)	Cât e ora? Ce dată este azi? Ce zi e azi? În ce lună suntem? În ce an trăim? Cum se numește secția unde Vă tratați? Cum se numește spitalul? În ce oraș suntem? În ce țară locuim? De ce naționalitate sunteți?
Memoria de scurtă durată Punctaj _____ (max. 3)	Examinatorul enumără 3 obiecte, pacientul este rugat să le repete. ➤ 3 puncte, dacă pacientul repetă din prima încercare obiectele enumerate de examinator în ordine corectă ➤ 2 sau 1 punct, dacă pacientul repetă 2 sau 1 din obiectele enumerate
Atenția și calculul Punctaj _____ (max. 5)	Pacientul este rugat să scadă 7 din 100 de 5 ori. 1 punct pentru fiecare operație corectă
Memoria de scurtă durată Punctaj _____ (max. 3)	Pacientul este rugat să-și amintească obiectele enumerate în testul 2. ➤ 1 punct pentru fiecare obiect reamintit
Limbajul Punctaj _____ (max. 2)	Examinatorul arată 2 obiecte (pixul, ceasul), pacientul este rugat să le numească. ➤ 1 punct pentru fiecare obiect numit corect
Punctaj _____ (max. 1)	Pacientul este rugat să repete o propoziție oarecare. ➤ 1 punct pentru repetarea corectă a propoziției ➤ 0 puncte pentru repetarea nesigură a propoziției sau folosirea fragmentelor de tip “și”, “dar”, “mm”

Punctaj _____ (max. 3)	Pacientul este rugat să execute un ordin compus din 3 faze: de ex., cu indicele de la mâna dreaptă să atingă vârful nasului propriu, apoi urechea stângă; să ia foaia de hârtie propusă cu mâna dreaptă și să o îndoie în jumătate, apoi să o pună pe podea. ➤ 3 puncte pentru efectuarea corectă a tuturor fazelor ➤ 1 punct pentru efectuarea corectă a uneia dintre faze
Punctaj _____ (max. 1)	Examinatorul scrie pe o foaie de hârtie un ordin ("Clipește din ochi."), pacientul este rugat să-l execute ➤ 1 punct pentru ordinul scris executat corect
Punctaj _____ (max. 1)	Pacientul este rugat să scrie o propoziție oarecare. ➤ 1 punct, dacă propoziția are un sens, subiect și predicat.
Punctaj _____ (max. 1)	Examinatorul desenează 2 pentagoane care se suprapun parțial, pacientul este rugat să repete desenul întocmai. ➤ 1 punct pentru copiere corectă
Punctaj total _____ (max. 30)	Comentarii

Adaptat după: Folstein, M.F., Folstein, S.E., McHugh, P.R. Mini-mental state: A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. In: *J. Psychiatr. Res.* 1975, nr. 12, pp. 189-198.

Tabelul A1.3. Indicele Barthel

Alimentarea	10	De sine stătătoare; pacientul folosește toate tacâmurile, timpul alimentării nu este dereglat.
	5	Necesită ajutor (pentru tăierea produselor alimentare).
	0	Complet neajutorat / necesită a fi hrănit.
Trecerea din pat în cărucior și invers	15	Îndeplinită de sine stătător (inclusiv capacitatea de a pune frâna și a adapta suportul sub picioare).
	10	Necesită ajutor minim sau supraveghere.
	5	Pacientul e capabil să se așeze, dar necesită ajutor esențial în trecerea din pat în cărucior și viceversa.
	0	Dependent / nu se poate așeza singur/ă.
Igiena personală	5	Pacientul se poate spăla singur pe față, pe dinți, se poate pieptăna, bărbieri (inclusiv capacitatea de a folosi mașina electrică de bărbierit).
	0	Necesită ajutor.
Folosirea WC	10	Pacientul se folosește singur de WC sau ploscă (de sine stătător îmbracă și dezbracă lenjeria, spală WC).
	5	Necesită ajutor pentru menținerea echilibrului, scoaterea și îmbrăcarea lenjeriei sau folosirea hârtiei igienice.
	0	Necesită ajutor.
Scăldatul	5	Pacientul este apt să se folosească singur de cadă sau duș, să-și frece corpul cu buretele.
	0	Necesită ajutor.
Mersul	15	Pacientul merge singur 45 m, poate folosi dispozitive auxiliare.
	10	Pentru a merge 45 m, necesită ajutor străin.
	5	Nu poate merge de sine stătător, dar poate folosi căruciorul pentru a parcurge 45 m.
	0	Nemișcat / necesită ajutor pentru a roti scaunul cu roțile.

Urcarea și coborârea scârilor	10	Este apt să urce și să coboare un bloc de trepte de sine stătător, poate folosi dispozitive auxiliare.
	5	Necesită ajutor sau supraveghere pentru efectuarea acestor acțiuni.
	0	Nu poate să urce și să coboare fără lift.
Îmbrăcarea și dezbrăcarea	10	Singur se îmbracă / dezbracă, își leagă șireturile, încheie fermoarul, folosește dispozitive de fixare sau aparate ortopedice.
	5	Necesită ajutor, însă cel puțin 50% din procesul îmbrăcării trebuie să-l facă singur.
	0	Necesită ajutor.
Controlul defecației	10	Bolnavul își controlează sfincterul anal (poate folosi supozitoare sau clister).
	5	Necesită ajutor pentru folosirea clisterului sau supozitoarelor.
	0	Este incontinent.
Controlul micțiunii	10	Pacientul își controlează micțiunea.
	5	Pacientul este uneori incontinent și necesită ajutor pentru folosirea ploștii.
	0	Este incontinent.

Adaptat după: Mahoney, F.I., Barthel, D. Functional evaluation: the Barthel Index. In: *Maryland State Med. Journal*. 1965, nr. 14, pp. 56-61.

Tabelul A1.4. Scara pronosticului Orpington

Semnele clinice	1 zi	A 7-a zi
Deficit motor în mână		
• 5 puncte	0	0
• 4 puncte	0.4	0.4
• 3 puncte	0.8	0.8
• 1-2 puncte	1.2	1.2
• 0 puncte	1.6	1.6
Propriocepția (cu ochii închiși)		
Localizarea		
• cu acuratețe	0	0
• cu dificultate ușoară	0.4	0.4
• caută	0.8	0.8
• nu poate găsi	1.2	1.2
Echilibrul		
• merge 10 pași fără ajutor	0	0
• menținerea echilibrului în picioare	0.4	0.4
• menținerea echilibrului pe șezute	0.8	0.8
• nu menține echilibrul pe șezute	1.2	1.2
Cogniția		
1. MMSE – 10	0	0
2. MMSE – 8-9	0.4	0.4
3. MMSE – 5-7	0.8	0.8
4. MMSE – 0-4	1.2	1.2
Scorul total	= 1.6 + motilitatea + propriocepția + echilibrul + cogniția	

Adaptat după: Kalra, L., Crome, P. The role of prognostic scores in targeting stroke rehabilitation in elderly patients. In: *J. Am. Geriatr. Soc.* 1993, nr. 41(4), pp. 396-400.

Tabelul A1.5. Scala NIHSS

Categoria	Testare / scor		1 zi	A 7-a zi
1.a. Vigilența	0 = treaz 1 = somnolent 2 = soporos 3 = comatos			
1.b. Orientarea	0 = își cunoaște vârsta și luna 1 = doar una din două 2 = nici una, nici alta			
1.c. Cooperarea	0 = deschide/închide ochii și pumnul la comandă 1 = doar una din ele 2 = nici una, nici alta			
2. Mișcările oculare	0 = normală 1 = pareză parțială 2 = pareză completă			
3. Câmpul vizual	0 = obișnuit 1 = hemianopsie parțială 2 = hemianopsie completă 3 = orb			
4. Pareză facială	0 = fără 1 = discretă 2 = parțială 3 = completă			
5.a Motricitatea membrului superior stâng	0 = fără deficit 1 = cu deficit 2 = membrul cade, DAR pacientul depune efort contra gravitației 3 = membrul cade, NICIUN efort contra gravitației 4 = nicio mișcare X = membru aputat / nedetectabil	Stâng		
5.b Motricitatea membrului superior drept		Drept		
6.a Motricitatea membrului inferior stâng	0 = fără deficit 1 = cu deficit 2 = membrul cade, DAR pacientul depune efort contra gravitației 3 = membrul cade, NICIUN efort contra gravitației 4 = nicio mișcare X = membru aputat / nedetectabil	Stâng		
6.b Motricitatea membrului inferior drept		Drept		
7. Ataxia extremităților	0 = ataxia lipsește 1 = prezentă la 1 membru 2 = prezentă la ambele membre			
8. Sensibilitatea	0 = normală 1 = parțială 2 = totală			
9. Afazia	0 = fără afazie 1 = ușoară 2 = gravă 3 = completă			
10. Disartria	0 = fără disartrie			

	1 = ușoară până la moderată 2 = severă 3 = intubat		
11. Neglijare	0 = lipsește 1 = parțială 2 = completă		
Scor total			

Adaptat după: National Institute of Health, National Institute of Neurological Disorders and Stroke. *Stroke Scale*. Disponibil: https://www.ninds.nih.gov/sites/default/files/NIH_Stroke_Scale_Booklet.pdf

Tabelul A1.6. 9-Peg Hole Test

Mâna dominantă (*bifați*): ☐ dreapta ☐ stânga

Timpul (*în secunde*) de realizare a testului:

1 zi: ____ / ____ / ____ (dd/ll/aa)

A 7-a zi: ____ / ____ / ____ (dd/ll/aa)

Mâna dominantă: _____

Mâna dominantă: _____

Mâna nedominantă: _____

Mâna nedominantă: _____

Norma la indivizii sănătoși

Vârsta, ani (bărbați)	Media pentru mâna nedominantă (<i>secunde</i>)	Media pentru mâna dominantă (<i>secunde</i>)
21–25	16.41	17.5
26–30	16.88	17.84
31–35	17.54	18.47
36–40	17.71	18.62
41–45	18.54	18.49
46–50	18.35	19.57
51–55	18.9	19.84
56–60	20.90	21.64
61–65	20.87	21.60
66–70	21.23	22.29
71+	25.79	25.95
Vârsta, ani (femei)	Media pentru mâna nedominantă (<i>secunde</i>)	Media pentru mâna dominantă (<i>secunde</i>)
21–25	16.04	17.21
26–30	15.90	16.97
31–35	16.69	17.47
36–40	16.74	18.16
41–45	16.54	17.64
46–50	17.36	17.96
51–55	17.38	18.92

56–60	17.86	19.48
56–60	17.86	19.48
61–65	18.99	20.33
66–70	19.90	21.44
71+	22.49	24.11

Adaptat după: Mathiowetz V, Weber K, Kashman N, Volland G. *Adult Norms for the Nine Hole Peg Test of Finger Dexterity. The Occupational Therapy Journal of Research. 1985;5:24- 33.*

Tabelul A1.7. Scala Rankin modificată (mRS – modified Rankin Scale)

Scor	Descriere
0	Fără simptome
1	Fără dizabilitate semnificativă, în ciuda unor simptome Simptomele nu interferează cu activitatea zilnică, obișnuită a pacientului
2	Dizabilitate ușoară Incapabil să efectueze toate activitățile anterioare, dar poate să se îngrijească singur, fără ajutor
3	Dizabilitate moderată Simptomele restrâng în mod semnificativ activitățile obișnuite ale pacientului și îl împiedică să ducă o viață complet independentă (însă poate să meargă fără ajutor)
4	Dizabilitate moderat-severă Incapabil să ducă o viață independentă (nu poate să meargă fără ajutor, nu poate să se ocupe singur de necesitățile personale), dar nu necesită îngrijire permanentă
5	Dizabilitate severă Imobilizat la pat, incontinent, necesitând îngrijire permanentă zi și noapte
6	Decedat

Adaptat după: Bonita, R., Beaglehole, R. Modification of Rankin Scale: Recovery of motor function after stroke. In: *Stroke*. 1988, nr. 19(12), pp. 1497-1500.

Tabelul A1.8. Gradarea forței musculare – MRC test

0	No muscle activation
1	Trace muscle activation, such as a twitch, without achieving full range of motion
2	Muscle activation with gravity eliminated, achieving full range of motion
3	Muscle activation against gravity, full range of motion
4	Muscle activation against some resistance, full range of motion
5	Muscle activation against examiner's full resistance, full range of motion

Adaptat după: Williams, M. Manual muscle testing, development and current use. In: *Phys. Ther. Rev.* 1956, nr. 36(12), PP. 797-805. [PubMed: 13378993]

Anexa 2. Descrierea pacienților din lotul experimental și cel de control

Tabelul A2.1. Repartizarea subiecților pe loturi (abs., %)

	Abs.	%
Lot control	48	51
Lot experimental	47	49
Total	95	100

Tabelul A2.2. Repartizarea subiecților conform sexului (% , Abs.)

	Sexul					
	feminin		masculin		Total	
	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.
Lot control	40	19	60	29	100	48
Lot experimental	47	22	53	25	100	47
Total	43	41	57	54	100	95

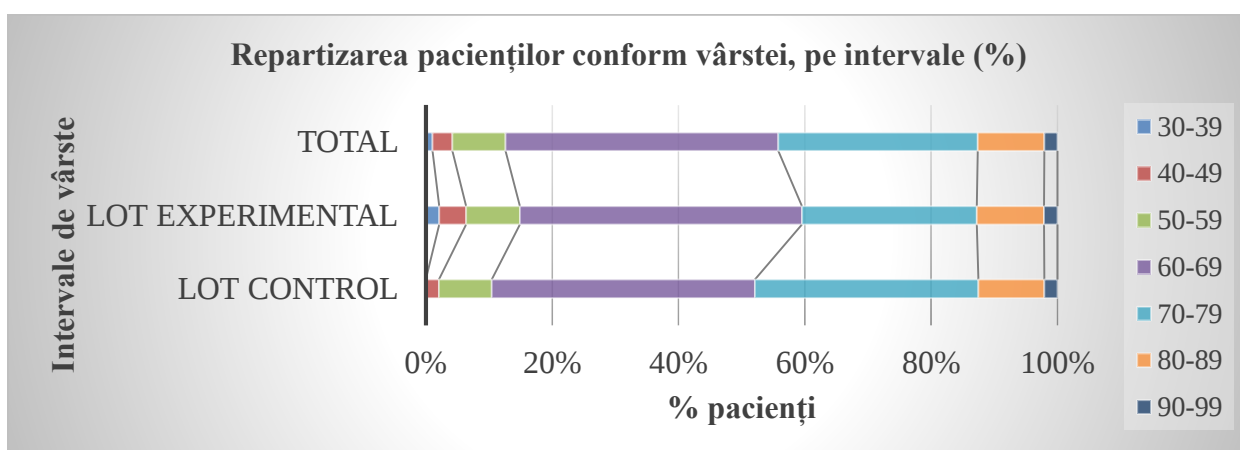


Fig. A2.1 Repartizarea pacienților conform vârstei (ani), pe intervale (%)

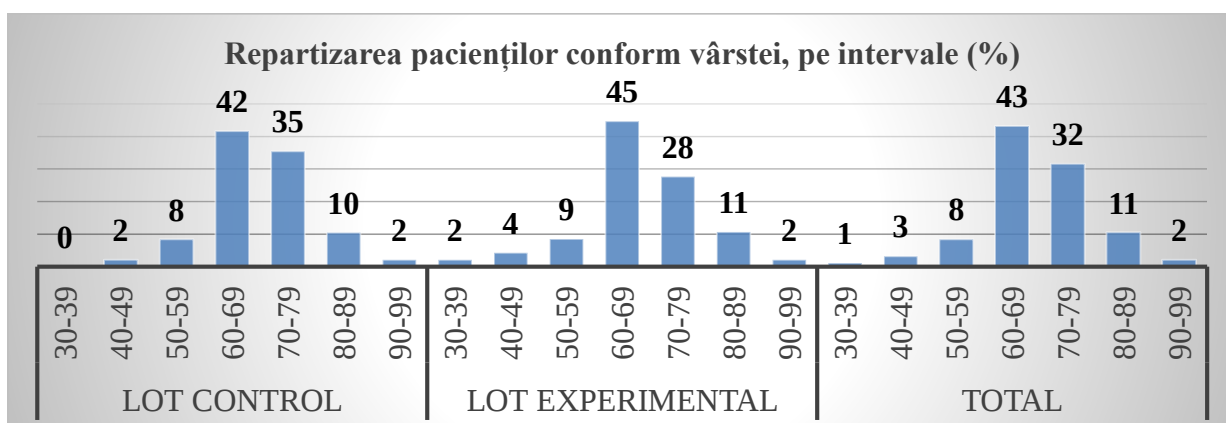


Fig. A2.2. Repartizarea subiecților conform vârstei, pe intervale (%)

Tabelul A2.3. Repartizarea subiecților conform vârstei, pe intervale (% , abs.)

	Vârsta (ani)															
	30-39		40-49		50-59		60-69		70-79		80-89		90-99		Total	
	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.
Lot control	0	0	2	1	8	4	42	20	35	17	10	5	2	1	100	48
Lot experimental	2	1	4	2	9	4	45	21	28	13	11	5	2	1	100	47
Total	1	1	3	3	8	8	43	41	32	30	11	10	2	2	100	95

Tabelul A2.4. Repartizarea subiecților conform mediului de reședință (% , abs.)

	Mediul de reședință					
	urban		rural		Total	
	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.
Lot control	73	35	27	13	100	48
Lot experimental	83	39	17	8	100	47
Total	78	74	22	21	100	95

Tabelul A2.5. Repartizarea pacienților conform ocupației (% , abs.)

	Ocupație							
	Șomer		Angajat		Pensionar		Total	
	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.
Lot control	0	0	25	12	75	36	100	48
Lot experiment	4	2	23	11	72	34	100	47
Total	2	2	24	23	74	70	100	95

Tabelul A2.6. Repartizarea subiecților conform activității fizice cotidiene (% , abs.)

	Nivelul activității fizice cotidiene					
	Sedentar		Relativ activ		Total	
	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.
Lot control	38	18	63	30	100	48
Lot experimental	36	17	64	30	100	47
Total	37	35	63	60	100	95

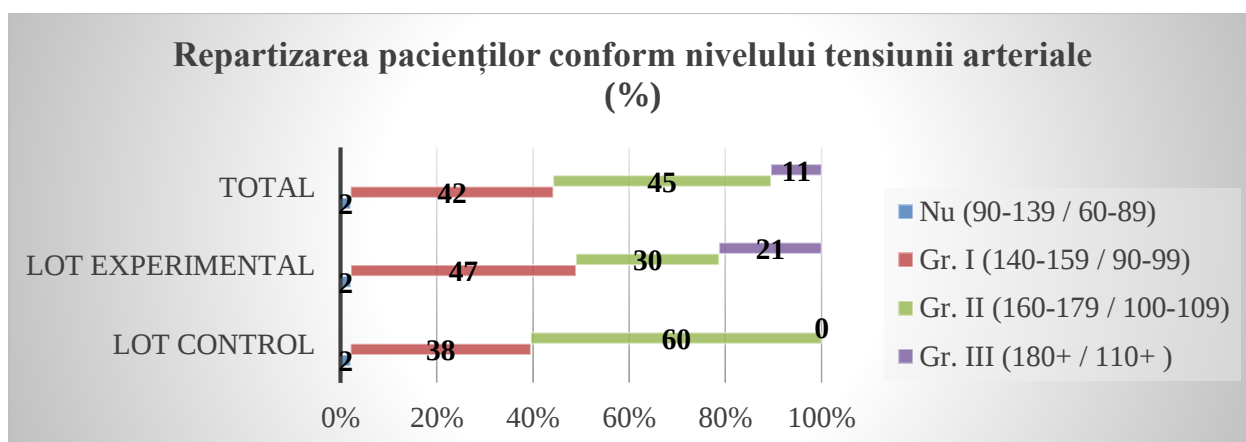


Fig. A2.3. Repartizarea subiecților conform nivelului tensiunii arteriale (%)

Tabelul A2.7. Repartizarea subiecților conform prezenței fibrilației atriale (% , abs.)

	Fibrilația atrială					
	Nu		Da		Total	
	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.
Lot control	73	35	27	13	100	48
Lot experimental	77	36	23	11	100	47
Total	75	71	25	24	100	95

Tabelul A2.8. Repartizarea pacineților conform prezenței diabetului zaharat (% , abs.)

	Diabet zaharat					
	Nu		Da		Total	
	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.
Lot control	69	33	31	15	100	48
Lot experimental	74	34	26	12	100	46
Total	71	67	29	27	100	94

Tabelul A2.9. Repartizarea subiecților conform prezenței dislipidemiei (% , abs.)

	Dislipidemie					
	Nu		Da		Total	
	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.
Lot control	25	12	75	36	100	48
Lot experimental	64	30	36	17	100	47
Total	44	42	56	53	100	95

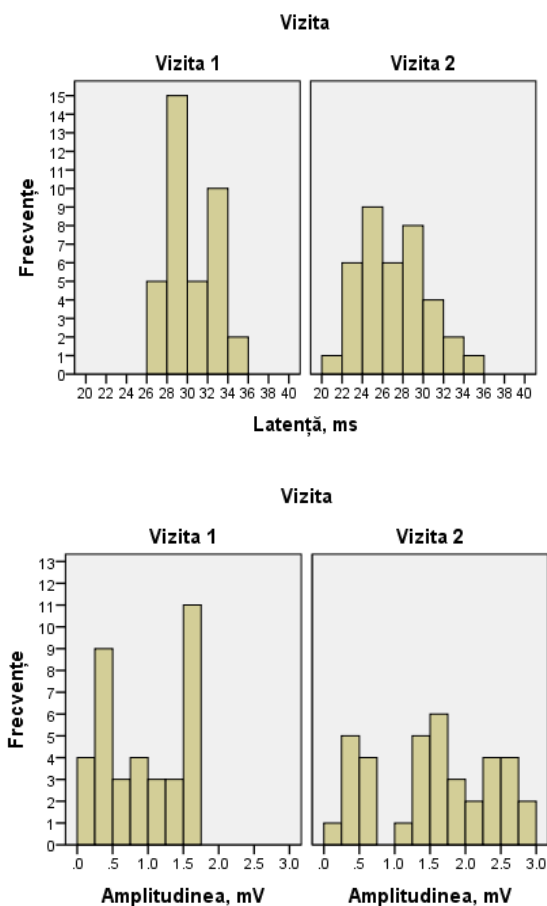
Anexa 3. Rezultatele investigațiilor paraclinice ale subiecților cu accident vascular cerebral

Tabelul A3.1. Repartizarea subiecților conform rezultatelor Doppler-Duplex al vaselor brahiocefalice (% , abs.)

	Rezultatele doppler-duplex al vaselor brahiocefalice							
	Fără stenoză		Stenoză <50%		Stenoză >50%		Total	
	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.
Lot control	20	8	59	24	22	9	100	41
Lot experimental	12	5	61	25	27	11	100	41
Total	16	13	60	49	24	20	100	82

Tabelul A3.2. Repartizarea subiecților conform emisferei afectate (% , abs.)

	Emisfera afectată					
	stângă		dreaptă		Total	
	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.
Lot control	54	26	46	22	100	48
Lot experiment	55	26	45	21	100	47
Total	55	52	45	43	100	95



Anexa 4. Rezultatele investigațiilor genetice asupra polimorfismului rs6265 al genei umane BDNF a subiecților cu accident vascular cerebral

Tabelul A4.1. Repartizarea genotipică pe loturi, în funcție de zigozitate (abs., %)

	Repartizarea genotipică în funcție de zigozitate					
	Fără mutație		Cu mutație		Total	
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%
Lot control	35	73	13	27	48	100
Lot experimental	34	72	13	28	47	100
Total	69	73	26	27	95	100

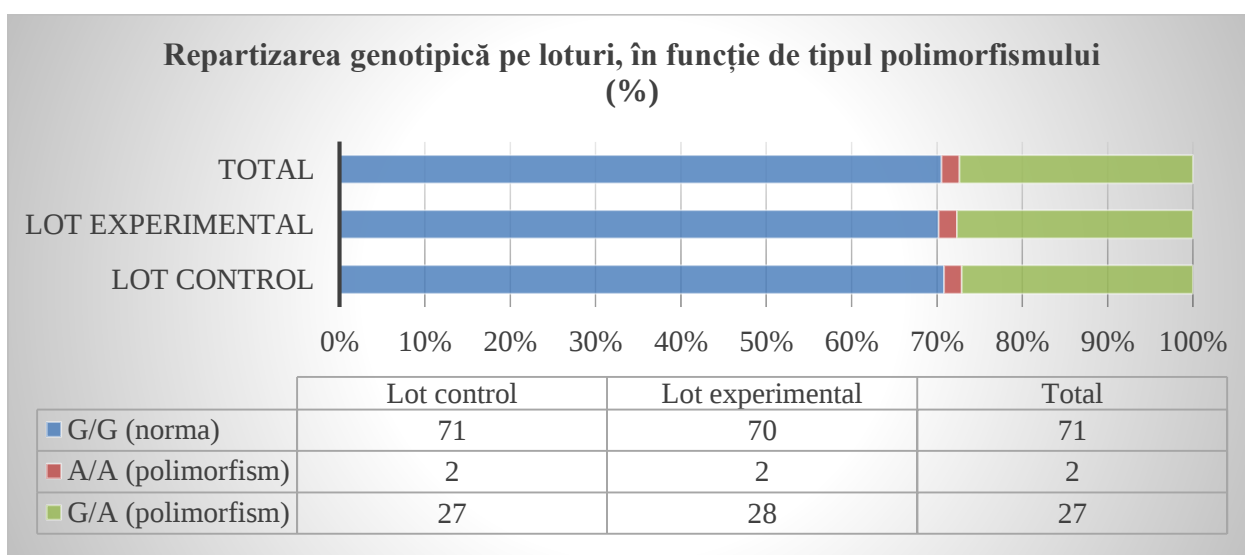


Fig. A4.1. Repartizarea genotipică pe loturi, în funcție de tipul polimorfismului (%)

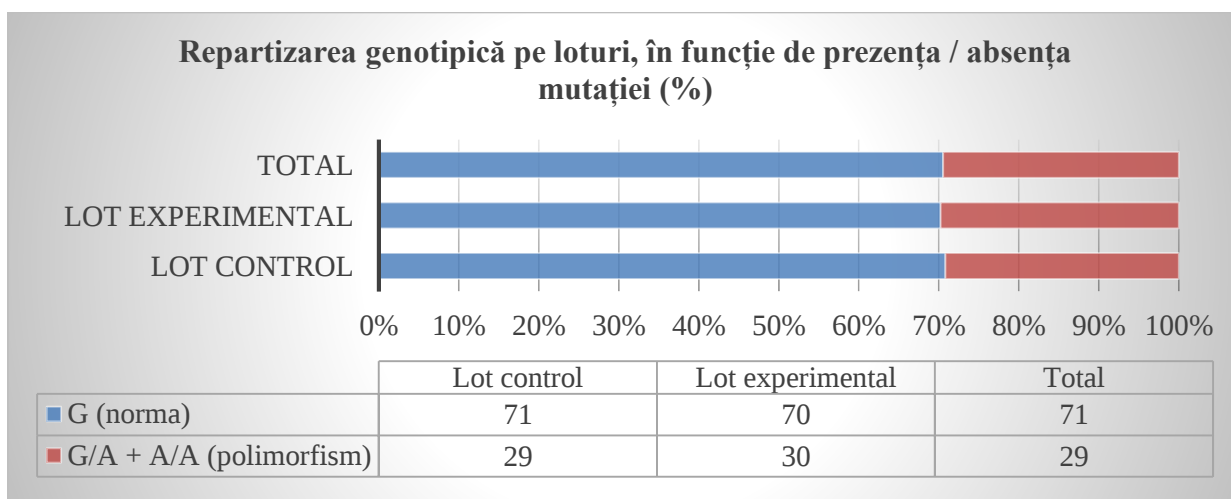


Fig. A4.1. Repartizarea genotipică pe loturi, în funcție de prezența / absența mutației (%)

Tabelul A4.2. Dinamica mediei latenței și amplitudinii PEM, în funcție de genotip

	Latența, (vizita I)		Latența (vizita II)		Amplitudinea (vizita I)		Amplitudinea (vizita II)		Dinamica latență		Dinamica amplitudine	
	ms	N	ms	N	mV	N	mV	N	ms	N	mV	N
Nonmutație	30.51	26	27.12	28	1.00	26	1.60	28	-3.68	24	.69	24
Mutație	30.35	11	27.78	9	.73	11	1.48	9	-2.79	8	.70	8
Întregul eșantion	30.47	37	27.28	37	.92	37	1.57	37	-3.46	32	.69	32

Anexa 5. Rezultatele și dinamica subiecților cu accident vascular cerebral, conform scalelelor de evaluare aplicate

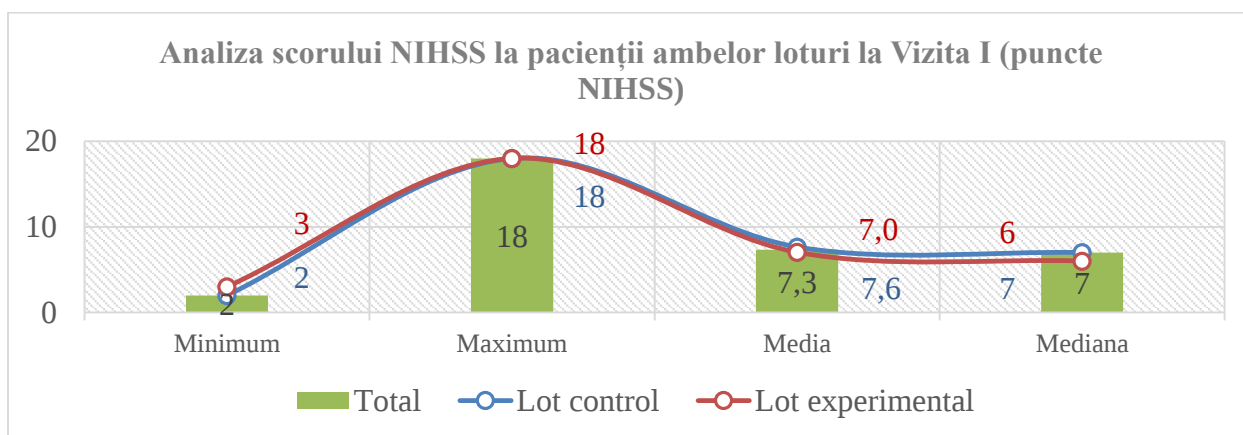


Fig. A5.1. Analiza scorului NIHSS la subiecții ambelor loturi la vizita I (puncte NIHSS)

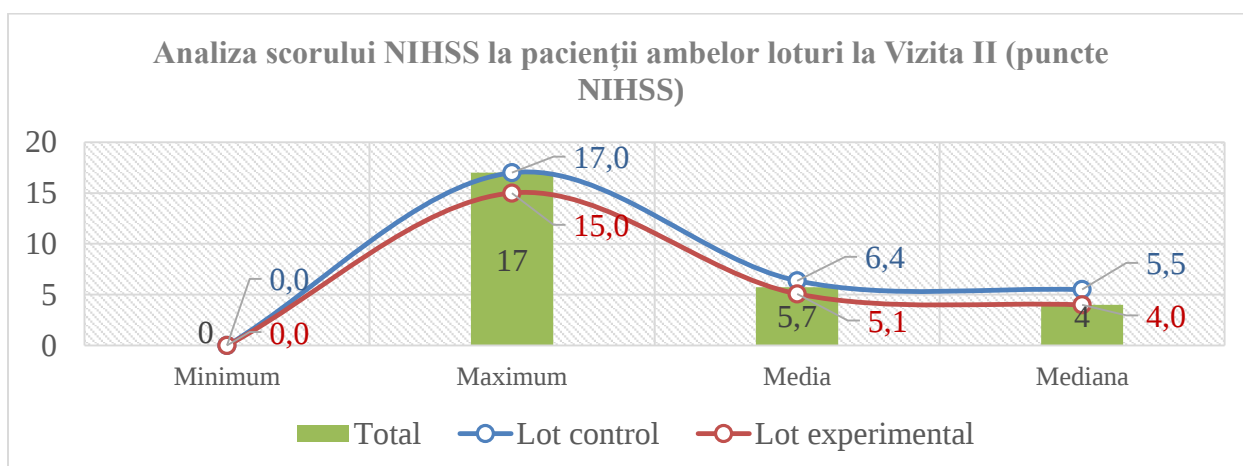


Fig. A5.2. Analiza scorului NIHSS la subiecții ambelor loturi la vizita II (puncte NIHSS)

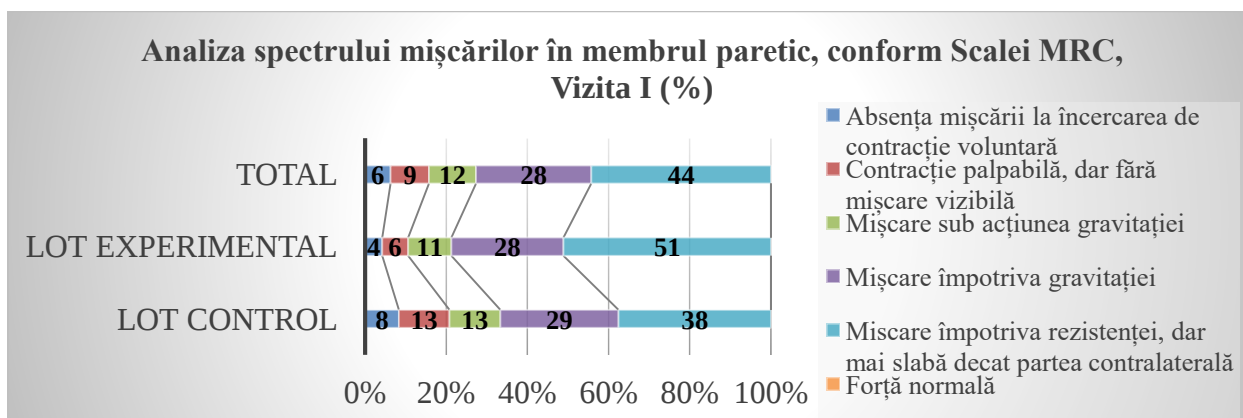


Fig. A5.3. Analiza spectrului mișcărilor în membrul paretic conform scalei MRC, vizita I (%)

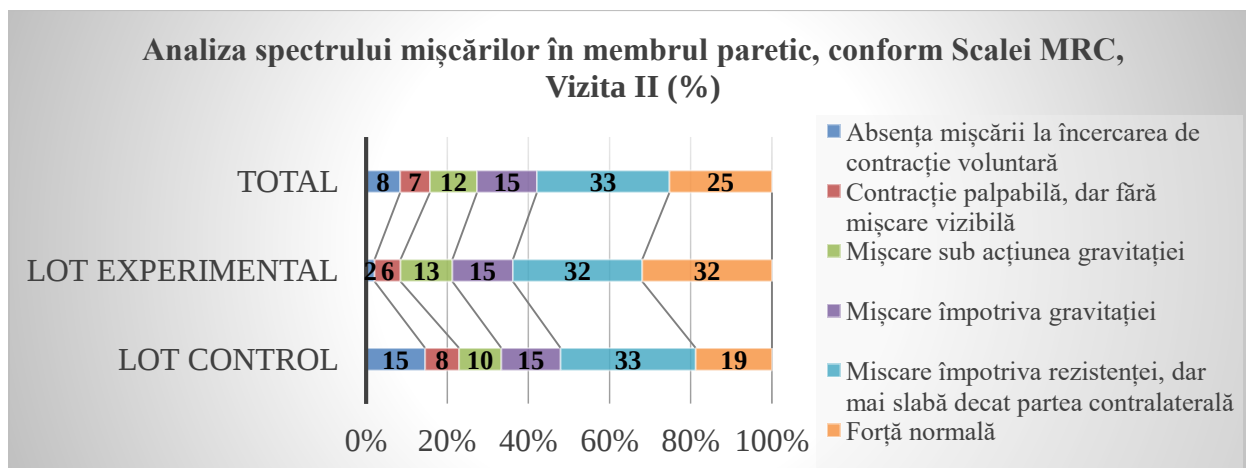


Fig. A5.4. Analiza spectrului mișcărilor în membrul paretic conform scalei MRC, vizita II (%)

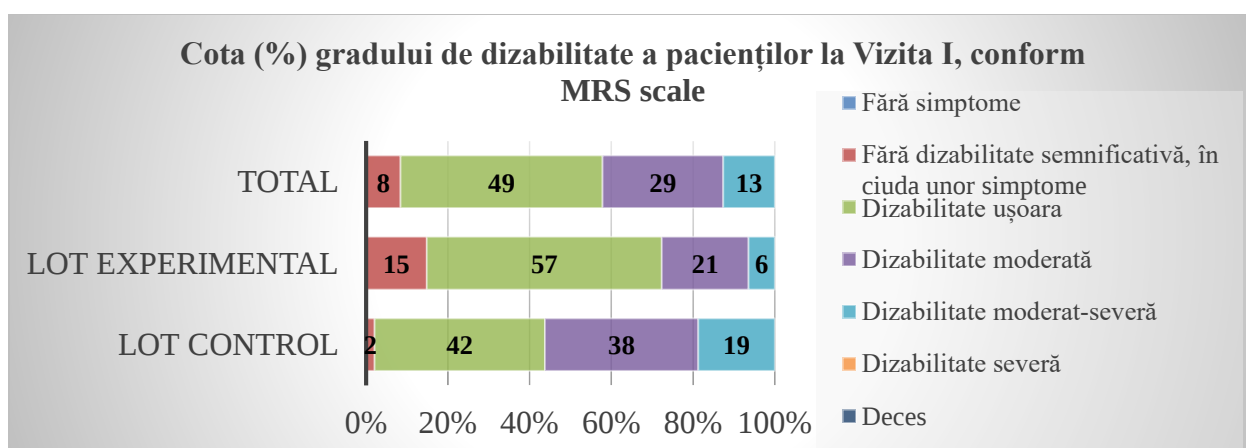


Fig. A5.5. Cota (%) gradului de dizabilitate a subiecților la vizita I, conform scalei MRS

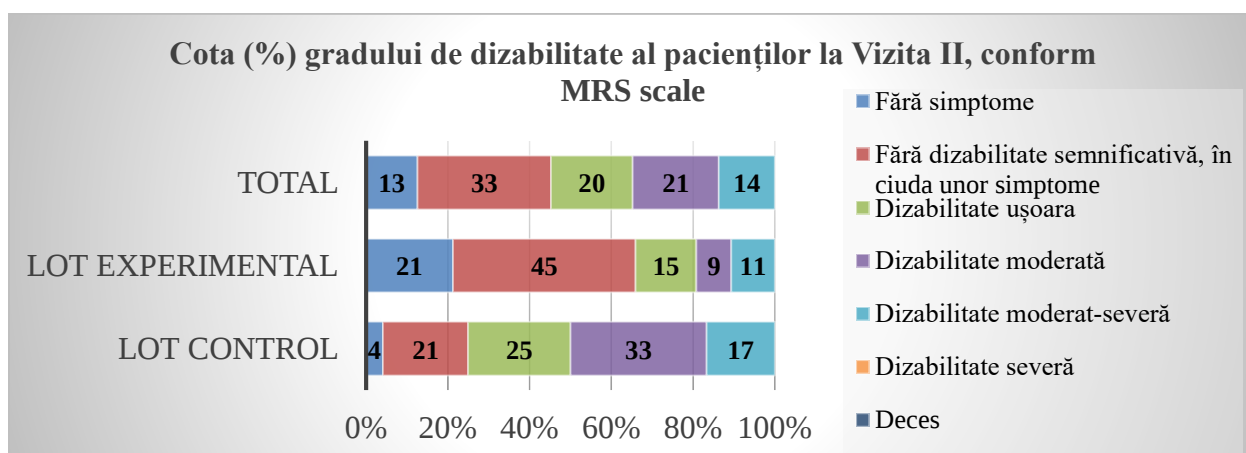


Fig. A5.6. Cota (%) gradului de dizabilitate a subiecților la vizita II, conform scalei MRS

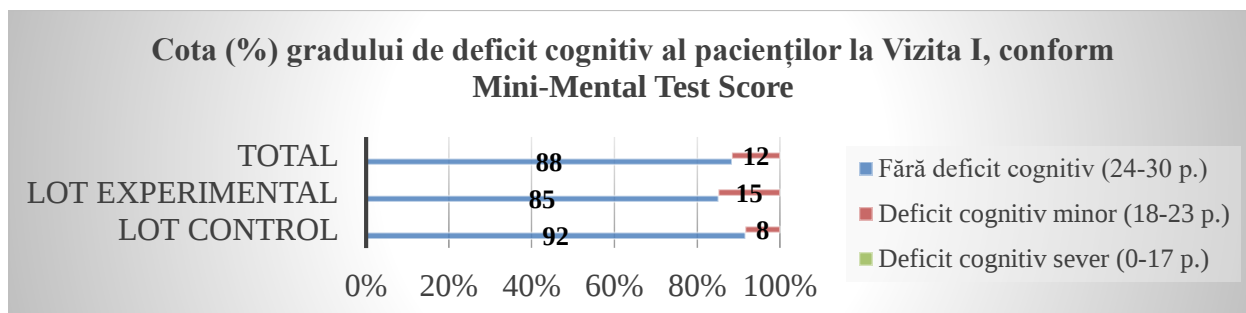


Fig. A5.7. Cota (%) gradului de deficit cognitiv al subiecților la vizita I, conform Mini-Mental Test Score

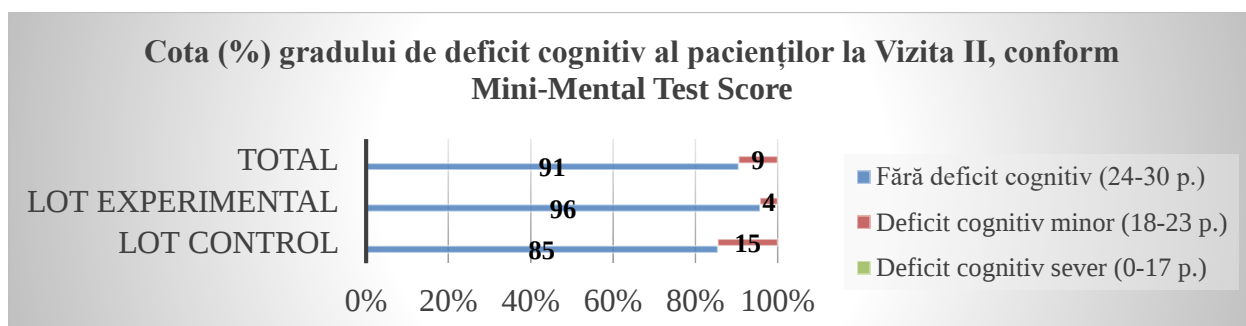


Fig. A5.8. Cota (%) gradului de deficit cognitiv al subiecților la vizita II, conform Mini-Mental Test Score

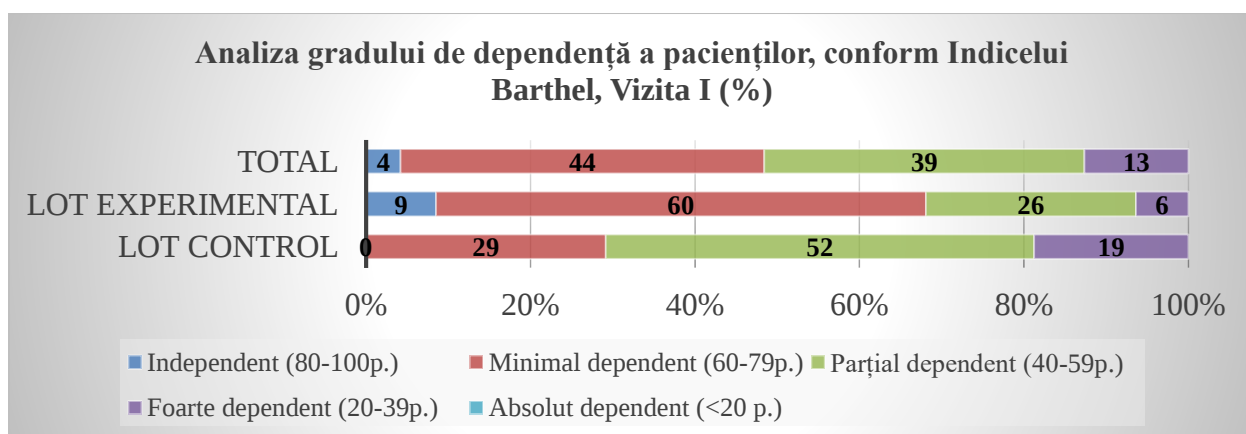


Fig. A5.9. Analiza gradului de dependență a subiecților, conform indicelui Barthel, vizita I (%)

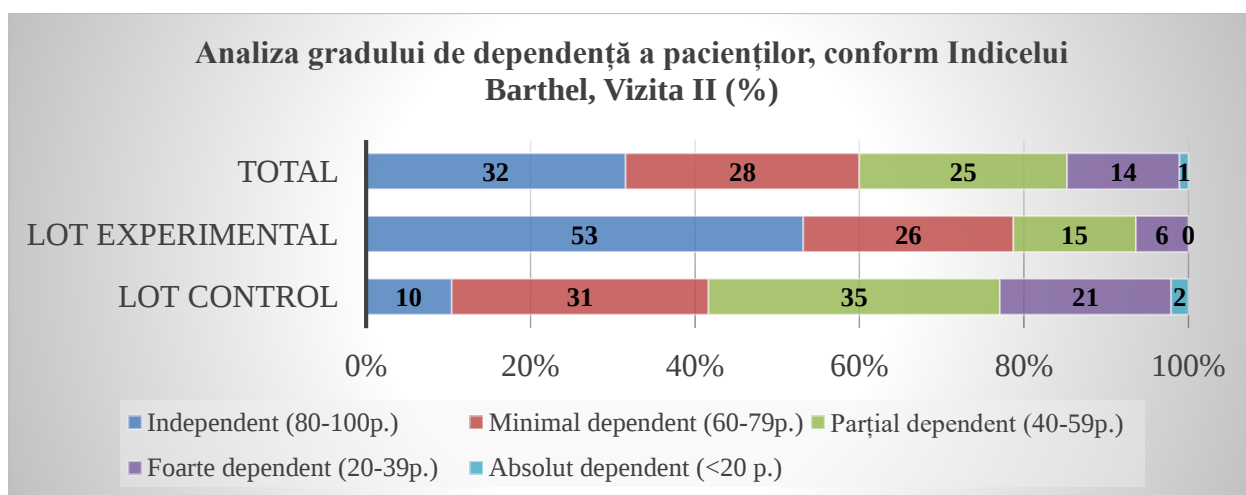


Fig. A5.10. Analiza gradului de dependență a subiecților, conform indicelui Barthel, vizita II (%)

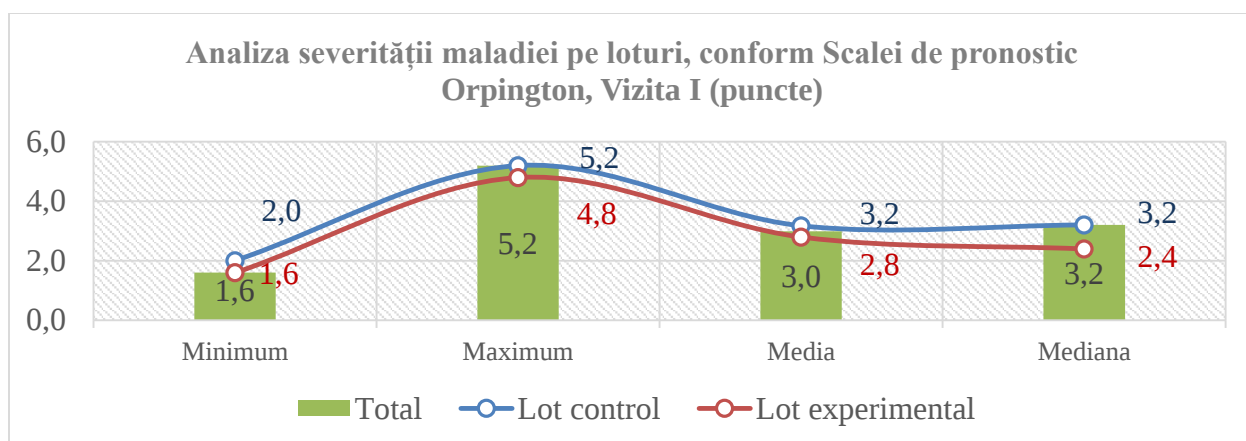


Fig. A5.11. Analiza severității maladiei pe loturi, conform scalei de prognostic Orpington, vizita I (puncte)

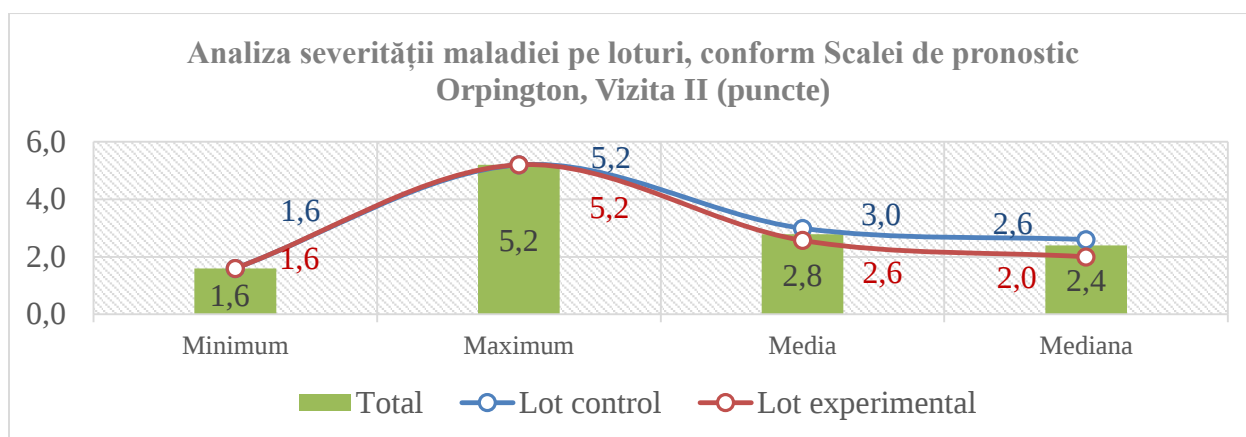


Fig. A5.12. Analiza severității maladiei pe loturi, conform scalei de prognostic Orpington, vizita II (puncte)

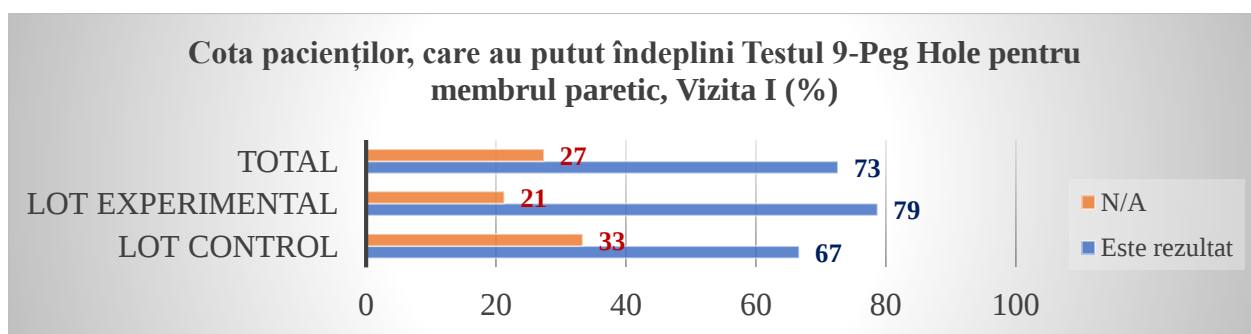


Fig. A5.13. Cota pacienților care au putut îndeplini testul 9-Peg Hole pentru membrul paretic, vizita I (%)

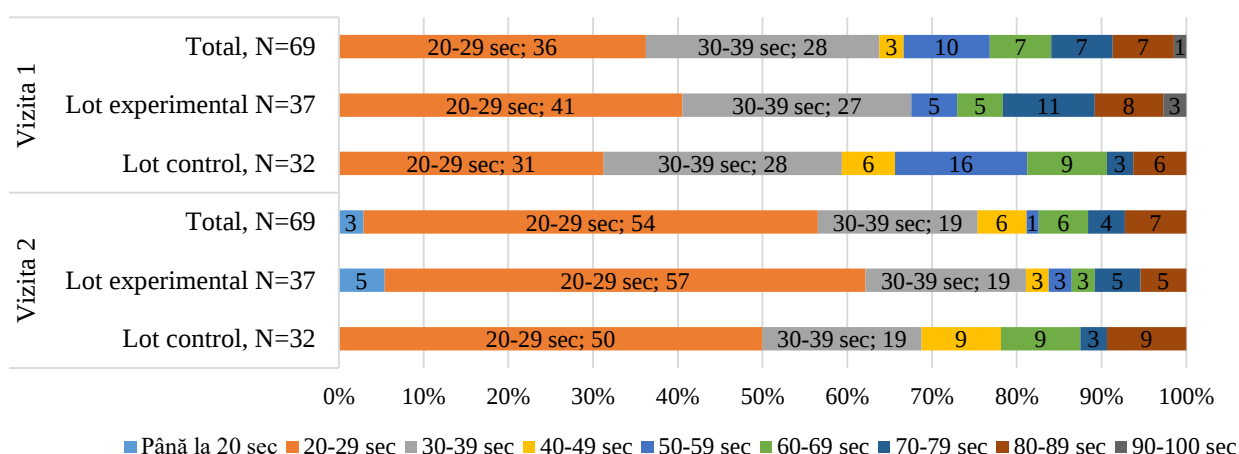


Fig. A5.14. Dinamica rezultatelor testului 9-Peg Hole pentru membrul paretic, vizitele I și II

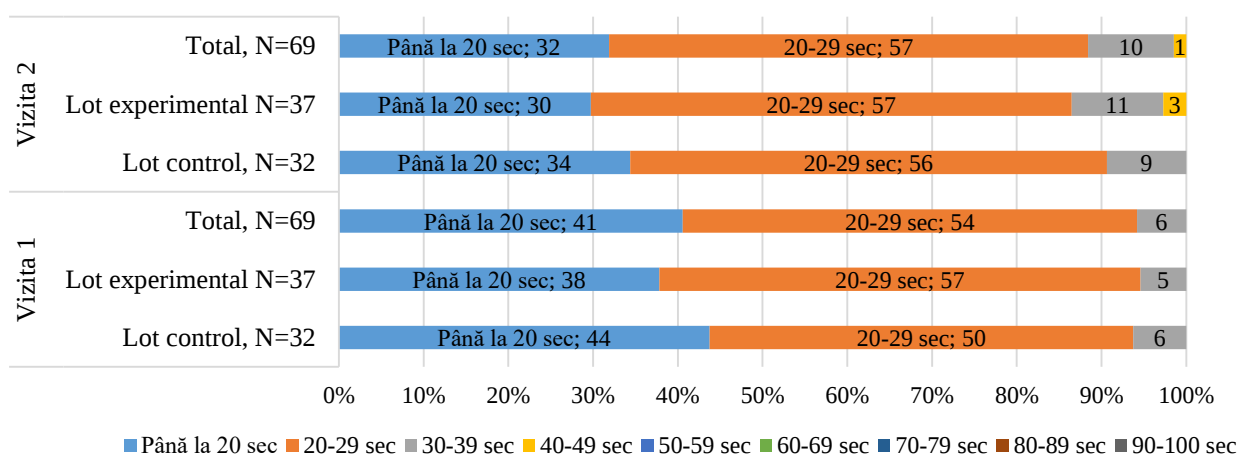


Fig. A5.15. Dinamica rezultatelor testului 9-Peg Hole pentru membrul nonparetic, vizitele I și II

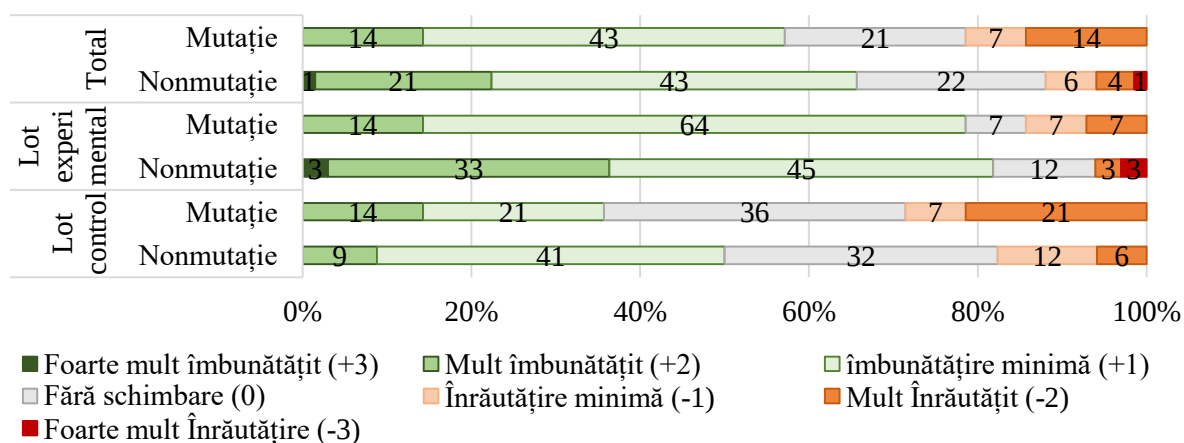


Fig. A5.16. Analiza percepției la externare conform impresiei clinice globale (EBEWE_1994), în funcție de genotip (%)

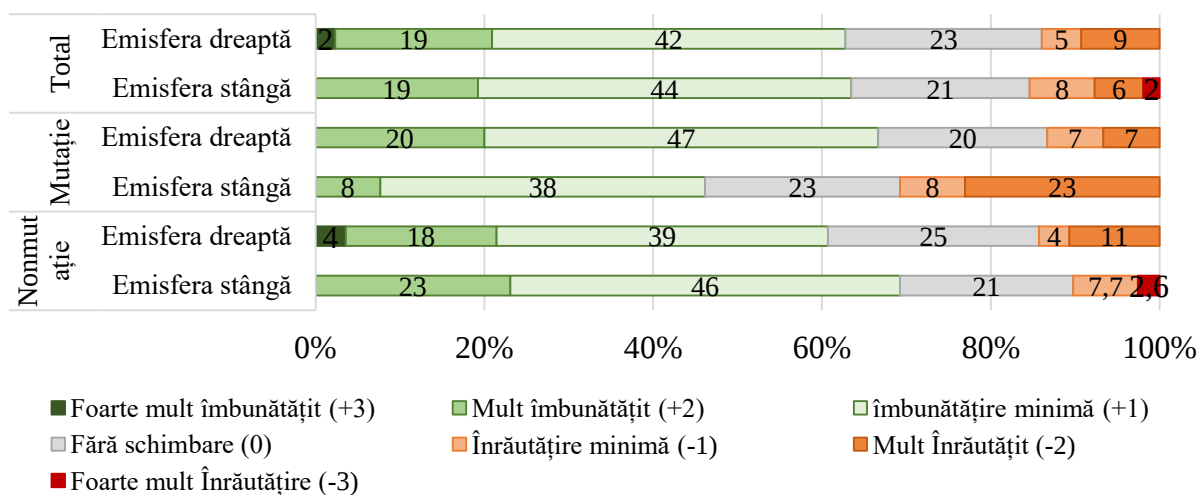


Fig. A5.17. Analiza percepției la externare conform impresiei clinice globale (EBEWE_1994), în funcție de emisfera afectată (%)

ACTE
privind implementarea rezultatelor cercetărilor științifico-practice ale doctorandului
Catedrei de neurologie nr.2 a USMF "Nicolae Testemițanu"

Anexa 6. Certificat de implementare a rezultatelor cercetărilor științifico-practice



REPUBLICA MOLDOVA
MINISTERUL SĂNĂTĂȚII
INSTITUȚIA MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ
CENTRUL NAȚIONAL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE MEDICINĂ URGENTĂ
2004, mun. Chișinău, str. T.Ciorba, 1 Tel 23-78-84

CERTIFICAT DE IMPLEMENTARE

METODA:

Implementarea metodei de stimulare magnetică transcorticală în diagnosticarea patologiei neurologice

Autori: St. Groppa, A.Gasnas, A.Hanganu

Plasticitatea neuronală este abilitatea creierului și sistemului nervos de a se schimba structural și funcțional ca rezultat la modificările din mediul intern sau extern. Procesul de plasticitate implică diferite structuri neuronale, variind de la modelare celulară în procesul diverselor implicări informaționale sau aptitudini noi, până la modificări ce determină o restructurare cerebrală. În domeniul controlului motor, TMS a fost folosit pentru a studia funcția în două moduri principale: prin testarea conectivității între structuri sau prin interferarea în funcția unor arii cerebrale specifice. În ambele cazuri, efectele pot fi testate după aplicarea pentru o perioadă a stimulării TMS repetitive, care poate produce schimbări plastice pe termen scurt în organizarea sinaptică.

Astfel a fost propusă și implementată ideea adaptării metodelor de reabilitare și de cercetare ale patologieilor cerebrale în dependență de nivelul de afectare, prin corelația cu criteriile generale de plasticitate și adaptare cerebrală.

Metoda a fost implementată în secțiile Neurologie, Neurologie BCV, Neurochirurgie I și II, CNȘPMU în mai 2012.

Director CNȘPMU
d.h.ș.m, prof. universitar



Gh. Ciobanu

Anexa 7. Certificat de inovator



Anexa 8. Certificat de înregistrare a obiectelor dreptului de autor și drepturilor conexe

REPUBLICA MOLDOVA

Agencia de Stat pentru
Proprietatea Intelectuala

CERTIFICAT
DE ÎNREGISTRARE A OBIECTELOR
DREPTULUI DE AUTOR ȘI DREPTURILOR CONEXE

SERIA OȘ Nr. 6201
DIN 29.10.2018

Eliberat în temeiul Legii nr.139/2010 privind dreptul de autor
și drepturile conexe, obiectul de pe verso a fost înregistrat în Registrul
de Stat al obiectelor protejate de dreptul de autor și drepturile conexe

Director General

CHIȘINĂU

Seria: OȘ (operă științifică)

Numărul de înregistrare: 6201

Data înregistrării: 15.10.2018

Numărul cererii: 956

Denumirea obiectului: „STIMULAREA NONINVAZIVĂ ȘI
KINETOTERAPIA ÎN RECUPERAREA
PACIENȚILOR CU AVC ISCHEMIC ACUT”

Autori:

Pîrțac Ion **IDNP:** 2005024022500

Groppa Stanislav **IDNP:** 0962102893536

Ciocanu Mihail **IDNP:** 0981403013650

Samotiuc Elena **IDNP:** 0981802010931

Danail Serghei **IDNP:** 0980412029317

Gasnaș Alexandru **IDNP:** 0981906889280

Titularii drepturilor patrimoniale:

Instituția Medico-Sanitară Publică "INSTITUTUL DE MEDICINĂ URGENTĂ"

IDNO: 1003600152606

Instituția Publică Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae
Testemițanu" din Republica Moldova

IDNO: 1007600000794

L.S.

Sef Direcție Drept de Autor



DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII

Subsemnatul, declar pe răspundere personală că materialele prezentate în teza de doctorat sunt rezultatul propriilor cercetări și realizări științifice. Conștientizez că, în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

Gasnaș Alexandru

Semnătura:

Data:

CURRICULUM VITAE

Numele: Gasnaș
Prenumele: Alexandru
Cetățenia: Republica Moldova



Experiența de lucru:

- | | |
|--------------|---|
| 2014–prezent | • Medic neurolog în Departamentul de Neurologie, Boli interne și Epielptologie în cadrul IMSP Institutul de Medicină Urgentă; |
| 2012–2017 | • Medic neurolog în cadrul Spitalului Internațional MedPark; |
| 2015–prezent | • Secretar științific al Societății Neurologilor din Republica Moldova; |
| 2014–prezent | • Asistent universitar al Catedrei Neurologie Nr.2 în cadrul IP USMF "Nicolae Testemițanu"; |
| 2009–prezent | • Cercetător științific în Laboratorul de Neurobiologie și Genetică Medicală al IP USMF "Nicolae Testemițanu"; |

Studii:

- | | |
|-----------|--|
| 2011-2015 | • Doctorand al Catedrei Neurologie Nr.2, al IP USMF „Nicolae Testemitanu”, Chisinau, Moldova, domeniul – Neurologie Clinică; |
| 2010-2012 | • Master în Business și Administrarea Afacerii, Academia de Studii Economice din Republica Moldova; |
| 2008-2011 | • Medic-rezident Neurolog în cadrul Catedrei Neurologie nr.2 al IP USMF „Nicolae Testemitanu”, Chisinau, Moldova; |
| 2008-2009 | • Asistent medical, în Departamentul de Neurologie și Neuroreanimare, al IMSP Institutul de Medicină Urgentă, Chisinau, Moldova; |
| 2005-2006 | • Asistent medical, în Departamentul de Anesteziologie și Reanimare Generală, al IMSP Institutul de Medicină Urgentă, Chisinau, Moldova; |
| 2002-2008 | • Licența în Medicină generală, facultatea – Medicină Generală, IP USMF „Nicolae Testemitanu”, Chisinau, Moldova; |
| 1991-2002 | Liceul Academic Român-Englez "Mircea Eliade", Chisinau, Moldova |

Stagii:

- | | |
|------------------|---|
| 2018.06.29-07.01 | • Eforie Nord, România - The 8th International Teaching Course on Neurorehabilitation; |
| 2018.06.21-22 | • Londra, Marea Britanie - Queen Square Hospital, Neurogenetics Internship; |
| 2018.05.13-26 | • Bucuresti, Romania - Workshop de electromiografie; |
| 2017.07.02-06 | • Eforie Nord, Romania – Al 7lea Curs European Educațional pe Neuroreabilitare; |
| 2017.06.30-07.02 | • Eforie Nord, Romania – RoNeuro Brain Days; |
| 2017.10.21 | • Iasi, Romania – Al XV-lea Simposion Iași–Chișinău; |
| 2017.03.05-10 | • Londra, Marea Britanie – Queen Square Hospital, Observership în domeniul Neurogeneticii; |
| 2017.10.25-26 | • Montpellier, France –Workshop pe tratamentul acut al Accidentului vascular cerebral; |
| 2017.04.27-29 | • Odessa, Ukraine – Curs Regional Educațional EAN; |
| 2017.11.27-28 | • Stockholm, Sweden – Workshop pe tratamentul acut al Accidentului vascular cerebral; |
| 2016.04.21-24 | • Sibiu, Romania – Internship pe Neurologie, Polisano Clinic; |
| 2016.04.7-8 | • Lund, Suedia – Cea de-a 2a Conferință Internațională "Imaging in Congenital Heart Interventions"; |
| | • Chisinau, Moldova – Cel de-al 5-lea Congres National al neurologilor din |

- 2015.10.1-3 Republica Moldova, concomitant cu Cel de-al 14-lea Simpozion Iași-Chișinău;
 • Cluj Napoca, Romania – Al 5lea Curs European Educațional pe Neuroreabilitare și al 14lea Congres al Societății Europene de Neurofarmacologie Clinică;
 2015.06.1-5 Salzburg, Austria – Seminare în domeniul Neurologiei “Weill Cornell Seminar in Neurology”;
 2015.03.1-8 Chisinau, Moldova – Curs educational ”Tulburările de mișcare”.
- 2014.11.28-29

Domenii de interes științific:

Stimularea magnetică transcraniană, Neuroplasticitatea cerebrală, Patologiile vasculare cerebrale, Tratamentul endovascular acut în AVC (trombectomiile, tromboliza).

Participări în proiecte științifice naționale și internaționale:

1. Proiect instituțional al Universității de Stat de Medicină și Farmacie ”Nicolae Testemițanu.” Epilepsia farmacorezistentă: factorii de risc, aspectelepolimorfismului clinic, neuroimagic, neurofiziologic și rolul lor in evaluarea prechirurgicală”, perioada 2015-2019, Diector de Proiect: Groppa Stanislav, dr. hab. șt. med., prof. univ., academician AȘM, șef laborator.. Cifrul Proiectului 14.04.083F.
2. Proiect din cadrul Programului de Stat „Sistemogeneza factorilor de risc, optimizarea serviciului de asistență medicală, evaluarea durabilă și modelarea matematică a Accidentelor Vasculare Cerebrale” pentru anii 2017 – 2019. Proiectul „Implementarea metodelor de tratament terapeutic și endovascular în asistența de urgență a pacientului cu AVC ischemic.” Cifrul Proiectului: 16.00418.80.10A.

Participări la manifestări științifice (naționale și internaționale):

- Conferința științifică internațională *Al 5-lea Curs de Instruire European pe Neuroreabilitare și al 14-lea Congres a Societăților Europene pentru Neurofarmacologie Clinică. Cluj Napoca, Romania, 1 – 5 Iunie, 2015;*
- Conferința științifică internațională *RoNeuro Brain Days, 6th European Teaching Course on Neurorehabilitation, Cluj-Napoca, Romania, 1 – 3 iunie, 2016.*
- Conferința științifică internațională *The 8th European Teaching Course on Neurorehabilitation. Eforie Nord, România, 29 iunie -1 iulie 2018.*
- *Conferința Științifică Națională de Neuroștiințe cu participare internațională, concomitent cu Congresul reunit de neurologie și Simpozionul Iași-Chișinău 2017, ediția a XV-a, Iași, România, 19-22 octombrie 2017*
- Conferința științifico-didactică națională cu participare internațională *The XIX-th Session of the Balkan Medical Days and the 2nd Congress of Emergency Medicine of the Republic of Moldova "Actualities and Controversies in Emergency Medicine" 2013, 22-24 septembrie, Chisinau, Moldova.*
- Conferința Științifiă Anuală a Colaboratorilor și Studenților USMF "Nicolae Testemițanu". 2014, 15-17 octombrie, Chișinău, Moldova.
- Conferința Științifică Anuală a specialiștilor IMU "Actualități și controverse în managementul urgențelor medico-chirurgicale", Chișinău, Moldova, 2014, 7 mai.
- Congresul național cu participare internațională *al V-lea al Neurologilor din Republica Moldova, concomitent cu Simpozionul al XIV-lea al Neurologilor și Neurochirurgilor Chișinău-Iași, 2 – 5 octombrie 2015, Chișinău, Moldova.*
- Conferința Științifiă Anuală a specialiștilor IMU "Actualități și controverse în managementul urgențelor medico-chirurgicale", Chișinău, Moldova, 9 decembrie 2016.
- Conferința Științifică Anuală a tinerelor specialiști IMU "Performanțe și perspective în urgențele medico-chirurgicale", Chișinău, Moldova, 20 mai 2016.

- Conferința Științifică Anuală a specialistilor din cadrul IMSP IMU „Actualități și Controverse în managementul urgențelor medico-chirurgicale.”, 10 noiembrie 2017, IMSP IMU, Chisinau, Republica Moldova.
- Congresul național cu participare internațională al VI-lea al Neurologilor și Neurochirurgilor din Republica Moldova consacrat anului Nicolae Testemițanu, 2 – 5 octombrie 2017, Chișinău, Moldova.
- Conferința Științifică Anuală a tinerilor specialiști din cadrul IMSP IMU „Actualități și controverse în managementul urgențelor medico-chirurgicale”, Chișinău, Moldova, 7 decembrie 2018.
- Conferința Științifică Anuală dedicată Zilelor Universității USMF “N. Testemițanu”. Chișinău. Republica Moldova, 18 octombrie 2018.

Lucrări științifice și științifico-metodice publicate: 21, 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.

Premii, mențiuni, distincții, titluri onorifice:

- GROPPA S.A., CIOBANU GH., CHIOSA V., GASNAS A. Diplomă din partea Academiei de Științe a Moldovei și AITT pentru ”Cea mai bună implementare a unei invenții” – pentru ”Implementarea stimulării magnetice transcraniene în practica neurologică în Republica Moldova”. În cadrul *Expoziției Naționale Specializată, "INFOINVENT 2013"*, 21 noiembrie 2013, Chișinău, Moldova.
- GASNAS A. Diploma de onoare pentru Raportul: „Rolul polimorfismului rs6265 al genei BDNF în recuperarea funcțională a pacienților după accident vascular cerebral.” - comunicare în cadrul *Zilelor Universității USMF “N. Testemițanu”*. 18 octombrie 2018, Chișinău, Moldova.
- GROPPA S.A., CHIOSA V., GASNAS A., BALANUTA T., CIOLAC D. Medalia de Bronz pentru Proiectul 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 cadrul *Expoziției Naționale Specializate, "INFOINVENT 2015"*, 25-28 noiembrie 2015, Chișinău, Moldova.

Apartenență la societăți/asociații științifice naționale și internaționale;

- Membru Societatea Neurologilor din Republica Moldova;
- Membru EAN (European Academy of Neurology);
- Membru WFN (World Federation of Neurology);
- Membru RRFS (Resident and Research Fellow Section, EAN).

Cunoașterea limbilor:

	Limba rusă	Limba engleză	Limba franceză
Abilitatea de a citi	Excelent	Excelent	Excelent
Abilitatea de a scrie	Excelent	Excelent	Excelent
Abilitatea de a vorbi	Excelent	Excelent	Excelent
Certificare		C1	

Date de contact de serviciu:

Adresa: or. Chișinău, str. Toma Ciorba 1, MD 2004

Telefon: +373 69988856; e-mail: gasnas.alex@yahoo.com