

# ENCEFALOPATIA HIPOXIC-ISCHEMICĂ PERINATALĂ (EHIP). AGENȚI FARMACOLOGICI ȘI NEFARMACOLOGICI ÎN CURS DE EXPERIMENTARE. PERSPECTIVE TERAPEUTICE

V. Popescu\*, Magdalena Efrim\*, Mihaela Răduț-Ștefănescu\*, Elena Bălănescu\*, Alice Antrășian\*

## REZUMAT

Patologia legată de acțiunea hipoxiei și ischemiei la nou-născut este întâlnită în mod obișnuit în unitățile de terapie intensivă. Deși efectele hipoxiei și ischemiei sunt persistente, evoluția clinică este determinată de impactul pe care acestea îl au asupra creierului. Impactul hipoxiei și ischemiei asupra sistemului nervos realizează encefalopatia hipoxic-ischemică, care este evident una din cele mai frecvente afecțiuni cerebrale întâlnite în perioada neonatală.

Fizopatologia leziunilor cerebrale hipoxic-ischemice este prezentată în contextul celor 5 "pattern"-uri neuropatologice de bază cunoscute: necroza neuronală selectivă; starea marmorată a ganglionilor bazali și talamusului; leziunea cerebrală parasagitală; leucomalacia periventriculară; necroza cerebrală ischemică focală și multifocală. Deși aceste leziuni coexistă adesea, în funcție de natura "injuriei" și vârsta gestațională a copilului, una dintre ele va fi dominantă.

Se subliniază că în prezent EHIP nu beneficiază de o terapie specifică, cu efect de limitare a leziunilor cerebrale după naștere.

După mulți ani de cercetări experimentale pe animale cu o serie de agenți farmacologici (inhibitori ai sintezei de radicali liberi și "măturători" ai radicalilor liberi, antagoniști ai aminoacizilor excitatori tip glutamat, blocanți ai canalelor de calciu, inhibitori ai sintezei oxidului nitric) sau alți agenți farmacologici (monosialoganglioizide, factori de creștere, glucocorticoizi, fenobarbital) precum și cu măsuri terapeutice nefarmacologice (hiperglicemia, hipercapnia ușoară, hipotermia locală sau sistemică, condiționarea hipoxică) se constată că niciuna din acestea nu și-au dovedit eficacitatea în prevenirea sau tratamentul leziunilor cerebrale secundare EHIP.

Aceasta face ca EHIP să fie considerată în prezent ca cea mai importantă problemă nerezolvată a neonatologiei.

Este momentul să se concentreze toate eforturile pentru realizarea unui sistem care să faciliteze cooperarea între specialiștii neuropatologii, neonatologii, clinicienii neurologi, obstetricieni, farmacologi, psihologi, asistenți medicali care împreună să pună în aplicare un program de studii complexe ale căror rezultate să vină în sprijinul nou-născuților supuși agresiunii hipoxic-ischemice, într-o manieră mai eficientă și mai puțin costisitoare.

O serie de autori (Vannucci R., Perlman J., Wyatt J. și col., Jerold F. Lucey etc.) propun organizarea unui program complex de cercetare multidisciplinară care să fie susținut de personalități cu putere decizională și executivă. Se oferă ca model grupul de oncologie pediatrică a Institutului Național de Cancer din SUA, în care sunt incluși 95% din copiii bolnavi de cancer sub vârsta de 18 ani. Se dorește același lucru în domeniul tratamentului EHIP. Dacă se va reuși punerea la punct a unui astfel de program există toate premisele pentru realizarea unor progrese în terapia unei afecțiuni care până în prezent nu beneficiază de un tratament eficient. Se întrevăd metode noi ca de exemplu ventilația în sistem lichid (*liquid ventilation*) la nou-născuții cu greutate foarte mică și terapia cu staniu mezoporfirin (Stannate) pentru prevenirea hiperbilirubinemiei, ambele metode fiind în stadiul în care să poată trece la studiul clinic.

**Cuvinte cheie:** Encefalopatia hipoxic-ischemică perinatală (EHIP); caracteristici ale "injuriei" hipoxic-ischemice cerebrale; agenți farmacologici și nefarmacologici în curs de experimentare; perspective de tratament.

## ABSTRACT

### Hypoxic-ischemic encephalopathy in newborn. Perspective data

Neurologic pathology determined by hypoxic-ischemia in newborn is one of the major problems in neonatal intensive care units. Although the effects of hypoxia and ischemia on the fetus are pansystemic, the clinical course is determined by the impact of hypoxia-ischemia on the newborn's brain, that results in hypoxic-ischemic encephalopathy, that obviously is one of the most frequent neurological disorder in the neonatal period.

The physiopathology of hypoxic-ischemic brain damage is presented by the means of five well-known neuropathological patterns: selective neuronal necrosis; *status marmoratus* of basal ganglia and thalamus; parasagittal lesions; periventricular leukomalacia; focal and multifocal ischemic cerebral necrosis. Often these lesions coexist, although one of them is predominant, depending on the type of injury and gestational age.

Present therapies to prevent, or treat perinatal brain damage are ineffective.

Hypoxic-ischemic encephalopathy is the most important, unsolved, neglected problem in neonatology.

Until now, in the field of neuroprotection there have not been many promising new therapies available.

Unfortunately, new therapies for hypoxic-ischemic encephalopathy currently under intense investigation, especially in experimental animals - inhibitors of oxygen-free radical generation and free-radicals scavengers, antagonists of excitatory amino acids, calcium channel blockers and nitric oxide synthase inhibitors, among others - are irrelevant, being of limited clinical benefit and of no predictive value.

This is the time to try to set up a system that would facilitate cooperation between basic neuroscientists, obstetricians, neonatologists, National Institute of Child Health and Human Development, National Institute of Neurological Disorders and Stroke, foundations, the Food and Drug Administrations, neonatal networks and industry. The model system could be similar to the National Cancer Institute's Pediatric Oncology Group.

The goal is the elimination of perinatal brain damage.

**Key words:** Hypoxic-ischemic encephalopathy in newborn; characteristics of hypoxic-ischemic brain damage; pharmacologic agents under experimental investigation; nonpharmacologic interventions; perspective data.

\* Prof. Dr. Valeriu Popescu, dr. Magdalena Efrim, dr. Mihaela Răduț-Ștefănescu, dr. Elena Bălănescu, dr. Alice Antrășian - Spitalul Clinic de copii "Dr. V. Gomoiu" București

## 1. Introducere

Hipoxia-ischemia cerebrală perinatală rămâne o cauză frecventă a paraliziei cerebrale, retardului mintal, dificultăților în procesul instructiv-educativ și epilepsiei.

Se estimează că între 2 și 4 la 1000 de nou-născuți la termen prezintă asfixie în cursul nașterii sau scurt timp înainte de naștere. Aproximativ 15-20% din acești nou-născuți asfixiați ce prezintă encefalopatie hipoxic-ischemică decedează în cursul perioadei neonatale, iar dintre supraviețuitori 25% vor prezenta deficiențe neuropsihice permanente (Vannucci R.C., Perlman J.M., 1997). Acest fapt a impus studiarea strategiilor pentru prevenirea sau minimalizarea consecințelor pe termen lung ale hipoxiei-ischemiei cerebrale perinatale.

În trecut, intervențiile terapeutice pentru encefalopatia hipoxic-ischemică perinatală la nou-născutul la termen constau din medicamente ce reduceau severitatea edemului cerebral secundar hipoxiei-ischemiei, incluzând diuretice osmotice (manitol, furosemid), glucocorticoizi și barbiturice.

Unul câte unul, aceste medicamente, ca și alte mijloace de tratament ale edemului cerebral au fost discreditate, astfel, în prezent, nici un agent farmacologic nu și-a dovedit utilitatea în practică în ameliorarea leziunii cerebrale hipoxic-ischemice perinatale. Nu există încă standarde universale privind tratamentul nou-născutului la termen cu hipoxie-ischemie cerebrală.

## 2. Caracteristici ale leziunilor cerebrale hipoxic-ischemice

Leziunea cerebrală hipoxic-ischemică este un proces evolutiv, care începe în cursul "injuriei" și se continuă și în perioada de recuperare după resuscitare ("intervalul de reperfuzie") (Vannucci R.C., Palmer C., 1997). "Injuria" tisulară se traduce prin 5 "modele" de bază: necroza neuronală selectivă, starea marmorată a ganglionilor bazali și talamusului, leziunea cerebrală parasagitală, necroza cerebrală ischemică focală și multifocală și leucomalacia periventriculară (ultima fiind apanajul în special al ischemiei la prematuri). Deși aceste leziuni coexistă adesea, una din ele tinde să fie mai importantă, în funcție de natura dominantă a "injuriei" (hipoxie sau ischemie) și vârsta gestațională a copilului.

Cel mai frecvent "injuria" cerebrală îmbracă forma necrozei neuronale selective sau a infarctizării focale și multifocale, ultima cu distrugerea tuturor elementelor celulare, incluzând neuronii, celulele gliale și vasele sangvine (Vannucci R.C., Perlman J.M. 1997).

Când se produce infarctizarea, neuronii din aria imediat învecinată (aria de penumbră) vor suferi procesul de necroză sau apoptoză (moarte celulară programată). Aria de penumbră se pare că are cel mai mare potențial de reversibilitate la acțiunea diferitelor metode terapeutice.

La nivel celular, hipoxia-ischemia cerebrală declanșează o cascadă de evenimente biochimice, începând cu înlocuirea metabolismului oxidativ cu cel anaerob (glicoliză), ducând la acumularea de NADH (nicotinamid-adenin-dinucleotid), FADH (flavin-adenin-dinucleotid) și acid lactic, plus ioni de hidrogen. Glicozida anaerobă nu poate asigura necesitățile energetice celulare, ducând la o depleție a rezervelor de fosfat macroergic, incluzând adenozin trifosfatul (ATP).

Transferul transcelular de ioni se reduce, determinând

acumularea intracelulară de ioni de sodiu, calciu și clor și apă (edem citotoxic).

Hipoxia-ischemia stimulează, de asemenea, eliberarea de aminoacizi excitatori (glutamat) la nivelul terminațiilor axonice. Eliberarea de glutamat, la rândul său, activează receptorii de suprafață celulară ai glutamatului, inducând un influx de sodiu și de calciu. În citosol, acizii grași liberi se acumulează ca urmare a unui turnover crescut al fosfolipidelor membranare, iar ulterior sunt supuse peroxidării prin intermediul radicalilor liberi de oxigen generați de procesele reducătoare din mitocondrii și ca produși secundari ai sintezei prostaglandinelor, xantinei și acidului uric. Calciul se acumulează în citosol secundar creșterii influxului prin membrana plasmatică (celulară), *via* canalele de calciu voltaj-sensibile și a scăderii efluxului de-a lungul membranei plasmatică, asociat cu eliberarea sa din mitocondrii și reticulului endoplasmatic. Oxidul nitric este generat *via* activarea calciului în neuroni selectați și difuzează în celulele adiacente, susceptibile la toxicitatea acestuia.

Efectele combinate ale falimentului energetic celular, acidozei, neurotoxicității glutamatului și oxidului nitric, formării de radicali liberi, acumulării și peroxidării lipidice duc la distrugerea componentelor structurale ale celulei cu moartea ei în cele din urmă.

Fereastra terapeutică este acel interval de după resuscitarea pacienților cu hipoxie-ischemie, în cursul căreia se poate interveni eficace pentru reducerea severității leziunii cerebrale finale. Datorită procesului lent de necroză neuronală și apoptoză observat la oamenii adulți și animalele de experiență adulte, la aceștia "fereastra terapeutică" se poate extinde pe o durată de câteva ore până la o zi sau chiar mai mult. Aceasta nu este însă și cazul animalelor aflate în perioada perinatală și, probabil, nici a nou-născuților umani, la care procesul de distrucție celulară este mult mai rapid decât la adulți. Ca urmare, la nou-născutul la termen "fereastra terapeutică" este scurtă, nedepășind 1 - 2 ore. Nici un medicament nu a fost găsit eficient în reducerea severității leziunii cerebrale hipoxic-ischemice la animalele imature atunci când a fost administrat la peste 2 ore după terminarea acțiunii injuriei hipoxic-ischemice.

O altă preocupare privind intervenția terapeutică asupra nou-născutului la termen cu asfixie o constituie identificarea nou-născuților care prezintă cel mai crescut risc de leziune cerebrală permanentă. Datorită "ferestrei terapeutice" presupusă scurtă, acești nou-născuți trebuie identificați cât mai rapid după naștere, astfel ca la sosirea în unitatea de terapie intensivă neonatală să se poată lua măsurile terapeutice adecvate cât mai rapid. Studiile clinice sugerează că nou-născuții cu cel mai mare risc de leziune cerebrală hipoxic-ischemică sunt cei care dezvoltă anomalii progresive ale ritmului cardiac la scurt timp după naștere, cei care sunt deprimați sever la naștere (scor Apgar foarte mic), cei ce dezvoltă acidoză cu un pH sub 7 (determinat în sângele din cordonul ombilical) și cei care necesită resuscitare majoră în sala de naștere, incluzând masaj cardiac extern și intubație.

## 3. Agenți farmacologici în curs de experimentare

Printre medicamentele aflate în prezent în curs de investigare, în special pe animalele de experiență, se numără

...beri și "măturătorii"  
...aminoacizilor excitatori,  
...inhibitorii sintezei oxidului

### ...rii și "măturătorii" radicalilor ...oxygen

Se presupune că maniera în care radicalii liberi produc sau contribuie la producerea leziunii cerebrale este legată de capacitatea lor de a ataca acizii grași plasmatici și membranele subcelulare. Acizii grași polinesaturați par, în mod special, predispuși atacului peroxidativ al radicalilor liberi ce inițiază și perpetuează reacțiile în lanț din miezul hidrofobic al bistratului lipidic, ducând în final la fragmentarea membranei. Creierul este deosebit de sensibil la atacul radicalilor liberi. Fierul liber (Fe: fierul nelegat de proteine) și oxidul nitric sunt participanți importanți la agresiunea oxidativă, deoarece ei transformă speciile de oxigen slab reactive în radicali liberi toxici. Prevenirea formării acestor produși poate fi obținută prin înlăturarea superoxidului sau peroxidului de hidrogen, sau a catalizatorului reacției, în special Fe.

Deoarece toate sistemele biologice generează radicali liberi, chiar în condiții fiziologice, în celule există enzime ce protejează constituenții acestora de efectul oxidant al peroxidului de hidrogen și al produșilor lui metabolici; aceste enzime includ superoxid dismutaza, endoperoxidaza și catalaza, care convertesc peroxidul de hidrogen în apă sau oxigen stabil. Alte mijloace de apărare sunt reprezentate de "măturătorii" endogeni, ce includ colesterolul, alfa-tocoferolul (vitamina E), acidul ascorbic (vitamina C) și compușii ce conțin tiol, în principal glutatoniul. Astfel, celulele, inclusiv neuronii, sunt capabile să distrugă rapid radicalii liberi pe căi enzimatică și neenzimatică.

Radicalii liberi sunt generați în cursul și după hipoxie-ischemie pe mai multe căi. În primul rând, radicalii liberi sunt produși în mitocondrii atunci când citocrom-oxidaza nu este complet saturată cu oxigen. Acești radicali liberi nu pot fi consumați și trec în citoplasmă. Alte surse de radicali liberi în cursul hipoxiei-ischemiei, și în special al "perioadei de reperfuție", le constituie sinteza prostaglandinelor din acid arahidonic și conversia hipoxantinei în xantină și acid uric, procese în care radicalii liberi sunt produși secundar. Medicamentele care inhibă formarea radicalilor liberi sau care-i distrug rapid pot fi, deci, eficiente în reducerea severității leziunii cerebrale hipoxie-ischemice.

Radicalii liberi și speciile de oxigen reactive (superoxidul și peroxidul de hidrogen) produc injuria tisulară doar atunci când radicalii depășesc apărarea antioxidantă endogenă a creierului. Nou-născutul, în special prematurul, ar fi, în mod particular sensibil la injuria radicalilor liberi datorită unei deficiențe relative de antioxidanți cerebrali, incluzând superoxid dismutaza și glutatonioperoxidaza. Prematurul are și niveluri circulante mici ale glutatoniului și o incapacitate relativă de a sechestra fierul datorită nivelurilor scăzute de transferină.

O modalitate terapeutică de distrugere precoce a radicalilor generați în cursul și după hipoxie-ischemie a fost administrarea de enzime specifice cunoscute ca degradând radicalii foarte reactivi. Administrarea enzimelor antioxidante superoxid-dismutaza și catalaza conjugate cu polietilenglicol s-a dovedit a reduce leziunea cerebrală hipoxie-ischemică și a menține stabilitatea barierei

hematoencefalice. Intervalul prelungit necesar enzimelor conjugate pentru a penetra barierea hemato-encefalică reduce utilitatea lor clinică în "injuria de reperfuție", ele fiind, în general, protectoare doar atunci când sunt administrate cu multe ore înaintea agresiunii hipoxie-ischemice.

Medicamentele potențial eficiente în influențarea favorabilă a evoluției leziunii cerebrale hipoxie-ischemice includ agenți care inhibă reacțiile specifice sintezei de prostaglandine și de xantină, a căror formare implică formarea de radicali liberi. Allopurinolul, ca și oxipurinolul, care sunt inhibitori "măturători" de xantinoxidază, protejează șobolanii imaturi de leziunea cerebrală hipoxie-ischemică, chiar și în cazul administrării lor la foarte scurt timp după resuscitare. Indometacinul, un inhibitor de ciclooxigenază și fosfolipază, a ameliorat, de asemenea, leziunea cerebrală ischemică la animalele adulte și a redus substanțial sinteza de radicali liberi în cursul "reperfuției secundare" hipoxie-ischemice la porcii nou-născuți. În fine, membrii unei clase de produși numiți 21 aminosteroidi (lazeroidi) s-au dovedit de asemenea a fi neuroprotectori la modelele animale atât adulte, cât și imature, supuși hipoxiei-ischemiei cerebrale.

Datele recente sugerează că celulele inflamatorii circulante și endogene acționează ca mediatori ai injuriei hipoxie-ischemice în creierul imatur, probabil prin producerea de radicali liberi. Factorul activator plachetar, un mediator inflamator fosfolipidic puternic, este sintetizat în creier, concentrația lui crescând în cursul ischemiei cerebrale. În plus, Liu și colab. (1996) au arătat că, la șobolanii imaturi, antagonistul factorului activator plachetar BN 52021 atenuează leziunea cerebrală hipoxie-ischemică. Acesta a fost eficient chiar și atunci când a fost administrat imediat după reperfuție și apoi repetat la două ore după hipoxie-ischemie.

### 3.2. Antagoniștii aminoacizilor excitatori

O serie de studii experimentale pe animale au relevat rolul aminoacidului excitator glutamat în producerea leziunii hipoxie-ischemice în creierul imatur și adult. În primul rând, glutamatul este, în mod direct, toxic pentru neuronii maturi în cultură. În al doilea rând, neuronii din cultură și din secțiunile hipocampice mor prin expunere la hipoxie, dar moartea lor poate fi prevenită prin prezența magneziului ( $Mg^{2+}$ ), care blochează receptorii glutamatului de la nivelul canalului ionic de  $Ca^{2+}$ , sau prin antagoniștii specifici ai glutamatului. În al treilea rând, injectarea directă de glutamat sau agonisti ai glutamatului în regiuni specifice ale creierului *in vivo* produce injurie neuronală identică cu cea observată după hipoxie-ischemie. În al patrulea rând, deaferentarea aferențelor excitatorii glutaminergice în hipocamp reduce leziunea produsă de hipoxie-ischemie. Aceste studii oferă dovezi convingătoare că expunerea excesivă a neuronilor la glutamat, așa cum se întâmplă în cursul hipoxiei-ischemiei, duce la alterări morfologice caracteristice necrozei neuronale ischemice.

Constatarea că stimularea excesivă a receptorilor de suprafață neuronală de către glutamat induce moarte neuronală și că în cursul hipoxiei-ischemiei are loc eliberarea de glutamat din terminațiile axonice în spațiul sinaptic, a justificat realizarea de studii asupra agenților farmacologici care, fie ar inhiba eliberarea de glutamat, fie ar bloca acțiunea lor postsinaptică. Inhibitorii eliberării glutamatului din terminațiile nervoase (de exemplu, baclofen) nu au fost

investigații ca medicamente potențial neuroprotectoare, în timp ce antagoniștii receptorilor de suprafață glutaminergică au fost supuși unui studiu extensiv pe animale de experiență. Dintre antagoniștii disponibili, cei care afectează receptorii NMDA și AMPA/QA sau canalele ionice pe care le deservesc, au fost cel mai bine studiați. Compușii disponibili includ printre alții fenciclidina, dextrometorfanul, ketamina, MK-801 și NBQX. Acești compuși au fost găsiți eficace în reducerea extensiei leziunii cerebrale hipoxic-ischemice la animalele adulte, chiar atunci când au fost administrați la 24 ore după injuria metabolică. Studiile experimentale pe animale imature au arătat că antagoniștii receptorilor glutamatului sunt capabili de a reduce severitatea leziunii cerebrale hipoxic-ischemice.

S-a sugerat că antagoniștii receptorilor NMDA și AMPA sunt în prezent cele mai puternice medicamente disponibile pentru ameliorarea efectului hipoxiei ischemiei cerebrale.

Cationul bivalent  $Mg^{2+}$  acționează ca un antagonist al receptorilor glutamatului, mergând până la blocarea influxului neuronal de  $Ca^{2+}$  prin canalele ionice. S-a dovedit că sulfatul de magneziu reduce severitatea leziunii cerebrale hipoxic-ischemice la șobolanii imaturi.

Un studiu retrospectiv a sugerat că feții prematuri ale căror mame au primit sulfat de magneziu pentru tratamentul preeclampsiei sau ca agent tocolitic prezintă un risc mai mic de a dezvolta paralizie cerebrală comparativ cu un grup de feți de aceeași vârstă gestațională neexpuși la medicament. Pe baza investigațiilor Nelson și Grether (1995) au sugerat că sulfatul de magneziu ar avea un efect protector față de leziunea cerebrală la feții imaturi și nou-născuți.

În prezent Levene și col. (1995) realizează un studiu randomizat, controlat, pentru a determina efectul protector al sulfatului de magneziu la nou-născuții la termen cu asfixie.

### 3.3. Blocanții canalelor de calciu

Datorită multiplelor sale funcții calciul ( $Ca^{2+}$ ) este adesea considerat un mesager intracelular secund. Cationul bivalent  $Ca^{2+}$  este implicat, în mod intim, ca și cofactor în numeroase reacții biochimice, acționând ca un reglator al homeostaziei metabolice celulare. Ca urmare, o alterare a concentrațiilor  $Ca^{2+}$  liber intracelular are efecte negative asupra funcției neuronale.

Mecanismele prin care alterările echilibrului  $Ca^{2+}$  ce apar în cursul hipoxiei-ischemiei cerebrale și contribuie la leziunea cerebrală sunt legate de tulburările acelor reacții biochimice la care participă acest cation.

Dată fiind neurotoxicitatea  $Ca^{2+}$ , atunci când concentrațiile sale intracelulare cresc la niveluri periculoase, au apărut medicamente ce inhibă influxul  $Ca^{2+}$  în neuron. Dintre numeroșii blocanți ai canalelor de  $Ca^{2+}$  disponibil în prezent, Flunarizina și Nimodipine par cei mai eficace în reducerea extensiei leziunii cerebrale hipoxic-ischemice, cel puțin la animalele adulte. În plus o serie de cercetători au demonstrat o ameliorare a alterărilor neuropatologice de la șobolanii maturi supuși hipoxiei-ischemiei și pretratați cu Flunarizina. Efectul neuroprotector al blocanților canalelor de  $Ca^{2+}$  nu este, însă, la fel de mare ca cel al antagoniștilor aminoacizilor excitatori.

### 3.4. Inhibitorii producerii de oxid nitric

Recent, experimentele sugerează că oxidul nitric (NO) este implicat în cascada evenimentelor metabolice ce produc sau contribuie la apariția leziunii cerebrale hipoxic-ischemice

(Szabo C. 1996).

La concentrații ex neurotoxic și ar putea con excitotoxicitatea aminoacizilor. animalele adulte sugerează neuronală după ischemia cerebrală acționa ca agent neurale poate fi redusă prin admini finală pentru inhibitorilor activității NO-sintetazei.

### 3.5. Monosiaglogangliozidele

Recent s-a demonstrat că pre- și posttratamentul cu  $GM_1$  protejează feții de oaie aproape de termen de leziunea cerebrală hipoxic-ischemică. Mecanismul exact prin care  $GM_1$  protejează creierul de injuria hipoxic-ischemică este necunoscut dar, probabil, incorporarea lui în membranele celulare induce stabilizarea integrității și funcției membranei.

### 3.6. Factorii de creștere

Numeroși factori sunt importanți pentru creșterea și maturarea normală a creierului. Nu este, deci, surprinzător faptul că acești factori de creștere ar putea fi alterați de hipoxia-ischemia cerebrală și că administrarea lor ar putea fi neuroprotectoare. Factorul de creștere al nervilor *nerve growth factor* s-a dovedit a reduce severitatea leziunii cerebrale hipoxic-ischemice la șobolanul imatur (Holtzmann și colab. 1996). Alți factori de creștere ar putea avea o eficacitate similară.

### 3.7. Glucocorticosteroidii

Glucocorticosteroidii au fost folosiți anterior la nou-născuți, copii și adulți pentru a reduce edemul cerebral secundar hipoxiei-ischemiei. Studiile clinice controlate asupra folosirii steroizilor în doze mici și respectiv mari, predominant la pacienții adulți cu comă traumatică, au indicat însă că aceste medicamente nu atenuază creșterile presiunii intracraniene și nici nu ameliorează starea neurologică (Dearden și colab., 1986). Studiile experimentale sugerează de asemenea că glucocorticosteroidii sunt ineficace în reducerea edemului cerebral sau a leziunilor neuropatologice ce acompaniază accidentul vascular cerebral ischemic la animalele adulte (Plum și colab. 1963).

Datele clinice și experimentale indică că glucocorticoidii administrați cu puțin timp înainte sau după hipoxia-ischemia cerebrală nu ameliorează evoluția neurologică sau neuropatologică și că ar putea crește morbiditatea și mortalitatea.

Mecanismul(e) prin care glucocorticoidii protejează creierul în curs de dezvoltare de leziunea cerebrală hipoxic-ischemică este însă în curs de elucidare.

### 3.8. Fenobarbitalul

Administrarea barbituricelor pentru protejarea creierului de efectele hipoxiei-ischemiei este subiect de studiu de mai bine de 20 de ani.

Hall RT și colab. (1998) într-un studiu prospectiv, urmărit pe o perioadă de 3 ani, au determinat în ce măsură administrarea de doze mari de fenobarbital i.v. la nou-născuții cu asfixie perinatală severă poate reduce incidența convulsiilor și a sechelelor neurologice după encefalopatia hipoxic-ischemică perinatală.

Rezultatele acestui studiu au indicat faptul că o doză inițială mare de fenobarbital (40 mg/kg) nu a fost urmată

de reducerea cu 50% a incidenței convulsiilor clinice, dar a fost însoțită de o ameliorare a evoluției copiilor cu asfixie perinatală severă. S-a constatat totuși o reducere cu 27% a incidenței convulsiilor, proporție fără semnificație statistică, dar care ar putea avea importanță din punct de vedere clinic.

Se presupune că fenobarbitalul are parțial efecte neuroprotectoare prin reducerea metabolismului cerebral și a consumului de oxigen. Convulsiile se asociază cu un necesar metabolic crescut și pot agrava leziunile neurologice produse de hipoxie-ischemie. Stabilizarea și menținerea fluxului sangvin cerebral în timpul asfixiei constituie un obiectiv important. Se afirmă că datorită proprietăților sale vasoconstrictoare, fenobarbitalul reduce edemul cerebral și injuria de reperfuzie după faza acută a agresiunii hipoxic-ischemice. Este posibil ca efectele benefice ale fenobarbitalului asupra evoluției neurologice să se datoreze efectului de reducere a fluxului sangvin cerebral și a metabolismului cerebral în timpul fazei de reperfuzie a EHIP, care urmează acumulării de acid lactic dar care precede depleția severă de adenozintrifosfat. În studiul lui Hall și colab. (1998) fenobarbitalul s-a administrat după stabilizarea tensiunii arteriale, ventilației și parametrilor acido-bazici.

Rezultatele studiului sunt încurajatoare privind tratamentul precoce cu doze mari de fenobarbital, dar nu trebuie considerate dovezi ale eficacității acestuia. Supravegherea pe termen lung a cazurilor din lotul de studiu este obligatorie pentru determinarea efectelor asupra dezvoltării funcției cognitive. În prezent, există posibilitatea efectuării unor studii sofisticate în care să se apeleze la monitorizarea EEG continuă, la spectroscopie prin rezonanță magnetică și la măsurarea fluxului sangvin cerebral pentru evaluarea efectelor terapiei.

### 3.9. Terapie combinată

Se pune problema dacă o combinație de agenți terapeutici ar fi mai eficace în reducerea severității leziunilor cerebrale hipoxic-ischemice, în comparație cu utilizarea unui singur medicament. Studiile pe animale, ce relevă existența unei cascade de evenimente metabolice în cursul hipoxiei-ischemiei și în perioada de după resuscitare care împreună produc leziunea cerebrală (Vannucci, 1990), pledează în favoarea terapiei combinate. Se ridică unele întrebări. În primul rând, medicamentele alese (sau alte mijloace de intervenție), ar trebui aplicate în paralel sau secvențial? Dacă se aplică secvențial, când se realizează aceasta? În al doilea rând este posibil ca un medicament să diminueze sau chiar să abolească eficacitatea altui medicament? În al treilea rând efectele adverse a două sau mai multe medicamente vor deveni mai importante decât în cazul unui singur medicament? Până când studiile experimentale vor găsi răspuns la aceste întrebări se recomandă folosirea inițial a unui singur agent terapeutic.

## 4. Intervenții nefarmacologice

Pe lângă noile strategii de protejare a creierului perinatal de leziunea hipoxic-ischemică o serie de mijloace nefarmacologice s-au dovedit de asemenea eficace. Aceste intervenții includ hipercapnia ușoară, hipotermia sistemică sau locală și preconditionarea hipoxică.

### 4.1. Hiperglicemia

O serie de date sugerează că, în practică, este prudent ca nivelul glucozei sangvine să fie menținut în limite fiziologice în cursul și după hipoxia-ischemică cerebrală la feți și nou-născuți. Hipoglicemia pare a fi dăunătoare, în timp ce datele privind efectele potențial benefice ale hiperglicemiei sunt în prezent controversate.

### 4.2. Bioxidul de carbon

Studii clinice recente sugerează că prematurii ce necesită ventilație mecanică pentru a preveni sau minimaliza hipoxemia sindromului de detresă respiratorie au un risc crescut de a dezvolta leucomalacie periventriculară dacă există hipocapnie în cursul "management-ului" respirator (Ikonen și colab., 1992). O relație cauzală între  $\text{PaCO}_2$  mică și leziunea cerebrală hipoxic-ischemică nu a fost încă stabilită, dar datorită efectelor multiple ale  $\text{CO}_2$  asupra hemodinamicii și metabolismului cerebral, o relație cauză-efect este în mod cert plauzibilă. Se pune problema în ce măsură hipocapnia contribuie la leziunea cerebrală hipoxic-ischemică și dacă hipercapnia este neuroprotectoare.

S-a observat că hipoxia-ischemică cerebrală normocapnică ( $\text{PaCO}_2 = 39$  mm Hg) se asociază cu leziuni cerebrale mai puțin severe decât în cazul hipoxiei-ischemiei hipocapnice ( $\text{PaCO}_2 = 26$  mm Hg) și că hipercapnia ușoară ( $\text{PaCO}_2 = 54$  mm Hg) este mai protectoare decât normocapnia. Studii suplimentare au arătat că hipercapnia ușoară este asociată cu o mai mare conservare a fluxului sangvin cerebral și a utilizării glucozei și rezervelor de fosfat macroergic (Vannucci și colab., 1997).

### 4.3. Hipotermia

Hipotermia reduce probabil necesitățile energetice cerebrale, astfel că în cursul hipoxiei-ischemiei rezervele de fosfat macroergic sunt menținute la niveluri relativ normale. Hipotermia poate prelungi "fereastra terapeutică" după expunerea la hipoxie-ischemie acută și exercită o acțiune sinergică cu a altor măsuri terapeutice salvatoare, ca de exemplu administrarea de antagoniști ai aminoacizilor excitatori.

### 4.4. Preconditionarea hipoxică

Recent s-a demonstrat că șobolanii imaturi supuși agresiunii hipoxic-ischemice prezintă leziuni cerebrale mai ușoare dacă au fost expuși anterior exclusiv la hipoxie sistemică, în comparație cu animalele neexpuse anterior la hipoxie (Gidday J.M. și col. 1994).

Mecanismul ce stă la baza acțiunii neuroprotectoare a preconditionării hipoxice la animalul imatur nu a fost elucidat, dar implică probabil inducerea de gene sau proteine ce influențează favorabil evenimentele metabolice care apar fie în cursul hipoxiei-ischemiei, fie în perioada de reperfuzie de după resuscitare.

Această preconditionare hipoxică ce protejează creierul imatur de leziunea cerebrală hipoxic-ischemică ulterioară amintește de hipoxia fiziologică la care nou-născuții umani sunt supuși în cursul vieții fetale.

Ipoteza după care hipoxia fiziologică din perioada fetală protejează fătul de agresiunea hipoxic-ischemică ulterioară este discutabilă. Cu toate acestea, Vannucci și Duffy (1974) au demonstrat că feții de șobolan la termen expuși unei atmosfere de azot (anoxie) la naștere supraviețuiesc de două

ori mai mult decât șobolanii nou-născuți expuși în mod similar, în ciuda unei diferențe de vârstă mai mică de 24 de ore.

## 5. Concluzii. Perspective

Un studiu bilanț al rezultatelor terapiei și experimentelor pe animalele nou-născute în condiții de hipoxie-ischemie efectuat de Vannucci și Perlman (*Pediatrics*, 1997, 100, 1004 - 1014) și care exprimă punctul de vedere al Academiei Americane de Pediatrie, demonstrează faptul că metodele curente de prevenire sau de tratament al leziunilor cerebrale secundare EHIP sunt ineficiente.

După ani de cercetări experimentale cu o serie de agenți farmacologici (inhibitori ai sintezei de radicali liberi și "măturători" ai radicalilor liberi, antagoniști ai aminoacizilor excitatori tip glutamat, blocanți ai canalelor de calciu, inhibitori ai sintezei oxidului nitric și alți agenți farmacologici - monosialogliozide, factori de creștere, glucocorticoizi, fenobarbital), precum și cu măsuri terapeutice nefarmacologice (hiperglicemia, hipercapnia ușoară, hipotermia, condiționarea hipoxică), se constată că nici una dintre acestea nu și-au dovedit eficacitatea în prevenirea sau tratamentul leziunilor cerebrale secundare EHIP.

Se consideră că EHIP constituie în prezent cea mai importantă problemă a neonatologiei, nerezolvată și neglijată (Lucey, 1997).

Noile cunoștințe privind natura leziunilor cerebrale "de reperfuție", indică faptul că există un interval "fereastră", care este de cel mult 2 - 3 ore după producerea injuriei hipoxic-ischemice cerebrale, când tratamentul neuroprotector ar putea fi eficient. Perspectiva terapeutică de a refrigera creierul ar putea fi aplicată în acest interval de timp.

Având în vedere intervalul foarte mic al "ferestrei" terapeutice, nou-născuții cu risc trebuie identificați imediat după naștere, pentru ca tratamentul să poată fi administrat imediat la internarea în unitatea de terapie intensivă.

Studiile clinice sugerează că nou-născuții cu risc maxim sunt: cei care prezintă diminuarea bătăilor cordului fetal puțin timp înainte de naștere, cei cu scor Apgar foarte mic; cei cu pH sangvin sub 7 în sângele recoltat din cordonul ombilical și cei ce necesită manevre intensive de resuscitare (incluzând masaj cardiac și intubație), imediat după naștere.

Este momentul să se concentreze toate eforturile pentru realizarea unui sistem care să faciliteze cooperarea între specialiștii neuropatologi, neonatologi, clinicieni neurologi, obstetricieni, farmacologi, psihologi, asistente medicale care împreună să pună în aplicare un program de studii complexe ale căror rezultate să vină în sprijinul nou-născuților ce au suferit o agresiune hipoxic-ischemică perinatală, într-o manieră mai eficientă și mai puțin costisitoare.

Un grup de autori (Vannucci și Perlman J., 1997; Wyatt J., 1997; Lucey, 1998; ș.a.) propun organizarea unui program complex de cercetare multidisciplinară care să fie susținut de personalități cu putere decizională și executivă. Se oferă ca model grupul de oncologie pediatrică din cadrul Institutului de Cancer din SUA, în care sunt incluși 95% din copiii bolnavi de cancer sub vârsta sub 18 ani și unde rezultatele sunt cele mai bune din lume. Dacă se va reuși punerea în aplicare a unui astfel de program există toate premisele pentru realizarea unor progrese în terapia unei entități care până în prezent nu beneficiază de nici un

tratament eficient. Se întrevăd deja metode noi terapeutice, ca de exemplu ventilația în sistem lichid ("liquid ventilation") la nou-născuții cu greutate foarte mică și terapia cu staniu mezoporfirin (Stannate) pentru prevenirea hiperbilirubinemiei, ambele metode fiind în stadiul în care să poată trece la aplicarea clinică.

## BIBLIOGRAFIE

1. Dearden N.M., Gibson J.S., McDowall D.C. et al.: Effect of high-dose dexamethazone on outcome from severe head injury, *J. Neurosurg.* 1986, 64, 81 - 88
2. Gidday J.M., Fitzgibbons J.C., Shad A.R. et al.: Neuroprotection from ischemic brain injury by hypoxic preconditioning in the neonatal rat, *Neurosci Lett.* 1994, 168, 221 - 224.
3. Hall R.T., Hall F.K., Daily D.K.: High dose phenobarbital therapy in term newborn infants with severe perinatal asphyxia: a randomized, prospective study with three-years follow-up., *J. Pediatr.* 1998, 132, 2, 345 - 348
4. Holtzman D.M., Sheldon R.A., Jaffe W. et al.: Nerve growth factor protects the neonatal brain against hypoxic-ischemic injury, *Ann. Neurol.* 1996, 39, 114 - 122.
5. Ikonen R.S., Janas M.O., Koidikko M.J. et al.: Hyperbilirubinemia, hypocarbia and periventricular leukomalacia in preterm infants. Relationship to cerebral palsy, *Acta Paediatr. Scand.* 1992, 81, 802 - 807
6. Levene M., Blennow M., Whitelaw A. et al.: Acute effects of two different doses of magnesium sulphate in infants with birth asphyxia, *Arch. Dis. Child.* 1995, 73, F174 - F177.
7. Liu X-H, Eun B-L, Silverstein F.S.: The platelet-activating factor antagonist BN 52021 attenuates hypoxic-ischemic brain injury in the immature rat. *Pediatr. Res.* 1996, 40, 1 - 8.
8. Lucey J.F.: Neuroprotection and perinatal brain care: the field of the future currently going nowhere? *Pediatrics*, 1997, 100, 6, 1030 - 1031.
9. Memezawa H., Minamisawa H., Smith M.L. et al.: Ischemic penumbra in a model of reversible middle cerebral artery occlusion in the rat. *Exp. Brain Res.*, 1992, 89, 67 - 78.
10. Nelson K.B., Greether J.K.: Can magnesium sulfate reduce the risk of cerebral palsy in very low birth weight infants? *Pediatrics*, 1995, 95, 263 - 269
11. Plum F., Alvord E.C., Posner J.B.: Effect of steroids on experimental cerebral infarction. *Arch. Neurol.* 1963, 9, 571 - 573
12. Szabo C.: Physiological and pathophysiological roles of nitric oxide in the central nervous system, *Brain Res. Bull.* 1996, 41, 131 - 141
13. Vannucci R.C.: Experimental biology of cerebral hypoxia-ischemia: relation to perinatal brain damage. *Pediatr. Res.* 1990, 27, 317 - 326
14. Vannucci R.C., Brucklacher R.M., Vannucci S.J.: Effect of carbon dioxide on cerebral metabolism during hypoxia-ischemia in the immature rat. *Pediatr. Res.*, 1997, 42, 24 - 49.
15. Vannucci R.C., Duffy T.E.: The influence of birth on carbohydrate and energy metabolism in rat brain. *Am. J. Physiol.* 1974, 226, 933 - 940
16. Vannucci R.C., Palmer C.: Hypoxic-ischemic encephalopathy: pathogenesis and neuropathology. In:

Fanaroff A.A., Martin R.J. (eds); *Neonatal-Perinatal Medicine*, p. 856 - 877, Mosby - Yearbook, Inc., Philadelphia, P.A., 1997

17. **Vannucci R.C., Perlman J.M.:** Interventions for perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy, *Pediatrics*, 1997, 100, 6, 1.004-1.014

18. **Vannucci R.C., Towfighi J., Heitjan D.F. et al.:**

Carbon dioxide protects the perinatal brain from hypoxic-ischemic damage. An experimental study in the immature rat. *Pediatrics*, 1995, 95, 868 - 874

19. **Wyatt J.S., Thorensen Marianne:** Hypothermia treatment and the newborn, *Pediatrics*, 1997, 100, 6, 1.028 - 1.029.

## SIMPOZIONUL NAȚIONAL TANAKAN - IMPORTANȚA TERAPIEI ANTIISCHEMICE

Sâmbătă, 7 noiembrie a.c., sala I.C.Brătianu din Palatul Parlamentului a găzduit Simpozionul național "Tanakan - importanța terapiei antiischemice". Manifestarea organizată de compania farmaceutică franceză **Beaufour IPSEN International**, a reunit peste 400 de medici din toată țara, neurologi, dar și din alte specialități (O.R.L., oftalmologie, interne, etc.).

Simpozionul, moderat de **Prof. Dr. Constantin Popa** a fost deschis de **Prof. François Clostre**, membru al Academiei Naționale de Farmacie din Franța, cu un amplu referat despre "EGb 761 - antiischemic și neuroprotector de referință. Farmacognozie, farmacologie și studii clinice". În continuare, o serie de nume recunoscute din medicina română au prezentat colegilor lucrări recente din varii domenii:

- **Conf. Dr. Angelo Bulboacă** (U.M.F. Cluj) a vorbit despre "Modificări plachetare ultrastructurale induse de EGb 761 (Tanakan) la pacienți cu infarct cerebral". Trebuie spus că această lucrare a fost publicată în *European Journal of Neurology* 1998, vol. 5, și prezentată la Congresul Federației Europene a Societăților de Neurologie de la Sevilla, septembrie 1998.
- **Prof. Dr. Ileana Zolog** (U.M.F. Timișoara) a venit cu date despre "Epidemiologia retinopatiei diabetice", date provenite din statisticile Centrului Antidiabetic Timișoara și care confirmă frecvența și gravitatea acestei afecțiuni.
- **Prof. Dr. Benone Cârstocea** (Clinica de Oftalmologie a S.M.C. București) a prezentat "Tratamentul retinopatiei diabetice" subliniind utilitatea incontestabilă a Tanakan-ului în acest domeniu, înainte de a se ajunge la necesitatea fotocoagulării.
- **Dr. Alexandru Pascu** a vorbit despre "Sindromul vestibular periferic", prezentând mijloacele moderne de diagnostic aflate la Centrul medical de fonoaudiologie și chirurgie funcțională O.R.L. "Prof. Dr. Dorin Hociota" București. Comunicarea a inclus rezultatele unor studii desfășurate în Germania asupra eficienței Tanakan în această patologie atât de des întâlnită în practica medicală.
- A urmat secțiunea dedicată neurologiei. **Conf. dr. Ovidiu Băjenaru** a vorbit, din experiența Clinicii de neurologie a Spitalului Universitar București, despre "Rolul EGb 761 (Tanakan) în tratamentul ischemiei cerebrale". Argumentarea s-a bazat pe rolul ginkgolidului B în inhibarea factorului de activare plachetară, ținând cont de implicarea acestui factor în etiopatogenia sindroamelor ischemice.
- Directorul medical al Beaufour Ipsen, **Dr. Alexis Masounabe-Puyanne**, a stârnit interesul audienței cu "Considerații asupra unui studiu clinic cu Tanakan în maladia Alzheimer" - realizat în S.U.A. Trebuie menționat că acest studiu, care a inclus peste 300 de pacienți, a fost publicat în prestigioasa revistă *Journal of American Medical Association*.

Dar marea surpriză a acestui Simpozion a constituit-o anunțul făcut de **dl. Claude Chollet**, director general al Beaufour Ipsen International. Din acest an se instituie **Grand Prix Beaufour Ipsen în neurologie, adică un premiu în valoare de 6000 USD** care va recompensa cea mai bună lucrare din domeniul neurologiei realizată de un tânăr medic român. Este foarte important că acest premiu se acordă pentru lucrări științifice fundamentale sau aplicative, care vor fi notate fără a se cunoaște identitatea autorilor de către un juriu cuprinzând nume din cele mai sonore ale neurologiei române și prezidat de Prof. Dr. Constantin Popa, director la Institutul de Boli Cerebro-Vasculare și președinte al Societății Naționale Române de Stroke. Regulamentul de participare se găsește la sediul reprezentanței Beaufour Ipsen (informații la tel. 231.13.23 sau 679.73.82).

Este cel mai mare premiu oferit de o companie farmaceutică în România pentru o lucrare de cercetare.