© Victoria Verejan[1], Eugen Bendelic[1], Jana Bernic[2]

VICTORIA VEREJAN, EUGEN BENDELIC, JANA BERNIC

PARTICULARITĂȚILE MECANISMELOR PATOBIOCHIMICE ÎN CAZUL TRAUMATISMELOR CRANIO-CEREBRALE LA COPII

[1]Catedra Oftalmologie și Optometrie,
[2]Catedra Chirurgie Pediatrica, Traumatologie si Ortopedie USMF Nicolae Testemitanu, Chisinau, Republica Moldova

РЕЗЮМЕ

ИЗМИНЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕСОВ ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВЫХ ТРАВМАХ У ДЕТЕЙ

Ключевые слова. Окислительный стресс, детская травма головного мозга

Материалы и методы. Исследование проведено методом использование крови 48 пациентов осмотренных после черепно-мозговой травмы. Возраст больных составил предел от 7 до 18 лет. Цель исследование определить повреждения основных биохимических цепей, связанных с окислительным стрессом и недостаточностью антиоксидантного ответа.
Полученные результаты. Повышенное количество реактивных форм O2 определяется при всех видах черепно-мозговых травм, но наиболее повышенные индикаторы определяются при тяжелой ЧМТ, сотрясении мозга и множественных травмах.
Выводы. В случае повреждения головного мозга антиоксидантные средства могут оказать большую помощь, поскольку они ограничивают разрушительный эффект окислительных поражений. Понимая патологические цепочки процесса, мы можем уменьшить тяжелые побочные эффекты, исходящие из поражения.

SUMMARY

BIOCHEMICAL CHAIN LESIONS RESULTED BY A BRAIN INJURY IN CHILDREN

Key words. Oxidative stress, children brain injury

Materials and methods. The research was undergone using blood examination test on 48 inpatient emergency department after brain injury. The patients age ranged between 7-18 years old. The goal was to determine the lesions of the main biochemical chains concerning oxidative stress and antioxidative response defficiency.
Results. An increased amount of O2 reactice species have determine in all kinds of brain injury,but the most increased amount has been determined in severe TBI, concussion and multiple trauma.
Conclusions. In case of brain injury antioxidative remedies might be of a great help because they limit the distructive effect iof the oxidative lesions. By understaing the patological chains of the perocess we may reduce the severe side effects outcoming the lesion.

Stresul oxidativ (SO) reprezintă o verigă importantă în etiopatogenia traumatismelor cranio-cerebrale (TCC). În cadrul literaturii de specialiate este demonstrat nu numai rolul de, precum că nivelul biomarkerilor SO corelează cu gravitatea traumei propriu-zise. [1].
Creierul este extrem de sensibil la SO, deoarece acest organ consumă circa 20-30% de oxigen inspirat. Este determinat faptul prin care, creierul utilizează, atât în acizi grași polienici nesaturați, cât și în metale de tranziție redox. Iată de ce creierul este o țintă ideală pentru atacul RL [2]. Studiile recente arată că arată că, în TCC are loc o creștere importantă a producției de RL, ceea ce provoacă dezvoltarea unui SO pronunțat [3-5].
Este raportat că în TCC speciile reactive ale oxigenului (SRO) și speciile reactive ale azotului (SRN) pot fi generate prin mai multe căi celulare, precum activarea fosfolipazelor, nitric oxid sintazei (NOS) și xantinoxidazei, reacțiile Fenton și Haber-Weiss, și alt. La etapa când sistemele antioxidante de apărare celulară sunt depășite, producția crescută de RL va duce la oxidarea lipidelor, proteinelor și acizilor nucleici, care pot modifica funcția celulară într-un mod critic, provocând mai multe de procese patologice [6,7].
De menționat, că în TCC are loc afectarea stresul oxidativ a acizilor nucleici prin inducerea fragmentării ADN-ului mitocondrial [8], iar variantele genomice ale AND-

lui mitocondrial pot influența asupra evoluției TCC și a rezultatelor intervențiilor terapeutice [9].

Este dovedit că de ADN-ul nuclear, ADN-ul mitocondrial nu posedă mecanisme de reparare a exciziei nucleotidice și nu este protejat de histone, fiind foarte predispus la mutații. ADN-ul mitocondrial mutant produce deficit bioenergetic cu scăderea semnificativă a producției de ATP și creșterea semnificativă a producției de RL [10].

Există un studiu care afirmă că precum că disfuncția mitocondrială joacă un rol critic în mecanismul fiziopatologia leziunii cerebrale ischemice și traumatice [11-13].

Consecințele disfuncției mitocondriale sunt numeroase și includ stresul oxidativ, pierderea homeostaziei celulare Ca2+, promovarea apoptozei și insuficiența metabolică.[14].

Astfel, modificările țesutului cerebral la afecțiunea focarului de acțiune oxidativă ridicatî, capacității antioxidante relativ scăzute și deficienţelor în mecanismele de reparare ale ADN-lui [15-16].

Stresul oxidativ în TCC se manifestă prin peroxidarea lipidică (LPO) a acizilor grași polinesaturați din membranele lipidice celulare neuronale, gliale și vasculare, precum și a mielinei [17], ceea ce perturbă gradienții ionici și echilibrul ionic, pompele ionice, contribuind astfel la deteriorări ale membranelor celulare, creșterea consumului de glucoză, epuizarea depozitelor energetice și creșterea influxului mitocondrial de Ca2+. Afectarea metabolismului energetic oxidativ duce la producerea excesului de lactat și apariția acidozei și a edemului [18,19]. Unul dintre mecanismele importante care stau la baza procesului fiziopatologic al TCC este excitotoxicitatea — activarea receptorilor glutamici — NMDA prin supraproducția glutamatului în sinapsele heuronilor (Figura 1). Procesul de supraîncărcarea cu Ca2+ ar putea juca un rol cardinal în eliberarea citocitocului mitocondrial, activarea caspazei și apoptozei [20-21].

În figura 1 este redat schematic un rezumat al rolului stresului oxidativ în leziunile cranio-cerebrale traumatice.

Efectele SO care rezultă din cercetările clinice pot fi analizate la abordarea metodeleor de evaluare , precum estimarea biomarkerilor biochimici ai TCC în plasma sau serul sangvin. Totodată dezavantajele acestei abordări includ lipsa de specificitate a țesutului cerebral, variabilitate mare a indicilor evaluați legată de starea barierei hemato-encefalice (BHE). Alternativ, putem evalua markerii lichidului cefalo-rahidian (LCR) care au nom specificitate mai mare a țesutului sistemului nervos central (SNC), dar colectarea LCR este mai invazivă și, de aceea, se folosește mai rar în practica medicală. O abordare rațională care poate duce la identificarea markerilor sangvini sau LCR ar fi evaluarea proceselor biochimice care joacă un rol central în leziunile SNC, precum SO, markeri disfunctiei mitocondriale, inflamației, activării gliale, disfuncției neuronale [22].

Evaluarea SO în TCC se poate face prin evaluarea produselor finale ale acțiunii SRO și SRN asupra acizilor grași polinesaturați — aldehidlor electrofile puternic reactive, precum dialdehida malonică (DAM), 4-hidroxi-2-nonenal (4-HNE) și acroleina [23-24].

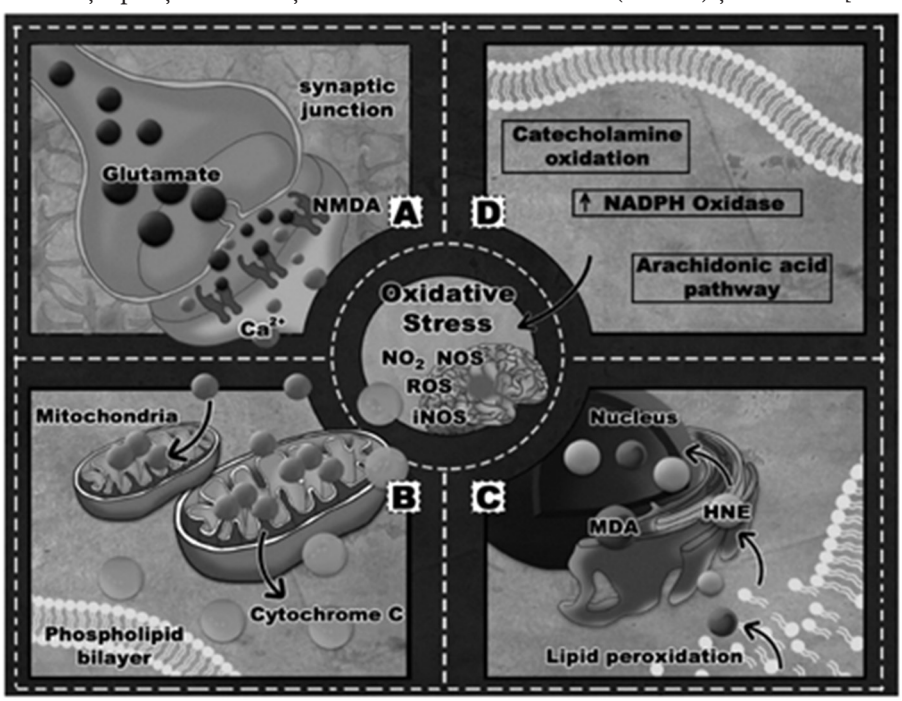

Figura 1. ***Stresul oxidativ în leziunile cerebrale traumatice (TCC): (A) excitotoxicitate; (B) sechestrarea Ca2 + și eliberarea citocromului C; (C) peroxidarea lipidelor; (D) căile de stres oxidativ [Ismail, H.; Shakkour, Z.; Tabet, M., et al. Traumatic Brain Injury: Oxidative Stress and Novel Anti-Oxidants Such as Mitoquinone and Edaravone. Antioxidants 2020, 9, 943. https://doi.org/10.3390/antiox9100943].***

Unul dintre cele mai dăunătoare efecte ale SO este peroxidarea lipidelor, al cărei produs final este DAM — unul dintre cei mai frecvent utilizați markeri ai LPO [25-26]. Produsele proteice de oxidare avansată (PPOA) au fost detectate pentru prima dată în plasma pacienților cu uremie cronică și sunt considerate a fi un marker prețios al SO, deoarece este stabil și ușor de detectat [27]. Aceștea sunt generați în timpul SO prin reacția proteinelor plasmatice cu oxidanții clorinați. PPOA sunt biomarkeri de preferință ai intensității modificărilor oxidative ireversibile ale proteinelor și cei mai adecvați parametri care reflectă cu acuratețe intensitatea saturației cu oxigen în bolile multifactoriale [28-30].

Într-un șir de articole de sinteză sunt trecute în revistă progresul din ultimele trei decenii în ceea ce privește obținerea unor rezultate excelente privind producerea unor medicamente antioxidante care inhibă eficient LPO induse de către RL și consecințele lor neurotoxice prin diferite mecanisme, precum SOD-ul, inhibitorii LPO tirilazad și U83836E, resveratrolul, curcumina, OPC-14177 și acid lipoic; chelatorul de fier deferoxamină și complex care include antioxidanți care conțin nitroxid, cum ar fi α-fenil-terț-butil nitrona.

Cu toate acestea eficiența majorității acestor abordări terapeutice în tratamentul TCC s-au dovedit a fi nesatisfăcătoare din diverse motive. Astfel, unele remedii pot interfera cu căile metabolice fiziologice, precum ar fi inhibitorii NOS. Altele sunt eficiente doar în cazuri de stres oxidativ minor, cum ar fi sistemul antioxidant tripartit, fiind consumate rapid în primele minute și ore după provocarea TCC. Unele remedii au o fereastră terapeutică îngustă și ar trebui să fie administrate cu promptitudine pentru a putea interfera cu vârful inițial al producției post-traumatice de radicali liberi, cum ar fi SOD-ul și antioxidantul nitroxid tempol.

MATERIALE ȘI METODE DE DIAGNOSTIC

Copiii incluși în studiu au fost din mediul urban 10,4% și din mediul rural 89,6%, dar atât în lotul de cercetare, cât și în lotul de control au prevalat copiii din localitățile rurale, respectiv — 89,6% (43 copii) și 58,3% (28 copii), vis-a-vis de respectiv doar 10,4% și 41,7% cazuri care își aveau mediul de reședință în localitățile urbane (x2=11.640, gl=1, p1<0,001).

Din numărul total de participanți în studiu (n=96), băieței au fost 56 (58,3%) și fetițe — 40 (41,7%). În lotul de cercetare (lotul copiilor ce au suportat traumatism cranio-cerebral) au prevalat băiețeii, respectiv – 70,8% cazuri, și doar în 29,2% cazuri — fetițe. Si datele literaturii estimează o incidență de 2 ori mai mare a traumatismului cranio-cerebral la băieți (respectiv incidența pe sexe a traumatismului cranio-cerebral băieți : fete este 2:1). Astfel în lotul de control, o ușoară prevalare au avut fetițele, respectiv 54,2% cazuri versus 45,8% cazuri — băieței.

Caracteristica loturilor de cercetare în funcție de vârstă, a relevat că în lotul de cercetare au prevalat adolescenții, cu vârsta cuprință între 15-18 ani – 45,8% cazuri, urmați de copiii de 7-10 ani –29,2% și cei de 11-14 ani – 25%. Deci, o incidență majora a traumatismelor cranio-cerebrale a fost la copiii etapei școlare timpurii (7-10 ani) și perioadei de adolescență (15-18 ani), iar grupul de vârsta 11-14 ani a realizat o incidenta mai mica, fiind o categorie care este mai rar supusa unor eventuale traumatisme cranio-cerebrale (x2= 3,412a, gl=2, p1=0,182). În lotul de control însă au prevalat copii cu vârsta de 7-10 ani – 45,8%, urmați de adolescenții de 15-18 ani –31,3% și s-au constatat copii de 11-14 ani – 22,9%

Copiii incluși în studiu au fost evaluați prin studiul la etapele clinic-evolutive unor examinări referitor la modificările indicilor peroxidării lipidice la etapele evoluției procesului patologic. Aceștia au fost învestigați în momentul internării in cadrul departamentului de urgențe neurochirurugicale, apoi în cadrul intervenției chirurugicale, ca mai apoi acești indici să fie re-evaluați la externare. Intensitatea stresului oxidativ poate fi apreciată prin markeri sistemici cum sunt produșii finali specifici rezultați din acțiunea SRO cu diverse molecule. Astfel sunt lipoperoxizii (LPO) și PPOA. LPO posedă efecte lezionale exprimate, fiindcă pot induce un lanț de reacții care se autoperpetuează și care produc lezarea biomembranelor celulare.

În tabelul 1 s-au inclus datele de cercetare cu privire la

Tabel 1. ***Indicii peroxidarii lipidice la etapele de cercetare***

A) Indicii peroxidarii lipidice la etapa de internare

Grupurile de studiu	DAM, μM/L	PPOA, μM/L	AIM, mmol/L
Lotul de control (L0)	5,36±0,16 (100%)	16,92±1,68 (100%)	0,35±0,07 (100%)
Lot de cercetare (L1)	7,56±0,39*** (141%)	32,26±2,71*** (191%)	0,36±0,08 (103%)

B) Indicii peroxidarii lipidice la etapa intraoperatorie

Grupurile de studiu	DAM, μM/L	PPOA μM/L	AIM, mmol/L
Lotul de control (L0)	5,54±0,27 (100%)	8,12±0,26 (100%)	0,37±0,04 (100%)
Lot de cercetare (L1)	7,57±0,49** (137%)	19,42±4,76*** (239%)	0,36±0,06 (97%)

C) Indicii peroxidarii lipidice la etapa de externare

Grupurile de studiu	DAM, μM/L	PPOA μM/L	AIM, mmol/L
Lotul de control (L0)	5,36±0,16 (100%)	16,92±1,68 (100%)	0,35±0,07 (100%)
Lot de cercetare (L1)	7,58±0,40*** (141%)	36,58±2,89*** (216%)	0,35±0,09 (100%)

Notă: *diferenţă statistic semnificativă cu lotul de control, * — p<0,05; ** — p<0,01; *** — p<0,001.*
DAM – dialdehida malonică; PPOA – produse proteice de oxidare avansată; AIM – albumina ischemic modificată.

modificările indicilor peroxidării lipidice în dinamică la copiii din loturile L1 și L0 incluși în studiu.

În studiul nostru nivelul LPO a fost apreciat indirect prin dozarea concentrației dialdehidei malonice (DAM) plasmatice în dinamică. La copiii din lotul de cercetare (L1) s-a constatat o creștere importantă a valorilor DAM la toate etapele evoluției procesului patologic. Astfel, la internare s-a observat o creștere a nivelului dialdehidei malonice (DAM) față de lotul de control cu 41%. La etapa intraoperatorie concentrația DAM se menține la valori crescute (+37%), iar la etapa de externare valorile acestui indice depășeau cu 41% valorile controlului. Aceasta indică existența unei sinteze exprimate de SRO la acești copii.

DAM produs în organism în condiții de stres oxidativ și fiind puternic reactogen poate interacționa cu mai multe biomolecule, cum ar fi lipidele, proteinele sau ADN-ul, cu formarea de aducti și această producție excesivă de DAM a fost asociată cu diferite stări patologice. [1]. Mai mult decât atât, nivelul seric a DAM depinde nu numai de gradul de exprimare a proceselor de peroxidare, dar și de viteza metabolizării acestui compus până la CO2 și H2O2 în ciclul Krebs.

Modificările concentrației DAM serice (în %) la etapa de internare la copiii din lotul de cercetare (L1) în dependență de tipul traumatismului craniocerebral (T.C.C) față de lotul de control (L0) sunt prezentate în figura 4.1a, din care reiesă că cele mai înalte valori ale acestui indice se înregistrează în TCC inchis și deschis (creștere cu 50-53%) și în politraumatism (creștere cu 61%). La următoarea etapă de cercetare – intraoperatorie valorile DAM se mențin sporite, cele mai înalte valori ale acestui indice înregistrîndu-se în TCC închis (creștere cu 46%) și contuzie (creștere cu 37%), în pofida unei tendințe slabe de discreștere, dar care nu atingea indicii controlului (L0) (figura 1b din anexa 2). La etapa de externare se înregistrează o creștere statistic veridică în toate tipurile de TCC, totuși cele mai pronunțate creșteri au loc în TCC severă, contuzie și politraumatism (creșteri cu 41-42%) și mai ales în TCC închis (majorare cu 57% față de nivelul controlului (L0)

Din datele prezentate în statistica tabelului 1 reiesă că la copiii din lotul de cercetare (L1) cu traumatism cranio cerebral la etapa de internare s-a înregistrat o creștere semnificativă a concentrației de produși proteici de oxidare avansată (PPOA) ce depășea cu 91% concentrația acestui indice comparativ cu copiii din lotul de control. La etapa intraoperatorie valorile PPOA au crescut și mai mult cu 139%, ceea ce depășea de 1,4 ori nivelul controlului, iar la etapa de externare PPOA nu s-au normalizat, dimpotrivă, acest indice depășea de 1,2 ori valorile lotului de control. Deci, la copiii incluși în studiu există o creștere a valorilor PPOA, fenomen care ar putea fi explicat prin chimia formării lor. Astfel, PPOA se formează în timpul stresului oxidativ prin acțiunea oxidanților cloruraţi, în special, prin acțiunea acidului

hipocloros și a cloraminelor (produse de mieloperoxidază în leucocitele polimorfonucleare activate [2].

De notat că PPOA se referă atât la markerii SO, cât și la markerii activării neutrofilelor în bolile inflamatorii. Oxidanții clorinați de origine neutrofilică pot duce la SO și oxidarea notabilă a proteinelor. În contextul clinic au fost depistate niveluri ridicate de PPOA la pacienții maturi cu mai multe boli, inclusiv diabet, artrita reumatoidă (AR), boli neurodegenerative, precum și îmbătrânirea [3].

Concentrația de PPOA, conform cercetărilor noastre, a crescut la copiii din lotul de cercetare (L1) statistic semnificativ la toate etapele de evaluare, fapt explicat prin acțiunea de inducere a mieloperoxidazelor, ceea ce se traduce prin intensificarea sintezei oxidanților puternici, cum ar fi acidul hipocloros (HOCL) de către leucocitele polimorfonucleate (PMN) activate – pricipala armă de luptă contra agenților infecțioși.

Rezultatele cercetărilor noastre arată că concentrația de PPOA la internare crește brusc în toate variantele de TCC, cele mai exprimate creșteri au loc în TCC severă și TCC asociată (creșteri cu 125 – 152 %), dar mai ales în politraumatism (creșteri cu 221%) (anexa 1,figura 4.2a). La etapă intraoperatorie valorile PPOA se mențin sporite, cele mai înalte valori ale acestui indice înregistrîndu-se în TCC închis (creștere cu 118%), contuzie (creșteri cu 139%) și mai ales în politraumatism (creșteri cu 203%)

La etapa de externare valorile PPOA se mențineau majorate, similare celor înregistrate la etapa de internare, dar cele mai înalte creșteri s-au înregistrat în TCC deschis și TCC asociată (creștere cu 150% și, respectiv, 170%) și în politraumatism (creșteri cu 203%) (anexa 2, figura 2c). Valorile PPOA la etapa de externare nu manifestau tendințe de normalizare, ci dimpotrivă, se mențineau crescute, cele mai înalte valori ale acestui indice înregistrîndu-se în TCC deschis (creștere cu 150%), TCC asociată (creșteri cu 170%) și mai ales în politraumatism (creșteri cu 220%) (anexa 3, figura 4.2c).

După cum se știe AIM se formează în urma acțiunii stresului oxidativ (SO), speciilor reactive de oxigen (SRO) și acidozei asupra secvenței N-terminale (Asp1-Ala2-His3-Lys4) ale albuminei serice, ceea se traduce prin micșorarea afinității acesteia pentru metalele de tranziție, în special pentru cobalt; această variantă a albuminei a fost numită albumină ischemic modificată — AIM.

Datele prezentate în tabelul 1 demonstrează că copiii din lotul de cercetare (L1) cu traumatism cranio cerebral nu au prezentat careva modificări cu semnificație statistică ale albuminei ischemic modificată (AIM) față de lotul de control la toate etapele de evaluare a procesului patologic. Astfel, la copiii de vârstă școlară cu diferite forme ale TCC, spre deosebire de maturi, nu au loc modificări ischemice pronunțate. Totuși, la etapa de internare s-au observat tendințe de creștere neveridică (cu 9%) în politraumatism (anexa 1, figura 4.3a), intraoperator tendință de scădere în TCC închis (cu 11%) (anexa 2, figura 4.3b), iar la ultima etapă – externare s-a înregistrat o tendință neveridică de creștere a valorilor AIM în TCC deschis și politraumatism (creștere cu 6%, p>0,5) (anexa 3, figura 4.3c). Acest fapt ar putea fi explicat prin aceea că la copii, fluxul sanguin cerebral global are o viteză mai mare (>100 ml/100 g/min) în comparație cu cea a adultului (30-40 ml/100 g/min), deci o oxigenare mai bună, fapt ce conferă creierului copilului o mai mare protecție față de acțiunea ischemizantă a RL și altor factori.

AIM este folosit în calitate de biomarker prețios de diagnostic și urmărire a eficienței tratamentului aplicat în diferite boli asociate cu ischemia și stresul oxidativ, inclusiv sindromul coronarian acut și accidentele cerebrovasculare, retinopatia diabetică și traumatismul cerebral, deoarece acest indice corelează cu severitatea procesului patologic [3,4,5,6,7]. Într-un șir de studii clinice se menționează că similar cu leziunile cerebrale ischemice, ischemia retiniană declanșează stresul oxidativ, inflamația, neovascularizarea și, în cele din urmă, moartea neuronilor retinieni [8,9].

Oxidul nitric (NO) factor derivat din endoteliu este o moleculă importantă de semnalizare, prezentă în toate țesuturile, unde reglează multiple procese fiziologice.

În organism NO rezultă din reacția de transformare a L-argininei în L- citrulină, proces catalizat de nitric oxid sintaza (NOS). NOS există sub 3 forme moleculare – endotelială (eNOS), neuronală (nNOS) și inductibilă

Tabel 2. ***Metaboliții oxidului nitric la etapele de cercetare***

A) Metaboliții oxidului nitric la etapa de internare

Grupurile de studiu	NO_2+NO_3 total, μM/L	NO_2, μM/L	NO_3, μM/L	Raport NO2/NO3
Lotul de control (L0)	81,12±0,71 (100%)	54,38±1,46 (100%)	27,51±1,34 (100%)	2,28±0,19 (100%)
Lot de cercetare (L1)	81,06±1,28 (99.9%)	56,75±0,99*** (104%)	24,31±1,08 (88%)	2,76±0,16* (121%)

B)Metaboliții oxidului nitric la etapa intraoperatorie

Grupurile de studiu	NO_2+NO_3 total, μM/L	NO_2, μM/L	NO_3, μM/L	Raport NO2/NO3
Lotul de control (L0)	76,93±1,93 (100%)	47,57±1,62 (100%)	29,37±2,68 (100%)	1,79±0,22 (100%)
Lot de cercetare (L1)	81,54±1,92 (106%)	53,98±2,95* (113%)	27,56±2,03 (94%)	2,16±0,33 (121%)

C)Metaboliții oxidului nitric la etapa de externare

Grupurile de studiu	NO_2+NO_3 total, μM/L	NO_2, μM/L	NO_3, μM/L	Raport NO2/NO3
Lotul de control (L0)	81,12±0,71 (100%)	54,38±1,46 (100%)	27,51±1,34 (100%)	2,28±0,19 (100%)
Lot de cercetare (L1)	81,28±1,13 (100.2%)	57,41±1,09 (106%)	23,87±1,02 (87%)	2,75±0,14* (121%)

Notă: *diferenţă statistic veridivă faţă de lotul de control, * — p<0,05; ** — p<0,01; *** — p<0,001*

(iNOS). Principalii metaboliţi ai NO care se formează prin reacţii de oxidare, sunt nitriţii (NO2) şi nitraţii (NO3). Funcţionarea normală a endoteliului este condiţionată de sinteza permanentă a NO din L-arginină prin intermediului eNOS. În afară de efectul vazodilatator, NO are și funcție angioprotectoare ce inhibă proliferarea mediei vasculare, posedă acțiune antioxidantă și antiinflamatorie, inhibă agregarea trombocitelor și migrarea monocitelor. Oxidul nitric (NO) este o moleculă cheie de semnalizare în reglarea fluxului sanguin cerebral. Se consideră că eNOS are proprietăți neuroprotectoare, iar cel derivat din iNOS poate avea efecte neurotoxice. Acest lucru este valabil atât pentru creierul adult, cât și cel imatur [10].

Leziunea cerebrală traumatică duce la creșterea activității NOS în cortexul cerebral și la creșterea conținutului de oxid nitric în creier [11]. Există, de asemenea, o creștere a concentrației de NO în plasma sanguină după TCC, iar gradul acestei creșteri depinde de gravitatea leziunii. În plus, dezvoltarea stresului nitrosativ și creșterea nivelului de peroxinitriți poate produce acumularea ionilor de Ca2+ în citoplasma celulelor și activarea sistemului calpainic, care, ca urmare, declanșează procese neurodegenerative posttraumatice [12].

La copiii din lotul de cercetare (L1) cu traumatism cranio cerebral și lotul de control (L0) a fost cercetată concentrația metaboliților oxidului nitric (tabel 2). Astfel, la etapa de internare s-a constatat că concentrația sumară a metaboliților oxidului nitric (NO2+NO3) a fost practic aceeași în ambele loturi cercetate (81,12 μM/L versus 81,06 μM/L). S-a înregistrat o creștere neesențială în lotul de cercetare (L1) a concentrației de NO2 (56,75 μM/L versus 54,38 μM/L) și o discreștere neesențială a valorilor NO3 (24,31 μM/L versus 27,51 μM/L) față de lotul de control (L0). Acest fapt a condus la creșterea statistic veridică a raportului NO2/NO3 în lotul de cercetare (L1) cu 21%.

La etapa intra-operatorie concentrația sumară a metaboliților (NO2+NO3) la copiii din lotul de cercetare (L1) se modifică neesențial față de valorile lotului martor (81,54 μM/L versus 76,93 μM/L). S-a determinat o creștere neesențială la pacienții din lotul de cercetare (L1) a concentrației de NO2 (53,98 μM/L versus 47,57 μM/L) și o scădere a nivelului NO3 (27,56 μM/L versus 29,37 μM/L). În așa mod, raportul NO2/NO3 a crescut ușor în cadrul lotului de cercetare cu 21% , dar fără a atinge pragul semnificației statistice.

La etapa de externare practic s-au înregistrat aceleași modificari: concentrația sumară a NO2+NO3 a fost practic egală în ambele loturi cercetate (81,12 μM/L versus 81,28 μM/L). S-a determinat o creștere neesențială la pacienții din lotul de cercetare (L1) a concentrației de NO2 (57,41 μM/L versus 54,38 μM/L) și descreștere a concentrației de NO3 (23,87 μM/L versus 27,51 μM/L). Iar raportul NO2/NO3 la copiii din lotul de cercetare (L1) a crescut statistic semnificativ cu 21%.

Mai mulți cercetători au raportat valori crescute ale concentrațiilor metaboliților sumari ai NO — (NO2 + NO3) în LCR la pacienții maturi cu leziuni severe craniocerebrale în primele 3 zile după traumatism. De asemenea, a fost demonstrată o creștere similară concomitentă în LCR al IL-8 — un marker al răspunsului

inflamator acut, fapt ce indică că cauza creșterii concentrațiilor metaboliților NO este cel mai probabil inflamația [13,14].

Modificările concentrației sumare a metaboliților oxidului nitric (NO2+NO3) serice (în μM/L) la etapa de internare la copiii din lotul de cercetare (L1) în dependență de tipul traumatismului craniocerebral (T.C.C) față de lotul de control (L0) sunt prezentate în anexa 2, figura 4.4a, din care se vede că la această etapă are loc o creștere veridică a acestui indice în TCC închis și politraumatism. Intraoperator (NO2+NO3 total) crește în TCC închis (cu 10%) și scade în TCC închis (cu 12%) La externare nu s-au înregistrat careva modificări veridice.

Concentrația metabolitului NO2 la etapa de internare a crescut veridic în TCC deschis (+16%), TCC asociat (+12%) și politraumatism (+17%). Intraoperator metabolitul NO2 crește în TCC contuzie (+13%) și în politraumatism (creștere cu+ 21%) (anexa 2 , figura 4.5b). La externare are loc scăderea nivelului NO2 în politraumatism (cu 27%), TCC asociat (cu 20%) și TCC deschis (cu 18%) (anexa 3, figura 4.5c).

Concentrația metabolitului NO3 la etapa de internare a scăzut veridic în TCC deschis, TCC asociat și politraumatism (cu 22%). Intraoperator metabolitul NO3 scade în TCC deschis (cu 27%) și în politraumatism (scădere cu 23%)). La externare nu s-a înregistrat modificări cu semnificație statistică a valorilor NO3(anexa 3, figura 4.6c).

Raportul NO2/NO3 la internare crește veridic cel mai mult în TCC asociat (cu 45%), TCC deschis (cu 51%) și politraumatism(cu 52%) Intraoperator raportul NO2/NO3 crește în politraumatism (cu 64%) La externare are loc o creștere veridică în toate variantele de TCC, dar cele mai exprimare creșteri s-au depistat în TCC asociat (cu 39%) și politraumatism (cu 56%)

CONCLUZII SI DISCUȚII

1. Traumatismul cerebral cauzează producția masivă de SRO cu stres oxidative (SO) rezultant. Intensitatea SO poate fi apreciată prin markeri sistemici cum sunt lipoperoxizii (LPO) care posedă efecte lezionale exprimate, fiindcă pot induce un lanț de reacții care se autoperpetuează și care produc lezarea biomembranelor celulare. Rezultatele cercetărilor noastre arată că concentrația produsului final al LPO — dialdehidei malonice (DAM) plasmatice la copiii din lotul de cercetare (L1) crește important la toate etapele evoluției procesului patologic.
2. Produșii proteici de oxidare avansată (PPOA) sunt biomarkeri de preferință ai gradului modificărilor oxidative ireversibile ale proteinelor și cei mai adecvați parametri care reflectă cu acuratețe intensitatea SO. Oxidanții clorinați de origine neutrofilică pot duce la SO și oxidarea notabilă a proteinelor, fapt explicat prin acțiunea de inducere a mieloperoxidazelor, ceea ce se traduce prin intensificarea sintezei oxidanților puternici, cum ar fi acidul hipocloros (HOCL) de către leucocitele polimorfonucleate (PMN) activate.
3. Efectele patobiochimice ale acțiunii SRO pot fi estimate și prin determinarea nivelului metaboliților sumari ai NO (NO total), metaboliților oxidului nitric ($NO2^-$ și $NO3^-$), și raportului $NO2^-/NO3$ în serul sanguin. Timpul de înjumătățire a NO și raportul nitrat ($NO3^-$)/nitrit ($NO2^-$) depind de tipul și cantitatea SRO, pO2, pH, și alt. Oxidul nitric (NO) este o moleculă cheie de semnalizare în reglarea fluxului sanguin cerebral. Se consideră că NO derivat din eNOS are proprietăți neuroprotectoare, iar cel derivat din iNOS poate avea efecte neurotoxice. Leziunea cerebrală traumatică duce la creșterea activității NOS în cortexul cerebral și la creșterea conținutului de oxid nitric în creier. Există, de asemenea, o creștere a concentrației de NO în plasma sanguină după TCC, iar gradul acestei creșteri depinde de gravitatea leziunii. În plus, dezvoltarea stresului nitrosativ și creșterea nivelului de peroxinitriți poate produce acumularea ionilor de Ca2+ în citoplasma celulelor și activarea sistemului calpainic, care, ca urmare, declanșează procese neurodegenerative posttraumatice
4. Pentru a se proteja împotriva efectelor toxice ale produselor oxidative, celula a dezvoltat sisteme de apărare antioxidantă. Antioxidanții se găsesc în orice celulă, sunt molecule care protejează organismul de distrugerile, provocate la nivel celular de SRO și SRN. În prezentul studiu, copiii luați în cercetare au fost supuși unor examinări ale indicilor sistemului antioxidant. La copiii din lotul de cercetare (L1) fost stabilită o creștere statistic nesemnificativă a activității antioxidante totale (AOT), evaluată prin metoda ABTS la etapele evoluției procesului patologic – internare, intraoperator și externare și discreșterea pronunțată a valorilor AOT, evaluată prin metoda CUPRAC la toate etapele de cercetare – internare (reducere cu 29%, $p<0,001$); intraoperator (reducere cu 65%) și externare (reducere cu 39%, $p<0,001$) față de lotul de control (L0).

BIBLIOGRAFIE

1 Investigaţii biochimice: Elaborare metodică. Gudumac V., Tagadiuc O., Rîvneac V., Sardari V., Pantea V., Andronache L., Ştîrba O. Vol. II. Micrometode. Univ. De Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu". Ch.: Tipogr. „Elena V. I.", 2010. 97 p. ISBN 978-9975.

2 Metode de cercetare a metabolismului hepatic. Elaborare metodică. V. Gudumac, V. Rîvneac, O. Tagadiuc;et al. Univ. De Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu". Sub red. Valentin Gudumac. Ch.: Tipogr. „Tehnica-Info", 2012. 162 p.

3 Габриэлян Н. И., Липатова В. И. Опыт использования показателей средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей. В: Лаб. дело. 1984, № 3, с. 138-140Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е. Метод определения активности каталазы. В: Лабор. дело. 1988, № 1, с. 16-19.

4 Сыромятникова Е. Д., Лужников Е. А., Маткевич и др. Некротические субстанции как маркер оценки эффективности детоксикации организма методом кишечного лаважа у больных острыми отравлениями. В: Клин. лабор. д-ка. 2002, №10, с. 44.

5 Makita Z, Bucala R, Rayfield EJ, et al. Reactive glycosylation end products in diabetic uraemia and treatment of renal failure. Lancet. 1994;343:1519–1522].

6 Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic. Biol. Med. 1999;26:1231–1237.

7 Witko-Sarsat V., Friedlander M., Capeillere-Blandin C.; Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uraemia.Kidney Int., 1996; 49(5): 1304-1313.

8 Zeiler FA, McFadyen C, Newcombe VFJ, et al. Genetic Influences on Patient-Oriented Outcomes in Traumatic Brain Injury: A Living Systematic Review of Non-Apolipoprotein E Single-Nucleotide Polymorphisms. J.Neurotrauma. 2021;38(8):1107-1123.

9 Szczesny, B.; Tann, A.W.; Mitra, S. Age- and tissue-specific changes in mitochondrial and nuclear DNA base excision repair activity in mice: Susceptibility of skeletal muscles to oxidative injury. Mech. Ageing Dev. 2010, 131, 330–337.

10 Blomgren K, Hagberg H. Free radicals, mitochondria, and hypoxia-ischemia in the developing brain. Free Radic. Biol. Med. 2006;40(3):388–397.

11 Starkov AA, Chinopoulos C, Fiskum G. Mitochondrial calcium and oxidative stress as mediators of ischemic brain injury. Cell Calcium. 2004;36(3–4):257–264.

12 Guţu I. Influența preparatelor de origine entomologică asupra stresului oxidativ în inflamația subacută //Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu". – 2020. – C. 51-51..

13 André Mendes Arent, Luiz Felipe de Souza, Roger Walz, and Alcir Luiz Dafre. Perspectives on Molecular Biomarkers of Oxidative Stress and Antioxidant Strategies in Traumatic Brain Injury. BioMed Research International Volume 2014, Article ID 723060, 18 pages http://dx.doi.org/10.1155/2014/723060.

14 Shohami, E.; Beit-Yannai, E.; Horowitz, M.; Kohen, R. Oxidative stress in closed-head injury: Brain antioxidant capacity as an indicator of functional outcome. J. Cereb. Blood Flow Metab. 1997, 17, 1007–1019.

15 Pantea V., Șveț I., Popa V. Efectele unor compuși biologic activi autohtoni cu proprietăți antitumorale asupra intensității stresului oxidativ (cercetări in vitro). – 2018..

16 Hall ED, Vaishnav RA, Mustafa AG. Antioxidant therapies for traumatic brain injury. Neurotherapeutics. 2010;7(1):51-61. doi:10.1016/j.nurt.2009.10.021.

17 Marklund, N.; Clausen, F.; Lewander, T.; Hillered, L. Monitoring of reactive oxygen species production after traumatic brain injury in rats with microdialysis and the 4-hydroxybenzoic acid trapping method. J. Neurotrauma 2001, 18, 1217–1227.

18 Robertson CL, Scafidi S, McKenna MC, Fiskum G. Mitochondrial mechanisms of cell death and neuroprotection in pediatric ischemic and traumatic brain injury. Exp Neurol. 2009;218(2):371-380. doi:10.1016/j.expneurol.2009.04.030.

19 Itoh, T.; Satou, T.; Nishida, S.; Tsubaki, M.; Imano, M.; Hashimoto, S.; Ito, H. Edaravone protects against apoptotic neuronal cell death and improves cerebral function after traumatic brain injury in rats. Neurochem. Res. 2010, 35, 348–355.

20 Loidl-Stahlhofen, K. Hannemann, and G. Spiteller, "Generation of α-hydroxyaldehydic compounds in the course of lipid peroxidation," Biochimica et Biophysica Acta, vol. 1213, no. 2, pp. 140–148, 1994.].

21 W. A. Pryor and N. A. Porter, "Suggested mechanisms for the production of 4-hydroxy-2-nonenal from the autoxidation of polyunsaturated fatty acids," Free Radical Biology and Medicine, vol. 8, no. 6, pp. 541–543, 1990.

22 H. Esterbauer, R. J. Schaur, and H. Zollner, "Chemistry and Biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes," Free Radical Biology and Medicine, vol. 11, no. 1, pp. 81–128, 1991.

23 Kovachich GB, Mishra OP. Lipid peroxidation in rat brain cortical slices as measured by the thiobarbituric acid test.J Neurochem. 1980 Dec; 35(6):1449-52.

24 S. Sharma, Z. Ying, and F. Gomez-Pinilla, "A pyrazole curcumin derivative restores membrane homeostasis disrupted after brain trauma," Experimental Neurology, vol. 226, no. 1, pp. 191–199, 2010.

25 F. Petronilho, G. Feier, B. de Souza et al., "Oxidative stress in brain according to traumatic brain injury intensity," Journal of Surgical Research, vol. 164, no. 2, pp. 316–320, 2010.

26 Cepoi L. et al. Dialdehida malonică–un potențial marcher al toxicității nanoparticulelor în mediul acvatic //One Health & Risk Management. – 2020. – T. 1. – №. 1. – C. 64-71..

27 Piwowar A . The advanced oxidation protein products as potential diagnostic and prognostic factor

in diseases of the indicated participation of oxidative stress. Postepy Hig Med Dosw (online), 2014; 68: 446-458.

28 Ghinda S. et al. CARACTERISTICILE CONȚINUTULUI DE LIMFOCITE T ÎN FUNCȚIE DE STRESUL OXIDATIV ȘI ACTIVITATEA ANTIOXIDANTĂ LA PACIENȚII CU TUBERCULOZĂ PULMONARĂ ȘI INFECȚIA COVID-19 //Bulletin of the Academy of Sciences of Moldova. Medical Sciences. – 2021. – T. 71. – №. 3. – C. 200-205.

29 Liu, Z., Yao, X., Jiang, W. et al. Advanced oxidation protein products induce microglia-mediated neuroinflammation via MAPKs-NF-κB signaling pathway and pyroptosis after secondary spinal cord injury. J Neuroinflammation 17, 90 (2020).

30 Cornelia, Lazăr, and Ana Mișina. "Caracteristica metabolică a ischemiei/reperfuziei cauzate de torsiunea/detorsiunea ovariană." (2021). C.P. Olivier, G. Loron, R.H. Fontaine, J. Pansiot, et al. Nitric oxide plays a key role in myelination in the developing brain. J. Neuropathol. Exp. Neurol., 69 (2010), pp. 828-837.