
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Eficiența și inocuitatea tratamentului cu factori neurotrofici în traumatismele cranio-cerebrale medii și severe

Doctorand: **Codruța Bîrle**

Conducător de doctorat: **Prof. Dr. Fior Dafin Mureșanu**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

INTRODUCERE	17
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	21
1. Traumatismele cranio-cerebrale: date generale	23
1.1. Traumatisme cranio-cerebrale - definiție, epidemiologie și clasificare	23
1.1.1. Definiție	23
1.1.2. Epidemiologie	23
1.1.3. Clasificare	24
2. Mecanisme fiziopatologice ale TCC	27
2.1. Leziuni focale	27
2.2. Leziuni axonale difuze	27
2.3. Neuroinflamația	29
2.4. Excitotoxicitatea și influxul de ioni	31
2.5. Disfuncția metabolică	31
3. Principii de tratament în reabilitarea TCC	33
3.1. Substratul funcției cognitive	33
3.2. Neuroreabilitarea TCC	35
3.2.1. Factori neurotrofici	38
3.2.2. Reabilitarea cognitivă	38
3.2.3. Terapia ocupațională	41
3.2.4. Reabilitarea motorie	41
3.2.5. Suport hormonal	43
3.2.6. Suportul farmacologic pentru tuburări psihiatrice	43
3.2.7. Reabilitarea limbajului	44
3.2.8. Reabilitarea oculomotorie	44
3.2.9. Stimularea cerebrală non-invazivă	44
3.2.10. Organizarea unităților de neuroreabilitare	44
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	47
1. Ipoteza de lucru/obiective	49
2. Metodologie generală	51
2.1. Considerații etice	51
2.2. Criterii generale de includere și excludere	51
2.2.1. Criterii de includere	51
2.2.2. Criterii de excludere.	52
2.3. Evaluarea pacienților	53
2.3.1. Evaluare clinico-imagistică	53
2.3.2. Analize de laborator	54
2.3.3. Medicația de studiu	55
2.3.4. Scale neuropsihologice	55
2.4. Analiza statistică	67

3. Studiul 1 – Eficiența și inocuitatea tratamentului cu factori neurotrofici în TCC medii și severe	69
3.1. Introducere	69
3.2. Ipoteza de lucru	70
3.3. Material și metodă	70
3.3.1. Populația de studiu	70
3.3.2. Alocarea medicației de studiu	72
3.3.3. Evaluarea pacienților	72
3.3.4. Analiză statistică.	73
3.4. Rezultate	75
3.4.1. Ipoteza primară	79
3.4.2. Ipoteza secundară	79
3.4.3. Profilul de siguranță	85
3.5. Discuții	85
3.6. Concluzii	88
4. Studiul 2 – Efectul tratamentului cu Cerebrolysin asupra valorii predictive a Baseline Pronostic Risc Score la pacienții cu TCC moderată și severă	89
4.1. Introducere	89
4.2. Ipoteza de lucru	91
4.3. Material și metodă	92
4.3.1. Populația de studiu	92
4.3.2. Evaluarea scalei BPRS	92
4.3.3. Evaluarea statusului neuro-cognitiv	92
4.3.4. Analiză statistică	93
4.4. Rezultate	93
4.5. Discuții	96
4.6. Concluzii	98
5. Studiul 3 – Corelația între polimorfismul genetic al ApoE4 și evoluția pacienților cu TCC aflați sub tratament neurotrofic	99
5.1. Introducere	99
5.2. Ipoteza de lucru	100
5.3. Material și metodă	100
5.3.1. Populația de studiu	100
5.3.2. Scale neurocognitive	101
5.3.3. Analiză statistică	101
5.4. Rezultate	102
5.5. Discuții	107
5.6. Concluzii	109
6. Discuții generale	111
7. Concluzii generale	113
8. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	115
REFERINȚE	117

INTRODUCERE

Traumatismele craniale-cerebrale (TCC) reprezintă o importantă problemă de sănătate publică.

Fiziopatologia TCC este profund heterogenă, rezultând în manifestări clinice diferite, grade diferite de severitate și de recuperare, pe termen scurt sau lung. Majoritatea celor care suferă un TCC, prezintă sechele, chiar și cei cu traumatisme craniene ușoare. Tulburările cognitive (atenție, memorie, limbaj, percepție), afective și comportamentale sunt cele mai frecvente și importante dintre problemele cu care se confruntă acești pacienți, ele având un impact deosebit și asupra familiilor și a societății. Aceste deficite determină o dependență socială a bolnavilor, chiar în absența unor dizabilități fizice, afectând capacitatea de muncă, relațiile familiale, activitățile zilnice. În acest context, cercetarea în vederea găsirii unor alternative de tratament, care să asigure o capacitate funcțională adecvată, este esențială.

Eșecul de a transla rezultatele pozitive obținute în multe studii experimentale în studiile clinice a tras un semnal de alarmă asupra mai multor probleme posibile, cum ar fi utilizarea de modele simpliste, care nu reflectă complexitatea leziunilor secundare, ignorând heterogenitatea genetică, biochimică și proteomică care există în mod normal la pacienți. Utilizarea ca metode de cuantificare a eficacității a unor scale neurologice unidimensionale nu permite o imagine granulară a evoluției clinice post traumatice.

Pornind de la observația că majoritatea agenților farmacologici testați până acum au avut un mecanism supresiv de acțiune, în general, unimodal, ideea emergentă fost de a testa agenții modulatori, cu acțiune pleiotropă, multimodală. Înțelegerea proceselor patologice care apar după leziuni cerebrale, cum ar fi TCC, explică de ce o abordare terapeutică care manipulează doar un mecanism disfuncțional nu este capabil să stimuleze neuroprotecția.

A devenit evident faptul că heterogenitatea fenotipurilor TCC este imposibil de captat fără o evaluare multidimensională care include aspecte cognitive, pe o perioadă mai lungă de timp, aceasta fiind esențială pentru a înțelege evoluția pacienților cu TCC.

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Traumatismele craniale-cerebrale reprezintă principala cauză de dizabilitate în țările industrializate și în curs de dezvoltare și principala cauză de mortalitate în rândul tinerilor. La nivel mondial, aproximativ 10 milioane de oameni suferă anual un traumatism cranian. Heterogenitatea leziunilor cerebrale traumatice constituie un important obstacol pentru găsirea unui tratament eficient. Această heterogenitate a determinat și clasificări multiple, pe baza mai multor criterii: a) mecanismul de producere; b) severitate; c) gradul de atingere a substanței nervoase; e) tipul leziunilor anatomo-patologice; f) mecanismul fiziopatologic.

Mecanismele fiziopatologice în TCC diferă în funcție de tipul leziunii traumatice: focală sau difuză. Leziunile focale sunt contuziile-leziuni hemoragice ce produc edem local și modificări ischemice prin compresiune, cu distrugerea secundară a țesuturilor, necroză

neuronala și, în cele din urmă, cavitație cu glioză reactivă. Leziunile axonale difuze asociază leziuni neuronale diseminate, modificări micro-vasculare, disfuncții axonale. Apar leziuni membranare cu perturbări ionice secundare, fenomene inflamatorii și disfuncții metabolice la nivel celular.

Spectrul larg al dizabilităților pe termen lung se datorează diversității leziunilor primare, complexității cascadelor celular-moleculare care compun leziunea secundară, factorilor de mediu și caracteristicii individuale a fiecărui pacient, cum ar fi fenotipul genetic, vârsta, sexul, comorbidități și stare nutrițională. În spatele posibilelor dizabilități motorii sau afectării funcției executive, un pacient după TCC poate prezenta modificări neurocognitive și de personalitate. Aceste modificări pot fi rezultatul localizării anatomice a leziunii primare, dezechilibrului neuro-transmițătorilor, disfuncției hipofizare, pierderii neuronale, disfuncției sinaptice.

Neuroreabilitarea reprezintă o combinație între restaurare și strategii de compensare. Restaurarea înseamnă recâștigarea abilităților pierdute sau deteriorate. Compensarea înseamnă învățarea unor informații noi pentru a minimiza un handicap, prin utilizarea unor abordări alternative. Pentru a realiza restaurarea și compensarea, creierul trebuie să învețe și să consolideze informațiile dobândite. Dezvoltarea în dinamică a creierului este una dintre cele două laturi ale neuroreabilitării, fiind responsabilă de procesul de învățare. Neuroplasticitatea, care stă la baza procesului de dezvoltare în dinamică a creierului, afectează organizarea cerebrală la orice nivel, atât structural, cât și funcțional.

Neuroreabilitarea în leziunile cerebrale traumatice se poate iniția din stadiul acut la cel cronic. Faza incipientă a neuroreabilitării include suport farmacologic, reabilitare fizică și, în unele cazuri, chiar reabilitare cognitivă. În faza cronică, neuroreabilitarea include terapie ocupațională, motorie, mers, vorbire și reabilitare cognitivă, inclusiv gestionarea stresului și depresiei. Programul de neuroreabilitare poate include dietă, suport farmacologic pentru neuroplasticitate și tehnici de neuromodulare, cum ar fi stimularea magnetică transcraniană, neuromodularea neinvazivă a nervului cranian și stimularea profundă a creierului. Programul de neuroreabilitare este unic pentru fiecare pacient și este necesară o echipă interdisciplinară.

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

Studiu 1. Eficiența și inocuitatea tratamentului cu factori neurotrofici în traumatismele cranio-cerebrale medii și severe

Ipoteza de lucru

Obiectivul principal al studiului a fost de a evalua efectele tratamentului cu factori neurotrofici (Cerebrolysin) asupra recuperării generale și neurocognitive după leziuni cerebrale traumatice. Factorii neurotrofici sunt molecule modulatorie cu activitate neuroprotectoare pleiotropică, imediată, și efecte multimodale pe termen lung. Datorită acestui efect terapeutic unic, principiul tratamentului cu factori neurotrofici presupune, pe lângă administrarea acută, perioade repetitive de tratament.

Metode

În studiu, au fost incluși 142 de pacienți, cu vârste cuprinse între 18 și 80 de ani, având TCC acut mediu sau sever (scor Glasgow între 7 și 12), fără patologii asociate severe. Evaluările pacienților s-au realizat în primele 4 ore de la traumatism, la 10, 30 și 90 de zile post TCC. S-au realizat evaluări clinice, imagistice și de laborator. Pacienții care au îndeplinit criteriile de includere și nu au prezentat criterii de excludere au fost randomizați în lotul cu medicație activă sau în lotul placebo. În lotul cu medicație activă, pacienților li s-a administrat Cerebrolysin 50 ml în 250 ml soluție salină, timp de 10 zile, iar apoi 2 cure de Cerebrolysin 10 ml/zi, timp de 10 zile, la 30, respectiv 60 de zile de la traumatism. Populația din grupul placebo a primit soluție salină. Medicația de studiu a fost asociată terapiei standard pentru TCC. Testele utilizate pentru evidențierea eficacității tratamentului au fost Early Rehabilitation Barthel Index (ERBI), Glasgow Outcome Scale-Extended (GOSE), Mini-Mental State (MMSE), Stroop Color-Word Test (STROOP), Processing Speed Index-Wechsler Adult Intelligence Scale (PSI), Digit Span Forward (DF) și Digit Span Backwards (DB), Finger Tapping, Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS).

Trei ansambluri de criterii de eficacitate pentru 90, 30 și 10 zile după TCC au fost testate, conform principiului ipotezelor stabilite a priori, printr-o abordare multivariată, care să permită reflectarea stării globale a pacienților după TCC. Studiul a documentat, de asemenea, evenimentele adverse și mortalitatea de orice cauză. O evaluare nonparametrică a efectelor tratamentului, independentă de tipul de date și de distribuția eșantionului, a fost utilizată ca metodă principală de analiză. Analiza multivariată a fost efectuată utilizând procedura Wei-Lachin, o extensie a testului Wilcoxon-Mann-Whitney.

Rezultate

La ziua 90, dimensiunea efectului combinat pentru ansamblul multivariat a indicat superioritatea Cerebrolysin în comparație cu placebo. Pentru analiza multivariată, diferența dintre cele două grupe de tratament a fost semnificativă statistic ($P_{\text{Wei-Lachin}} = 0,0119$; 95% CI 0,52 - 0,66). În plus, șase scale individuale au avut rezultate semnificative din punct de vedere statistic: Processing Speed Index, Stroop Word/Dots Interference, Digit Span Forward, Digit Span Backward, Color Trails Test 1 and HADS-scorul pentru depresie. În analiza multivariată pentru evaluarea eficacității la 30 de zile, diferența dintre cele două grupuri de tratament nu a fost semnificativă statistic. O superioritate semnificativă statistic a fost observată pentru Cerebrolysin la patru scale individuale: Stroop Word/Dots Interference, Digit Span Forward, Digit Span Backward, and HADS-scorul pentru depresie. Nu s-au constatat diferențe între cele două grupuri de tratament, în ceea ce privește profilul de siguranță.

Concluzii

Acest studiu demonstrează faptul că în TCC moderat sau sever, tratamentul cu factori neurotrofici (Cerebrolysin) îmbunătățește rezultatul global la 90 de zile în comparație cu placebo, confirmând rezultatele unui studiu anterior, efectuat pe un eșantion de pacienți asiatici. În studiul nostru a fost folosit un ansamblu multidimensional de scale de evaluare

care vizează diferite domenii cognitive: recuperarea globală, viteza de procesare a informației, atenția, depresia. Pe lângă efectul global observat la analiza ansamblului multidimensional total care favorizează Cerebrolysin în raport cu placebo, un efect pozitiv semnificativ statistic asupra șase scale individuale de evaluare a fost găsit la 90 de zile după momentul inițial.

Studiu 2. Efectul tratamentului cu Cerebrolysin asupra valorii predictive a Baseline Prognostic Risk Score la pacienți cu traumatisme cranio-cerebrale moderate și severe

Ipoteza de lucru

Numeroși factori influențează rezultatele cognitive post-TCC. Severitatea leziunii, definite de scorul inițial al scalei GCS (Glasgow Coma Scale), de durata amneziei posttraumatice (PTA) și de gravitatea leziunilor evidențiate la tomografie computerizată (CT), este un predictor crucial al rezultatului. Factorii demografici de prognostic includ vârsta, sexul, nivelul de educație, ocupația, coeficientul de inteligență și genotipul. Baseline Prognostic Risk Score (BPRS), estimează mortalitatea și evoluția nefavorabilă la șase luni. În studiul nostru această scală a fost utilizată pentru a stratifica grupul de pacienți, în funcție de gravitatea statusului clinic, la includere și de a reduce heterogenitatea populației studiate. Scorul BPRS a fost calculat pe baza vârstei, a reactivității pupulare, a hipoxiei, hipotensiunii, pe baza scorului motor din GCS, a clasificării Marshall a leziunilor cerebrale observate la examinarea CT cerebrală, și a prezenței hemoragiei subarahnoidiene. Obiectivul primar al studiului a fost stabilirea relației dintre modelul prognostic BPRS și statusul neuro-cognitiv la 10, 30 și 90 de zile de la traumatismul cranio-cerebral, la pacienți cu tratament neurotrofic.

Metode

Au fost selectați 80 de pacienți din lotul de 142 de pacienți cu TCC moderat și sever, incluși în Studiul 1, pacienți care au primit tratament activ cu factori neurotrofici. Scorul BPRS a fost estimat în primele 4 ore de la debutul TCC. Pentru a investiga valoarea predictivă a BPRS asupra evoluției cognitive, independent de vârstă, a fost efectuată o analiză de regresie ierarhică folosind scalele neuropsihologice: MMSE, PSI Digit Symbol Coding (PSI DSC), PSI Symbol Search (PSI SS) Stroop Color Word Test cu sub scalele Word, Color, Word-Color, ca variabile dependente.

Rezultate

Rezultatele studiului actual au demonstrat o bună valoare predictivă a BPRS la 90 de zile pentru mai multe scale cognitive PSI DSC, WAIS PSI SS și subscala Stroop Color Word Test- Word. Rezultatele noastre arată că, la pacienții în vârstă, și tratament cu Cerebrolysin BPRS este un predictor important al funcției cognitive globale măsurate prin MMSE, al vitezei de procesare măsurată de PSI DSC și PSI SS, precum și al atenției, măsurate prin subtestele Stroop Color Word, la evaluări de 10, 30 și 90 de zile. În cadrul tratamentului activ, vârsta păstrează același impact asupra vitezei de procesare, funcției executive și memoriei, așa cum

s-a demonstrat anterior în studiile longitudinale care investighează recuperarea cognitivă pe termen scurt după TCC.

Concluzii

Acest studiu a arătat că modelul prognostic BPRS are o putere predictivă mare față de statusul neuro-cognitiv, în mod specific, față de funcția globală, viteza de procesare și atenție. Valoarea prognostică a fost dovedită la 90 de zile, pentru aceste teste. Cu toate că au existat multiple studii pe modele prognostice la pacienții cu TCC, acesta este primul studiu care a raportat un model prognostic validat anterior, la statusul neuro-cognitiv pe termen mediu, la pacienți cu tratament neurotrofic.

Studiu 3. Corelația între polimorfismul genetic al ApoE și evoluția neurocognitivă a pacienților cu traumatisme cranio-cerebrale moderate și severe, aflați sub tratament neurotrofic

Introducere

Răspunsul terapeutic după TCC este influențat de tipul traumatismului, vârsta pacientului, comorbidități, leziuni extracerebrale, genotip. Asocierea polimorfismului genetic cu domenii specifice ale funcției cognitive poate ajuta la identificarea persoanelor care pot beneficia de un anumit tratament. Apolipoproteina E4 (ApoE4) a fost asociată cu fenomene de neurotoxicitate, neurodegenerare, inflamație, disfuncție mitocondrială, stress oxidativ, apoptoză dar și cu rezultate mai slabe la testele cognitive după TCC, cu apariția declinului cognitiv și a demenței. Scopul acestui studiu a fost acela de a evidenția rolul polimorfismului ApoE asupra evoluției neurocognitive la pacienții cu TCC moderat și sever, pacienți care urmează tratament neurotrofic cu Cerebrolysin.

Metode

La 72h de la traumatism, a fost prelevat sânge pentru determinarea polimorfismului genetic corespunzător apolipoproteinei E (ApoE), alelele E2-4, la toți pacienții incluși în Studiul 1. Au fost luați în considerare cei 80 de pacienți care au urmat tratament neurotrofic cu Cerebrolysin. Am analizat corelația între prezența alelei ApoE4 la 72 h de la traumatismul cranian și valorile, în dinamică, ale scorurilor obținute pe scalele neuro-cognitive, la 10, 30 și 90 de zile. A fost folosit testul Mann-Whitney pentru a compara variabilele continue pe grupuri independente cu distribuție anormală. Determinarea polimorfismului ApoE a fost realizată la 74 de pacienți dintre cei 80 incluși în analiză. Dintre aceștia 19 (23%) au prezentat alela E4.

Rezultate

În studiul de față s-au observat diferențe semnificative statistic în evoluția scorurilor la teste neuropsihologice, la pacienții care prezentau alela ApoE4 față de cei fără această alelă. S-a constatat că funcția cognitivă globală, evaluată prin MMSE, funcția neuro-motorie evaluată prin FTD (Finger Tapping pentru mâna dominantă), și depresia au avut o evoluție

corelată cu absența alelei E4, ameliorarea acestora fiind semnificativă la pacienții la care această alelă a fost absentă .

Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei

În această cercetare, am demonstrat efectul benefic la moleculelor multimodale în tratamentul TCC. Am abordat studiul, ținând cont de proprietățile factorilor neurotrofici cu activitate neuroprotectoare pleiotropică, imediată și efecte multimodale pe termen lung. Datorită acestui efect terapeutic unic, principiul tratamentului cu factori neurotrofici s-a bazat, pe lângă administrarea acută, perioade repetitive de tratament. Acest principiu este aplicat pentru a stimula capacitatea endogenă pe termen lung pentru neurorecuperare indusă de neurotroficitate, neuroplasticitate și neurogeneză. În evaluarea eficacității tratamentului am încercat să surprindem multiplele aspecte ale patologiei traumatice cerebrale printr-un ansamblu de scale neurocognitive, adresate mai multor domenii funcționale. Analiza statistică a fost adaptată acestui tip de abordare, fiind o analiză multivariată.

Al doilea studiu reprezintă primul studiu care analizează relația dintre un model prognostic și statusul neuro-cognitiv al pacienților cu traumatisme cranio-cerebrale, în condițiile unui tratament cu efect neuroprotector dovedit.

Al treilea studiu constituie un studiu de farmacogenetică, în care polimorfismul apolipoproteinei E a fost analizat în relație cu statusul neurocognitiv și emoțional. Totodată, din cunoștințele noastre, este primul studiu care evaluează această relație printr-o serie de teste clinice efectuate, în dinamică, la pacienți cu traumatisme cranio-cerebrale, tratați cu molecule multimodale, neuroprotectoare eficiente.

SUMMARY OF THE PhD. THESIS

Efficiency and safety of treatment with neurotrophic factors in medium and severe traumatic brain injury

PhD Student: **Codruța Bîrle**

PhD Coordinator: **Prof. Dr. Fior Dafin Mureșanu**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION	17
CURRENT STATE OF KNOWLEGDE	21
1. Traumatic brain injury: general data	23
1.1. Traumatic brain injury - definition, epidemiology and classification	23
1.1.1. Definition	23
1.1.2. Epidemiology	23
1.1.3. Classification	24
2. Pathophysiological mechanisms of TBI	27
2.1. Focal injuries	27
2.2. Diffuse axonal injuries	27
2.3. Neuroinflammation	29
2.4. Excitotoxicity and ion influx	31
2.5. Metabolic dysfunction	31
3. Principles of the rehabilitation treatment in TBI	33
3.1. Cognitive function substrate	33
3.2. Neurorehabilitation in TBI	35
3.2.1. Neurotrophic factors	38
3.2.2. Cognitive rehabilitation	38
3.2.3. Occupational therapy	41
3.2.4. Motor rehabilitation	41
3.2.5. Hormonal support	43
3.2.6. Pharmacological support for psychiatric disturbances	43
3.2.7. Language rehabilitation	44
3.2.8. Oculomotor rehabilitation	44
3.2.9. Non-invasive brain stimulation	44
3.2.10. Function and structure of a TBI neurorehabilitation unit	44
PERSONAL CONTRIBUTION	47
1. Hypothesis/Objectives	49
2. General methods	51
2.1. Ethical considerations	51
2.2. General inclusion and exclusion criteria	51
2.2.1. Inclusion criteria	51
2.2.2. Exclusion criteria.	52
2.3. Patients assessment	53
2.3.1. Clinical and imaging assessments	53
2.3.2. Laboratory	54
2.3.3. Study medication	55
2.3.4. Neuropsychological assessment	55
2.4. Statistical analysis	67
3. Study 1 – Efficiency and safety of treatment with neurotrophic factors in medium and severe TBI	69

3.1. Introduction	69
3.2. Hypothesis	70
3.3. Methods	70
3.3.1. Study population	70
3.3.2. Allocation of study medication	72
3.3.3. Patients assessments	72
3.3.4. Statistical analysis.	73
3.4. Results	75
3.4.1. Primary hypothesis	79
3.4.2. Secondary hypothesis	79
3.4.3. Safety profile	85
3.5. Discussion	85
3.6. Conclusions	88
4. Study 2 – Effect of treatment with Cerebrolysin on the predictive value of Baseline Prognosis Risk Score in patients with moderate and TBI	89
4.1. Introduction	89
4.2. Hypothesis	91
4.3. Methods	92
4.3.1. Study population	92
4.3.2. BPRS assessment	92
4.3.3. Neurocognitive assessment	92
4.3.4. Statistical analysis	93
4.4. Results	93
4.5. Discussion	96
4.6. Conclusions	98
5. Study 3 – The correlation between the genetic polymorphism of ApoE and the neurocognitive outcome of patients with moderate and severe TBI under neurotrophic treatment	99
5.1. Introduction	99
5.2. Hypothesis	100
5.3. Methods	100
5.3.1. Study population	100
5.3.2. Neurocognitive assessment	101
5.3.3. Statistical analysis	101
5.4. Results	102
5.5. Discussion	107
5.6. Conclusions	109
6. General discussions	111
7. General conclusions	113
8. Originality and innovative thesis contribution	115
REFERENCES	117

INTRODUCTION

Traumatic brain injury (TBI) is an important public health problem. The pathophysiology of TBI is deeply heterogeneous, resulting in different clinical manifestations, varying degrees of severity and short- or long-term recovery. Most people who suffer a TBI have sequelae, even those with mild head trauma. Cognitive disorders (attention, memory, language, perception), affective and behavioral disorders are the most common and important problems faced by these patients, which also have a particular impact on families and society. These deficits cause a social dependence of the sick, even in the absence of physical disabilities, affecting the ability to work, family relationships, daily activities. In this context, research designed to find treatment alternatives that ensure adequate functional capacity is essential.

Failure to translate positive results obtained in many experimental studies into clinical trials has raised questions over several potential problems, such as the use of simplistic models that do not reflect the complexity of secondary lesions, models that ignore the genetic, biochemical and proteomic heterogeneity that normally exists in patients. Using one-dimensional neurological scales to assess the outcome, does not allow a granular picture of post traumatic clinical evolution.

Based on the observation that most of the pharmacological agents tested so far had a suppressive mechanism of action, generally unimodal, the emerging idea was to test modulatory agents with pleiotropic, multimodal action. Understanding pathological processes that occur after brain damage, such as TBI, explains why a therapeutic approach that manipulates only a dysfunctional mechanism is not able to stimulate neuroprotection. It has become apparent that the heterogeneity of TBI phenotypes is impossible to be captured without a multidimensional assessment that includes cognitive aspects over a longer period, which is essential to understand the outcome of patients with TBI.

CURRENT STATE OF KNOWLEDGE

Brain trauma is the leading cause of disability in industrialized and developing countries and the leading cause of mortality among young people. Worldwide, about 10 million people suffer a brain injury every year. The heterogeneity of traumatic brain injuries is an important obstacle to finding effective treatment. This heterogeneity has also determined multiple classifications, based on several criteria: a) the production mechanism; (b) severity; (c) the degree of damage to the nerve substance; e) type of anatomical-pathological lesions; f) pathophysiological mechanism. Pathophysiological mechanisms in TBI are different, depending on the type of traumatic injury: focal or diffuse.

Focal lesions are contusions-hemorrhagic lesions that produce local edema and ischemic changes by compression, with secondary tissue destruction, neuronal necrosis and, ultimately, reactive gliosis cavitation. Diffuse axonal lesions associate disseminated neural lesions, with micro-vascular changes, axonal dysfunctions. Membrane lesions are present,

with secondary ion disturbances, neuroinflammation and metabolic dysfunctions at the cellular level.

The wide spectrum of long-term disabilities is due to the diversity of primary injury, the complexity of the cellular-molecular cascades that compose the secondary injury, the environmental factors, and the individualistic characteristic of every patient such as genetic phenotype, age, gender, comorbidities, and nutritional status. The result of the interpenetration of these factors makes impossible for two apparent similar brain injuries to have similar consequences. Behind potential motor disabilities or executive function impairment, a patient after TBI can present neurocognitive and personality changes. These changes can be the result of the anatomical location of the primary injury, altered pattern of neurotransmitters, pituitary dysfunction, neuronal loss, synaptic dysfunction, or secondary depression.

Neurorehabilitation represents a mixture between restoration and compensation strategies. Restoration means retraining lost or damage abilities. Compensation means acquiring new information in order to minimize a disability by using alternative approaches. In order to realize restoration and compensation, the brain has to learn and to consolidate the acquired information. Brain dynamics is one of the two sides of neurorehabilitation, being in charge with the learning process. Neuroplasticity, which is the basis of brain dynamics, affects cerebral organization at any level, both structural and functional.

Neurorehabilitation in traumatic brain injury can be done from acute to chronic stage. The early phase of neurorehabilitation includes appropriate diet, pharmacological support, physical rehabilitation and in some cases even cognitive rehabilitation. In the chronic phase, neurorehabilitation includes occupational therapy, motor, gait, speech, and cognitive rehabilitation, including management of stress and depression. Also, the neurorehabilitation program can include diet, pharmacological support for neuroplasticity and neuromodulation techniques such as transcranial magnetic stimulation, cranial nerve non-invasive neuromodulation and deep brain stimulation. The neurorehabilitation program is unique for every patient and an interdisciplinary team is needed.

PERSONAL CONTRIBUTION

Study 1. Efficacy and innocuity of treatment with neurotrophic factors in medium and severe TBI

Hypothesis

The primary objective of the study was to assess the effects of treatment with neurotrophic factors (Cerebrolysin) on general and neurocognitive recovery after traumatic brain injury. Neurotrophic factors are modulatory molecules with pleiotropic, immediate neuroprotective activity, and long-term multimodal effects. Due to this unique therapeutic effect, the principle of treatment with neurotrophic factors implies, in addition to acute administration, repetitive periods of treatment.

Methods

In this study, 142 patients aged 18 to 80 years, with medium or severe acute TBI (Glasgow score between 7 and 12) with no severe associated pathologies were included. Patient assessments were carried out within the first 4 hours of trauma, at 10-, 30- and 90-days post TBI. Clinical, imaging and laboratory evaluations have been carried out. Patients who met the inclusion criteria and did not present exclusion criteria were randomized in the active medication group or in the placebo group. In the active medication group, patients were given Cerebrolysin 50 ml in 250 ml saline solution for 10 days, and then 2 cures of Cerebrolysin 10 ml/day, for 10 days, 30 and 60 days after the trauma. The population in the placebo group received saline solution. Study medication was associated to the standard therapy for TBI. Tests used to highlight the effectiveness of treatment were Early Rehabilitation Barthel Index (ERBI), Glasgow Outcome Scale-Extended (GOSE), Mini-Mental State (MMSE), Stroop Color-Word Test (STROOP), Processing Speed Index-Wechsler Adult Intelligence Scale (PSI), Digit Span Forward (DF) and Digit Span Backwards (DB), Finger Tapping, Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS). Three efficacy criteria assembles for 90, 30 and 10 days after TBI were tested, in accordance with the principle of a priori assumptions established, by a multivariate approach, allowing the overall condition of patients to be reflected after TBI. The study also documented adverse events and mortality of any cause. A nonparametric assessment of the effects of the treatment, independent of the data type and sample distribution, was used as the primary method of analysis. The multivariate analysis was performed using the Wei-Lachin procedure, an extension of the Wilcoxon-Mann-Whitney test.

Results

At day 90, the combined effect size for the multivariate assemble indicated the superiority of Cerebrolysin over placebo. For multivariate analysis, the difference between the two treatment groups was statistically significant (PWei-Lachin = 0.0119; 95% CI 0.52 - 0.66). In addition, six individual scales had statistically significant results: Processing Speed Index, Stroop Word/Dots Interference, Digit Span Forward Digit Span Backward, Color Trails Test 1 and HADS-score for depression. In multivariate analysis to assess efficacy at 30 days, the difference between the two treatment groups was not statistically significant. A statistically significant superiority was observed for Cerebrolysin at four individual scales: Stroop Word/Dots Interference, Digit Span Forward, Digit Span Backward, and HADS-score for depression. No differences were found between the two treatment groups in terms of safety profile.

Conclusion

This study demonstrates that in moderate or severe TBI, treatment with neurotrophic factors (Cerebrolysin) improves the overall outcome at 90 days compared to placebo, confirming the results of a previous study in a sample of Asian patients. In our study, we used a multidimensional set of assessment scales for different cognitive areas: global recovery, information processing speed, attention, depression. In addition to the overall effect observed in the analysis of the total multidimensional assembly that favors Cerebrolysin over

placebo, a statistically significant positive effect was found 90 days after baseline for six individual scales of assessment.

Studiu 2. Effect of treatment with Cerebrolysin on the predictive value of Baseline Prognosis Risk Score in patients with moderate and severe TBI

Hypothesis

Many factors influence the post-TCC cognitive outcomes. The severity of the lesion, defined by the initial score of the GCS (Glasgow Coma Scale), the duration of post-traumatic amnesia (PTA) and the severity of the lesions highlighted in computed tomography (CT), is a crucial predictor of the result. Demographic prognostic factors include age, gender, level of education, occupation, intelligence coefficient and genotype. Baseline Prognostic Risk Score (BPRS) estimates mortality and unfavorable outcome at six months.

In our study, this scale was used to stratify the group of patients, depending on the severity of the clinical status, at enrollment, and to reduce the heterogeneity of the study population. The BPRS score was calculated based on age, pupillary reactivity, hypoxia, hypotension, motor score in GCS, Marshall classification of brain lesions observed on the brain CT examination, and the presence of subarachnoid hemorrhage. The primary objective of the study was to establish the relationship between the BPRS prognostic model and the neuro-cognitive status 10, 30 and 90 days after TBI in patients with neurotrophic treatment.

Methods

80 patients were selected from the group of 142 patients with moderate and severe TBI, included in Study 1, patients who received active treatment with neurotrophic factors. The BPRS score was estimated within 4 hours of the onset of TBI. To investigate the predictive value of BPRS on age-independent cognitive evolution, a hierarchical regression analysis was performed using the neuropsychological scales: MMSE, PSI Digit Symbol Coding (PSI DSC), PSI Symbol Search (PSI SS) Stroop Color Word Test under the Word, Color, Word-Color scales, as dependent variables.

Results

The results in our study demonstrated a good predictive value of BPRS at 90 days for several cognitive scales: PSI DSC, WAIS PSI SS and Stroop Color Word Test-Word subscale. Our results show that in older patients, under treatment with Cerebrolysin, BPRS is an important predictor of outcome of the overall cognitive function measured by MMSE, of the processing speed measured by PSI DSC and PSI SS, and of attention, measured by the Stroop Color Word subtests, at 10, 30 and 90-day evaluations. In active treatment group, age retains the same impact on processing speed, executive function, and memory, as previously demonstrated in longitudinal studies investigating short-term cognitive recovery after TBI.

Conclusion

This study showed that the BPRS prognostic model has a high predictive power for neurocognitive outcomes, specifically, for the overall function, processing speed and

attention. The prognostic value was proven at 90 days, after TBI, for these tests. Although there have been multiple studies in prognostic models in patients with TBI, this is the first study to assess the prognostic value of a previously validated prognostic model, for medium-term neurocognitive status in patients with neurotrophic treatment.

Stuidu 3. The correlation between the genetic polymorphism of ApoE and the neurocognitive evolution of patients with moderate and severe TBI under neurotrophic treatment

Introduction

Therapeutic responses after TBI are influenced by the type of trauma, age of the patient, comorbidities, extracerebral lesions, genotype. Associating genetic polymorphism with specific areas of cognitive function can help identify people who may benefit from a particular treatment. Apolipoprotein E4 (ApoE4) has been associated with neurotoxicity, neurodegeneration, inflammation, mitochondrial dysfunction, oxidative stress, apoptosis but also with lower scores in cognitive tests after TBI, with the development of cognitive decline and with the appearance of dementia. The purpose of this study was to highlight the role of ApoE polymorphism on neurocognitive outcome in patients with moderate and severe CBT, patients undergoing neurotrophic treatment with Cerebrolysin.

Methods

72h after the trauma, blood was taken to determine the genetic polymorphism corresponding to apolipoprotein E (ApoE), alleles E2-4, in all patients included in Study 1. The 80 patients who underwent neurotrophic treatment with Cerebrolysin were considered. We analyzed the correlation between the presence of the ApoE4 alleat at 72 h from the head trauma and the dynamic values of the scores obtained on the neurocognitive scales at 10, 30 and 90 days.

Results

In this study, statistically significant differences were observed in the evolution of neuropsychological test scores, in patients with apoE4 compared to those without this genetic variant. It was found that overall cognitive function, evaluated by MMSE, FTD rated neuromotor function (Finger Tapping for the dominant hand), and depression had an evolution correlated with the absence of allele E4, their improvement being significant in patients in whom this allele was absent.

Originality and innovative thesis contribution

In this research, we demonstrated the beneficial effect of multimodal molecules in the TBI treatment. Our approach for this study was based on the properties of neurotrophic factors: the pleiotropic, immediate neuroprotective activity and long-term multimodal effects. Due to

this unique therapeutic effect, the principle of treatment with neurotrophic factors implies, in addition to acute administration, repetitive periods of treatment. This principle was applied to stimulate long-term endogenous capacity for neurorecovery, induced by neurotrophicity, neuroplasticity and neurogenesis.

For the treatment efficacy assessment, we tried to capture the multiple aspects of traumatic brain pathology through a set of neurocognitive scales, addressed to several functional areas. Statistical analysis was adapted to this type of approach, being a multivariate analysis.

The second study is the first study to examine the relationship between a prognostic pattern and the neuro-cognitive status of patients with traumatic brain injury, under the conditions of a treatment with a proven neuroprotective effect.

The third study is a pharmacogenetic study, that analyzed the polymorphism of apolipoprotein E in relation to neurocognitive and emotional status. At the same time, to our knowledge, it is the first study to evaluate this relationship through a series of clinical tests, assessed dynamically, in patients with TBI, treated with effective multimodal, neuroprotective molecules.