Β΄ Νευροχειρουργική Κλινική Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών,
Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «ΑΤΤΙΚΟΝ»
Διευθυντής: Καθηγητής Ευστάθιος Μποβιάτσης

Α΄ Προπαιδευτική Κλινική Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών,
Εργαστήριο Χειρουργικής Έρευνας, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟ»
Διευθυντής: Καθηγητής Γεώργιος Ζωγράφος

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ IN VITRO ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΕΝΥ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΚΡΑΝΙΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗ ΚΑΚΩΣΗ ΣΕ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΤΟΥ ΙΑΤΡΟΥ

ΑΝΤΩΝΙΟΥ ΑΛ. ΑΝΔΡΟΥΛΗ

Νευροχειρουργού

ΑΘΗΝΑ 2018

Στη σύζυγό μου Έρση,
στα παιδιά μου Σοφία και Ιάσων,
στους γονείς μου,
στους δασκάλους μου.

Στοιχεία Διδακτορικής Διατριβής

Ημερομηνία αίτησης ορισμού τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 22-12-2006

Ημερομηνία Ορισμού 3μελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής : 19-07-2007

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

α) Ι. Μπράμης, Καθηγητής

β) Μ. Κωνσταντουλάκης, Καθηγητής

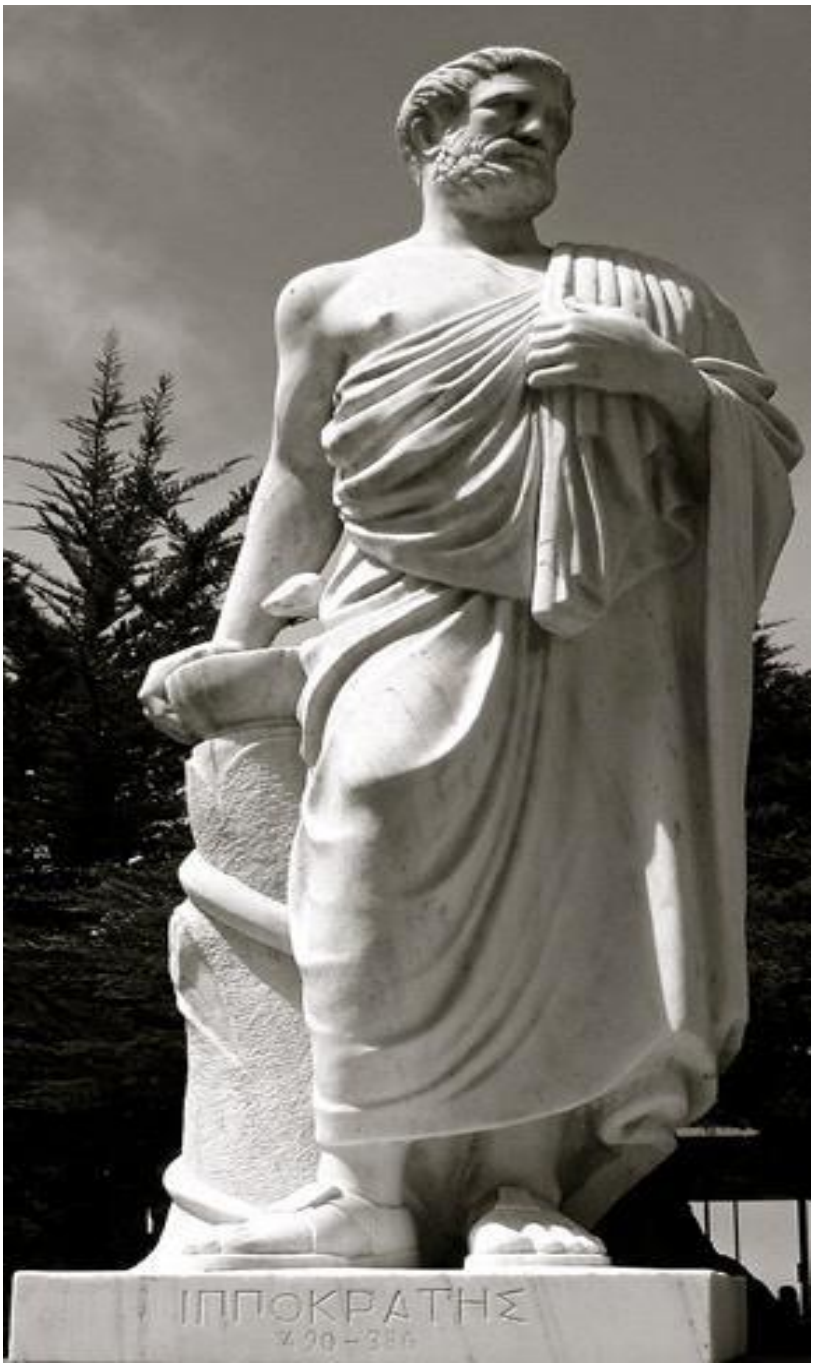
γ) Ε.Ι. Μποβιάτσης, Καθηγητής

Ημερομηνία Ορισμού του θέματος: 14/11/2007
Ημερομηνία κατάθεσης 1ης έκθεσης προόδου: 07/10/2015
Ημερομηνία κατάθεσης 2ης έκθεσης προόδου: 03/04/2017
Ημερομηνία κατάθεσης Τελικής Έκθεσης Προόδου: 22/12/2017
Ημερομηνία Πρότασης της Συμβουλευτικής Επιτροπής για τον ορισμό 7μελούς Εξεταστικής Επιτροπής : 22/12/2017
Ημερομηνία Ορισμού 7μελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 13/02/2018

Τα μέλη της Επταμελούς Επιτροπής

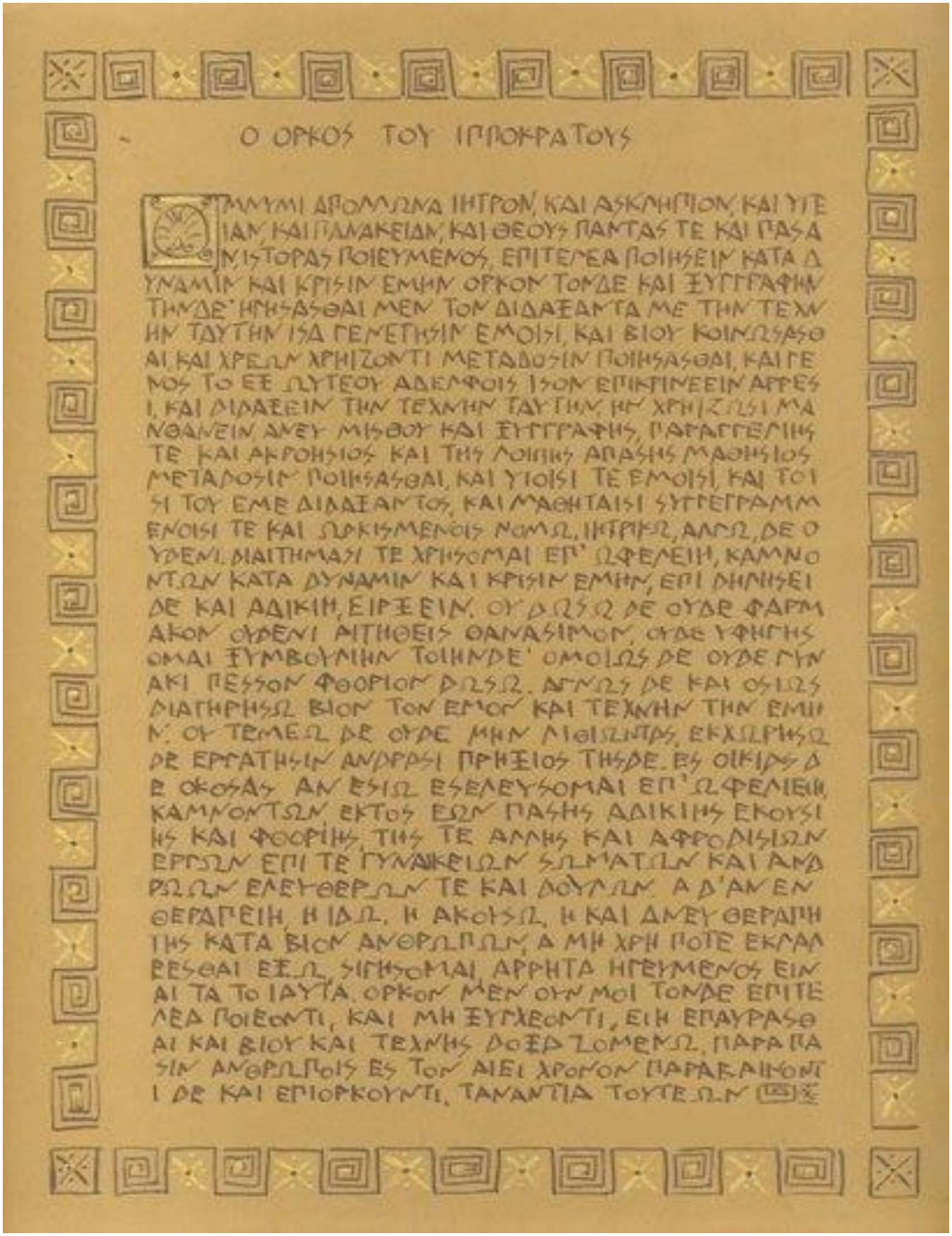
1) ΛΕΑΝΔΡΟΣ ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ, Καθηγητής
2) ΜΠΟΒΙΑΤΣΗΣ ΕΥΣΤΑΘΙΟΣ, Καθηγητής
3) ΚΩΝΣΤΑΝΤΟΥΛΑΚΗΣ ΜΑΝΟΥΣΟΣ, Καθηγητής
4) ΒΟΥΜΒΟΥΡΑΚΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ, Καθηγητής
5) ΤΣΙΒΓΟΥΛΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ, Καθηγητής
6) ΔΗΜΟΠΟΥΛΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ, Αν. Καθηγητής
7) ΚΟΡΦΙΑΣ ΣΤΕΦΑΝΟΣ, Επ.Καθηγητής

ΕΘΝΙΚΟΝ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟΝ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΝ ΑΘΗΝΩΝ



ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ ΟΡΚΟΣ



Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ, ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ, ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΝ ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ· ΗΓΗΣΑΣΘΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΑΣΟΑΙ, ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΙΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ, ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΩΥΤΕΟΥ ΑΔΕΛΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ, ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ, ΗΝ ΧΡΗΙΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΣ, ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ, ΚΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝΤΟΣ, ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΩΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ, ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ, ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ. ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΙΗ, ΕΙΡΞΕΙΝ. ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ· ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΟΥ ΤΕΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘΙΩΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ ΠΡΗΞΙΟΣ ΤΗΣΔΕ. ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΙΩ ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΙΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ, ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ. Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ, Η ΙΔΩ, Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΗΙΗΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ, ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ, ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ, ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ

ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΣ ΟΡΚΟΣ
ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ

Ορκίζομαι στον Απόλλωνα τον Ιατρό και τον Ασκληπιό και στην Υγεία και στην Πανάκεια και σε όλους τους Θεούς επικαλούμενος τη μαρτυρία τους, να τηρήσω πιστά κατά τη δύναμη και την κρίση μου αυτόν τον όρκο και το συμβόλαιό μου αυτό.

Να θεωρώ αυτόν που μου δίδαξε αυτήν την τέχνη ίσο με τους γονείς μου και να μοιραστώ μαζί του τα υπάρχοντά μου και τα χρήματά μου αν έχει ανάγκη φροντίδας. Να θεωρώ τους απογόνους του ίσους με τα αδέλφια μου και να τους διδάξω την τέχνη αυτήν, αν θέλουν να τη μάθουν, χωρίς αμοιβή και συμβόλαιο.

Να μεταδώσω με παραγγελιές, οδηγίες και συμβουλές όλη την υπόλοιπη γνώση μου και στα παιδιά μου και στα παιδιά εκείνου που με δίδαξε και στους άλλους μαθητές που έχουν κάνει γραπτή συμφωνία μαζί μου και σε αυτούς που έχουν ορκιστεί στον ιατρικό νόμο και σε κανέναν άλλο.

Να θεραπεύω τους πάσχοντες κατά τη δύναμή μου και κατά την κρίση μου χωρίς ποτέ, εκουσίως, να τους βλάψω ή να τους αδικήσω.

Να μη δώσω ποτέ σε κανέναν, έστω και αν μου το ζητήσει, θανατηφόρο φάρμακο, ούτε να δώσω ποτέ τέτοια συμβουλή, ομοίως, να μη δώσω ποτέ σε γυναίκα φάρμακο για να αποβάλει. Να διατηρήσω δε τη ζωή μου καθαρή και αγνή και να μη χειρουργήσω πάσχοντες από λίθους, αλλά να αφήσω την πράξη αυτή για τους ειδικούς.

Σε όποια σπίτια κι αν πηγαίνω, θα μπαίνω για την ωφέλεια των πασχόντων αποφεύγοντας κάθε εκούσια αδικία και βλάβη και κάθε γενετήσια πράξη και με γυναίκες και με άνδρες, ελεύθερους και δούλους.

Και ό,τι δω ή ακούσω κατά την άσκηση του επαγγέλματός μου, ή κι εκτός, για τη ζωή των ανθρώπων, που δεν πρέπει ποτέ να κοινοποιηθεί, να σιωπήσω και να το κρατήσω μυστικό.

Αν τον όρκο μου αυτόν τηρήσω πιστά και δεν τον αθετήσω, είθε να απολαύσω για πάντα την εκτίμηση όλων των ανθρώπων για τη ζωή μου και για την τέχνη μου, αν όμως παραβώ και αθετήσω τον όρκο μου να υποστώ τα αντίθετα από αυτά.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όλους όσους με βοήθησαν και συνέβαλαν ενεργά στην ολοκλήρωση της μελέτης.

Θερμές ευχαριστίες οφείλω στον Πανεπιστημιακό δάσκαλο Καθηγητή κ. Ιωάννη Μπράμη, που με το παράδειγμά του, στα πρώτα βήματά μου στη Χειρουργική Τέχνη και Επιστήμη, άνοιξε νέους δρόμους και προοπτικές, ενέπνευσε τη χαρά της έρευνας και δίδαξε την αξία της προσφοράς.

Ευχαριστώ ιδιαιτέρως τον Καθηγητή κ.Μανούσο Κωνσταντουλάκη, τον αγαπητό μου δάσκαλο, που με πνεύμα πρακτικότητας και φαντασίας καθοδήγησε, με τις συνεχείς του παραινέσεις, τις συμβουλές και το ενδιαφέρον του, την εξέλιξη της έρευνας. Πάντοτε με ευχαρίστηση, διέθεσε τον χρόνο του, την άριστη επιστημονική του γνώση και εμπειρία. Με την καθολική του υποστήριξη έγινε εφικτή η ολοκλήρωση της διδακτορικής διατριβής.

Ο Καθηγητής κ. Ευστάθιος Μποβιάτσης, εδώ και χρόνια, με εμπνέει στην επιστημονική μου πορεία και με τιμάει με την εμπιστοσύνη και τη φιλία του. Οι συμβουλές του αποτέλεσαν και συνεχίζουν να αποτελούν φάρους, που με καθοδηγούν στο μακρύ, επίπονο και δημιουργικό ταξίδι της ιατρικής επιστήμης, της νευροχειρουργικής τέχνης και της ζωής, ενώ με την επιστημονική αλλά και ανθρώπινη παρουσία του αποτελεί για μένα αστείρευτη πηγή έμπνευσης.

Ευχαριστίες οφείλω σε όλους τους συνεργάτες του Εργαστηρίου Χειρουργικής Έρευνας της Α΄ Προπαιδευτικής Χειρουργικής Κλινικής. Ιδιαιτέρως ευχαριστώ την κ. Αγάπη Κατάκη και την κ. Αναστασία Δερβεντζή, που έφεραν εις πέρας ένα έργο με αρκετές αντιξοότητες και ιδιαιτερότητες. Μέσα από αυτή την συνεργασία είχα την τύχη να γνωρίσω δύο άριστες βιολόγους, με βαθιά και εξιδικευμένη επιστημονική κατάρτιση αλλά και δύο υπέροχους ανθρώπους, που με τιμούν με την φιλία τους. Χωρίς την βοήθεια και τη καθοριστική συμβολή τους, η παρούσα εργασία δεν θα είχε ποτέ ολοκληρωθεί.

Θερμές ευχαριστίες οφείλω στον Καθηγητή Νευρολογίας κ. Κωνσταντίνο Βουμβουράκη, που μου έδωσε τη δυνατότητα να εντάξω στη μελέτη δείγματα ασθενών της Β΄ Πανεπιστημιακής Νευρολογικής Κλινικής, γεγονός που διεύρυνε τους ορίζοντες της παρούσας εργασίας και διεκόλυνε στην διεύρυνση του πεδίου μελέτης. Ευχαριστίες οφείλω επίσης στον Καθηγητή Νευρολογίας κ. Γεώργιο Τσιβγούλη, για την πολύτιμη συνεισφορά του, με την πάντα εύστοχη επιστημονική του παρατήρηση, την ιατρική του γνώση και κλινική του εμπειρία. Ευχαριστώ τη Νευρολόγο κ. Μ. Χονδρογιάννη για τη συναδελφικότητα και την άριστη συνεργασία.

Ευχαριστώ το ιατρικό και νοσηλευτικό προσωπικό της Β΄ Κλινικής Εντατικής Θεραπείας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών για τα στοιχεία που μου διέθεσαν και την άριστη συνεργασία. Ιδιαίτερα ευχαριστώ τον Αν. Καθηγητή κ. Γεώργιο Δημόπουλο για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και την πολύτιμη βοήθειά του.Ευχαριστώ τον καθηγητή Χειρουργικής κ. Λέανδρο Εμμανουήλ και τον επίκουρο καθηγητής της Νευροχειρουργικής κ. Στέφανο Κορφιά, για τη συνεισφορά τους στην αξιολόγηση αυτής της μελέτης.

Αισθάνομαι ιδιαίτερη ευγνωμοσύνη για την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφεραν οι ιατροί και οι νοσηλευτές του Νοσοκομείου ΠΓΝ «ΑΤΤΙΚΟΝ» κατά την πορεία της πειραματικής μελέτης.

Ιδιαίτερα ευχαριστώ τους συναδέλφους και φίλους νευροχειρουργούς της Β΄ Νευροχειρουργικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Ε. Παπαδόπουλο, Ι. Υδραίο,Δ. Ισαακίδη και Α. Βενετικίδη. Ήταν εκείνοι που με βοήθησαν στη συλλογή του υλικού, χωρίς να υπολογίσουν σωματική και πνευματική κόπωση, τόσο κατά τη διάρκεια πολύωρων και υψηλού ρίσκου νευροχειρουργικών επεμβάσεων, όσο και κατά τη διάρκεια γενικών εφημεριών, υπό αντίξοες και οριακές συνθήκες κλινικής εργασίας. Ευχαριστίες οφείλω και στο νοσηλευτικό προσωπικό της κλινικής, για τη συνεχή υποστήριξη και υποδειγματική συνεργασία επί σειρά ετών.
Ευχαριστώ την Μαρία Χατζηκωνσταντίνου για την φιλολογική επιμέλεια του κειμένου.

Αισθάνομαι ειλικρινή ανάγκη να εκφράσω τον σεβασμό, την αγάπη και την ευγνωμοσύνη μου στους δασκάλους μου στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Αθηνών, που κατά τα προπτυχιακά χρόνια, μου καλλιέργησαν την αγάπη για τη μάθηση και συνετέλεσαν στην κατανόηση του Νοήματος της Ιατρικής Επιστήμης, ως του συνεχούς και άδολου μοναχικού αγώνα της προσφοράς στον συνάνθρωπο που ασθενεί.

Αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω όλους εκείνους τους δασκάλους που με μύησαν στη χειρουργική τέχνη και ειδικά στη νευροχειρουργική, με αυξημένη ευαισθησία για το «εὖ πράττειν». Μου έμαθαν να αντλώ συγκίνηση από το λειτουργικό αποτέλεσμα της δημιουργικής ικανότητας και ικανοποίηση από την επιστημονικά ωφέλιμη συμμετοχή μου στο πανανθρώπινο αυτό λειτούργημα προς τον ασθενή συνάνθρωπο.
Οφείλω ένα ευχαριστώ σε όλους εκείνους τους ασθενείς συνανθρώπους, που μου έκαναν την τιμή να συμμετάσχουν στη μελέτη.

Ευχαριστώ τη σύζυγό μου Έρση, για τις άπειρες ώρες υπομονής, για την αμέριστη συμπαράσταση και την ακούραστη βοήθεια κατά την προπτυχιακή και μεταπτυχιακή κοινή μας πορεία και προσπάθεια.

Ευχαριστώ τον πρόωρα χαμένο πατέρα μου Αλέξανδρο και τη μητέρα μου Γεωργία, που μου χάρισαν τον κόσμο.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ..... 11
ΕΛΛΗΝΟΦΩΝΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ..... 13
ΑΓΓΛΟΦΩΝΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....14
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ
ΕΙΣΑΓΩΓΗ..... 16

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΤΡΑΥΜΑΤΙΚΗ ΒΛΑΒΗ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ

Ταξινόμηση..... 21
Πρωτογενής και δευτερογενής εγκεφαλική βλάβη.....22
Μορφολογία της Κρανιοεγκεφαλικής Κάκωσης
Παθοφυσιολογία και παθολογοανατομία της ΚΕΚ.....24
Οξύ Επισκληρίδιο Αιμάτωμα..... 28
Εγκεφαλικές θλάσεις άμεσης κρούσης και αντιτυπίας..... 28
Τραυματικά Ενδοεγκεφαλικά Αιματώματα..... 29
Οξύ Υποσκληρίδιο Αιμάτωμα..... 29
Τραυματική Υπαραχνοειδής Αιμορραγία..... 30
Ενδοκοιλιακή Αιμορραγία..... 30
Διάχυτη Νευραξονική Βλάβη.....32
Εγκεφαλική Διάσειση.....33
Σύνδρομα Εγκολεασμού..... 33
Δευτεροπαθής Εγκεφαλική Βλάβη..... 34
Υποξική-ισχαιμική βλάβη.....35
Εγκεφαλικό Οίδημα..... 36
Συμφορητικό οίδημα του εγκεφάλου.....36
Νευροχημικοί και κυτταρικοί διαμεσολαβητές..... 36
Διεγερτικά αμινοξέα..... 36
Ενδογενή οπιοειδή.....37
Ακετυλοχολίνη.....37
Κατεχολαμίνες.....37
Κυτοκίνες, χυμοκίνες.....37
Ιόντα.....38
Ελεύθερες ρίζες Οξυγόνου..... 39
Γονιδιακές αλλαγές σχετιζόμενες με την ΚΕΚ..... 39
Κλινική εικόνα στην ΚΕΚ, εκτίμηση ασθενούς, Κλίμακα Γλασκώβης 40
Διαγνωστικές Μέθοδοι και Τεχνικές για την Παρακολούθηση της Βαριάς ΚΕΚ..... 44
Πρόγνωση των ΚΕΚ..... 47
Ακτινολογική διερεύνηση στην ΚΕΚ..... 48
Αντιμετώπιση των ΚΕΚ, Διάκριση Κρανιοεγκεφαλικών Κακώσεων 48
Αντιμετώπιση των απλών κακώσεων κεφαλής..... 49
Αντιμετώπιση των ελαφριών ΚΕΚ.....49
Αντιμετώπιση ελαφριών ΚΕΚ με πτώση επιπέδου συνειδήσεως.....49
Μέτριες ΚΕΚ, βαριές ΚΕΚ.....49
ΚΕΚ με διάχυτη εγκεφαλική βλάβη, ΚΕΚ με χωροκατακτητική βλάβη, Τι έχει σημασία στην ΚΕΚ.....50
Θεωρητικές Αρχές Παθοφυσιολογίας του Εγκεφάλου..... 51
Ενδοκράνια Υπέρταση, Παροχή Ο2 στον εγκέφαλο..... 51
Πίεση Διαχύσεως 52
Χρονική Εξέλιξη.....53
Θεραπεία ΚΕΚ..... 54
Κανόνες για την αντιμετώπιση των ΚΕΚ, Ενδείξεις χειρουργείου..... 54
Συντηρητική αντιμετώπιση βαριάς ΚΕΚ..... 55
Συνέπειες της ΚΕΚ,Οργανικές, Ψυχολογικές, Ψυχοκοινωνικές..... 58
Μεταδιασεισικό Σύνδρομο..... 59
Αποκατάσταση, Εκτίμηση πρόγνωσης, ΚΛΙΜΑΚΑ GLASGOW OUTCOME SCALE-GOS..... 60
Φλεγμονώδης αντίδραση στη ΚΕΚ.....62

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΑΝΑΤΟΜΙΚΗ ΚΟΙΛΙΑΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

ΟΙ ΚΟΙΛΙΕΣ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ ΚΑΙ ΤΟ ΕΝΥ.....63
Πλάγιες κοιλίες, Το χοριοειδές πλέγμα των πλαγίων κοιλιών, Τρίτη κοιλία.....63
Υδραγωγός εγκεφάλου, Τέταρτη κοιλία, Χοριοειδές πλέγμα 4ης, κεντρικός νωτιαίος σωλήνας..... 64
Υπαραχνοειδής χώρος..... 65
Εγκεφαλονωτιαίο Υγρό.....66
Ιστορικά Στοιχεία.....66
Σύσταση ΕΝΥ.....66
Πρωτέωμα ΕΝΥ.....67
Λειτουργίες ΕΝΥ..... 67
Παραγωγή,κυκλοφορία, απορρόφηση..... 68
ΥΔΡΟΚΕΦΑΛΟΣ..... 69
ΤΟ ΕΝΥ ΚΑΙ ΟΤΡΑΥΜΑΤΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ..... 69
ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΣΤΟΝ ΤΡΑΥΜΑΤΙΣΜΟ ΤΟΥ ΚΝΣ.....70

Η ΠΙΘΑΝΗ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΤΗΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΟΥ ΕΝΥ ΣΕ ΚΕΚ....70

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΕΓΚΕΦΑΛΟΣ ΚΑΙ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Εγκεφαλικό τραύμα και φλεγμονή, ρύθμιση της φλεγμονής του ΚΝΣ....72
Έκφραση Φλεγμονωδών μεσολαβητών,Φλεγμονή, Επιδιόρθωση, Ανάκαμψη....73
Ανοσοαπάντηση στη νευροεκφύλιση....73
Ανοσοαπάντηση σε εγκεφαλικό τραύμα....74
Η κινητική της ανοσολογικής απάντησης στον τραυματισμό του εγκεφάλου....75
ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ....76
Ρόλος κυτταροκινών,κύτταρο όργανο-στόχος....77
Μη ειδική ανοσία-φλεγμονή....78
ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ ΚΑΙ ΕΓΚΕΦΑΛΟΣ....78
ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗ 1....79
ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗ 6....80
ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗ 10....81
ΜΕΣΟΛΑΒΗΤΕΣ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗΣΣΕ ΚΕΚ....81

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΑΙΜΑΤΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟΣ ΦΡΑΓΜΟΣ

Ανατομία, Δομή ΑΕΦ....82
Αφοριστικό όριο εγκεφάλου-ΕΝΥ....83
Νευροαγγειακή Μονάδα....83
Λειτουργική σημασία του ΑΕΦ....84
Τραυματική Βλάβη του εγκεφάλου και ΑΕΦ....84
Μετατραυματική αύξηση της διαπερατότητας του ΑΕΦ....84
Σχηματισμός αγγειογενούς και κυτταροτοξικού οιδήματος στον τραυματισμένο εγκέφαλο....85
ΑΕΦ και μετατραυματική νευροφλεγμονή....85
Μετατραυματική εισβολή των φλεγμονωδών κυττάρων....86
Παράγοντες που συμβάλλουν στην μετατραυματική δυσλειτουργία του ΑΕΦ....86
ΟΙ ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΪΝΑΣΕΣ ΤΟΥ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΟΥ ΣΚΕΛΕΤΟΥ....87
OSTEOPONTIN....89
Ορισμός,Μοριακή δομή....89
Βιοσύνθεση, Ρύθμιση....90
Βιολογική λειτουργία....91
Ρόλος σε ασβεστοποίηση οστών....91
Ρόλος στις ανοσολογικές λειτουργίες....91
Ενεργοποίηση κυττάρων,απόπτωση,πιθανή κλινική εφαρμογή....92
Ρόλος στις νευρολογικές διαταραχές....92
EMMPRIN....93
Μοριακή δομή....93
ΚΝΣ και EMMPRIN, EMMPRIN σε διαταραχές του ΚΝΣ -Σκλήρυνση κατά πλάκας, σε Εγκεφαλικό επεισόδιο/ισχαιμία....94
Σε ασθένεια Alzheimer, σε γλοιώματα εγκεφάλου....95
EMMPRIN και μεταβολισμός....96

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΒΛΑΣΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Βλαστοκύτταρα σε νευροεκφύλιση, σε ΚΕΚ....97
Βλαστοκύτταρα και Μικρογλοία σε ΚΕΚ....98
Βλαστοκύτταρα και Ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα, μακροφάγα σε ΚΕΚ....99
Βλαστοκύτταρα και αντιφλεγμονώδεις/ανοσολογικές αντιδράσεις....100
Κλινική μετάφραση σε διάχυτη αξονική βλάβη....100
ΕΝΔΟΓΕΝΗ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ,. Ανταπόκριση NSCs σε ΚΕΚ....101
ΕΞΩΓΕΝΗ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ....102
Εμβρυονικά βλαστοκύτταρα, Πολυδύναμα προγονικά κύτταρα ενηλίκων....102
Ενήλικα νευρικά βλαστοκύτταρα,επαγωγικά πολυδύναμα βλαστοκύτταρα, Στρωματικά κύτταρα μυελού των οστών....103
Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα....104
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ ΓΕΝΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ....106

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ....119
Στάδια πειραματικής διαδικασίας....122
ΥΛΙΚΑ-ΜΕΘΟΔΟΙ....124
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ-ΛΗΨΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ....126
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ....131
Μορφολογια βλαστοκυττάρων....131
Χαρακτηρισμός προφίλ δειγμάτων ΕΝΥ και αίματος....138
Μελέτη δεικτών Osteopontin και Emmprin στο ΕΝΥ....138
Μελέτη των δεικτών Osteopontin και Emmprin στο περιφερικό αίμα....147
Προφίλ των ρυθμιστών φλεγμονής σε ασθενείς με ΚΕΚ....151
Μεταβολές πρωτεϊνικού φαινοτύπου των βλαστοκυττάρων από την καλλιέργεια τους στο ΕΝΥ....154
Συγκριτικά η επίδραση του ΕΝΥ από τις διάφορες ομάδες στην έκφραση των πρωτεϊνικών μορίων....159
ΣΥΖΗΤΗΣΗ....165
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ....176
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ ΕΙΔΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ....179

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Ο συγγραφέας γεννήθηκε στις 26 Μαΐου του 1974 στον Πειραιά. Εισήχθη με Πανελλήνιες Εξετάσεις στην Ιατρική Σχολή Αθηνών το 1993, από όπου και αποφοίτησε το 2000. Κατά τη διάρκεια των σπουδών του, συμμετείχε στη συγγραφή του βιβλίου «Χειρουργική του Σπληνός», του Καθηγητή Χειρουργικής κ. Κωνσταντίνου Φωτιάδη, που αποτελούσε το βασικό σύγγραμμα του αντίστοιχου κατ' επιλογήν μαθήματος.

Υπηρέτησε το 2001 ως Επικουρικός Αξιωματικός – Σημαιοφόρος Ιατρός στο Πολεμικό Ναυτικό, για 23 μήνες. Κατά τη στρατιωτική του θητεία εκπαιδεύτηκε στο Σχολείο Αυτοδυτών Ιατρών του Π.Ν. και έλαβε πτυχίο Υπερβαρικής και Καταδυτικής Ιατρικής. Παρακολούθησε σεμινάρια ALS, ATLS, PHTLS και ασκήθηκε στη Χειρουργική Κλινική του Ναυτικού Νοσοκομείου Αθηνών.

Το 2003 διορίσθηκε στο Νοσοκομείο Κορίνθου για τρίμηνη εκπαίδευση στα πλαίσια της υπηρεσίας υπαίθρου στην Παθολογική, Καρδιολογική και Χειρουργική Κλινική. Ανέλαβε καθήκοντα Αγροτικού Ιατρού στο Π.Ι Αθικίων και στο ΚΥ Λουτρακίου.

Το 2004 διορίσθηκε στο 7ο Νοσοκομείο ΙΚΑ, ως ειδικευόμενος ιατρός γενικής χειρουργικής (Διευθυντής κ. Δημήτρης Βελεχέρης), στα πλαίσια της προαπαιτούμενης εκπαίδευσης για την ειδικότητα της Νευροχειρουργικής. Συμμετείχε στη συγγραφή άρθρων και δημοσιεύσεων σε ελληνικά και διεθνή περιοδικά και συνέδρια.

Το 2006 διορίσθηκε στο ΓΝΑ «ΚΑΤ» ως ειδικευόμενος Νευροχειρουργικής (Διευθυντής κ. Ηλίας Σουρτζής). Κατά τη διάρκεια της εκπαίδευσής του, απέκτησε τις βασικές αρχές της Νευροχειρουργικής. Συμμετείχε ως ομιλητής σε ελληνικά και διεθνή συνέδρια και στη συγγραφή 5 επιστημονικών άρθρων με δείκτη επιρροής πάνω από 3. Συμμετείχε στη συγγραφή του δίτομου βιβλίου «Αποκατάσταση ασθενή με βλάβη ή Κάκωση Νωτιαίου Μυελού» του Διευθυντή της Φυσικής Ιατρικής και Αποκατάστασης του Νοσοκομείου ΚΑΤ, κ. Ελευθέριου Μπάκα.

Ολοκλήρωσε την ειδικότητα το 2010 και συνέχισε την εκπαίδευσή του σε έμμισθη θέση στο Ηνωμένο Βασίλειο, στην Πανεπιστημιακή Κλινική Royal Preston Hospital στο Lancashire. Ειδικεύθηκε σε παθήσεις της σπονδυλικής στήλης, στην ενδοσκοπική νευροχειρουργική, τη νευροτραυματιολογία και τη νευρο-ογκολογία, συμμετέχοντας σε χειρουργεία που κάλυπταν τη γκάμα της νευροχειρουργικής. Επιπλέον, συμμετείχε ενεργά στην εκπαίδευση των φοιτητών της Ιατρικής Σχολής του Lancashire University (UCLAN-Univercity Central Lancashire Medical School).

Το 2011 έλαβε τον τίτλο του ειδικευμένου Νευροχειρουργού στην Ελλάδα και συνέχισε στο King's College Hospital του Λονδίνου, ένα από τα μεγαλύτερα κέντρα νευροεπιστημών, με έμμισθη θέση Νευροχειρουργού. Συμμετείχε στο ακαδημαϊκό, κλινικό και επιστημονικό πρόγραμμα της Νευροχειρουργικής Κλινικής και συμμετείχε σε χειρουργεία νευροαγγειακής και νευρολειτουργικής χειρουργικής. Ιδιαίτερη εμπειρία απέκτησε κατά την ενασχόλησή του με τη νευροχειρουργική της σπονδυλικής στήλης και τη νευροενδοσκοπική χειρουργική.

Το 2013 διορίστηκε ως επικουρικός Νευροχειρουργός στη Β΄ Νευροχειρουργική και Τραυματιολογική Κλινική του Πανεπιστημίου Αθηνών, στο ΠΓΝ «ΑΤΤΙΚΟΝ», για ένα έτος.

Υπό την επίβλεψη και καθοδήγηση του Καθηγητή Νευροχειρουργικής του Πανεπιστημίου Αθηνών και Διευθυντή της Κλινικής, κου Ευστάθιου Μποβιάτση, είχε τη δυνατότητα να επεκτείνει τις γνώσεις και την εμπειρία του σε παθήσεις νευρολειτουργικής χειρουργικής και νευροογκολογίας.

Αντιμετώπισε πλήθος περιστατικών νευροχειρουργικών κακώσεων και συμμετείχε σε

χειρουργικές επεμβάσεις. Ανέλαβε την αντιμετώπιση σύνθετων επεμβάσεων σπονδυλικής στήλης, με τη συμπαράσταση και καθοδήγηση του Καθηγητή κ. Ε.Ι. Μποβιάτση.
Το 2014, συνέχισε ως Άμισθος Επιστημονικός Συνεργάτης της Β΄ Νευροχειρουργικής Κλινικής του ΕΚΠΑ.
Το 2015 προσλήφθηκε ως Ακαδημαϊκός Υπότροφος του Πανεπιστημίου Αθηνών με έμμισθη θέση στη Β΄ Πανεπιστημιακή Νευροχειρουργική Κλινική, με γνωστικό αντικείμενο τη Νευροχειρουργική της Σπονδυλικής Στήλης, με επιστημονικά υπεύθυνο τον Καθηγητή κ. Ε.Ι. Μποβιάτση. Η θητεία ανανεώθηκε ανά έτος, για την επόμενη τριετία. Μετέχει ενεργά στο ακαδημαϊκό, επιστημονικό, ερευνητικό και κλινικό έργο της Β΄ Νευροχειρουργικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Κατά την άσκηση της Νευροχειρουργικής ως ιδιώτης, συνεργάστηκε με χειρουργικές ομάδες στο σύνολο των Ιδιωτικών Νοσοκομείων και Κλινικών των Αθηνών.
Το 2017 ανέλαβε Διευθυντής Νευροχειρουργικής, σε Ιδιωτική Γενική Κλινική .
Η μεταπτυχιακή του ιατρική εκπαίδευση περιλαμβάνει πλήθος εκπαιδευτικών σεμιναρίων και συμμετοχών σε ελληνικά και διεθνή επιστημονικά συνέδρια.

Είναι κάτοχος διπλώματος από την Ευρωπαϊκή Εταιρεία Σπονδυλικής Στήλης και ενεργό μέλος ιατρικών εταιρειών και συλλόγων.

.

Είναι έγγαμος με την ψυχίατρο Έρση Τσοπανάκη και πατέρας δύο παιδιών.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η Κρανιοεγκεφαλική Κάκωση (ΚΕΚ) είναι μια σύνθετη κατάσταση που παρουσιάζει ένα ευρύ φάσμα κλινικών συμπτωμάτων, τα οποία προκαλούνται από μια αρχική προσβολή στον εγκέφαλο μέσω μιας εξωτερικής μηχανικής δύναμης στο κρανίο. Η ΚΕΚ είναι παγκοσμίως, μία από τις κύριες αιτίες θνησιμότητας. Η παθοφυσιολογία της ΚΕΚ είναι σύνθετη και συνίσταται σε πρωτοπαθή και δευτεροπαθή βλάβη. Στην οξεία πρωτοπαθή φάση, ο εγκεφαλικός ιστός που καταστράφηκε κατά την πρόσκρουση περιλαμβάνει νευρώνες, γλοία και ενδοθηλιακά κύτταρα, με αποτέλεσμα την ρήξη του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Στην όψιμη δευτεροπαθή φάση, οι «τοξίνες» που απελευθερώνονται από τα κατεστραμμένα κύτταρα ενεργοποιούν τη διαδικασία της νευροφλεγμονής σε γειτονικά κύτταρα, οδηγώντας τελικά σε επιδείνωση του αρχικού τραυματισμού.

Όσο προχωρούν οι έρευνες μελετάται καλύτερα η παθοφυσιολογία και οι μοριακοί μηχανισμοί που διέπουν αυτήν την κατάσταση και εμφανίζονται πολλές νέες θεραπευτικές στρατηγικές, με ιδιαίτερο ενδιαφέρον αυτές που εφαρμόζουν βλαστοκύτταρα, για τη βελτίωση, αποκατάσταση ή και υποστροφή της βλάβης.

Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα θεωρείται πως μπορούν να έχουν κλινική χρησιμότητα και εφαρμογή σε νευροεκφυλιστικές παθήσεις του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ). Η πιθανή χρησιμότητά τους είναι αποτέλεσμα της εγγενούς ικανότητάς τους να αποκαθιστούν κατεστραμμένους ιστούς, να παράγουν θεραπευτικές πρωτεΐνες και να μεταναστεύουν σε θέσεις εντός του εγκεφάλου, με την βοήθεια του ΕΝΥ. Ωστόσο, παραμένει ασαφές εάν το ΕΝΥ είναι δυνατόν να ευοδώσει στις συνθήκες της νευροφλεγμονής και της ΚΕΚ τη βιωσιμότητα, τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση αυτών των κυττάρων.

Ο στόχος αυτής της μελέτης είναι να αξιολογηθεί η επίδραση που έχει το ΕΝΥ στην επιβίωση, τον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και τη διαφοροποίηση των ανθρώπινων μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων. Επιπλέον, για πρώτη φορά μετρήθηκαν επίπεδα Emmprin και Osteopontin στο αίμα και το ΕΝΥ, ασθενών με ΚΕΚ και νευροεκφυλιστική νόσο, με σκοπό να αξιολογηθεί η δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν ως προγνωστικοί δείκτες βαρύτητας της τραυματικής εγκεφαλικής βλάβης.

ABSTRACT

Traumatic brain injury (TBI) is a complex condition that presents with a wide spectrum of clinical symptoms caused by an initial insult to the brain through an external mechanical force to the skull. TBI is one of the leading causes of mortality among young adults in the developed world. Pathophysiology of TBI is complex and consists of acute and delayed injury. In the acute phase, brain tissue destroyed upon impact includes neurons, glia and endothelial cells, the latter of which makes up the blood-brain barrier. In the delayed phase, "toxins" released from damaged cells set off cascades in neighboring cells eventually leading to exacerbation of primary injury. As researches further explore pathophysiology and molecular mechanisms underlying this debilitating condition, numerous potential therapeutic strategies, especially those involving stem cells, are emerging to improve recovery and possibly reverse damage.

Mesenchymal stem cells (MSCs) have been regarded for their clinical therapeutic potential for central nervous system (CNS) pathologies. Their potential utility is a result of their intrinsic ability to repair damaged tissues, deliver therapeutic proteins, and migrate to sites of pathology within the brain. However, it remains unclear whether the CNS promotes any changes in these potential therapeutic cells, which would be critical to understand before clinical application. A major component of the CNS is cerebrospinal fluid (CSF).

Therefore, the aim of this study was to evaluate the influence that human CSF has on the function of human adipose-derived MSCs (hAMSCs) in regard to cell proliferation, survival, and migration. Furthermore, the CSF and Blood levels of EMMPRIN and Osteopontin, estimated in TBI and neurological patients, as prognostic indicators.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

«Οι κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις παραμένουν ένα από τα πιο δύσκολα και προκλητικά προβλήματα που αντιμετωπίζουν πολλοί γιατροί και ιδιαίτερα Νευροχειρουργοί και γιατροί Μονάδων Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ). Στα μείζονα κέντρα τραύματος παρατηρείται μια σταθερή πτώση στη θνητότητα, από βαριές ΚΕΚ περίπου 10% ανά δεκαετία από τα μέσα του 1970, αλλά αυτό δε φαίνεται να αντανακλάται σε μια συνολική επί του πληθυσμού ανάλογη πτώση, ακόμα και στις αναπτυγμένες χώρες. (Jennett et al.,1977, Klauber et al.,1989, Marshall et al.,1991, Waxweiler et al.,1996). Αυτό δείχνει ότι μια ευρύτερη εφαρμογή των σύγχρονων αρχών στη Νευροτραυματιολογία θα μπορούσε να σώζει πολλές ζωές στο σύγχρονο κόσμο».

Από την εισαγωγή στο βιβλίο: Head injury, Pathophysiology and management of severe closed injury. Peter Reilly and Ross Bullock Adelaide, South Australia and Richmond, Virginia, December 1996.

Η κρανιοεγκεφαλική κάκωση (ΚΕΚ) ή η τραυματική εγκεφαλική βλάβη (Traumaticbraininjury-TBI) αποτελεί κύρια αιτία θανάτου και αναπηρίας. Αν και σημαντική είναι η πρόοδος που έχει επιτευχθεί τα τελευταία χρόνια στην αντιμετώπιση των κρανιοεγκεφαλικών κακώσεων (ΚΕΚ), τόσο όσον αφορά τη χειρουργική, όσο και τη συντηρητική αντιμετώπιση, η πραγματικότητα είναι πως δύο και πλέον δεκαετίες μετά, η περιγραφή στην εισαγωγή του ανωτέρω συγγράμματος φαίνεται το ίδιο επίκαιρη και περισσότερο επιτακτική από ποτέ.

Εκτιμάται ότι περίπου 1,7 εκατομμύρια άνθρωποι προσβάλλονται κάθε χρόνο στις Ηνωμένες Πολιτείες, ενώ στην Ευρώπη, το εκτιμώμενο ετήσιο κόστος υγειονομικής περίθαλψης υπερβαίνει τα 33 δισ. ευρώ. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, η ΚΕΚ θα συνεχίσει να είναι μείζον πρόβλημα υγείας και προβλέπει ότι θα αποτελεί την κυρίαρχη αιτία θανάτου και αναπηρίας έως το έτος 2020. Το ποσοστό των νοσηλειών που σχετίζονται με ΚΕΚ λόγω ατυχημάτων με αυτοκίνητα αυξάνεται έως την ηλικία των 44 ετών και μειώνεται από την ηλικία των 45 έως τα 64 έτη, όταν οι πτώσεις γίνονται η κύρια αιτία της νοσηλείας που σχετίζεται με ΚΕΚ.

Καθοριστική ήταν η εξέλιξη των νευροαπεικονιστικών μεθόδων, στη διάγνωση και παρακολούθηση των ασθενών με ΚΕΚ. Οι συμβατικές μέθοδοι νευροαπεικόνισης, όπως η Αξονική Τομογραφία (CT) και η Μαγνητική Τομογραφία (MRI), συνεχίζουν να αποτελούν τη βασική αρχή στην ανίχνευση, τη μελέτη και παρακολούθηση των εγκεφαλικών τραυματισμών.

Αναγκαία θεωρείται η σχεδίαση με τη βοήθεια προηγμένων τεχνολογιών, νέων θεραπευτικών στρατηγικών για την πρόληψη, τη θεραπεία και την αποτελεσματικότερη παρακολούθηση των κρανιοεγκεφαλικών κακώσεων, ώστε να επιτευχθεί το μέγιστο της αποκατάστασης του ασθενή με ΚΕΚ.

Το εύρος της εγκεφαλικής βλάβης καθώς και η εξέλιξή της καθορίζεται τόσο από την πρωτογενή όσο και από τη δευτερογενή βλάβη. Από την εξέλιξη αυτών των βλαβών θα εξαρτηθεί η τελική νευρολογική κατάσταση του ασθενούς. Η κατανόηση των παραμέτρων και των μηχανισμών που επιδρούν στην εγκεφαλική βλάβη βοήθησε τα προηγούμενα χρόνια στην καλύτερη οργάνωση των Μονάδων Εντατικής Θεραπείας, με σκοπό την πρόληψη και την έγκαιρη αντιμετώπιση. Ένα μεγάλο μέρος των προσπαθειών των ιατρών στα κέντρα τραύματος (Νευροχειρουργών, Εντατικολόγων, Νευροεπεμβατικών Ακτινολόγων) είναι να προλάβουν την ανάπτυξη δευτερογενών βλαβών και να ελαττώσουν τις συνέπειες από αυτές, ελέγχοντάς τις με παραμετροποίηση των κλινικών συνθηκών και των δεδομένων νοσηλείας.

Οι πρόσφατα ανεπτυγμένες δομικές και λειτουργικές τεχνικές νευροαπεικόνισης, όπως η μαγνητοεγκεφαλογραφία και η τομογραφία εκπομπής φωτονίων βελτιώνουν την ακρίβεια και την επικαιρότητα της διάγνωσης και της πρόγνωσης της ΚΕΚ.Σε σύγκριση με τις προηγμένες τεχνολογίες νευροαπεικόνισης, η ανίχνευση μοριακών βιολογικών δεικτών στον ορό, στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ΕΝΥ), στα ούρα, στο σάλιο κ.λπ., αποτελεί εφικτό και αποτελεσματικό επιπρόσθετο μέσο στη διάγνωση, στην πρόγνωση και στην αντιμετώπιση των ΚΕΚ.

Στο επίπεδο των γονιδιωμάτων και των πρωτεϊνωμάτων, η σύγχρονη βιοπληροφορική βοηθά στη διερεύνηση πιο εξειδικευμένων και ευαίσθητων βιολογικών δεικτών ώστε να είναι δυνατή η έγκαιρη διάγνωση και η ασφαλέστερη πρόγνωση. Κατά τη διάρκεια των τελευταίων δύο δεκαετιών, αρκετές μελέτες κατέδειξαν ότι σημαντική βλάβη του κεντρικού νευρικού συστήματος που εμφανίστηκε μετά από ΚΕΚ προέκυψε από δευτερογενείς εγκεφαλικές βλάβες που δημιουργούνται από ένα σύνθετο καταρράκτη βιοχημικών συμβάντων, που τελικά οδηγούν σε καθυστερημένη βλάβη των ιστών και σε κυτταρικό θάνατο. Η τεχνολογία των νευροδιαβιβαστών έχει αποδειχθεί ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη θεραπεία των ΚΕΚ, αποτρέποντας το δευτερογενή εγκεφαλικό τραυματισμό και προάγοντας καλύτερα αποτελέσματα για τον ασθενή.

Διάφορες επιλογές θεραπείας βασίζονται στην πρόληψη των δευτερογενών αυτών βλαβών, όπως είναι η υπερβαρική θεραπεία οξυγόνου, η μη επεμβατική εγκεφαλική διέγερση, η λειτουργική ηλεκτρική διέγερση, καθώς και η μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων. Η εξέλιξη στην επιστημονική έρευνα όσον αφορά τη μελέτη των βλαστοκυττάρων και των αναπτυσσόμενων, πολλά υποσχόμενων, σύγχρονων θεραπευτικών μεθόδων που προκύπτουν από την εφαρμογή των νέων βιοτεχνολογιών, αποτελούν ένα νέο επιστημονικό πεδίο της αναγεννητικής ιατρικής.

Στη μελέτη μας χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα από επικαιροποιημένες μελέτες σχετικά με εφαρμογές θεραπειών που βασίζονται σε βλαστοκύτταρα.

Η αλληλουχία των γεγονότων που οδηγούν στην ανάπτυξη των δευτερογενών βλαβών δεν είναι απόλυτα κατανοητή. Ενδογενείς μεσολαβητές που ελευθερώνονται από το εγκεφαλικό παρέγχυμα κατά και μετά τον τραυματισμό εμπλέκονται σε μια πολύπλοκη διαδικασία αλληλοεπιδράσεων μεταξύ κυτταρικών πληθυσμών με έκκριση νευροτοξικών παραγόντων. Ο ρόλος ορισμένων τέτοιων παραγόντων, που εκκρίνονται στην περιοχή της ιστικής βλάβης και οδηγούν σε νευρωνική/αστρογλοιακή νέκρωση, έχει ιδιαιτέρως μελετηθεί.

Η ενεργοποίηση του αποπτωτικού μηχανισμού και η μεταβολή της ομοιόστασης του εγκεφάλου συνεπεία της κρανιοεγκεφαλικής κάκωσης και των επακόλουθων αυτής συμβαμάτων συμβαίνει σύγχρονα με την ανάπτυξη φλεγμονής στην περιοχή του τραύματος.

Νεώτερες έρευνες έχουν δείξει ότι το νευρικό σύστημα είναι πλούσιο σε φλεγμονώδεις μεσολαβητές (π.χ. κυτταροκίνες) και εκφράζουν τους αντίστοιχους υποδοχείς τους. Η φλεγμονώδης απάντηση και το εγκεφαλικό οίδημα προκαλούνται από τη συγκέντρωση πολυμορφοπυρήνων στην περιοχή του αιματοεγκεφαλικού φραγμού και την απελευθέρωση κυτταροτοξικών πρωτεασών που έχουν αποτέλεσμα τη ρήξη αυτού. Η σειρά αυτή των γεγονότων προκαλεί ενεργοποίηση αστρογλοιακών κυττάρων, απελευθέρωση προ-φλεγμονωδών χημειοκινών/κυτταροκινών και ενεργοποίηση ενδοκρανίως του μηχανισμού του συστήματος του συμπληρώματος.

Ο εγκέφαλος λοιπόν εμπλέκεται πολύ ενεργά στις ανοσο-φλεγμονώδεις διεργασίες, ως αποτέλεσμα πολλών παραγόντων ενεργοποίησης (όπως τραύμα, ισχαιμία), με αποτέλεσμα την απελευθέρωση ουσιών (όπως οι κυτοκίνες) που παίζουν πρωταγωνιστικό ρόλο στην πρόκληση της λεγόμενης δευτερεύουσας νευρωνικής βλάβης.

Πολλές θεραπείες με βλαστικά κύτταρα ερευνώνται και αρκετές παρουσιάζουν υπόσχεση για θετικά και ελπιδοφόρα μηνύματα, ιδιαίτερα όσον αφορά τις ανίατες ασθένειες, τη γήρανση και τους τραυματισμούς που έχουν σαν αποτέλεσμα την καταστροφή, τη δυσλειτουργία ή τη νέκρωση εξειδικευμένων κύτταρων.

Ειδικά, όσον αφορά τους ασθενείς που πάσχουν από κάποιας μορφής νευροεκφυλιστική πάθηση, η έλλειψη αποτελεσματικών θεραπειών είναι επιζήμια τόσο σε ατομικό, όσο και σε συλλογικό επίπεδο, με τεράστιες κοινωνικοοικονομικές επιπτώσεις.

Παρά την καταστροφική φύση των ασθενειών αυτών, τον αριθμό των προσβεβλημένων ατόμων, και τις δαπάνες υγείας με κόστος δισεκατομμυρίων, υπάρχει μια εκπληκτική έλλειψη επιλογών θεραπείας. Η νευρολογική νοσηρότητα έχει ως αποτέλεσμα ελλείμματα γνωσιακά και συμπεριφορικά, που προκαλούν μείωση της ποιότητας ζωής με συνοδό την απώλεια της ανεξαρτησίας και της παραγωγικότητας.

Πρόσφατα, οι κυτταρικές θεραπείες άρχισαν να κερδίζουν την αυξημένη προσοχή. Η σύγχρονη έρευνα σχετικά με τη βιοτεχνολογία των βλαστικών κυττάρων έχει σκοπό την κυτταρική αντικατάσταση ή τον εμπλουτισμό του περιβάλλοντος ώστε να εξασθενεί η επαγωγή της νευροεκφύλισης.

Οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες είναι ανίατες και χαρακτηρίζονται από την απώλεια των νευρώνων στον εγκέφαλο ή το νωτιαίο μυελό. Προοδευτικά επέρχεται έκπτωση των νευρικών λειτουργιών λόγω της σταδιακής διαταραχής και/ή νέκρωσης των νευρικών κυττάρων και των νευρικών οδών.

Ομοιότητες με νευροεκφυλιστική νόσο και με το μικροπεριβάλλον στον εγκεφαλικό ιστό στο οποίο εξελίσσεται έχει και η παθολογική οντότητα της κρανιοεγκεφαλικής κάκωσης.

Στον εγκέφαλο, η νόσος του Alzheimer (AD) και η νόσος του Huntington (HD) έχουν ως αποτέλεσμα την εκτεταμένη απώλεια νευρώνων, ενώ η νόσος του Πάρκινσον (PD) περιλαμβάνει την ειδική και εντοπισμένη απώλεια των ντοπαμινεργικών (DA) νευρώνων της μέλαινας ουσίας. Στο εγκεφαλικό στέλεχος και τον νωτιαίο μυελό, πλάγια μυοατροφική σκλήρυνση (ALS) και η νωτιαία μυϊκή ατροφία (SMA) συνεπάγονται τον εκφυλισμό και απώλεια των κινητικών νευρώνων (MNs). Αν και αυτές οι παθήσεις παρουσιάζουν ορισμένες ομοιότητες παθοφυσιολογίας, οι ακριβείς μηχανισμοί για τη νευρωνική απώλεια είναι περίπλοκοι.

Η «δυναμική» των πολυδύναμων βλαστικών κυττάρων για ανάπτυξη, πολλαπλασιασμό, αναγέννηση και επιδιόρθωση έχει προσελκύσει την προσοχή των ερευνητών για τη μελέτη δυνατότητας δημιουργίας μεθοδολογίας αναγεννητικής θεραπείας για ένα πλήθος νευροεκφυλιστικών παθήσεων.

Η έρευνα μέχρι σήμερα προσπαθεί να υποστηρίξει την χρήση των βλαστικών κυττάρων, να προσφέρει κυτταρική αντικατάσταση ή/και να παρέχει εμπλουτισμό του περιβάλλοντος προς εξασθένηση και εξουδετέρωση της διαδικασίας της νευροεκφύλισης. Η κυτταρική αντικατάσταση σκοπό έχει την αναπαραγωγή, πολλαπλασιασμό και νευροτροποποίηση ώστε να σταθεροποιηθούν τα νευρωνικά δίκτυα.

Επιπλέον, ο εμπλουτισμός του μικρο-περιβάλλοντος μπορεί να παρέχει νευροτροφική υποστήριξη και νευροπροστασία σε «εν δυνάμει» υγιή εναπομείναντα κύτταρα μέσω της παρεμπόδισης παραγωγής και συσσώρευσης τοξικών παραγόντων. Η νευροτροφική δράση, η νευροτροποποίηση και η νευροπροστασία θα ελεγχθούν μέσω των μηχανισμών επαγωγής της αγγειογένεσης, προώθησης της νευρογένεσης, μελέτης της απόπτωσης και της ανοσορύθμισης και ανοσοαπάντησης.

Οξεία νευροεκφύλιση μπορεί να προκύψει από ένα χρονικά καθορισμένο συμβάν, όπως το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο ή ο τραυματισμός του εγκεφαλικού παρεγχύματος, που οδηγεί σε εντοπισμένη απώλεια νευρώνων στην περιοχή της βλάβης.Χρόνια νευροεκφύλιση μπορεί να αναπτυχθεί εντός μιας μακράς χρονικής περιόδου, ως αποτέλεσμα σταδιακής απώλειας της λειτουργίας και διαταραχής των νευρικών δικτύων ενός συγκεκριμένου υποτύπου νευρικών κυττάρων ή ακόμη και ως αποτέλεσμα γενικευμένης απώλειας νευρωνικών πληθυσμών.

Οι σύνθετες ανατομικές και παθοφυσιολογικές διαταραχές στις Κρανιοεγκεφαλικές Κακώσεις ξεκινούν από την εφαρμογή της μηχανικής δύναμης στο κρανίο και τα περιεχόμενά του.

Οι φυσικές ιδιότητες των ενδοκρανιακών περιεχομένων (υγρά και στερεά, σκληροί και μαλακοί ιστοί) προδιαθέτουν τον εγκέφαλο σε συγκεκριμένους τύπους τραύματος.

Στην εσωτερική επιφάνεια του κρανίου, σημαντικές δομές από μηχανικής πλευράς είναι τα ανένδοτα οστέινα τοιχώματα του εδάφους του προσθίου και μέσου κρανιακού βόθρου και οι «αναδιπλώσεις» της σκληράς μήνιγγας, το δρέπανο, το σκηνίδιο της παρεγκεφαλίδος και το δρέπανο αυτής. Σημαντική δομή είναι ο υπαραχνοειδής χώρος επειδή περιέχει το εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ΕΝΥ) και γεφυρικά αγγεία.

Το ΕΝΥ παίζει μείζονα ρόλο στη μεταφορά φορτίσεων καθώς και στον μετριασμό – ανακούφιση των δυνάμεων διάσχισης που ασκούνται κατά τη δυναμική αλληλεπίδραση μεταξύ του εγκεφάλου και της εσωτερικής επιφάνειας του κρανίου.

Η εξελισσόμενη θεραπευτική επιλογή για την εγκεφαλική βλάβη, η οποία περιλαμβάνει και τη χρήση βλαστικών κυττάρων για «νευροαναγέννηση» και «επιδιόρθωση», απαιτεί την ευρύτερη κατανόηση των αναγεννητικών ικανοτήτων των ενδογενών νευρικών βλαστικών κυττάρων, καθώς και τη μελέτη της επίδρασης των εξωγενών νευρικών βλαστοκυττάρων στον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση. Έχει θεωρηθεί ότι με τη χρήση των βλαστικών κυττάρων αυξάνεται ο ενδογενής κυτταρικός πολλαπλασιασμός και έτσι προάγεται η «ανώριμη» νευρική διαφοροποίηση στην τραυματισμένη περιοχή του εγκεφάλου.

Αναγκαία είναι λοιπόν, η περαιτέρω διευκρίνηση του τρόπου και του μηχανισμού της λειτουργικής ανάκτησης και της επιδιόρθωσης του εγκεφάλου μετά από ΚΕΚ.

Με την παρούσα μελέτη λοιπόν, πρόκειται να διερευνηθεί η συμπεριφορά των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων, η δυνατότητα διαφοροποίησής τους σε αρχέγονα νευρικά βλαστικά κύτταρα (νευροτροφοβλάστες NSCs) εντός του εγκεφαλονωτιαίου υγρού (ΕΝΥ), το οποίο συλλέγεται από ασθενείς με σοβαρή τραυματική εγκεφαλική βλάβη. Στη βιβλιογραφία, ο τρόπος της απομόνωσης, η συγκομιδή, η δοκιμή, όπως και η καλλιέργεια των βλαστικών κυττάρων ποικίλλουν σημαντικά, όπως και οι τεχνικές λήψης και χαρακτηρισμού αυτών ως αρχέγονων νευροτροφοβλαστικών κυττάρων.

Επιλέχθηκε η εξασφάλιση της ακεραιότητας της διαδικασίας με χρήση προτυπωμένων σειρών με προμήθεια του ανάλογου υλικού σε μορφή κυτίων για συλλογή λίπους από την εταιρεία Theracell Advanced Biotechnology S.A. Στα εργαστήρια της εταιρείας έγινε και η επεξεργασία και η καλλιέργεια των κυτταρικών σειρών ως το επίπεδο του πολυδύναμου βλαστικού κυττάρου ώστε να είναι σε θέση η χρησιμοποίηση αυτών στην συνέχεια του πειράματος. Καθορίσθηκαν τα καλλιεργητικά μέσα, Culture Media Kits ,Cell Solutions, Sure Boost & Sure Growth.

Σε τρέχουσες μελέτες δοκιμάζονται οι δυνατότητες επαγωγής της νευρογένεσης ή της δημιουργίας περιβάλλοντος νευροπροστασίας με έγχυση νευρογενών αυξητικών παραγόντων είτε στο περιφερικό κυκλοφορικό σύστημα είτε ενδοκοιλιακώς, ενδοεγκεφαλικώς ή ενδορραχιαίως, σε ζωϊκά πειραματικά μοντέλα στα οποία προκαλείται άμεσος τραυματισμός του εγκεφάλου.

Τα βλαστικά κύτταρα δυνητικά θα μπορούσαν να βοηθήσουν στη μείωση των μακροπρόθεσμων επιπτώσεων της νευροαξονικής εκφύλισης μέσω πολλαπλών μηχανισμών που περιλαμβάνουν την επαγωγή της αγγειογένεσης, την προώθηση της νευρογένεσης, την πρόληψη της απόπτωσης και την ανοσορύθμιση.

Η τεχνική εισαγωγής λοιπόν και ασφαλέστερη δίοδος για το Κεντρικό Νευρικό Σύστημα μένει να αποδειχθεί πως είναι είτε η άμεση ενδοπαρεγχυματική έγχυση, που έχει περιορισμούς ηθικής και δεοντολογίας, ασφάλειας και πολυπλοκότητας χειρουργικής τεχνικής, αλλά και περιορισμούς άμεσης ιστικής αντίδρασης, επιπλοκών και συμβάντων (π.χ. ενδοκράνιος αιμορραγία) και ενέχουν κίνδυνο για την ακεραιότητα του ασθενή.Η ενδοραχιαία έγχυση, ή όπως είναι γνωστή στην κλινική πράξη ως οσφυονωτιαία παρακέντηση (ΟΝΠ), φαίνεται να είναι η ασφαλέστερη δίοδος εισαγωγής βλαστικών κυττάρων στο ΚΝΣ, παρακάμπτοντας τόσο τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό αλλά και χωρίς να απαιτεί ιδιαίτερη χειρουργική τεχνική και είναι καλά ανεκτή από τον ασθενή.

Δύναται να γίνει στην κλίνη του ασθενούς και εισάγει τα νευρικά βλαστικά κύτταρα σε ένα περιβάλλον που μένει να διερευνηθεί αν κάτω από τις ειδικές μη φυσιολογικές συνθήκες, που έχουν διαμορφωθεί λόγω της τραυματικής βλάβης, είναι ικανό και κατάλληλο να επιτρέψει την επιβίωση, μετανάστευση και εγκατάσταση των βλαστικών κυττάρων ή των παραγόμενων από αυτά παραγόντων στην περιοχή της ιστικής βλάβης.

Θα διερευνηθεί αν αποτελεί το εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ΕΝΥ) ένα ιδανικό και θεωρητικά,το ασφαλέστερο περιβάλλον υποστήριξης και θρέψης των βλαστικών κυττάρων, καθώς σε αυτό εμπεριέχονται πρωτεΐνες της εξωκυττάριας μήτρας, ρυθμιστές οσμωτικής πίεσης,μεταφορείς ιόντων, ορμονο-δεσμευτικές πρωτεΐνες, ρυθμιστές του μεταβολισμού των λιπιδίων, και διάφορα ένζυμα, καθώς και οι ρυθμιστές τους.Η αλληλεπίδραση του ΕΝΥ με τα βλαστοκύτταρα και ειδικά με αυτά που έχουν αναπτύξει χαρακτήρες και ιδιότητες νευρικών κυττάρων (νευροτροφοβλάστες) θα μελετηθεί, κυρίως, σε σχέση με τον πολλαπλασιασμό αλλά και τη μετανάστευση.

Θα ελεγχθεί η επίδραση του ΕΝΥ ασθενών με ποικίλης βαρύτητας κρανιοεγκεφαλική κάκωση, που έχει ληφθεί υπό ξεχωριστές συνθήκες, σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα από τη στιγμή εγκατάστασης της βλάβης ώστε να περιλαμβάνεται ένα ευρύ φάσμα κλινικής σημειολογίας.Θα επιχειρηθεί η προσέγγιση του μηχανισμού και ανάλυση των συνθηκών πολλαπλασιασμού των βλαστοκυττάρων, η εξέταση της απόπτωσης αυτών αλλά και η εν δυνάμει αύξηση της μεταναστευτικής τους ικανότητα στο ΕΝΥ ασθενών με κρανιοεγκεφαλική κάκωση σε σχέση με αυτές τις ιδιότητες τους σε ΕΝΥ χωρίς κρανιοεγκεφαλική κάκωση. Τα αποτελέσματα είναι συγκριτικά με τη μελέτη των αλληλεπιδράσεων με το ΕΝΥ πασχόντων από άλλες νευροεκφυλιστικές νόσους.

Στην παρούσα μελέτη ο κύριος στόχος είναι: α) η διερεύνηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ του ΕΝΥ ασθενών με κρανιοεγκεφαλική κάκωση και βλαστοκυττάρων β) ο έλεγχος της δυνατότητας που έχουν αυτά ώστε να αναπτύξουν χαρακτήρες και ιδιότητες νευρικών κυττάρων γ) να διευκρινιστεί εάν το ΕΝΥ αποτελεί ασφαλές τροφικό περιβάλλον για τα μεταμοσχευμένα βλαστικά κύτταρα και δ) εάν η αλληλεπίδραση με αυτά επηρεάζει τις αναγεννητικές και νευρο-υποστηρικτικές ιδιότητές τους σε συνθήκες εγκεφαλικής τραυματικής βλάβης. Παράλληλα διερευνάται ε) η δυνατότητα των δύο πρωτεϊνικών μορίων του κυτταρικού εξωσκελετού, της Emmprin (EMP) και της Osteopontin (OPN), που έχουν μελετηθεί μερικώς σε πειραματικά μοντέλα, να αποτελέσουν χρήσιμους κλινικούς δείκτες για την πρόγνωση και την έκβαση του ασθενούς με κρανιοεγκεφαλική κάκωση. Η ανάδειξή τους ως μελλοντικών θεραπευτικών στόχων αποτελεί μία βάση για περαιτέρω έρευνα.

Για την παρακολούθηση των ασθενών που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν οι παραδοσιακές μέθοδοι κλινικής αξιολόγησης και απεικόνισης, συμπεριλαμβανομένων και των νεώτερων τεχνικών ηλεκτροφυσιολογικής παρακολούθησης όπως και παρακολούθησης της ενδοκράνιας πίεσης (ICP).

Το γενικό μέρος χωρίζεται σε τρία τμήματα. Στο πρώτο τμήμα αναλύονται τα χαρακτηριστικά της κρανιοεγκεφαλικής κάκωσης, η ανατομία και η μορφολογία της και ο τρόπος της διαγνωστικής και θεραπευτικής προσέγγισης. Στο δεύτερο, παρατίθενται ορισμένα ανατομικά και φυσιολογικά στοιχεία για το εγκεφαλονωτιαίο υγρό και την κυκλοφορία του εντός του κοιλιακού συστήματος.

Ακολουθεί η συζήτηση για τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και τη διάσπασή του σε περιπτώσεις τραυματικής εγκεφαλικής βλάβης.Στο τρίτο τμήμα γίνεται αναφορά στα βλαστικά κύτταρα και τη διαμεσολάβηση κυτοκινών και φλεγμονωδών παραγόντων στην ΚΕΚ και γίνεται, επίσης, αναφορά στα βιβλιογραφικά δεδομένα και στις πειραματικές μελέτες που έχουν συμβάλει στην εξέλιξη της αναγεννητικής ιατρικής στον τομέα των νευροεπιστημών.

Στο ειδικό μέρος γίνεται περιγραφή της μεθοδολογίας της πειραματικής μας μελέτης, συγκεντρώνονται τα αποτελέσματα και γίνεται σύγκριση αυτών μεταξύ τους καθώς και με νεώτερα δεδομένα. Ακολουθεί η εξαγωγή των συμπερασμάτων και η ανάδειξη των τελικών πορισμάτων της έρευνας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1°

ΤΡΑΥΜΑΤΙΚΗ ΒΛΑΒΗ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ

Ο ορισμός της Κρανιοεγκεφαλικής Κάκωσης είναι ευρύτατος και δεν υπάρχει ομοφωνία, όχι μόνο στην κλινική πράξη, αλλά και σε μεγάλες σειρές. Έτσι, διεθνώς ο όρος που έχει επικρατήσει είναι αυτός του Εγκεφαλικού ή Κρανιοεγκεφαλικού Τραύματος (Traumatic Brain Injury-TBI),με σκοπό να περιγραφούν οι κακώσεις που προκαλούν κάποιου βαθμού λειτουργική ή ανατομική βλάβη στο κρανίο και τα ενδοκρανιακά περιεχόμενα [1].
Η κρανιοεγκεφαλική κάκωση (ΚΕΚ) ή η τραυματική εγκεφαλική βλάβη (Traumatic brain injury-TBI) χαρακτηρίζεται ως η «διαταραχή της εγκεφαλικής λειτουργίας και η εμφάνιση παθολογίας, συνέπεια άσκησης εξωτερικής δύναμης». Είναι παρούσα σε όλες τις κοινωνίες ως η πιο σοβαρή, αναπηρική νευρολογική διαταραχή και αφορά περισσότερο από 57 εκατομμύρια ασθενείς παγκοσμίως. Αποτελεί μία από τις πιο κοινές αιτίες νοσηρότητας και θνησιμότητας νεαρών ενηλίκων κάτω των 45 ετών [2,3].

Μεταξύ αυτών που τραυματίστηκαν, πολλά άτομα έχουν σωματική αναπηρία που οδηγεί όχι μόνο σε επιβάρυνση του συστήματος υγειονομικής περίθαλψης αλλά κυρίως σε λειτουργικές βλάβες που παρεμποδίζουν την ποιότητα ζωής. Δυνητικά, μπορεί να οδηγήσει σε εμφάνιση συνοδών νοσημάτων λόγω φυσικής αδράνειας όπως η παχυσαρκία, ο διαβήτης και οι καρδιακές παθήσεις.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Κλίμακα Γλασκώβης

Η ταξινόμηση των ΚΕΚ γίνεται με κριτήριο 1) τον μηχανισμό της κάκωσης 2) το αποτέλεσμα 3) τη βαρύτητα της κλινικής εικόνας 4) τη μορφολογία της προκληθείσας βλάβης ή 5)την παθολογοανατομία της κάκωσης.

Η ταξινόμηση που θα ακολουθηθεί στη μελέτη είναι βάση της βαρύτητας, με εφαρμογή της Κλίμακας της Γλασκώβης (Glasgow Coma Scale-GCS score). Το 1976 ο Graham Teasdale και ο Bryan J. Jennett [4] πρότειναν μια μέθοδο αντικειμενικής διάγνωσης της απώλειας των αισθήσεων, καθώς η κρανιοεγκεφαλική κάκωση (ΚΕΚ) μπορεί να συνδέεται με την απώλεια συνείδησης. Καθιέρωσαν την Κλίμακα Κώματος της Γλασκώβης (**G**lasgow **C**oma **S**cale- GCS). Με την GCS μπορεί να γίνει ταχεία αξιολόγηση πιθανών εγκεφαλικών παθολογιών με μέτρηση αυθόρμητων, ή κατόπιν ερεθίσματος,αποκρίσεων στον λόγο, την κίνηση των οφθαλμών ή την κίνηση των άκρων.Επιτρέπεται έτσι, η αξιολόγηση της καλύτερης απόκρισης.Η παρουσία συνείδησης υπαγορεύει τη σοβαρότητα του εγκεφαλικού τραύματος. Ασθενείς με αρχική κλίμακα GCS: 14 ή 15 θεωρούνται ότι έχουν ελαφριάς μορφής κάκωση.Τραυματίες με GCS: από 9 μέχρι 13 είναι ασθενείς με μετρίας βαρύτητας κάκωση. Ασθενείς με GCS : από 3 έως 8 η κάκωση θεωρείται βαριάς μορφής.

Οι ήπιες, μέτριες και σοβαρές ΚΕΚ ταξινομούνται σύμφωνα με την εκτίμηση του αποτελέσματος της Κλίμακας Γλασκώβης σε GCS 13-15, 9-12 και 3-8, αντίστοιχα. Οι σοβαρές βλάβες προκαλούν όχι μόνο μόνιμα νευρολογικά ελλείμματα (20% των ενηλίκων) αλλά έχει αποδειχθεί ότι μέχρι ποσοστό 14% παραμένουν σε φυτική κατάσταση και περίπου το 20%-40% των ασθενών τελικά πεθαίνουν ως αποτέλεσμα του εγκεφαλικού τραύματος ή των δευτεροπαθών επιπλοκών [5].
Οι ασθενείς που θα ελεγχθούν στη μελέτη είναι 1) ασθενείς με βαριά ΚΕΚ, GCS : 3 έως 8, που έχουν χειρουργηθεί ή πρόκειται να χειρουργηθούν 2) ασθενείς με μετρίας βαρύτητας ΚΕΚ, GCS: 9- 13 στη φάση της παρακολούθησης και της αποκατάστασης 3) χρόνια πάσχοντες ασθενείς που έχουν αναρρώσει και παρουσιάζουν μόνιμη νευρολογική συνδρομή ή βρίσκονται σε μόνιμη φυτική κατάσταση.

Πρωτογενής και δευτερογενής εγκεφαλική βλάβη.

Η τραυματική εγκεφαλική βλάβη παρουσιάζεται με την πρωτογενή και δευτερογενή αλληλουχία παθολογικών γεγονότων [6].
Το εύρος της εγκεφαλικής βλάβης, καθώς και η εξέλιξή της καθορίζεται τόσο από την πρωτογενή όσο και από τη δευτερογενή βλάβη. Από την εξέλιξη αυτών των βλαβών θα εξαρτηθεί η τελική νευρολογική κατάσταση του ασθενούς.
Οι πρωτογενείς είναι οι άμεσα προκύπτουσες, από το συμβάν, βλάβες. Είναι το αποτέλεσμα των μηχανικών παραγόντων που δρουν σύγχρονα την ώρα του τραύματος στους νευρώνες, στους νευράξονες, στη νευρογλοία και στα αιμοφόρα αγγεία. Είναι αποτέλεσμα δυνάμεων επαφής ή αδράνειας που παραμορφώνουν τον εγκεφαλικό ιστό πέρα από τα όρια δομικής αντοχής του. Η παραμόρφωση μπορεί να είναι εμπιεστική, διάταση ή διάσχιση.

Το μεγαλύτερο ποσοστό της τραυματικής εγκεφαλικής βλάβης λαμβάνει χώρα άμεσα τη στιγμή του ατυχήματος και είναι μη αναστρέψιμο, ενώ κάποιο άλλο ποσοστό υφίσταται «μερική» βλάβη και είναι δυνατόν με εφαρμογή της κατάλληλης αγωγής να επαναλειτουργήσει σχεδόν ή πλήρως φυσιολογικά. Έτσι παρατηρείται σε ορισμένους ασθενείς με συμπτώματα λόγω νευρολογικού ελλείμματος συνεπεία ΚΕΚ, να υπάρχει βελτίωση σε άλλοτε άλλο χρονικό διάστημα [5,6,7].

Οι δευτερογενείς βλάβες επέρχονται μετά τον τραυματισμό. Εμφανίζονται ως αποτέλεσμα των επιπλοκών του αρχικού τραύματος, επιδεινώνουν τη νευρολογική εικόνα και καθορίζουν την έκβαση του ασθενούς. Δευτερογενή υποτασικά και υποξυγοναιμικά επεισόδια, καθώς και επεισόδια αυξημένης ενδοκράνιας πίεσης, επιβαρύνουν αποφασιστικά την πορεία και την τελική έκβαση των τραυματιών.

Οι ενδοκρανιακές βλάβες διακρίνονται σε i) εντοπισμένες και ii) διάχυτες. Εντοπισμένες οργανωμένες βλάβες αποτελούν τα α) επισκληρίδια αιματώματα, β) τα υποσκληρίδια αιματώματα και γ) τα ενδοεγκεφαλικά αιματώματα. Η διάχυτη βλάβη στον εγκέφαλο είναι η διάχυτη νευρωνική αξονότμηση, η διάχυτη τραυματική υπαραχνοειδής αιμορραγία, το διάχυτο εγκεφαλικό οίδημα και η διάχυτη ισχαιμική βλάβη [8].
Ένα μεγάλο μέρος των προσπαθειών των ιατρών στα κέντρα τραύματος (Νευροχειρουργών, Εντατικολόγων, Νευροεπεμβατικών Ακτινολόγων) είναι να προλάβουν την ανάπτυξη δευτερογενών βλαβών και να ελαττώσουν τις συνέπειες από αυτές, ελέγχοντάς τις με παραμετροποίηση των κλινικών συνθηκών και των δεδομένων νοσηλείας.

Σε αυτές τις συνθήκες, διαδικασίες όπως 1) η μεταβολή της ιοντικής ομοιόστασης, 2) η αύξηση των επιπέδων των νευροδιαβιβαστών (π.χ.το γλουταμινικό φαίνεται να συνδέεται με μηχανισμούς διεγερσιμότητας και τοξικότητας), 3) η νευρωνική απόπτωση, 4) η υπεροξείδωση των λιπιδίων, 5) η ενεργοποίηση ανοσο-φλεγμονωδών παραγόντων και η ακόλουθη νευροχημική φλεγμονώδης απάντηση δια μεσολαβητών (όπως οι προσταγλανδίνες, οξειδωτικοί μεταβολίτες και κυτοκίνες), προκαλούν μία σύνθετη αλληλουχία γεγονότων που οδηγούν σε διάσπαση του αιματο-εγκεφαλικού φραγμού, σε εγκεφαλικό οίδημα ή/ και σε εγκεφαλική ισχαιμία
[9,10].

Η εγκεφαλική ισχαιμία προκαλείται από έναν καταρράκτη φλεγμονωδών αντιδράσεων και μοριακών και κυτταρικών μεταβολών που συμβαίνουν στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) [11]

Το γεγονός αυτό έχει άμεσο συσχετισμό με την εξέλιξη της βλάβης του εγκεφάλου, το μέγεθος του ισχαιμικού εμφράκτου και τα σύνθετα παθολογικά γεγονότα που συμβαίνουν μετά από μια κρανιοεγκεφαλική κάκωση [9,10].

Οι κυτοκίνες αντιπροσωπεύουν έναν κεντρικό διαμεσολαβητή μιας αλυσίδας αλληλουχιών και αντιδράσεων που οδηγεί σε νευρωνική βλάβη και φλεγμονώδεις αντιδράσεις του εγκεφάλου. Οι ιντερφερόνες, οι αυξητικοί παράγοντες, οι παράγοντες διέγερσης αποικιών και οι χημειοκίνες είναι ορισμένοι επίσης από τους παράγοντες που ο μηχανισμός δράσης τους έχει μελετηθεί. Πρόκειται για πλειοτροπικές πρωτεΐνες που εκφράζουν και ρυθμίζουν ένα ευρύ φάσμα των συντελούμενων κυτταρικών διαδικασιών, είτε φυσιολογικών είτε παθολογικών [12].

Σε αυτήν τη βάση, είναι δυνατόν να προτείνουμε ότι ο εγκέφαλος εμπλέκεται πολύ ενεργά στις ανοσο-φλεγμονώδεις διεργασίες, ως αποτέλεσμα πολλών παραγόντων ενεργοποίησης, όπως τραύμα και ισχαιμία. Αυτό έχει ως συνέπεια την απελευθέρωση παραγόντων όπως οι κυτοκίνες, με πρωταγωνιστικό ρόλο στην πρόκληση της λεγόμενης δευτερεύουσας νευρωνικής βλάβης [9,10,11,12,13].

Τα βλαστικά κύτταρα in vitro εμφανίζουν ιδιότητες που ενδέχεται να φανούν χρήσιμες στη μείωση και στον έλεγχο των επιπτώσεων της νευροαξονικής εκφύλισης. Οι πολλαπλοί αυτοί μηχανισμοί περιλαμβάνουν την επαγωγή της αγγειογένεσης, την προώθηση της νευρογένεσης, την πρόληψη της απόπτωσης και την ανοσορύθμιση [14,15,16].

ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΚΡΑΝΙΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗΣ ΚΑΚΩΣΗΣ

ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΑ

Οι σύνθετες ανατομικές και παθοφυσιολογικές διαταραχές στις κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις (ΚΕΚ) ξεκινούν με την εφαρμογή μιας εξωτερικής μηχανικής δύναμης στο κρανίο και στο περιεχόμενό του. Οι φυσικές ιδιότητες των ενδοκρανιακών περιεχομένων (τόσο υγρά όσο και στέρεα, σκληροί και μαλακοί ιστοί) προδιαθέτουν τον εγκέφαλο σε συγκεκριμένους τύπους τραύματος.

Στην εσωτερική επιφάνεια του κρανίου, σημαντικές δομές, από μηχανικής άποψης, είναι το έδαφος του προσθίου και μέσου κρανιακού βόθρου, καθώς και οι «αναδιπλώσεις» της σκληράς μήνιγγος, δηλαδή το δρέπανο του εγκεφάλου, το δρέπανο της παρεγκεφαλίδος και το σκηνίδιο, που διαμερισματοποιούν το εγκεφαλικό παρέγχυμα [17].

Άλλη σημαντική δομή είναι ο υπαραχνοειδής χώρος, στον οποίο εμπεριέχεται και κυκλοφορεί το εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ΕΝΥ) και περιέχει τα «γεφυρικά» αγγεία (bridging). Αυτά καλούνται έτσι, επειδή το περιφερικό τους άκρο διαπερνά την αραχνοειδή μήνιγγα περνώντας στον υπαραχνοειδή χώρο «γεφυρώνοντάς» τον ώστε να καταλήξουν στους κόλπους. Το ΕΝΥ παίζει μείζονα ρόλο στη μεταφορά των φορτίσεων καθώς και στον μετριασμό – ανακούφιση των δυνάμεων διάσχισης που ασκούνται κατά τη δυναμική αλληλεπίδραση μεταξύ του εγκεφάλου και της εσωτερικής επιφάνειας του κρανίου [17].

Επίσης, το αγγειακό δίκτυο του εγκεφάλου επιδρά στην αντοχή του εγκεφάλου στις φορτίσεις. Παρακάτω εστιάζουμε στους πρωτογενείς μηχανισμούς και στους διαφορετικούς τύπους τραύματος, δίνοντας έμφαση στην εμβιομηχανική της ΚΕΚ, που προκαλείται με τρεις κυρίως μηχανισμούς [18]:

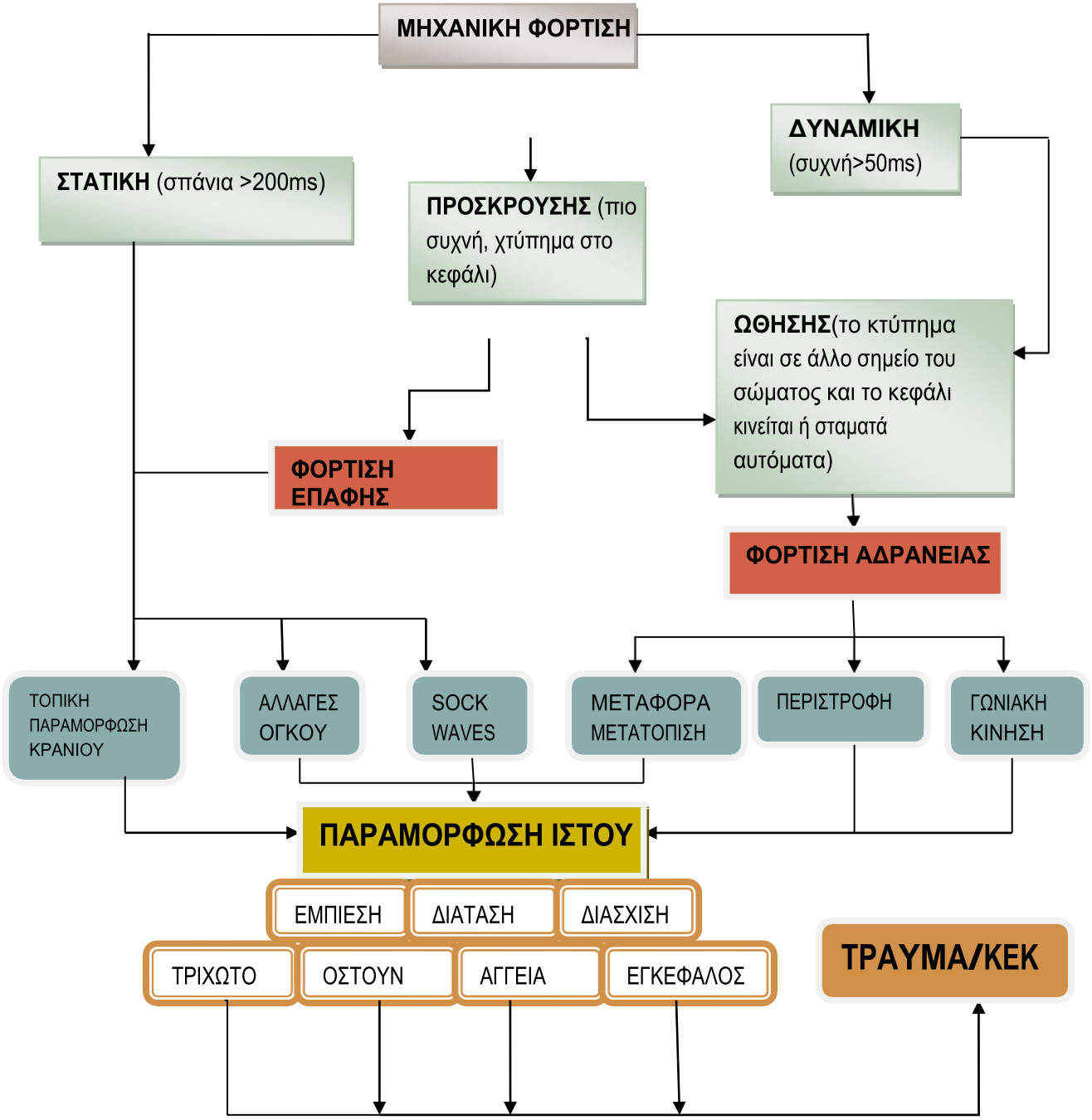
α) *πρόσκρουση*: ορίζοντας έτσι το χτύπημα της κεφαλής σε σταθερό-συμπαγές αντικείμενο με ορισμένη ταχύτητα.

β) *φόρτιση ωθήσεως*: η οποία προκαλεί ξαφνική κίνηση της κεφαλής χωρίς σημαντική επαφή.

γ) *στατική ή σχεδόν στατική φόρτιση* : κατάσταση στην οποία η ταχύτητα του συμβάματος είναι τόσο μικρή ώστε μπορεί να αγνοηθεί.

Τα α) και β) αποτελούν τη «δυναμική» μηχανική φόρτιση (σχήμα 1).

Σχήμα 1. Η μηχανική της ΚΕΚ



Ο πρώτος μηχανισμός, η φόρτιση πρόσκρουσης, προκαλεί τραυματισμό του εγκεφάλου μέσω ενός συνδυασμού δυνάμεων επαφής και αδράνειας. Εάν η κεφαλή σταματήσει να κινείται λόγω πρόσκρουσης, τότε η δύναμη ενσωματώνεται ως φόρτιση επαφής. Φόρτιση αδράνειας, έχουμε όταν η κεφαλή τίθεται σε κίνηση με ή χωρίς επαφή και προκαλείται επιτάχυνσή της.

Ο δεύτερος μηχανισμός, η φόρτιση ώθησης, μπορεί να παίζει ρόλο σε πιο ελαφρές ΚΕΚ όπως η εγκεφαλική διάσειση, αλλά και σε βαριές όπως η διάχυτη νευραξονική βλάβη [17, 18, 19].

Τέλος, ο τρίτος μηχανισμός είναι σπάνιος και συμβαίνει όταν ένα βραδέως κινούμενο αντικείμενο παγιδεύει την κεφαλή ανάμεσα σε σταθερό σημείο και την συνθλίβει [18].

Τότε, προκαλούνται συντριπτικά κατάγματα του θόλου και της βάσης του κρανίου. Η στατική φόρτιση μπορεί να είναι ικανή να παραμορφώσει εντελώς το κρανίο και τότε το τραύμα είναι συνήθως θανατηφόρο [17,18, 19].

Τραύμα στον εγκέφαλο προκαλείται όταν δυνάμεις επαφής ή αδράνειας παραμορφώνουν τον εγκεφαλικό ιστό πέρα από τα όρια δομικής αντοχής του. Η παραμόρφωση (strain/ deformation) μπορεί να είναι εμπιεστική, διάταση ή διάσχιση [17].

Οι βιολογικοί ιστοί ανθίστανται καλύτερα στην αργή παραμόρφωση, από ότι στην ξαφνική. Οι διαφορετικοί τύποι ιστών (οστό, εγκέφαλος, αγγεία) διαφέρουν ως προς την αντοχή τους στην παραμόρφωση. Για παράδειγμα, το οστό υφίσταται κάταγμα με παραμόρφωση 1% με 2%, ενώ ο εγκέφαλος ή τα αγγεία διασχίζονται με παραμόρφωση 10%-20%. Βέβαια, η δύναμη που απαιτείται για να παραμορφώσει 1% με 2% το οστό είναι πολύ μεγαλύτερη από την απαιτούμενη για να παραμορφώσει κατά 10-20% τους μαλακούς ιστούς. Ο εγκέφαλος, τα αγγεία και ειδικά το οστό μπορούν να αντισταθούν καλύτερα στην εμπιεστική παραμόρφωση παρά στη διάταση και ανέχονται ελάχιστα την διάσχιση. Ο εγκέφαλος και τα αγγεία είναι ουσιαστικά ασυμπίεστα, με αποτέλεσμα να υφίστανται καταστροφή μέσω δυνάμεων διάτασης και διάσχισης.

Επειδή η κεφαλή σπάνια παραμένει ακίνητη μετά από κάποια πρόσκρουση, *τραύμα επαφής* συνήθως συμβαίνει σε συνδυασμό με *τραύμα αδράνειας*. Οι δυνάμεις επαφής προκαλούν εστιακές βλάβες, είτε τοπικά είτε και απομακρυσμένα από το σημείο πρόσκρουσης. Παραδείγματα των τραυμάτων επαφής αποτελούν οι θλάσεις άμεσης κρούσης (coup) και τα κατάγματα του κρανίου.

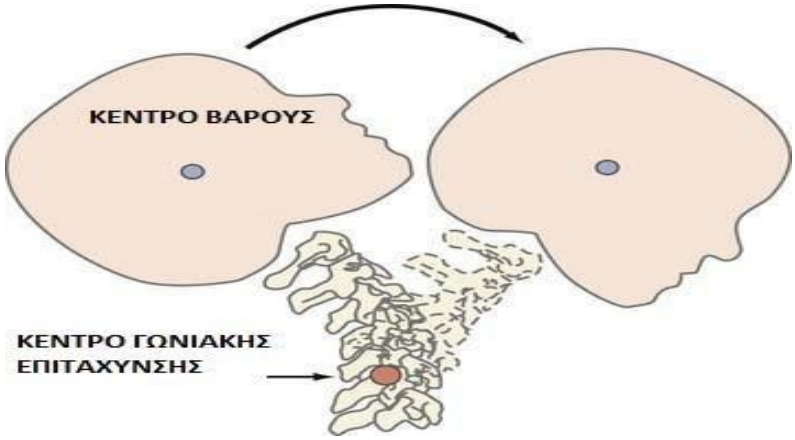
Τραύματα αδράνειας προκύπτουν όταν ο εγκέφαλος υφίσταται επιτάχυνση. Αμιγής γραμμική επιτάχυνση συμβαίνει όταν η κεφαλή κινείται σε ευθεία γραμμή με το κέντρο βάρους του εγκεφάλου (περιοχή της επίφυσης). Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα διαφορετική κίνηση του εγκεφάλου σε σχέση με το κρανίο, η οποία προκαλεί εστιακά τραύματα όπως θλάσεις, ενδοεγκεφαλικά και υποσκληρίδια αιματώματα. Γραμμική επιτάχυνση με έλλειψη γωνιακής επιτάχυνσης μπορεί να συμβεί για σύντομο διάστημα όταν η κεφαλή σταματά απότομα πριν να υποβληθεί σε άλλες κινήσεις.

Εγκεφαλική διάσειση και διάχυτη νευραξονική βλάβη ή διάχυτη νευραξονότμηση (diffuse axonal injury-DAI) συμβαίνει μόνο όταν περιστροφική επιτάχυνση συμβάλλει σημαντικά στο μηχανισμό της κάκωσης. Η περιστροφική επιτάχυνση προκαλεί περιστροφή γύρω από το κέντρο βαρύτητας. Αμιγής περιστροφική επιτάχυνση δεν συμβαίνει κλινικά επειδή το σώμα και η κεφαλή δεν μπορούν στην πράξη να περιστραφούν γύρω από την περιοχή της επιφύσεως. Έτσι, τα αποτελέσματα της περιστροφικής επιτάχυνσης φαίνονται κλινικά μόνο σαν συστατικό της γωνιακής επιτάχυνσης. [20, 21].Αλληλεπιδράσεις μεταξύ κεφαλής και αυχένα ευνοούν την πρόκληση γωνιακής επιτάχυνσης μετά την πρόσκρουση. Ένας συνδυασμός γραμμικής και περιστροφικής – γωνιακής επιτάχυνσης είναι ο πιο συχνός τύπος του τραύματος αδράνειας προκαλώντας οποιοδήποτε τύπο ΚΕΚ, εκτός από κάταγμα κρανίου και επισκληρίδιο αιμάτωμα [22, 23].

Στη γωνιακή επιτάχυνση, το κέντρο βάρους της κεφαλής κλίνει γύρω από το κέντρο της γωνιώσεως, το οποίο είναι

στην κατώτερη ή μέση Αυχενική Μοίρα της Σπονδυλικής Στήλης. Η κίνηση της κεφαλής μετά την πρόσκρουση προκαλεί γωνιακή επιτάχυνση (σχήμα 2).

Σχήμα 2. (Η κεφαλή κλίνει γύρω από το κέντρο της γωνιώσεως, το οποίο βρίσκεται στην κατώτερη ή μέση μοίρα της ΑΜΣΣ).



Όσο ψηλότερα είναι το κέντρο γωνιώσεως, τόσο μεγαλύτερο είναι το ποσοστό της περιστροφικής επιταχύνσεως. Ο βαθμός της περιστροφικής επιταχύνσεως είναι τόσο τραυματικός για τον εγκέφαλο επειδή η περιστροφή προκαλεί παραμόρφωση, όχι μόνο στην επιφάνεια αλλά και στις εν τω βάθει δομές του εγκεφάλου, πράγμα το οποίο οδηγεί σε απώλεια συνειδήσεως και διάχυτη νευραξονική βλάβη. Το μέγεθος και η διάρκεια της επιτάχυνσης καθορίζει την έκταση του κρανιοεγκεφαλικού τραύματος [24].

Υψηλής ταχύτητας επιτάχυνση μικρής διάρκειας, προκαλεί τραύμα στα επιφανειακά αγγεία, όπως οι μικρές φλέβες και δη των ηλικιωμένων ασθενών και στα αγγεία της χοριοειδούς. Υψηλής ταχύτητας επιτάχυνση μακρύτερης διάρκειας, προκαλεί αξονότμηση.

Το κάταγμα του κρανίου είναι το αποτέλεσμα δυνάμεων, οι οποίες εφαρμοζόμενες σε αυτό προκαλούν κάμψη προς τα εντός και αντιρροπιστική προς τα εκτός σε άλλο σημείο. Το κάταγμα συμβαίνει όταν η τοπική παραμόρφωση υπερβαίνει το όριο ανοχής.

Όταν ένα αντικείμενο χτυπά στο κρανίο με μια επιφάνεια επαφής με μικρότερη από 4 εκ., το αποτέλεσμα είναι κάταγμα –εμπίεσμα. Η παραγόμενη ενέργεια διαχέεται περισσότερο στην τοπική παραμόρφωση του οστού, παρά στην απορρόφηση και τη δημιουργία κατάγματος σε απομακρυσμένο σημείο, όπως συμβαίνει με τα γραμμοειδή κατάγματα του κρανίου.

Ο τύπος του γραμμοειδούς κατάγματος του κρανίου εξαρτάται από τη μορφολογία της φορτιζόμενης περιοχής, όπως το τοπικό πάχος, η φύση του οστού και η παρουσία ραφών.

Τα κατάγματα της βάσης προκαλούνται είτε από απευθείας χτύπημα στο ινίο, στη μαστοειδή ή στην υπερκόγχιο χώρα είτε από «κύματα έντασης» ή shock/stresswaves που μεταφέρονται στο απομακρυσμένο σημείο πρόσκρουσης ή από χτύπημα στα οστά του προσώπου.

Τα λεπτά οστά της βάσης είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα σε απομακρυσμένη επίδραση της πρόσκρουσης. Πρόσκρουση σε μια παχύτερη περιοχή του κρανίου προκαλεί μικρή παραμόρφωση σε αυτήν την περιοχή.

Όμως, η διάχυση της ενέργειας πρόσκρουσης αντανακλάται σε περιοχές του κρανίου με μικρότερο πάχος όπου μπορεί να υπερβαίνει το τοπικό όριο της ανοχής και να προκαλέσει κάταγμα. Τέτοιες ευαίσθητες περιοχές της βάσης είναι: ο σφηνοειδής κόλπος, το μείζον τρήμα, το λιθοειδές και οι έσω πλευρές των πτερύγων του σφηνοειδούς. Κατάγματα της βάσης σχετίζονται συχνά με τραυματισμό κρανιακών νεύρων και αγγείων της βάσης του κρανίου.

ΟΞΥ ΕΠΙΣΚΛΗΡΙΔΙΟ ΑΙΜΑΤΩΜΑ (ΟΕΑ)

Το οξύ επισκληρίδιο αιμάτωμα συνήθως προκαλείται από τοπική φόρτιση πρόσκρουσης στο κρανίο και τραυματισμό των υποκείμενων μηνιγγικών αγγείων από τα κατεαγότα άκρα του οστού. Η πιο συνηθισμένη πηγή της αιμορραγίας είναι κάποιος κλάδος της μέσης μηνιγγικής αρτηρίας, αλλά μπορεί να προκληθεί και από καταστροφή φλεβικών κόλπων της σκληράς μήνιγγας ή από ρήξη των διπλοϊκών φλεβών.

Σε απουσία κατάγματος τα αγγεία μπορούν να τραυματιστούν από αποκόλληση της μήνιγγας από την έσω πλάκα του οστού, λόγω της τοπικής παραμόρφωσης και κάμψης, όταν εφαρμόζεται σε αυτό η δύναμη επαφής. Συνήθης θέση ανάπτυξης του ΟΕΑ είναι οι πλάγιες επιφάνειες των εγκεφαλικών ημισφαιρίων [25].

Εάν η αιτία είναι αρτηριακή μπορεί να επεκταθούν γρήγορα και να προκαλέσουν απότομη νευρολογική επιδείνωση. Το ΟΕΑ αποτελεί το 0,5% όλων των ΚΕΚ, το 9% στους κωματώδεις ασθενείς και η θνητότητα σήμερα ανέρχεται στις διάφορες σειρές από 0,9% έως 20%. Στο Νοσοκομείο «ΑΤΤΙΚΟΝ» το ποσοστό είναι 6%.

ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΕΣ ΘΛΑΣΕΙΣ «ΑΜΕΣΗΣ ΚΡΟΥΣΗΣ» ΚΑΙ ΑΝΤΙΤΥΠΙΑΣ (Coup & Contracoup)

Οι εγκεφαλικές θλάσεις είναι αποτέλεσμα συνδυασμού αγγειακής και εγκεφαλικής καταστροφής και είναι πιο σοβαρές συνήθως στις σκρολοφίες των εγκεφαλικών ελίκων. Μπορεί, βέβαια, να επεκτείνονται σε ποικίλο βάθος εντός της λευκής ουσίας. Αυτές οι θλάσεις διαφέρουν από τις εστιακές υποφλοιώδεις μικρές θλάσεις, οι οποίες αναφέρονται ως «ενδιάμεσες» (gliding contusions) και προκαλούνται από διαφορετικό μηχανισμό [26].

Μερικές εντοπίσεις και τύποι θλάσεων είναι χαρακτηριστικές ιδιαίτερων μηχανισμών τραύματος. Θλάσεις κάτω από υπερκείμενο κάταγμα, που ονομάσθηκαν «θλάσεις κατάγματος» [27] συμβαίνουν όταν η παραμόρφωση του κρανίου προκαλεί απευθείας συμπίεση η οποία υπερβαίνει τα όρια ανοχής, τόσο των υποκείμενων αγγείων της χοριοειδούς, όσο και του εγκεφαλικού ιστού. Όταν η χοριοειδής και η αραχνοειδής σχιστεί από οστικά τεμάχια, το τραύμα ονομάζεται «εγκεφαλική διάσχιση-ρήξη» (cerebrallaceration).
Θλάσεις «άμεσης κρούσης» (coup) προκαλούνται από υπερβολική διατακτική παραμόρφωση, όταν το κρανίο που παραμορφώνεται ταχέως, επανέρχεται στο φυσιολογικό του σχήμα, δημιουργώντας υποπίεση στο εσωτερικό του. Αυτές οι θλάσεις συνήθως εδράζονται κάτω από το σημείο εφαρμογής της πρόσκρουσης [27].

Οι «θλάσεις αντιτυπίας» (contrecoup) είναι παθολογοανατομικά παρόμοιες με τις θλάσεις κατάγματος και τις θλάσεις «άμεσης κρούσης», αλλά συμβαίνουν σε απομακρυσμένο σημείο από αυτό της πρόσκρουσης.

Βασισμένοι σε ένα μαθηματικό πρότυπο που καθορίζει την εμβιομηχανική συμπεριφορά του εγκεφάλου, διάφοροι μελετητές [26, 27, 28, 29, 30, 31] υπέθεσαν ότι οι contrecoup θλάσεις προκαλούνται από «κοίλανση» του εγκεφάλου λόγω υποπίεσης κατά τη μεταφορά δια μέσω αυτού ενός είδος ωστικού κύματος της πρόσκρουσης.Κατά την πρόσκρουση, ο εγκέφαλος μετακινείται προς το σημείο επαφής λόγω αδράνειας, και κατά συνέπεια δημιουργείται περιοχή υποπίεσης στο ακριβώς αντίθετο σημείο.

Ωστόσο, οι πειραματικές μελέτες έχουν δείξει πως μετωπιαίες και ινιακές συγκρούσεις προκάλεσαν τη δημιουργία θλάσεων σε σημεία μη προβλέψιμα από το παραπάνω μαθηματικό μοντέλο. Οι contrecoup θλάσεις είναι πιθανό να προκαλούνται από φόρτιση αδράνειας η οποία δημιουργεί γραμμική επιτάχυνση, κατά

την οποία, το κρανίο και η μήνιγγα αρχίζουν να επιταχύνονται λίγο νωρίτερα από τον εγκέφαλο [28, 29, 30, 31].Η κίνηση του εγκεφάλου που λαμβάνει χώρα κατά τη γραμμική επιτάχυνσή του είναι κύρια σχετική ως προς το κρανίο και τη μήνιγγα και δε δημιουργεί παραμόρφωση στις εν τω βάθει δομές, όπως η γωνιακή επιτάχυνση. Αυτό εξηγεί το γιατί εστιακές βλάβες, όπως οι θλάσεις και τα αιματώματα μπορεί να συμβούν χωρίς απώλεια συνειδήσεως.

Για απώλεια συνειδήσεως και διάχυτη νευραξονική βλάβη απαιτείται εφαρμογή γωνιακής επιτάχυνσης. Η σχετική κίνηση κρανίου-μήνιγγας σε σχέση με τον εγκέφαλο προκαλεί παραμόρφωση διάσχισης στην επιφάνεια του εγκεφάλου.

Οι προεκβολές σφηνοειδούς και των κόγχων στη βάση του κρανίου προκαλούν τέτοιου είδους παραμορφώσεις, ιδιαίτερα στους μετωπιαίους και κροταφικούς λοβούς.

Συμπερασματικά, ο όρος contre coup δεν προσδιορίζει την άσκηση δυνάμεων «επαφής» αλλά δυνάμεων «αδράνειας», με αποτέλεσμα οι προκληθείσες βλάβες στο εγκεφαλικό παρέγχυμα να δημιουργούνται όχι αναγκαστικά στο αντίθετο σημείο της πρόσκρουσης, αλλά καθ' υπεροχή στους μετωπιαίους και κροταφικούς πόλους και στην περί τη Σιλούειο περιοχή.

Εάν η κάκωση προκαλείται από πλάγιο χτύπημα στην κεφαλή, η πιθανότητα είναι περίπου ίση για ομόπλευρη (40%) ή ετερόπλευρη (50%) θλάση και σε ποσοστό 10% εμφανίζονται αμφοτερόπλευρα. Για το αν μια θλάση θα είναι coup ή contrecoup εξαρτάται από το ποσό ενέργειας που διαχέεται στην παραμόρφωση του κρανίου στην περιοχή της πρόσκρουσης. Για παράδειγμα, εάν το χτύπημα προέρχεται από μικρό σκληρό αντικείμενο, η περισσότερη ενέργεια διαχέεται στο σημείο της πρόσκρουσης και τότε ευνοείται η δημιουργία θλάσης coup, ενώ αν ένα μεγαλύτερο αντικείμενο έρθει σε επαφή με το κρανίο (π.χ. όπως το παρμπρίζ του αυτοκινήτου) προκαλείται λιγότερη βλάβη στην περιοχή της πρόσκρουσης και το μεγαλύτερο ποσό ενέργειας δαπανάται για να τεθεί σε κίνηση το κρανίο ή για να σταματήσει. Αυτός ο μηχανισμός τραύματος ευνοεί τις θλάσεις contrecoup.

ΤΡΑΥΜΑΤΙΚΑ ΕΝΔΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΑ ΑΙΜΑΤΩΜΑΤΑ

Τα ενδοεγκεφαλικά αιματώματα είναι σπάνια μετά από κρανιοεγκεφαλική κάκωση. Προκαλούνται από τραυματισμό μεγαλύτερων και εν τω βάθει αγγείων σε υπόβαθρο τεθλασμένου εγκεφάλου.
Το αιμάτωμα διακρίνεται από τη θλάση με βάση την ποσότητα του αίματος σε σχέση με τον εγκεφαλικό ιστό μέσα στη βλάβη. Ειδικότερα, θεωρείται αιμάτωμα όταν τα αίμα είναι τουλάχιστον τα δύο τρίτα μιας τραυματικής αιμορραγικής ενδοεγκεφαλικής βλάβης, το υπόλοιπο ποσοστό μπορεί να αφορά κατεστραμμένο ιστό και μικροσκοπικές αιμορραγίες.

ΟΞΥ ΥΠΟΣΚΛΗΡΙΔΙΟ ΑΙΜΑΤΩΜΑ

Το Οξύ Υποσκληρίδιο Αιμάτωμα μπορεί να προκληθεί και από δυνάμεις επαφής και από δυνάμεις αδράνειας. Αυτά που προκαλούνται από τραύματα επαφής συνδυάζονται με θλάσεις και διασχίσεις [32]. Πειραματικά δεδομένα δείχνουν ότι το ΟΥΑ πιο σπάνια από τις θλάσεις είναι κοντά στο σημείο πρόσκρουσης ακόμα και σε περιπτώσεις με κάταγμα κρανίου [31 . Έτσι, προφανώς για τα περισσότερα ΟΥΑ υπεύθυνες είναι οι δυνάμεις αδράνειας. Οι Thibault, Gennareli και οι συνεργάτες τους, σε μελέτες τους [33, 34, 35] χρησιμοποιώντας φορτίσεις που ξεκινούν από γρήγορη επιτάχυνση χωρίς πρόσκρουση της κεφαλής, προκάλεσαν ΟΥΑ σε πειραματόζωα, αποδεικνύοντας ότι οι δυνάμεις επαφής δεν είναι απαραίτητες.
Το πρότυπο του τραύματος που χρησιμοποίησαν επέτρεπε τη διαφοροποίηση της διάρκειας καθώς και της έντασης της επιτάχυνσης. Οι μελέτες αυτές, αποκάλυψαν ένα όριο μεγέθους της επιτάχυνσης κάτω από το οποίο προκαλείται διάσειση και πάνω από το οποίο οξύ υποσκληρίδιο αιμάτωμα (διάγραμμα 1).

Στις ίδιες μελέτες, κατέδειξαν ότι για μικρότερα μεγέθη, αλλά μακράς διάρκειας γωνιακής επιτάχυνσης (όπως συμβαίνει

στα τροχαία ατυχήματα), η παραμόρφωση προωθείται στις βαθύτερες εγκεφαλικές δομές προκαλώντας Διάχυτη Νευραξονική Βλάβη.

Αύξηση του μεγέθους της επιτάχυνσης προκαλεί Οξύ Υποσκληρίδιο Αιμάτωμα σε συνδυασμό με πετεχειώδεις θλάσεις και Διάχυτη Νευραξονική Βλάβη. Αυτά τα ευρήματα εξηγούν τις περιπτώσεις όπου η παρεκτόπιση της μέσης γραμμής είναι δυσανάλογα μεγάλη για το πάχος του αιματώματος. Τα πλείστα των ΟΥΑ εντοπίζονται στις κυρτότητες των εγκεφαλικών ημισφαιρίων και είναι αποτέλεσμα διάσχισης των γεφυρικών φλεβών. Οι παραοβελιαίες γεφυρικές φλέβες είναι πολύ ευαίσθητες σε μικρής διάρκειας υψηλής ταχύτητας γωνιακές επιταχύνσεις. Παραδείγματα τέτοιου είδους τραύματος αποτελούν οι πτώσεις και οι επιθέσεις με ξένο σώμα. Στην τράπεζα δεδομένων για τις ΚΕΚ του Πανεπιστημίου της Πενσυλβάνια, το 72% των ΟΥΑ έχουν σαν αιτία τις πτώσεις και τις επιθέσεις και το 24% τα τροχαία ατυχήματα.

Το οξύ υποσκληρίδιο αιμάτωμα εμφανίζει θνητότητα 50% εάν έχει πάχος 18mm και παρεκτόπιση μέσης γραμμής 20mm. Εάν η παρεκτόπιση της μέσης γραμμής φτάνει τα 25mm η θνητότητα είναι 100%. Εάν η περεκτόπιση είναι 3mm μεγαλύτερη από το πάχος του αιματώματος η θνητότητα είναι 50% και αυξάνει στο 75% εάν η διαφορά είναι 5mm.

ΤΡΑΥΜΑΤΙΚΗ ΥΠΑΡΑΧΝΟΕΙΔΗΣ ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ (ΤΥΑ)

Η τραυματική υπαραχνοειδής αιμορραγία συναντάται όταν γωνιακή επιτάχυνση προκαλεί παραμόρφωση, ικανή να καταστρέψει επιφανειακά αγγεία που διατρέχουν τον υπαραχνοειδή χώρο. Όσο βαθύτερα στους υπαραχνοειδείς χώρους εντοπίζεται η αιμορραγία, τόσο μεγαλύτερη η βαρύτητα του τραύματος.

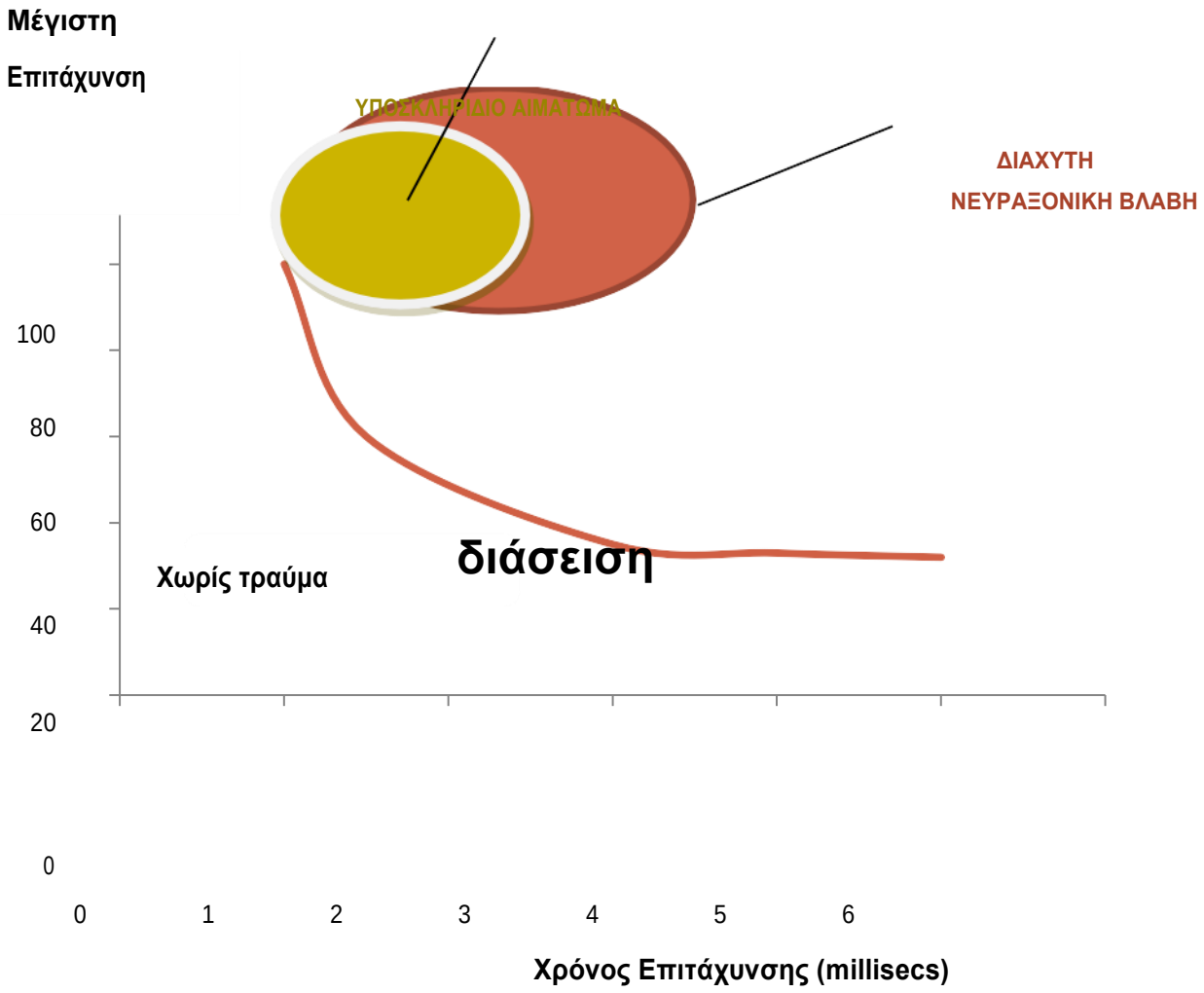
ΕΝΔΟΚΟΙΛΙΑΚΗ ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ

Η τραυματική ενδοκοιλιακή αιμορραγία απαιτεί πολύ σοβαρή δύναμη κάκωσης και συνήθως έχει πολύ κακή πρόγνωση. Ορισμένες περιπτώσεις ενδοκοιλιακής αιμορραγίας οφείλονται σε πρόσκρουση κατά μήκος του οβελιαίου άξονα του κρανίου, με συνέπεια την παραμόρφωση του κρανίου με αύξηση της μικρής αμφικροταφικής του διαμέτρου άρα και της διαμέτρου του κοιλιακού συστήματος.

Επακόλουθο αυτής της σειράς αλληλεπιδράσεων είναι η δημιουργία υποπίεσης με αποτέλεσμα την παραμόρφωση διάτασης των υποεπενδυματικών φλεβών και ρήξη αυτών.

Άλλοι τύποι ενδοκοιλιακής αιμορραγίας οφείλονται σε γωνιακές επιταχύνσεις που προκαλούν διάσχιση και συσχετίζονται με Διάχυτη Νευραξονική Βλάβη και πετεχειώδεις αιμορραγίες.

Διάγραμμα 1: *Η καμπύλη ανοχής* πρόκειται για καμπύλη σχέσεως μεγέθους-διάρκειας της επιταχύνσεως και του τύπου του τραύματος που προκαλείται. Σημεία κάτω από την καμπύλη είναι απίθανο να σχετίζονται με σοβαρή ΚΕΚ.


Μέγιστη
Επιτάχυνση
ΥΠΟΣΚΛΗΡΙΔΙΟ ΑΙΜΑΤΩΜΑ
ΔΙΑΧΥΤΗ
ΝΕΥΡΑΞΟΝΙΚΗ ΒΛΑΒΗ
100
80
60
40
20
0
Χωρίς τραύμα
διάσειση
0
1
2
3
4
5
6
Χρόνος Επιτάχυνσης (millisecs)

ΔΙΑΧΥΤΗ ΝΕΥΡΑΞΟΝΙΚΗ ΒΛΑΒΗ ή ΔΙΑΧΥΤΗ ΝΕΥΡΑΞΟΝΟΤΜΗΣΗ (ΔΝΒ,Diffuse Axonal Injury-DAI)

Η Διάχυτη Νευραξονική Βλάβη (ΔΝΒ) προκαλείται από γωνιώδη και περιστροφική επιτάχυνση, οι οποίες προστίθενται σε δυνάμεις επαφής, επειδή τα μεγέθη επιτάχυνσης που χρειάζονται για να προκληθεί απαιτούν πρόσκρουση [36]. Η βαρύτητα της διάχυτης νευραξονότμησης καθορίζεται από το μέγεθος, τη διάρκεια και τον ρυθμό έναρξης της γωνιώδους επιτάχυνσης, καθώς και την κατεύθυνση κίνησης της κεφαλής. Συγκρινόμενη με το Οξύ Υποσκληρίδιο αιμάτωμα, η ΔΝΒ προκαλείται από μακρύτερης διάρκειας επιτάχυνση και συναντάται σε περιπτώσεις όπου η κεφαλή συγκρούεται με ευρύ και σχετικά μαλακό αντικείμενο (π.χ. παρμπρίζαυτοκινήτου).

Ο εγκέφαλος των θηλαστικών ευρέθη πιο ευαίσθητος στην ανάπτυξη ΔΝΒ στις πλάγιες μετακινήσεις απ' ότι στις οβελιαίες και λοξές, δεδομένης σταθερής διάρκειας και μεγέθους της επιτάχυνσης [37]. Πιθανώς, παραμορφώσεις - διάσχισης, διάτασης ή και ο συνδυασμός των δύο που αναπτύσσονται κατά τις πλάγιες μετακινήσεις του εγκεφάλου και την πρόσκρουσή του στο δρέπανο και το σκηνίδιο ευνοούν την εγκατάσταση Διάχυτης νευραξονότμησης.

Σε ορισμένες περιπτώσεις παρατηρείται και στα πλαίσια δευτεροπαθούς ισχαιμικής βλάβης. Σε ένα πρότυπο τραυματικής εγκεφαλικής βλάβης η διάχυτη νευραξονότμηση ήταν πρωτίστως δευτεροπαθής ή όψιμη [36, 37].

Οι ερευνητές υπέθεσαν ότι τέτοια βλάβη οφείλεται σε δυσχέρεια στην αξονοπλασματική μεταφορά η οποία προκλήθηκε είτε από εστιακή διαταραχή της διάταξης του κυτταρικού σκελετού είτε από διαταραχή της διαπερατότητας του αξονολήμματος με συνοδό κατάρρευση του κυτταρικού σκελετού [35, 38].

Η έκταση και η εντόπιση της ΔΝΒ είναι πολύ σημαντικά για την πρόγνωση. Μια μελέτη με μαγνητικό συντονισμό [39] έδειξε μια σαφή συσχέτιση ανάμεσα στις βλάβες που είναι χαρακτηριστικές στην ΔΝΒ και στην απώλεια συνειδήσεως μετά από ΚΕΚ:Έτσι βλάβες εν τω βάθει στη λευκή ουσία συσχετίζονται με πιο σοβαρή και παρατεταμένη απώλεια συνειδήσεως.

Ο Gennarelli και οι συνεργάτες του ανέπτυξαν ένα σύστημα βαθμονόμησης της ΔΝΒ. Το σύστημα αυτό συσχετίζει τα εντοπιστικά, παθολογοανατομικά-μορφολογικά ευρήματα καθώς και το βάθος και τη διάρκεια του κώματος. Στο στάδιο Ι η ΔΝΒ είναι κυρίως στην παραοβελιαία λευκή ουσία και η διάρκεια του κώματος 6-24hr. Στο στάδιο ΙΙ επιπρόσθετες βλάβες αφορούν το σπληνίο του μεσολοβίου και η διάρκεια του κώματος υπερβαίνει τις 24hrs αλλά ο ασθενής δεν έχει κλινικά σημεία βλάβης στελέχους. Τέλος, στο στάδιο ΙΙΙ ανευρίσκονται τα παραπάνω ευρήματα σε συνδυασμό με βλάβες στα εγκεφαλικά σκέλη ή στη γέφυρα. Χαρακτηρίζεται από παρατεταμένο κώμα του ασθενούς (>24hrs) με εμφάνιση σημειολογίας στελέχους.

Πιο συχνά συναντώνται στο μεσολόβιο, περί τα τοιχώματα της 3ης κοιλίας - τον υποθάλαμο, τον θάλαμο, την ψαλίδα και τον πρόσθιο σύνδεσμο, την έσω κάψα, τα βασικά γάγγλια, το ραχιαίο πλάγιο του στελέχους και τα σκέλη της παρεγκεφαλίδας.

Το στέλεχος και γενικά οι εν τω βάθει εγκεφαλικές δομές απαιτούν πιο ισχυρές δυνάμεις απ' ότι η λευκή ουσία των ημισφαιρίων για να υποστούν τέτοιες βλάβες. Η επιφάνεια μετάπτωσης μεταξύ λευκής και φαιάς ουσίας, είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη σε δυνάμεις διάσχισης επειδή η φαιά ουσία είναι πιο πυκνή σε σχέση με τη λευκή.

Σε μαθηματικά και ημίρευστα πρότυπα διαπιστώνεται μέγιστη γωνιώδης επιτάχυνση σε περιοχές ανάλογες της συμβολής λευκής-φαιάς με τη φαιά να παραμορφώνεται περισσότερο από τη λευκή.

Οι μεμβράνες που διαμερισματοποιούν το εσωτερικό του κρανίου, όπως το δρέπανο και το σκηνίδιο, οι γεωμετρικές ανωμαλίες και ο τρόπος κίνησης της κεφαλής συμβάλλουν στην εντόπιση τέτοιων βλαβών. Πετεχειώδεις μικροαιμορραγίες στη θέση μετάπτωσης από τη φαιά στη λευκή ουσία, παραοβελιαία στις μετωπιαίες και βρεγματικές έλικες, ονομάσθηκαν «ενδιάμεσες θλάσεις» (gliding).

Ο μηχανισμός που τις προκαλεί είναι παρόμοιος με αυτόν που διασχίζει τις γεφυρικές φλέβες στο Οξύ Υποσκληρίδιο αιμάτωμα αλλά εδώ αφορά βαθύτερες φλέβες.

ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗ ΔΙΑΣΕΙΣΗ

Η εγκεφαλική διάσειση (ΕΔ) μπορεί να προκαλέσει μόνιμη νευρολογική δυσλειτουργία και θα πρέπει να θεωρείται μέρος της παθολογικής οντότητας που προκαλείται από φόρτιση αδράνειας στην κεφαλή, η οποία είναι δυνατόν να οδηγήσει σε πτώση του επιπέδου συνείδησης και κώμα. Αρκετές μελέτες έδειξαν ότι η εγκεφαλική διάσειση είναι μία ελαφρά μορφή της διάχυτης νευραξονικής βλάβης. Όσο μεγαλύτερη είναι η δύναμη αδράνειας τόσο μεγαλύτερη η έκταση του τραύματος.

Γωνιώδης επιτάχυνση μεγάλης διάρκειας μπορεί να παραμορφώσει εν τω βάθει εγκεφαλικές δομές και να προκαλέσει νευρολογική δυσλειτουργία του τύπου της εγκεφαλικής διάσεισης.

Σε ελαφρές μορφές η παραμόρφωση είναι ανεπαρκής για να προκαλέσει δομική βλάβη. Η ακριβής ανατομική εντόπιση της λειτουργικής διαταραχής που συμβαίνει και προκαλεί απώλεια συνειδήσεως παραμένει άγνωστη, αλλά οι περισσότερες μελέτες συνηγορούν υπέρ της ημισφαιρικής βλάβης.

ΣΥΝΔΡΟΜΑ ΕΓΚΟΛΕΑΣΜΟΥ

Υπερσκηνίδιος εγκολεασμός παρατηρείται με τρεις κύριες μορφές: α) υπό του δρεπάνου β) κεντρικός δια του σκηνιδίου και γ) της αγκιστρωτής έλικας. Υποσκηνίδιος είναι ο εγκολεασμός των αμυγδαλών της παρεγκεφαλίδος δια του μείζονος τρήματος.

Α) <u>Υπό το δρέπανο εγκολεασμός:</u> η έλικα του προσαγωγίου μετακινείται κάτω από το δρέπανο, όταν αναπτυσσόμενη μάζα προκαλεί παρεκτόπιση προς τα έσω του σύστοιχου εγκεφαλικού ημισφαιρίου. Υπό το δρέπανο εγκολεασμός μπορεί να οδηγήσει σε ισχαιμία από πίεση της σύστοιχης πρόσθιας εγκεφαλικής αρτηρίας.

Β) <u>Κεντρικός δια του σκηνιδίου εγκολεασμός:</u> παρατηρείται όταν χωροκατακτητική βλάβη αναπτύσσεται στους λοβούς του εγκεφάλου ή πιέζει εξωτερικά τους λοβούς του εγκεφάλου, όπως συμβαίνει στα υποσκληρίδια και επισκληρίδια αιματώματα.

Αυτές οι βλάβες μετατοπίζουν τους βασικούς πυρήνες και τα εγκεφαλικά ημισφαίρια προς τα κάτω πιέζοντας τον εγκέφαλο και τον μεσεγκέφαλο δια έσου της εντομής του σκηνιδίου. Τα κλινικά σημεία υπο-δηλώνουν την αμφοτερόπλευρη προοδευτική βλάβη του εγκεφάλου όπως διέγερση, υπνηλία, αδυναμία στην άνω βλεμματική στροφή λόγω της πίεσης του πετάλου του τετράδυμου στο ύψος των άνω διδυμίων. Καθώς ο εγκολεασμός προχωρά, βυθιότητα και κώμα έπονται.

Η ημιπάρεση από ετερόπλευρη ημισφαιρική βλάβη επιδεινώνεται. Αρχικά η ετερόπλευρη, της εγκεφαλικής βλάβης, πλευρά αναπτύσσει υπερτονία αλλά ο ασθενής μπορεί να αντιδρά κανονικά στα επώδυνα ερεθίσματα.

Στη συνέχεια, η ημιπαρετική πλευρά μπορεί να κάνει αντίδραση έκτασης (απεγκεφαλισμού) και η ομόπλευρη της βλάβης αντιδρά με παθολογική κάμψη (αντίδραση αποφλοίωσης).

Γ) Εγκολεασμός της αγκιστρωτής έλικας: παρατηρείται όταν οι χωροκατακτητικές εξεργασίες αναπτύσσονται στον μέσο κρανιακό βόθρο ή εντός του κροταφικού λοβού ή πιέζουν αυτόν, μετατοπίζοντας το έσω χείλος της αγκιστρωτής έλικας και του ιππόκαμπου προς τα έσω και πάνω στο ομόπλευρο ελεύθερο χείλος του τρήματος του σκηνιδίου. Τότε ο μεσεγκέφαλος πιέζεται και το ομόπλευρο ή/και το ετερόπλευρο τρίτο νεύρο πιέζεται ή διατείνεται. Το κλασσικό σύνδρομο του εγκολεασμού της αγκιστρωτής έλικας περιλαμβάνει ομόπλευρη πίεση του εγκεφαλικού σκέλους και της οπίσθιας εγκεφαλικής αρτηρίας με πίεση ή διάταση του κοινού κονητικού (3ο νεύρο) με αποτέλεσμα την ημιπάρεση, την έλπτωση του επιπέδου συνείδησης και ομόπλευρη διαστολή της κόρης (μυδρίαση), με κατάργηση της αντίδρασης στο φως (κατάργηση αντανακλαστικού). Αν και η ασυμμετρία της μιας κόρης ως προς την άλλη έχει αξία για την εντόπιση της πλευράς της βλάβης φάνηκε πως τελικά δεν είναι τόσο αξιόπιστη όσο θεωρείτο παλαιότερα. Σε μελέτη 210 ασθενών (Traumatic Coma Data Bank –TCDB) [40, 41, 42, 43] βρέθηκε πως μόνο στο 64%-73% η ενδοκράνια μάζα ήταν ομόπλευρα με την μυδριασμένη κόρη.

Συμβαίνει όμως, το αντίθετο εγκεφαλικό σκέλος να πιεσθεί στην αντίθετη εντομή του σκηνιδίου, με αποτέλεσμα την εμφάνιση της σημειολογίας ομόπλευρα στη βλάβη (σημείο του Kernohan). Στο σύνδρομο του εγκολεασμού της αγκιστρωτής έλικας, η ανισοκορία γρήγορα ακολουθείται από πτώση επιπέδου και κώμα.

Δ) Εγκολεασμός των αμυγδαλών της παρεγκεφαλίδας: δια μέσου του μείζονος ινιακού τρήματος προκαλείται από αναπτυσσόμενη χωροκατακτητική εξεργασία στο οπίσθιο κρανιακό βόθρο ή από γενικευμένη αύξηση της ενδοκράνιας πίεσης ή άλλες φορές σε συνδυασμό με κατάγματα της βάσης του κρανίου που επιτρέπουν τη διαφυγή του ΕΝΥ και τη μετακίνηση του περιεχομένου του οπισθίου κρανιακού βόθρου προς τα κάτω δια μέσω του μείζονος τρήματος.

Η πίεση στον προμήκη και στα κέντρα της αναπνοής και της κυκλοφορίας είναι συνήθως θανατηφόρα. Σε όλα τα σύνδρομα του εγκολεασμού παρατηρούνται αιμορραγικές θλάσεις των δομών που μετακινούνται, πιέζονται ή διατείνονται.

ΔΕΥΤΕΡΟΠΑΘΗΣ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗ ΒΛΑΒΗ

Το τραύμα στον εγκέφαλο προκαλεί μια πλειάδα πρωτοπαθών βλαβών από μηχανική καταστροφή του εγκεφαλικού ιστού και των αγγείων. Επίσης, προκαλεί κυτταρική βλάβη, η οποία αναπτύσσεται σε μια περίοδο ωρών ή ημερών μετά από το τραυματικό συμβάν. Τέτοια βλάβη είναι πλέον γνωστή ως «δευτεροπαθής τραυματική εγκεφαλική βλάβη» [44] (Πίνακας 1).

Διάχυτη	Εστιακή
Διάχυτο εγκεφαλικό οίδημα (brain swelling)	Εστιακό εγκεφαλικό οίδημα
Διάχυτη υποξική-ισχαιμική βλάβη	Εστιακή υποξία-ισχαιμία

Πίνακας 1. Δευτεροπαθής τραυματική εγκεφαλική βλάβη

Τα τελευταία 15-20 χρόνια έχουν αναπτυχθεί πολλά πειραματικά μοντέλα ΚΕΚ που επιτρέπουν ακριβή αναπαραγωγή της τραυματικής εγκεφαλικής βλάβης [45, 46].
Δύο από αυτά τα μοντέλα, το μοντέλο «κρούσης με υγρό» και «ελεγχόμενης θλάσης του φλοιού», προκαλούν ιστολογική καταστροφή αξιοσημείωτα παρόμοια με αυτή που βλέπουμε στον άνθρωπο μετά από ΚΕΚ.

Τα περισσότερα από όσα σήμερα είναι γνωστά γύρω από την κυτταρική και βιοχημική αντίδραση μετά από ΚΕΚ

προκύπτουν από 1) τη νεκροτομική μελέτη του εγκεφαλικού ιστού μετά από «κρούση με υγρό» ή από «ελεγχόμενη θλάση του φλοιού» 2) τη χρήση της μικροδιάλυσης για την ανάλυση των εξωκυττάριων συγκεντρώσεων μεταβολιτών μετά το τραύμα και 3) τον συσχετισμό μεταξύ ιστολογικών, εξωκυττάριων νευροχημικών αλλαγών και διαταραχών συμπεριφοράς ή ανώτερων ψυχοδιανοητικών λειτουργιών.

Αυτές οι μελέτες υποδεικνύουν ότι η δευτεροπαθής τραυματική εγκεφαλική βλάβη συσχετίζεται με νευροχημικές αλλαγές, οι οποίες μεταβάλουν την εγκεφαλική αιματική ροή, την ομοιόσταση των ιόντων και τον μεταβολισμό και οι οποίες ξεκινούν με τον τραυματισμό [47]. Μετατραυματικές νευροχημικές αλλαγές μπορούν επίσης να έχουν απευθείας νευροτοξικές επιδράσεις σε περιοχικές ομάδες νευρωνικών ή γλοιακών κυττάρων [48].

Αυτές οι νευροχημικές αλλαγές μπορεί να περιλαμβάνουν αλλαγές στη σύνθεση ή απελευθέρωση τόσο νευροπροστατευτικών, όσο και αυτοκαταστροφικών μοριακών δομών και συμπλόκων [48, 49]. Εάν αυτά τα σύμπλοκα αναγνωρισθούν μαζί με τη χρονική αλληλουχία του παθολογικού βιοχημικού καταρράκτη που ξεκινά μετά την ΚΕΚ, θα μπορούσαν να σχεδιαστούν θεραπευτικές στρατηγικές για την πρόληψη ή μείωση της βλάβης του νευρικού ιστού ή για τη σχετική «αποκατάσταση» αυτής ή για τον περιορισμό αυτής [50].

ΥΠΟΞΙΚΗ-ΙΣΧΑΙΜΙΚΗ ΒΛΑΒΗ

Στο 1/3 περίπου των ασθενών με βαριά ΚΕΚ, η εγκεφαλική αιματική ροή (CBF-cerebral blood flow) μειώνεται κάτω από τα όρια της ισχαιμίας (CBF<18ml/100gr/min) 2-6 hrs μετά τον τραυματισμό και κατόπιν έρχεται σε μη – ισχαιμικά επίπεδα μετά το 1^{ο} 24ωρο [31]. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου ο εγκέφαλος κινδυνεύει επίσης από τραύμα τύπου ισχαιμίας-επαναιμάτωσης. Υποξική-ισχαιμική εγκεφαλική βλάβη, θεωρείται όταν υπάρχει είτε από μόνη ή σε συνδυασμό μείωση του περιεχομένου στο αίμα οξυγόνου (Υποξική υποξία) ή μείωση στην εγκεφαλική τροφοδοσία με αίμα (ισχαιμική υποξία).

Πλείστες ενδείξεις υποστηρίζουν την άποψη ότι η «ισχαιμική υποξία» είναι ο πιο συχνός τύπος Υποξικού-ισχαιμικού τραύματος στον άνθρωπο [51, 52, 53, 55, 56].

Ισχαιμικές αλλαγές σε θανατηφόρα ΚΕΚ έχουν ταξινομηθεί σε διάχυτες, εστιακές ή μικτές, ανάλογα με τη ζώνη οριακής αιματώσεως της αρτηριακής κατανομής.Έτσι, εμφανίζονται πολλαπλές ή εστιακές περιοχές φλοιϊκής ισχαιμίας και νεκρώσεις του φλοιού μόνες ή σε συνδυασμό με ατροφία της λευκής ουσίας [52, 60, 61, 62, 63].

Ισχαιμικές αλλοιώσεις έχουν βρεθεί στο περίπου 90% των ασθενών που επέζησαν για μερικές τουλάχιστον ώρες μετά την ΚΕΚ και υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση με γνωστό επεισόδιο υποξίας, όπως ανακοπή ή status epilepticus και αυξημένη ενδοκράνια πίεση [53, 54, 55]. Ωστόσο, σοβαρή υποξική βλάβη μπορεί να παρατηρηθεί και χωρίς αυξημένη ενδοκράνια πίεση [56, 57, 58, 59]. Επεισόδια συστηματικής αρτηριακής υπότασης προκαλούν ισχαιμική βλάβη του τύπου της ζώνης οριακής αιμάτωσης. Άλλοι σημαντικοί παράγοντες που συμβάλλουν σε υποξική εγκεφαλική βλάβη είναι η απόφραξη των αεραγωγών, τραύματα θώρακος και αρτηριακός σπασμός [55, 56, 57, 58, 59, 60].

ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ ΟΙΔΗΜΑ

Μαζικό οίδημα (swelling) όλου ή μέρους του εγκεφάλου προκαλείται μετά από ΚΕΚ και μπορεί να οφείλεται σε αύξηση του περιεχομένου στον εγκεφαλικό ιστό ύδατος (cerebral edema), σε αύξηση του ενδοαγγειακού όγκου αίματος (congrestive brain swelling) ή σε συνδυασμό και των δύο.

ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ ΟΙΔΗΜΑ (cerebral edema)

Το εγκεφαλικό οίδημα είναι μια σημαντική αλλά και μεταβλητή δευτεροπαθής αντίδραση στο τραύμα, που οι αιτίες και οι συνέπειες της δεν έχουν ακόμη διερευνηθεί πλήρως. Πέντε διαφορετικοί τύποι εγκεφαλικού οιδήματος έχουν περιγραφεί [64, 65]:

- **Αγγειογενές οίδημα**: Διαταραχή του αιματοεγκεφαλικού φραγμού οδηγεί σε συγκέντρωση υγρού πλούσιου σε πρωτεΐνες στον εξωκυττάριο χώρο. Το τοπικό οίδημα γύρω από θλάσεις ή αιματώματα είναι αγγειογενές.
- **Κυτταροτοξικό οίδημα**: Συναντάται σε υποξική-ισχαιμική βλάβη, όπου υπάρχει δυσλειτουργία της κυτταρικής μεμβράνης που οδηγεί σε ενδοκυττάρια συγκέντρωση υγρού.
- **Υδροστατικό οίδημα**: Η ξαφνική αύξηση της ενδαγγειακής ή διατοιχωματικής πίεσης σε ένα ανέπαφο αγγειακό δίκτυο οδηγεί σε εξωκυττάρια συγκέντρωση υγρού πτωχού σε πρωτεΐνες. Υδροστατικό οίδημα μπορεί να επακολουθήσει ξαφνική αποσυμπίεση από χωροκατακτητική βλάβη ή όταν η αυτορρύθμιση είναι επηρεασμένη μετά από ΚΕΚ.
- **Οσμωτικό εγκεφαλικό οίδημα:** Σημαντικές μειώσεις στην οσμωτικότητα του ορού προκαλούν αύξηση του ενδοκυττάριου ύδατος. Αυτό μπορεί να προκληθεί από ιατρογενή αιμοαρραίωση, από υπέρμετρη χρήση ενδοφλεβίως υπότονων (διάλυμα dextrose) ή από σύνδρομο απρόσφορης έκκρισης αντιδιουρητικής ορμόνης(ADH).
- **Διάμεσο οίδημα:** Περικοιλιακή διήθηση ύδατος μπορεί να προκληθεί από υψηλής πίεσης αποφρακτικό υδροκέφαλο, κάτι που όμως δεν είναι συνηθισμένο σε ΚΕΚ.

ΣΥΜΦΟΡΗΤΙΚΟ ΟΙΔΗΜΑ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ (congestive brain swelling)

Το συμφορητικό εγκεφαλικό οίδημα προκαλείται όταν ο όγκος αίματος στον εγκέφαλο αυξάνεται σαν αποτέλεσμα αρτηριακής διάτασης ή/και φλεβικής απόφραξης. Αυτό μπορεί να συμβεί πολύ γρήγορα στα παιδιά και σε ασθενείς με Οξύ Υποσκληρίδιο αιμάτωμα, όπου μαζικό οίδημα εγκεφαλικού ημισφαιρίου έχει διαπιστωθεί με αξονική τομογραφία 20 min μετά την κάκωση. Μελέτες πάνω στην εγκεφαλική αιματική ροή (CBF) έδειξαν την ύπαρξη μιας υπεραιμικής φάσης 24hrs περίπου μετά την κάκωση σε ασθενείς χωρίς ένδειξη σοβαρής χειρουργικής χωροκατακτητικής βλάβης [66, 67, 68, 69].

ΝΕΥΡΟΧΗΜΙΚΟΙ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΙ ΔΙΑΜΕΣΟΛΑΒΗΤΕΣ

Διεγερτικά αμινοξέα.

Τα διεγερτικά αμινοξέα Γλουταμικό και Ασπαρτικό συναντώνται υπό φυσιολογικές συνθήκες στο Νευρικό σύστημα ως Νευροδιαβιβαστές. Άμεσα, μετά την ΚΕΚ, εμφανίζονται σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις στον εξωκυττάριο χώρο και στο ΕΝΥ. Όταν τα αμινοξέα αυτά επιδρούν απευθείας στους νευρώνες και στη νευρογλοία (in vitro) προκαλούν οίδημα, δημιουργία κενοτοπίων και νευρωνικό θάνατο.

Έχουν προταθεί δύο μηχανισμοί που διαμεσολαβούν στον κυτταρικό θάνατο που προκαλείται από διεγερτική-τοξική δράση: ένα με εισροή χλωριούχου νατρίου (NaCl) που οδηγεί σε άμεσο κυτταρικό οίδημα και ένα με εισροή ασβεστίου (Ca) που οδηγεί σε καθυστερημένη καταστροφή [70].

Αγωνιστές των υποδοχέων διεγερτικών αμινοξέων, όπως του γλουταμινικού, Kainicacid (KA) ή N- methy-D-

aspartase (NIMDA), προκαλούν άμεσο κυτταρικό θάνατο όταν ενεθούν μέσα στον εγκέφαλο, πιθανώς μέσω της αύξησης της εισροής ασβεστίου, μείωσης των αποθεμάτων υψηλής ενέργειας φωσφορικών ή αυξάνοντας την παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου [70, 71].

Ενδογενή οποιοειδή πεπτίδια

Αξιοσημείωτη αύξηση των τοποικών συγκεντρώσεων του ενδογενούς οποιοειδούς Δυνορφίνη [72] έχει αποδειχθεί ότι συσχετίζεται με ιστοπαθολογική καταστροφή και μείωση της CBF μετά από τραύμα «κρούσης με υγρό» [73]. Επίσης, ενδοκοιλιακή ή/και ενδοπαρεγχυματική μικροένεση Δυνορφίνης και άλλων κ-αγωνιστών επιδεινώνουν το νευρολογικό τραύμα.

Αρκετές μελέτες δείχνουν ότι υπάρχει κάποιου βαθμού σύνδεση και αλληλεπίδραση μεταξύ της απελευθέρωσης ενδογενών οποιοειδών και τοξικής δράσης των διεγερτικών νευροδιαβιβαστικών αμινοξέων Γλουταμινικό και Ασπαρτικό [74].

Ακετυλοχολίνη

Αρκετές μελέτες υποδεικνύουν πως ένα μέρος της νευρολογικής διαταραχής μετά από ΚΕΚ, ιδιαίτερα όσον αφορά τη συμπεριφορά και τη συνείδηση [75], μπορεί να αποδοθεί στην αυξημένη δραστηριότητα του χολινεργικού συστήματος ή στις αλλαγές των χολινεργικών υποδοχέων που εντοπίζονται σε ειδικές περιοχές του εγκεφάλου [76].

Κατεχολαμίνες

Η αδρενεργική απάντηση του Συμπαθητικού αποτελεί σημαντικό παράγοντα εξέλιξης της πρωταρχικής εγκεφαλικής βλάβης. Η αυξημένη παραγωγή κατεχολαμινών [77] από την μία έμμεσα, προάγει τον υπερμεταβολισμό και από την άλλη άμεσα λόγω αυτής καθ' αυτής της νευροδιαβιβαστικής τους δράσης, οδηγεί σε διαταραχές της ομοιόστασης στον εγκεφαλικό ιστό και σε δευτεροπαθείς βλάβες, όπως είναι τα φαινόμενα υποκλοπής της αιματικής ροής και ο αγγειόσπασμος [78, 79, 80, 83, 84, 85]. Η συμπαθητικομιμητική απάντηση μετά από βαριά εγκεφαλική βλάβη είναι αποτέλεσμα κεντρικής παραγωγής κατεχολαμινών, καθώς είναι επιβεβαιωμένο ότι τόσο η ντοπαμίνη όσο και η νοραδρεναλίνη παράγονται στο ΚΝΣ ως απάντηση στην περιοχική ή στην διάχυτη εγκεφαλική ισχαιμία μέσω νευροδιαβιβαστικών μηχανισμών [81, 82, 83, 84].

Κυτοκίνες και Χυμοκίνες

Οι κυτοκίνες ή κυτταροκίνες (cytokines) είναι πρωτεΐνες, γλυκοπρωτεΐνες ή πρωτεογλυκάνες που δρουν ως διαβιβαστές (communicators) μεταξύ κυττάρων, χωρίς όμως προκαθορισμένη δράση. Θεωρητικά, η δράση τους εξαρτάται από το κύτταρο που τις εκκρίνει, από το κύτταρο στόχο καθώς και από την αλληλεπίδραση και ταυτόχρονη συνέργεια με άλλες κυτταροκίνες. Οι προφλεγμονώδεις κυτοκίνες περιλαμβάνουν τις ιντερλευκίνες IL-1α, IL-1β, και IL-6, τον παράγοντα νέκρωσης των όγκων TNF-α και την ιντερφερόνη γ [86, 87, 88, 89, 90, 91]. Φαίνεται πως εκκρινόμενες στην περιοχή της πρωταρχικής εγκεφαλικής βλάβης ενεργοποιούν και ρυθμίζουν την αρχική φλεγμονώδη αντίδραση. Σε αντίθεση, μια άλλη κατηγορία κυτοκινών, οι αντιφλεγμονώδεις κυτοκίνες που περιλαμβάνουν τις ιντερλευκίνες IL-4, IL-10 και IL-13 καθώς και τον παράγοντα TGF-β (transforminggrowthfactor-β) [92, 93, 94, 95], φαίνεται πως απενεργοποιούν κάποια στάδια της φλεγμονώδους αντίδρασης και δρουν έτσι προστατευτικά έναντι της δευτεροπαθούς κυτταρικής βλάβης. Με τη δράση και τη λειτουργία τους ασχολούμαστε εκτενέστερα στα πλαίσια αυτής της μελέτης.

Οι χυμοκίνες (chemokines), αρχικά, θεωρούνταν υποκατηγορία των ιντερλευκινών. Στην συνέχεια όμως, κατηγοριοποιήθηκαν μόνες τους λόγω της ιδιότητάς τους να προάγουν τον χημειοτακτισμό των φλεγμονωδών

κυττάρων (πολυμορφοπύρηνων και μακροφάγων) αλλά και των λεμφοκυττάρων, διαμέσου των ενδοθηλιακών φραγμών, στην περιοχή της πρωταρχικής βλάβης [96, 97]. Αναλόγως δε της περιεκτικότητας τους σε κυστεϊνη διακρίνονται σε CC,C,CXC και CCCchemokines, εκ των οποίων η καθεμιά μπορεί να ανιχνευθεί σε διαφορετικό χρόνο από τον αρχικό εγκεφαλικό τραυματισμό και ταυτόχρονα έχει και διαφορετικό κύτταρο στόχο.

Έτσι η CXC είναι από τις πρώτες που εκκρίνονται σε χρονικό διάστημα μικρότερο από 3 ώρες στην περιοχή της βλάβης και ως στόχο έχει τα πολυμορφοπύρηνα, ενώ η CC εκκρίνεται αργότερα, περίπου στις 6 ώρες, με σκοπό να προάγει την χυμειοταξία των μοξοοπύρηνων και των μακροφάγων [98].

Παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PDGF) παράγεται από διάφορους τύπους κυττάρων όπως τα βασεόφιλα, τα πολυμορφοπύρηνα, τα μακροφάγα, τα μονοκύτταρα, τα αιμοπετάλια, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τους νευρώνες [99]. Μπορεί να προκαλέσει θρόμβο αιμοπεταλίων, αύξηση της διαπερατότητας του αιματοεγκεφαλικού φραγμού και σοβαρό ισχαιμικό ιστικό τραύμα. Μπορεί να είναι απευθείας νευροτοξικός και σε καλλιέργειες νευρώνων [100] αυξάνει τις συγκεντρώσεις του ελεύθερου ενδοκυττάριου Ca, έτσι μπορεί να θεωρηθεί πως εμπλέκεται ενεργά στον κυτταρικό θάνατο, με μεσολάβηση των διαύλων του Ca.

Αλλαγές στα ιόντα

Ασβέστιο (Ca): αλλαγές στην ομοιόσταση των ιόντων ασβεστίου έχουν ενοχοποιηθεί για τον καθυστερημένο νευρωνικό θάνατο και εκφύλιση, μετά από ισχαιμικό τραύμα του ΚΝΣ. Μια καλά περιγραφείσα συνέπεια της ενεργοποίησης των υποδοχέων των διεγερτικών αμινοξέων, είναι η εισροή μη φυσιολογικών ποσοτήτων ασβεστίου στο κύτταρο. Η αύξηση του ενδοκυττάριου Ca μπορεί να ενεργοποιήσει ειδικές πρωτεάσες, οι οποίες προκαλούν βαθιά αποδόμηση του κυτταροσκελετού που έχει ως συνέπεια τον νευρωνικό θάνατο.

Μαγνήσιο(Mg): εμπλέκεται σε μερικές κρίσιμες διεργασίες του κυττάρου, όπως η γλυκόλυση και η οξειδωτική φωσφορυλίωση, η κυτταρική αναπνοή και η σύνθεση του DNA, RNA και πρωτεϊνών. Επίσης το Mg ρυθμίζει την φυσιολογική ισορροπία της ενδοκυττάριας στάθμης του K και του Na.

Κάλιο(K): πειραματικές και κλινικές μελέτες έχουν επιβεβαιώσει γρήγορη και μαζική απελευθέρωση K+ στον εξωκυττάριο χώρο μετά από ΚΕΚ. Εξωκυττάριες συγκεντρώσεις K+ μετά από διάσειση κυμαίνονται από 4-20mM, αλλά αγγίζουν τα 50mM μετά από πιο σοβαρό τραύμα. Φλοιϊκές εκφορτίσεις και επιληπτική δραστηριότητα έχουν συσχετισθεί με υψηλές εξωκυττάριες συγκεντρώσεις K+ στον τραυματισμένο φλοιό σε πειραματόζωα.

Η οξεία αύξηση του εξωκυττάριου καλίου μπορεί, επίσης, να διαταράξει την αντλία μεταφοράς της κυτταρικής μεμβράνης καθώς και τη συναπτική λειτουργία του νευρώνα [101]. Αύξηση του εξωκυττάριου καλίου μπορεί να συμβάλλει στη διάσπαση της ενεργειακής ομοιόστασης, σε αγγειόσπασμο, σε διαφοροποίηση της γλυκόλυσης στον εγκέφαλο και στην απώλεια συνείδησης μετά από ΚΕΚ. Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες τα γλοιακά κύτταρα βοηθούν στην αποβολή ιόντων καλίου που απελευθερώνονται από τους νευρώνες κατά τη λειτουργία τους. Όμως, μετά από ΚΕΚ, η γρήγορη απορρόφηση του εξωκυττάριου καλίου από τα αστροκύτταρα έχει σαν αποτέλεσμα το ενδοκυττάριο οίδημα που περιγράφεται ως επακόλουθο της ΚΕΚ [102]. Επειδή η απορρόφηση αυτού του καλίου από την γλοία είναι οξυγονοεξαρτώμενη διαδικασία, η απώλεια καλίου από τους νευρώνες στερεί την περαιτέρω τροφοδοσία με οξυγόνο των τραυματισμένων νευρώνων, δημιουργώντας έτσι φαύλο κύκλο.

Ελεύθερες Ρίζες Οξυγόνου

Η μετατραυματική ισχαιμία δίνει έναρξη σε ένα καταρράκτη μεταβολικών αλληλουχιών που οδηγεί στη δημιουργία Ελευθέρων Ριζών Οξυγόνου. Οι ελεύθερες ρίζες παίζουν έναν από τους πιο σημαντικούς ρόλους στην παθοφυσιολογία της κυτταρικής καταστροφής στον εγκεφαλικό ιστό [103].

Παράγονται μαζικά κατά τη φάση της επανάρδευσης των ιστών (reperfusion injury) αλλά και κατά πολλά στάδια της δευτεροπαθούς εγκεφαλικής βλάβης. Χαρακτηριστικό τους, που τους προσδίδει και τη σημαντική τους βιοχημική δράση, είναι το ασύζευκτο ηλεκτρόνιο που φέρουν στην εξωτερική τους στιβάδα. Έτσι, μπορούν να αντιδράσουν με μόρια που τους λείπει ένα ηλεκτρόνιο και τέτοιου είδους μόρια συνήθως εμπεριέχονται σε ουσίες, όπως είναι τα λιπίδια, οι πρωτεΐνες και τα νουκλεϊκά οξέα. Ο οργανισμός διαθέτει μεν αμυντικούς μηχανισμούς έναντι των ελευθέρων ριζών του οξυγόνου, όπως οι αντιοξειδωτικές ουσίες, υπεροξειδάσες και ουσίες που εξουδετερώνουν τοξικά κατάλοιπα (scavengers), αλλά δυστυχώς τα αποθέματα τους γρήγορα εξαντλούνται.

ΓΟΝΙΔΙΑΚΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΜΕ ΤΗΝ ΚΕΚ

Οι αλλαγές που προκαλούνται από το τραύμα στις ηλεκτρικές ιδιότητες των μεμβρανών (εκπόλωση) και στη δομή του κυτταροσκελετού είναι πιθανό να προκαλέσουν εκτροπή στην πορεία της κυτταρικής σήμανσης και η οποία να αντανακλαστεί στη γονιδιακή έκφραση [104]. Όσο περισσότερο διευκρινίζονται οι τύποι έκφρασης των διαφόρων κατηγοριών γονιδίων μετά από κάκωση του ΚΝΣ, τόσο μπορεί, από τη μια να αποσαφηνιστεί η διαδικασία που διασπά την κυτταρική αλληλουχία μεταγραφής-αντιγραφής (από την ΚΕΚ) και από την άλλη θα δίνεται η δυνατότητα να μελετηθούν αντιδράσεις εσωτερικής προστασίας ή προσαρμογής του ΚΝΣ στο τραύμα. Μελέτες που χρησιμοποιούν πρότυπα τραυματικής εγκεφαλικής βλάβης [105, 106] έχουν εκτιμήσει την εισαγωγή τριών διαφορετικών κατηγοριών γονιδίων: τα άμεσα γονίδια (IEGs), τις « πρωτεΐνες του θερμικού shock» (heat shock proteins) και τις κυτοκίνες. Τα IEGsc-fos, c-jun και jun-B είναι παράγοντες αντιγραφής που ρυθμίζουν την έκφραση μερικών γονιδίων στόχων, όπως αυτών που είναι υπεύθυνα για τους αυξητικούς παράγοντες, τις πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού και μεταβολικά ένζυμα. Για τις «heat shock proteins» έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι παίζουν ένα ρόλο νευροπροστασίας μετά από ΚΕΚ, ενώ οι κυτοκίνες συμμετέχουν στη προφλεγμονώδη αντίδραση του νευρικού ιστού στο τραύμα.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΣΤΗΝ ΚΕΚ- ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΑΣΘΕΝΟΥΣ

Οι ασθενείς που μελετήθηκαν για κρανιοεγκεφαλική κάκωση προσήλθαν ή διακομίσθηκαν στο τμήμα επειγόντων περιστατικών του νοσοκομείου με διαταραχή του επιπέδου συνειδήσεως ή ήταν πολυτραυματίες.

Στην εκτίμηση και αξιολόγησή του ακολουθήθηκαν τα πρωτόκολλα αντιμετώπισης χωρίς παρέκκλιση και διαφοροποίηση λόγω της μελέτης.

- Αξιολογήθηκαν οι πληροφορίες σχετικά με την απώλεια ή όχι των αισθήσεων και για πόσο στον τόπο του ατυχήματος.
- Παρουσία ή όχι περιτραυματικής αμνησίας.
- Παρουσία υποκειμενικών κλινικών σημείων. Επίμονη κεφαλαλγία αυξανόμενης έντασης, έντονη ζάλη με εμέτους.
- Ατομικό ιστορικό.
- Ιστορικό λήψης φαρμάκων ή ουσιών.
- Εκτίμηση των εξωτερικών κακώσεων: παρουσία θλαστικών τραυμάτων, εκδορών ή εκχυμώσεων στο κρανίο που θέτουν την υποψία για ΚΕΚ παρόλο που βαριές εγκεφαλικές βλάβες μπορούν να υπάρχουν χωρίς εξωτερικές ενδείξεις κάκωσης.

  Έλεγχος κλινικών σημείων καταγμάτων βάσης κρανίου που επί παρουσίας θέτουν την διάγνωση ακόμα και επί απουσίας ακτινολογικής επιβεβαίωσης, όπως οι περιοφθαλμικές εκχυμώσεις –«Racoon eyes» και εκχύμωση πάνω από την μαστοειδή «battle'ssign», ρινόρροια ή ωτόρροια.
- Εκτίμηση του επιπέδου συνειδήσεως και εξέταση του κωματώδους ασθενούς που αποτελεί και το πιο σημαντικό δεδομένο ώστε να καταγραφεί και να μεταφερθεί η ιατρική πληροφορία με αντικειμενικότητα ανεξάρτητα από τον εξεταστή.

Παλαιότερα επικρατούσε κάποιου βαθμού σύγχυση με τη χρήση ευρείας και μη «αυστηρής» ορολογίας (π.χ. κώμα, ημικώμα, stuppor, υπνηλία, βυθιότης). Σήμερα έχει παγκοσμίως καθιερωθεί η χρήση ενός εύχρηστου απλού και σταθερού συστήματος αξιολογήσεως και παρακολουθήσεως του επιπέδου συνειδήσεως, της λεγόμενης Κλίμακας Γλασκώβης

ΚΛΙΜΑΚΑ ΓΛΑΣΚΩΒΗΣ

Άνοιγμα οφθαλμών			**Αυθόρμητα** (4)	**Σε εντολή** (3)	**Στον Πόνο** (2)	**Καθόλου** (1)
Λεκτική απάντηση		**Προσανατολισμένος** (5)	**Συγχυτικός** (4)	**Ακατάληπτες Λέξεις** (3)	**Ακατανόητοι ήχοι** (2)	**Καθόλου** (1)
Κινητική απάντηση	**Εκτελεί εντολές** (6)	**Εντοπίζει στον πόνο** (5)	**αποσύρει στον πόνο** (4)	**Κάμψη στον πόνο-αποφλοίωση** (3)	**Έκταση στον πόνο απεγκεφαλισμός** (2)	**Καθόλου** (1)

Σε αυτήν, το επίπεδο συνείδησης εκφράζεται σαν αριθμητικό άθροισμα τριών επιμέρους βαθμολογιών που συγκεντρώνει ο ασθενής ανάλογα με την ανταπόκριση του σε τρεις κατηγορίες:
1) το άνοιγμα των οφθαλμών, 2) την λεκτική απάντηση και 3) την κινητική απάντηση.
Να διευκρινίσουμε πως σε περίπτωση που η κινητική απάντηση διαφέρει από την μία σε σχέση με την άλλη πλευρά, καταγράφεται η καλύτερη, γιατί αυτή αντανακλά το επίπεδο της συνείδησης (σφαιρική βλάβη), ενώ η χειρότερη αντανακλά την εστιακή βλάβη.

Εάν η κινητική απάντηση διαφέρει στα άνω και κάτω άκρα λαμβάνεται ως πιο αξιόπιστη αυτή των άνω. Το επώδυνο ερέθισμα για τη βαθμολόγηση της καλύτερης κινητικής απάντησης πρέπει να ασκείται πάνω από τον τράχηλο, γιατί εάν ασκηθεί στον κορμό (π.χ. στο στέρνο ή στο στήθος) μπορεί αντίδραση «κάμψης» να παρερμηνευθεί ως «εντόπιση». Ενώ, όταν το ερέθισμα εφαρμόζεται πάνω από τον τράχηλο, θεωρείται «εντόπιση» μόνο όταν το άνω άκρο του ασθενούς υπερβεί το επίπεδο της κλείδας.

Η μικρότερη βαθμολογία που μπορεί συγκεντρώσει ο ασθενής είναι 1+1+1=3/15 που ισοδυναμεί με βαθύ κώμα χωρίς αντιδράσεις και η μεγαλύτερη 4+5+6 =15/15 που το άτομο έχει πλήρη συνείδηση και προσανατολισμό. Με βάση την κλίμακα Γλασκώβης ως κωματώδης ασθενής ορίζεται αυτός που δεν ανοίγει τα μάτια , δεν μιλά και δεν εκτελεί εντολές. Υπάρχουν βέβαια οριακές καταστάσεις. Σε μια σειρά 2000 ασθενών παρατηρήθηκε πως ένα ποσοστό 4% εκτελεί αλλά δεν μιλά, ένα 4% μιλά αλλά δεν εκτελεί, ένα 16% δεν μιλά δεν εκτελεί αλλά ανοίγει τα μάτια. Συνεπώς με κλίμακα 8 το 90% των ασθενών είναι σε κώμα αλλά με κλίμακα 9 κανείς ασθενείς δεν είναι σε κώμα. Άρα για λόγους συνεννοήσεως σε κώμα ορίζεται η GCS≤8/15.

Οι ασθενείς αξιολογήθηκαν με χρήση της κλίμακα Γλασκώβης και κατηγοριοποιήθηκαν βάσει αυτής σε ομάδες μελέτης, συνυπολογίζοντας τον μηχανισμό της κακώσεως, τα ευρήματα του απεικονιστικού ελέγχου με την αρχική αξονική τομογραφία εγκεφάλου, με βάση τη χειρουργική ή συντηρητική αντιμετώπιση και με γνώμονα τη βαρύτητα της κάκωσης και την πρόγνωση.

Σύμφωνα με την παραδοχή ταξινόμησης, οι ασθενείς με αρχική Κλίμακα Γλασκώβης 13-15 κατατάχθηκαν στην ομάδα ελαφριάς βαρύτητας, όσοι είχαν 9-12 στην ομάδα μέσης βαρύτητας και όσοι ήταν 3-8 μεγάλης βαρύτητας κάκωση.

Η πρακτική αξία της κλίμακας Γλασκώβης έγκειται στο ότι:

- Είναι ακριβής στην εκτίμηση της βαρύτητας του κώματος και αποτελεί έναν από τους πιο αξιόπιστους αρχικούς δείκτες για την πρόγνωση.
- Είναι απλή και εφαρμόσιμη από μη ειδικούς (ιατρικό προσωπικό άλλης ειδικότητας, παραϊατρικό και νοσηλευτικό προσωπικό, διασώστες κ.λπ.).
- Μπορεί να δώσει άμεσες, ακριβείς ακόμη και από μακριά πληροφορίες στον ειδικό (Τραυματιολόγο, Νευρολόγο, Νευροχειρουργό).
- Χρησιμεύει στην ανά τακτά χρονικά διαστήματα παρακολούθηση του ασθενούς και επί αλλαγής της πρέπει ο ασθενής άμεσα να επανεκτιμάται και να επανελέγχεται η πιθανότητα ανάπτυξης νέας ή επιδείνωσης προϋπάρχουσας ενδοκρανιακής βλάβης.

Παρακάτω παραθέτουμε ορισμένα απαραίτητα κλινικά σημεία που είναι βασικά στην αξιολόγηση του ασθενούς με κρανιοεγκεφαλική κάκωση.

Αντίδραση των κορών των οφθαλμών:

Η αντίδραση της κόρης του οφθαλμού στο φως ελέγχει τη λειτουργία των εγκεφαλικών συζυγιών οπτικό (ΙΙ) και κοινό κινητικό (ΙΙΙ). Αν και η δυσλειτουργία του οπτικού μετά από ΚΕΚ είναι σημαντικό να μη διαφύγει γιατί μπορεί να εγκατασταθεί μόνιμη διαταραχή της όρασης, η δυσλειτουργία της ΙΙΙ εγκεφαλικής συζυγίας είναι μέγιστης σπουδαιότητας, διότι είναι χρήσιμος δείκτης για την ανάπτυξη ενδοκρανιακής χωροκατακτητικής εξεργασίας.

Εγκολεασμός του έσω κροταφικού λοβού δια μέσω του τρήματος σκηνιδίου προκαλεί βλάβη στο κοινό κινητικό νεύρο με διαστολή της κόρης και κατάργηση της αντίδρασης στο φως. Με περαιτέρω αύξηση της ενδοκράνιας πίεσης προκαλείται αμφοτερόπλευρη βλάβη του 3ου νεύρου που έχει σαν αποτέλεσμα μυδρίαση άμφω χωρίς αντανακλαστικό.

Αδυναμία των άκρων-εστιακά νευρολογικά σημεία:

Η εκτίμηση της μυϊκής ισχύος των άκρων στον κωματώδη ασθενή γίνεται με την εφαρμογή επώδυνου ερεθίσματος και τη σύγκριση της απάντησης κάθε πλευράς και μέλους χωριστά, καθώς επίσης και με τη σύγκριση των τενόντιων και πελματιαίων αντανακλαστικών.

Απαραίτητα συνοδεύεται από εκτίμηση του μυϊκού τόνου για εντόπιση διαφορών. Διαφορά στην αντίδραση των μελών υποδηλώνει ανάπτυξη χωροκατακτητικής επεξεργασίας ή εστιακή ενδοεγκεφαλική βλάβη. Πρέπει πάντα να παρατηρούμε τυχόν ασυμμετρία στο μορφασμό του προσώπου, η οποία μπορεί να δηλώνει εστιακή βλάβη αλλά και κάκωση του προσωπικού νεύρου από κάταγμα της βάσης του κρανίου.

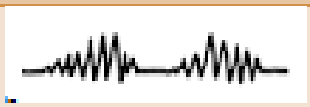
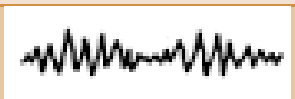
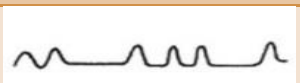
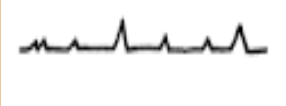
Κινήσεις των οφθαλμών:

Η παρουσία ή απουσία μη φυσιολογικών κινήσεων των οφθαλμών είναι περιορισμένης αξίας στην αρχική άμεση αντιμετώπιση αλλά παρέχουν χρήσιμες πληροφορίες με προγνωστική αξία. Οφθαλμικές κινήσεις εκλύονται αυθόρμητα αλλά και αντανακλαστικά με κινήσεις της κεφαλής (οφθαλμοκεφαλικό αντανακλαστικό-Doll'seyes) ή με διακλυσμό του έξω ακουστικού πόρου (οφθαλμοαιθουσαίο αντανακλαστικό). Παρουσία μη φυσιολογικών οφθαλμικών κινήσεων μπορεί να οφείλεται σε δυσλειτουργία του εγκεφαλικού στελέχους ή σε βλάβη των οφθαλμικών νεύρων. Απουσία οφθαλμικών κινήσεων που συσχετίζεται με χαμηλό επίπεδο νευρολογικής αντίδρασης αποτελεί κακό προγνωστικό σημείο.

Ζωτικά σημεία:

Στις αρχές του προηγούμενου αιώνα ο σκαπανέας της Νευροχειρουργικής Harvey Cushing παρατήρησε ότι η αύξηση της ενδοκρανίου πιέσεως προκαλεί αύξηση της αρτηριακής πιέσεως και μείωση του ρυθμού του σφυγμού καθώς και ότι συνοδευόταν από διαταραχές της αναπνοής. Στο παρελθόν μεγάλη έμφαση δίνονταν στη στενή παρακολούθηση αυτών των ζωτικών σημείων σε ασθενείς με ΚΕΚ. Ωστόσο, αυτές οι αλλαγές μπορεί να μην προκληθούν ή όταν παρουσιαστούν συνήθως έχει ήδη προηγηθεί σοβαρή διαταραχή του επιπέδου συνείδησης.

Πίνακας 2.Τύποι αναπνοής σχετιζόμενη με οξεία εγκεφαλική βλάβη

ΤΥΠΟΣ ΑΝΑΠΝΟΗΣ	**ΚΥΜΑΤΟΜΟΡΦΗ**	**ΕΠΙΠΕΔΟ ΒΛΑΒΗΣ**	**ΑΕΡΙΑ ΑΙΜΑΤΟΣ**
Φυσιολογική αναπνοή		Εστιακή ετερόπλευρη Μικρής έκτασης βλάβη	↔
Αναπνοή Cheyne-Stokes		Εκτεταμένη ή αμφοτερόπλευρη ημισφαιρική, Διεγκεφαλικήβλάβη ή μεταβολική εγκεφαλική διαταραχή	**PaO_2** ↑ **ή** ↔ **$PaCO_2$** ↓
Παραλλαγή Cheyne- Stokes		Μεγάλη ετερόπλευρη ημισφαιρική βλάβη	**PaO_2** ↑ **ή** ↔ **$PaCO_2$** ↓
Κεντρικός νευρογενής υπεραερισμός (CNH)		Μεγάλη άμφω βλάβη, κατώτερος μεσεγκέφαλος, ρυγχαίο τμήμα γέφυρας (καλύπτρα)	**PaO_2** ↑ **$PaCO_2$** ↓
Απνευστική αναπνοή		«πνευμοταξικό κέντρο», μεγάλες γεφυρικές βλάβες	**PaO_2** ↓ **$PaCO_2$** ↑
Αναπνοή Biot's		Αναπνευστική φαρμακευτική καταστολή,προμηκική βλάβη,↑ ICP	**PaO_2** ↓ **$PaCO_2$** ↑
Αταξική αναπνοή		Άμφω μεγάλες Βλάβες οπισθίου βόθρου- Εκτεταμένες προμηκικές βλάβες, ουραίο τμήμα γέφυρας	**PaO_2** ↓ **$PaCO_2$** ↑

Η αξονική τομογραφία εγκεφάλου παρέχει μία γρήγορη και μη επεμβατική λεπτομερή μέθοδο εκτίμησης και παρακολούθησης της μορφολογίας του εγκεφαλικού τραύματος και είναι πλέον απαραίτητο συστατικό σε κάθε κέντρο αντιμετώπισης τραύματος. Αυτό έχει οδηγήσει σε αύξηση της ταχύτητας στη διάγνωση και στην αντιμετώπιση των χειρουργικών αιματωμάτων, καθώς και σε πιο ξεκάθαρη πολιτική εισαγωγών για τους ασθενείς με κρανιοεγκεφαλική κάκωση.

Η περιορισμένη κατανόηση των παθοφυσιολογικών επακόλουθων μετά από ΚΕΚ και η συχνή δευτεροπαθής καθυστερημένη νευρολογική επιδείνωση έχουν διεγείρει την έρευνα για ακριβείς και συνεχείς τεχνικές παρακολούθησης και παραμέτρησης (monitoring) της ΚΕΚ, ιδιαίτερα τις πρώτες ημέρες μετά την κάκωση. Οι λόγοι που καθιστούν αναγκαία την παρακολούθηση είναι:

Α) για να διαπιστωθούν επιβλαβή παθοφυσιολογικά συμβάματα πριν προλάβουν να επιφέρουν ανεπανόρθωτη εγκεφαλική βλάβη (Πίνακας 3).

Πίνακας 3.

ΜΕΘΟΔΟΣ Τεχνικές που εκτιμούν το υπόστρωμα	ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ	ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ	ΕΠΕΜΒΑΤΙΚΟΣ ΚΙΝΔΥΝΟΣ
ICP monitoring			
Κοιλιοστομία	Μπορεί να παροχετευθεί ΕΝΥ, ώστε να μειώνεται η ICP. Μπορεί να μετρηθεί ο δείκτης πίεσης-όγκου PVI	Μεγαλύτερος κίνδυνος λοίμωξης (5-10%) και αιμορραγίας (0,5%) Μπορεί να εμφανίσει δυσκολία στην τοποθέτηση	++++
Παρεγχυματικοί καθετήρες ICP	Εύκολοι στην τοποθέτηση και χρήση, μικρότερος κίνδυνος για λοίμωξη και αιμορραγία	Δεν μπορεί να παροχετευθεί ΕΝΥ	++++
CBFflow probes **Θερμικής Διάχυσης ή** **Laser Doppler**	Μπορεί να επιλεγεί η περιοχή του εγκεφάλου που θα παρακολουθείται. Μπορεί να καθοδηγήσει την εφαρμογή θεραπευτικού υπεραερισμού	Μετρά τις σχετικές αλλαγές και όχι την απόλυτη ροή. Η θερμική διάχυση απαιτεί κρανιοτομή.	+++

IAVDO2			
Καθετήρας Σφαγιτιδικού βολβού	Μπορεί να καθοδηγήσει για υπεραερισμό και θεραπεία με ινότροπα.	Διαλείπουσα, όχι συνεχή άμεση καταγραφή	+
Ινοπτικός αισθητήρας (οξύμετρο)	Συνεχής μέτρηση	Ανακρίβεια μετρήσεων έως και 40%	-
Διαδερμική φασματοσκοπία (NIRS)	Συσχετίζεται καλά με το O2 του εγκεφάλου	Η ακρίβεια και η ειδικότητα δεν είναι καλά τεκμηριωμένη στις ΚΕΚ, αναξιόπιστη μέθοδος σε αιμορραγία	-
Καθετήρες ιστικής οξυγόνωσης (PtiO2)	Αντανακλά «αληθή» διανομή του υποστρώματος Ακριβής –μπορεί να μετρήσει CO_2, pH και θερμοκρασία	Εύθραυστοι Μέτρηση μικρού εύρους περιοχής	+++
Διακρανιακό Doppler	Μπορεί να προβλέψει αύξηση της ενδοκράνιας πίεσης. Πιστοποιεί αγγειόσπασμο σε ποσοστό 30%.	Εξαρτώμενο από τον εκτελούντα την εξέταση. Η σημαντικότητα είναι ασαφής	-
Μικροδϋάλυση	Ανάλυση πλήθους ουσιών Υψηλή ευαισθησία της μεθόδου.	Απαιτεί εργαστηριακή ανάλυση και ειδικό εξοπλισμό	++

Β) επιτρέπουν την διάγνωση της φύσης της παθοφυσιολογικής διαδικασίας και βοηθούν σε αποτελεσματική θεραπεία.

Γ) παρέχουν συνεχή - απευθείας ανάστροφη εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας. Γενικά, οι τεχνικές παρακολούθησης είναι δύο κατηγοριών. Αυτές που παρακολουθούν το υπόστρωμα του τραυματισμένου εγκεφάλου και αυτές που εκτιμούν την λειτουργία του (Πίνακας 4).

Πίνακας 4.

Τεχνικές που εκτιμούν την εγκεφαλική λειτουργία	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα	Επεμβατικός κίνδυνος
Νευρολογική Παρακολούθηση (κλίμακα Γλασκώβης)	Πολύ ευαίσθητη και ειδική για την παρακολούθηση της εγκεφαλικής λειτουργίας	Σε εκτίμηση ασθενών με φαρμακευτικό κώμα ή φαρμακευτική παράλυση και όταν η βλάβη αφορά «σιωπηρή» περιοχή του εγκεφάλου	-
Ηλεκτροεγκεφαλογράφημα (ΗΕΓ)	Ευαίσθητο ακόμα και σε κώμα ή φαρμακευτική παράλυση. Χρήσιμο για την πρόγνωση	Δύσκολη η ερμηνεία, χαμηλή ειδικότητα	-
Προκλητά δυναμικά	Χρήσιμα στην πρόγνωση (θάνατος–άγρυπνο κώμα) Μπορούν να αναδείξουν εστιακή βλάβη ή τρύμα στην Σπονδυλική Στήλη	Χωρίς χρησιμότητα στην θεραπεία. Εξαρτάται από τον εξεταστή	-

ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΤΩΝ ΚΕΚ

Ο βασικός σκοπός της θεραπείας στις ΚΕΚ είναι η αποκατάσταση ή η διατήρηση της φυσιολογικής νευρολογικής λειτουργικότητας. Οι ασθενείς με βαριά ΚΕΚ παραμένουν για μακρό χρονικό διάστημα νοσηλευόμενοι και αποτελούν ένα τεράστιο συναισθηματικό και οικονομικό φορτίο για τις οικογένειές τους και το κοινωνικό ευρύτερο σύνολο. Ένα σημαντικό ποσοστό τους αποβιώνει ή μένει σε μόνιμη φυτική κατάσταση. Συνεπώς, αν υπήρχε η δυνατότητα αξιόπιστης πρόγνωσης από τις πρώτες ώρες ή ημέρες της ΚΕΚ, πιθανώς να μπορούσαν να ληφθούν πιο ορθολογικές αποφάσεις για θεραπευτικές επιλογές στην οξεία φάση.

Ωστόσο, η πρόγνωση στην οξεία φάση είναι πιο αξιόπιστη όσον αφορά την απώλεια ζωής σε πολύ βαριά ΚΕΚ και πολύ λιγότερο ακριβής όσον αφορά τη φυτική ή τη βαριά αναπηρία. Κρίσιμες λεπτομέρειες για το πρωτοπαθές τραύμα και την πιθανή δευτεροπαθή βλάβη συνήθως λείπουν και η πρόγνωση γίνεται πιο αβέβαιη. Για παράδειγμα, θύμα ενός τροχαίου ατυχήματος μπορεί να παρουσιάσει προσωρινή άπνοια ή σοβαρή υπόταση στον τόπο ατυχήματος.

Εάν η άπνοια ή η υπόταση είναι παρατεταμένη, η πρόγνωση που πρέπει να αναμένεται είναι πτωχή, λόγω ανοξίας του εγκεφάλου. Επιπροσθέτως, από την έλλειψη τέτοιων κρίσιμων πληροφοριών από τον τόπο του συμβάντος, η πρόγνωση περιπλέκεται ακόμη περισσότερο. Επίσης, η έλλειψη ενιαίας αποδεκτής ορολογίας που να περιγράφει την έκβαση προκαλεί επιπλέον δυσχέρεια στην εκτίμηση. Πολλές κλίμακες εκτίμησης έχουν περιγραφεί, χωρίς όμως από τις μελέτες να αποδεικνύεται με σαφήνεια η υπεροχή κάποιας σχετικά με την έκβαση και την πρόγνωση της ΚΕΚ.

Η κλίμακα έκβασης της Γλασκώβης είναι ένας πολύ συχνός τρόπος για να εκτιμάται η έκβαση και επιτρέπει την συρρίκνωση των πέντε κατηγοριών σε δύο, αλλά όχι πάντα με τον ίδιο και ασφαλή τρόπο ως προς τα εξαγόμενα συμπεράσματα. Αν για παράδειγμα, συνδυάζοντας τις κατηγορίες 1 και 2 σαν μία «πτωχή» ή «μη ικανοποιητική» έκβαση, οδηγούμαστε σε τελείως διαφορετικά αποτελέσματα από το εάν στο «πτωχή» έκβαση περιλάβουμε τις κατηγορίες 2 και 3, εξαιρώντας τον θάνατο.

Παρά τα προβλήματα που συναντούμε στην ερμηνεία και στην ενοποίηση των μελετών γύρω από την έκβαση και την πρόγνωση των ΚΕΚ, μερικοί παράγοντες ασφαλώς μπορούν να χρησιμοποιηθούν με αξιοπιστία για να προβλέψουν το εύρος της πιθανής έκβασης σε κάθε περίπτωση.

Αυτοί οι περιορισμοί υπήρξαν και στη δική μας μελέτη και ακολουθήθηκαν οι αποδεκτές παραδοχές, εκείνες που προσδιορίζουν τους κρίσιμους για την πρόγνωση παράγοντες. Αυτοί είναι [108, 109]:

- Η βαρύτητα του εγκεφαλικού τραύματος, όπως αυτή αντανακλάται στη αρχική κλίμακα κώματος Γλασκώβης (GCS) με έμφαση στην κινητική αντίδραση.
- Μέγεθος κόρης οφθαλμών και αντανακλαστικό στο φως.
- Ηλικία του ασθενούς.
- Τα ενδοκρανιακά τραύματα, όπως καθορίζονται από την Αξονική Τομογραφία (CT).
- Η αρτηριακή πίεση- το βάθος και η διάρκεια της ισχαιμίας ή της υποξίας ή του συνδυασμού τους.
- Συνύπαρξη κάκωσης θώρακος ή κοιλιάς.
- Η ενδοκράνια πίεση και η πίεση άρδευσης (ICP/CPP) και κυρίως η δυνατότητα να αντιμετωπίζονται (ανταπόκριση ή όχι στους θεραπευτικούς χειρισμούς).

Η διαγνωστική προσέγγιση των κρανιοεγκεφαλικών κακώσεων κατέχει πρωτεύοντα ρόλο στην επείγουσα ιατρική. Η εισαγωγή της Αξονικής Τομογραφίας εγκεφάλου στην ακτινολογική διερεύνηση της κρανιοεγκεφαλικής κάκωσης άλλαξε τα δεδομένα, αυξάνοντας τη διαγνωστική ακρίβεια και μειώνοντας σημαντικά τη θνητότητα.

- Η Αξονική Τομογραφία περιόρισε, συγχρόνως, αισθητά τη χρήση των απλών Ακτινογραφιών, ιδίως στα οργανωμένα νοσοκομεία, που είναι διαθέσιμη η μέθοδος καθώς και τις προληπτικές εισαγωγές ασθενών με ήπια ΚΕΚ.
- Αποτελεί ταχεία, αξιόπιστη και φθηνή απεικονιστική μέθοδο, μέρος του επείγοντος διαγνωστικού CT πρωτοκόλλου των ασθενών με πολλαπλές κακώσεις, πριν την ενδοφλέβια έγχυση σκιαγραφικού μέσου.
- Θεωρείται η διαγνωστική μέθοδος εκλογής και στον επανέλεγχο αλλά και στη μετεγχειρητική εκτίμηση των κρανιοεγκεφαλικών κακώσεων.

Οι νεώτερες τεχνικές απεικόνισης και κυρίως η Μαγνητική Τομογραφία συμπληρώνουν τον απεικονιστικό πρωτόκολλο της κρανιοεγκεφαλικής κάκωσης σε ειδικές περιπτώσεις αρνητικών ή ήπιων ευρημάτων στην Αξονική Τομογραφία με δυσανάλογα βαριά κλινική κατάσταση, όπως συμβαίνει σε διάχυτη αξονότμηση ή σε στελεχιαία θλάση [110].

Στις απλές ακτινογραφίες κρανίου μπορούν να αναδειχθούν κατάγματα κρανίου (ρωγμώδη - εμπιεστικά), η ύπαρξη αέρα ενδοκρανίως και επασβεστώσεις. Η ανάδειξη κατάγματος δεν σχετίζεται με την ύπαρξη άμεσων ή έμμεσων εγκεφαλικών κακώσεων, γεγονός που ενισχύει τον ρόλο της Αξονικής Τομογραφίας στην επείγουσα μελέτη της ΚΕΚ. Μόνη εξαίρεση αποτελούν τα μικρά γραμμοειδή κατάγματα παράλληλα με τον εγκάρσιο άξονα των τομών της Αξονικής Τομογραφίας, που μπορεί να διαφύγουν, χωρίς όμως να λανθάνουν της διάγνωσης οι υποκείμενες ενδοκρανιακές τραυματικές βλάβες.

Αντιμετώπιση Κρανιοεγκεφαλικών Κακώσεων

Στη συνέχεια, σκόπιμη είναι η σύντομη περιγραφή των βασικών αρχών αντιμετώπισης των κρανιοεγκεφαλικών κακώσεων (ΚΕΚ). Τα στοιχεία έχουν συγκεντρωθεί και σχετική έμφαση έχει δοθεί στην εμπειρία της Β΄ Νευροχειρουργικής Κλινικής του ΕΚΠΑ, σε εναρμόνιση με τα πρωτόκολλα που ακολουθούνται σε μεγάλα Διεθνή Νευροχειρουργικά Κέντρα, γεγονός που μας επιτρέπει τη δημιουργία και ακολουθία αλγόριθμου θεραπείας που ακολουθούμε για την αντιμετώπιση αυτών των τραυματιών.

Διάκριση Κρανιοεγκεφαλικών Κακώσεων

1. Απλές κακώσεις κεφαλής.
2. Ελαφριές κακώσεις – εγκεφαλική διάσειση με πλήρες επίπεδο συνειδήσεως.
3. Ελαφριές κακώσεις με πτώση επιπέδου συνειδήσεως (Κλίμακα Γλασκώβης 13-14).
4. Μέτριες κακώσεις (Κλίμακας Γλασκώβης 9-12).
5. Βαριές κακώσεις (Κλίμακας Γλασκώβης 3-8) -Διασωλήνωση- Μονάδα Εντατικής Θεραπείας.

Στην παρούσα μελέτη περιλαμβάνονται ασθενείς με διαπιστωμένη, με την Αξονική Τομογραφία, παρουσία ενδοκρανιακής βλάβης και που περιλαμβάνονται στις τρεις τελευταίες ομάδες της παραπάνω ταξινόμησης.

Έχουν εξαιρεθεί τελείως εκείνοι που δεν παρουσίασαν πτώση επιπέδου συνειδήσεως, δηλαδή κατά την εισαγωγή τους στο Νοσοκομείο.

Αντιμετώπιση απλών κακώσεων κεφαλής

Όσοι παρουσίασαν απλές κακώσεις κεφαλής χωρίς να έχουν απώλεια συνειδήσεως ή μνήμης κατά την κάκωση και με παρουσία συμπτωμάτων (όπως κεφαλαλγία, ζάλη, τάση προς έμετο, έμετο, θλαστικό τραύμα κεφαλής κ.λπ.) δεν παρουσιάζουν κίνδυνο επιδείνωσης μεγαλύτερο του 1%.

Μια πολύ εντοπισμένη κάκωση (όπως πλήξη με αμβλύ όργανο) μπορεί να έχει ως συνέπεια ένα εμπιεσματικό κάταγμα κρανίου χωρίς απώλεια συνειδήσεως. Έτσι, κάποιες φορές αναλόγως του μηχανισμού της κάκωσης, ακόμη και σε απλές κακώσεις κεφαλής, παρότι δεν υπάρχει ένδειξη για διενέργεια CT εγκεφάλου συνίσταται η ακτινογραφία κρανίου με δεδομένο πως η ευαισθησία της είναι πολύ μικρή.

Στους τραυματίες αυτούς δεν απαιτείται ειδική νευροχειρουργική αντιμετώπιση, παρέχονται πρώτες βοήθειες και εξέρχονται με οδηγίες παρακολούθησης [111].

Αντιμετώπιση ελαφριών κρανιοεγκεφαλικών κακώσεων

Ελαφριές θεωρούνται οι κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις στις οποίες υπάρχει εγκεφαλική διάσειση κατά την ώρα του ατυχήματος, αλλά το επίπεδο συνείδησης παραμένει ανέπαφο και κατά την ώρα της προέλευσης στο γιατρό δεν υπάρχει αλλαγή .Ως εγκεφαλική διάσειση ορίζουμε την απώλεια συνειδήσεως ή μνήμης κατά τη διάρκεια του ατυχήματος. Στις περιπτώσεις που δεν μπορούμε να πάρουμε έγκυρο ιστορικό για το αν υπάρχει ή όχι εγκεφαλική διάσειση, όπως σε κατάσταση μέθης, λήψη φαρμακευτικών ουσιών, επιληπτική κρίση, άνοια, ηλικία μικρότερης των δύο ετών,θεωρούμε τα περιστατικά αυτά ως «ισοδύναμα εγκεφαλικής διασείσεως» και θα πρέπει να τα αντιμετωπίζουμε ακριβώς όπως τις εγκεφαλικές διασείσεις.Σε αυτές τις περιπτώσεις γίνεται αξονική τομογραφία εγκεφάλου. Αν αυτή είναι αρνητική, ο ασθενής μπορεί να εξέλθει με οδηγίες και ολιγοήμερη άδεια.Αν για οποιοδήποτε λόγο δεν δύναται η διενέργεια αξονικής τομογραφίας, αποδεκτή εναλλακτική λύση είναι η 24ωρη παραμονή στο νοσοκομείο υπό παρακολούθηση.

Αντιμετώπιση ελαφριών κρανιοεγκεφαλικών κακώσεων με πτώση του επιπέδου συνειδήσεως

Αν μαζί με την εγκεφαλική κάκωση συνυπάρχει πτώση επιπέδου συνειδήσεως, με συνέπεια κατά την εξέταση ο τραυματίας να εμφανίζει σύγχυση ή υπνηλία, τότε απαιτείται αξονική τομογραφία εγκεφάλου και εισαγωγή στο νοσοκομείο για 24ωρη παρακολούθηση.

Στην ίδια κατηγορία περιλαμβάνονται και τραυματίες αυξημένου κινδύνου, όπως όσοι έχουν κάταγμα κρανίου, αιμορραγική διάθεση καθώς και μικρά παιδιά με πολλούς εμέτους, (κίνδυνος αφυδάτωσης) ή υποψία κακοποίησης.

Μέτριες κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις

Πρόκειται για τραυματίες που έχουν κλίμακα Γλασκώβης 9-12. Αυτοί νοσηλεύονται στη Νευροχειρουργική Κλινική. Στατιστικά στους ασθενείς αυτούς ανευρίσκεται ενδοκράνια μάζα στο 31%, και απαιτείται νευροχειρουργική επέμβαση στο 5,5%. Η θνητότητα αυτής της κατηγορίας είναι περίπου 3%.

Βαριές κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις

Πρόκειται για τραυματίες σε κώμα με κλίμακα Γλασκώβης 3-8. Οι ασθενείς αυτοί διασωληνώνονται και νοσηλεύονται με αναπνευστήρα στην Μονάδα Εντατικής Θεραπείας.

Διακρίνονται σε αυτούς που έχουν διάχυτη εγκεφαλική βλάβη και σε αυτούς με χωροκατακτητική εξεργασία, συνήθως το αιμάτωμα είναι μεγέθους >25 ml.

Κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις με διάχυτη εγκεφαλική βλάβη

Οι τραυματίες με διάχυτη εγκεφαλική βλάβη χωρίζονται σε 4 ομάδες :

1. Χωρίς αξονοτομογραφικά ευρήματα. Η θνητότητα σε αυτούς τους ασθενείς είναι 10%.
2. Με αξονοτομογραφικές βλάβες, π.χ. θλάσεις εγκεφάλου < 25ml χωρίς πίεση των δεξαμενών της βάσεως του εγκεφάλου. Η θνητότητα είναι 14%.
3. Με βλάβες που προκαλούν πίεση των βασικών δεξαμενών, αλλά η παρεκτόπιση της μέσης γραμμής του εγκεφάλου είναι <5mm. Η θνητότητα σε αυτήν την κατηγορία είναι 34%.
4. Με παρεκτόπιση της μέσης γραμμής >5mm και θνητότητα 56%.

Κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις με χωροκατακτητική εξεργασία

Υπάρχουν 4 είδη βλάβης που προκαλούν σημαντική αυτοτελή χωροκατακτητική δράση:

1. οξύ υποσκληρίδιο αιμάτωμα, που εμφανίζεται στο 24% των βαριών ΚΕΚ.Η θνητότητα κυμαίνεται στο 50%.
2. Οξύ επισκληρίδιο αιμάτωμα, 6% των περιστατικών με θνητότητα 10%.
3. Ενδοεγκεφαλικό αιμάτωμα, 10% των περιστατικών με θνητότητα 27%.
4. Μεγάλες θλάσεις εγκεφάλου (>25ml) 3% των περιστατικών.

Τα αποτελέσματα αυτά που αφορούν το Νοσοκομείο ΠΓΝ «ΑΤΤΙΚΟΝ» και την Β΄ Πανεπιστημιακή Νευροχειρουργική Κλινική είναι αντίστοιχα με εκείνα των μεγάλων διεθνών νευροχειρουργικών κέντρων.

Τι έχει σημασία στην κρανιοεγκεφαλική κάκωση

Παραθέτουμε ένα από τα πολλά μοντέλα πρόγνωσης των ΚΕΚ που έχουν χρησιμοποιηθεί. Η προγνωστική αξία φαίνεται πως καθορίζεται από :

1. Την κλίμακα κώματος Γλασκώβης και ιδίως την κινητική απάντηση.
2. Την αντίδραση των κορών των οφθαλμών.
3. Την ηλικία.
4. Την υπόταση.
5. Συνύπαρξη κακώσεως θώρακος ή κοιλιάς.

Κατά την υποδοχή του τραυματία με ΚΕΚ, τη μεγαλύτερη σημασία έχει η διατήρηση των ζωτικών λειτουργιών του αερισμού, της αναπνοής και της κυκλοφορίας. Η υποξαιμία και το shock συνήθως εμφανίζονται κατά την υποδοχή του τραυματία στο Νοσοκομείο και θα μπορούσαν ίσως να προληφθούν με καλύτερη παροχή πρώτων βοηθειών στον τόπο του ατυχήματος και κατά την διακομιδή.

Κρίσιμη είναι η αντιμετώπιση των συνοδών κακώσεων που επηρεάζουν σημαντικά την έκβαση του ασθενούς με ΚΕΚ. Ένα 5% των ασθενών παρουσιάζει και κάταγμα αυχένα ενώ σημαντική είναι η άμεση αντιμετώπιση ενός πνευμοθώρακα, που είναι συχνή θεραπεύσιμη αιτία αυξημένης ενδοκρανίου πιέσεως.

Ενδεικτικά να αναφέρουμε πως σε μελέτη 300 τραυματιών που διεκομίσθησαν στο Νοσοκομείο ΠΓΝ «ΑΤΤΙΚΟΝ» με μέτρια ή βαριά ΚΕΚ 140 από αυτούς είχαν συνολικά 273 άλλες κακώσεις:

- Άνω και κάτω άκρων 92
- Θώρακα 54
- Κοιλιάς 17
- Σπονδυλικής στήλης 28
- Προσώπου 48
- Άλλες (π.χ. λεκάνης) 34

ΘΕΩΡΗΤΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ

Ενδοκράνια Υπέρταση

Αναπτύσσεται περίπου στο 50% των ασθενών με βαριά ΚΕΚ. Είναι συχνότερη μετά την αφαίρεση αιματωμάτων, ιδίως των υποσκληριδίων. Συνήθως οφείλεται σε οίδημα (περισσότερο κυτταροτοξικό παρά αγγειογενές), υπεραιμία (ιδίως σε νέα άτομα), ισχαιμία, αιμάτωμα, άλλη χωροκατακτητική βλάβη.

Υπάρχει στο 60% όσων έχουν εστιακή βλάβη στην Αξονική Τομογραφία και στο 13% εκείνων με αρνητική Αξονική Τομογραφία. Στους τελευταίους, είναι συχνότερη στους υπερήλικες, σε εκείνους που έχουν κινητική αντίδραση Κλίμακας Γλασκώβης 1 έως 3 και στην εμφάνιση υπότασης.

Παροχή οξυγόνου στον εγκέφαλο

$CMRO_2=CBF*AVDO_2$

όπου CMRO2 η κατανάλωση του οξυγόνου από τον εγκέφαλο, CBF η αιματική ροή, AVDO2 η αρτηριοφλεβώδης διαφορά της συγκέντρωσης του O2. [112]

AVDO2=[(SaO2-SjvO2)*1,34*Hb]*[PaO2-PjvO2]*0,0031]

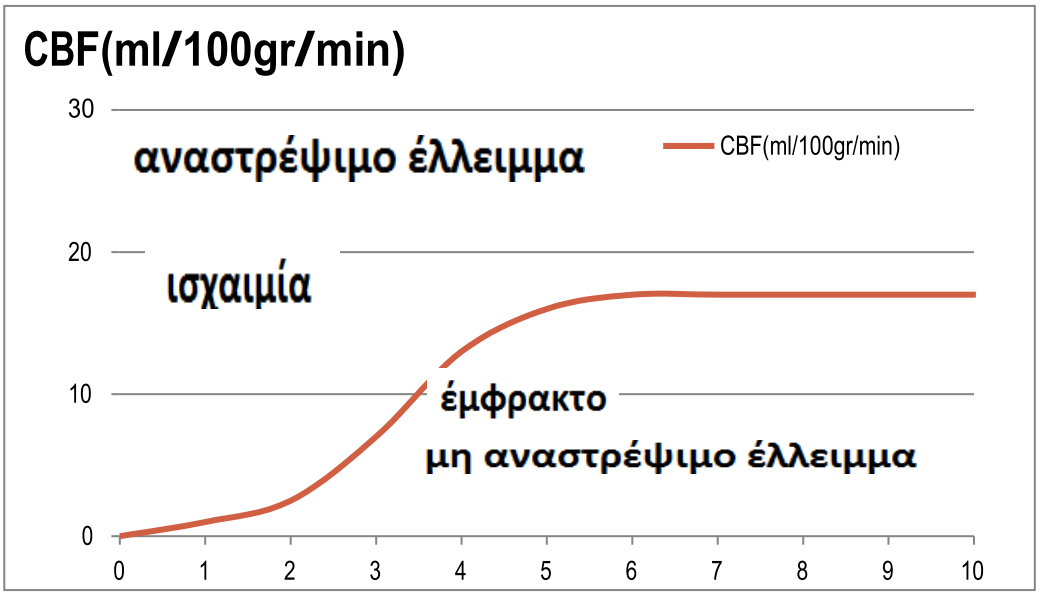
Όπου SaO2 και SjvO2 ο κορεσμός σε οξυγόνο στις αρτηρίες και τη σφαγιτιδική φλέβα και PaO2 και PjvO2 η τάση του διαλυμένου οξυγόνου στο αρτηριακό και φλεβικό αίμα [113].

Η κατανάλωση οξυγόνου στον εγκέφαλο εξαρτάται από την αιματική ροή, τον κορεσμό και την τιμή της αιμοσφαιρίνης και λιγότερο από την τάση του διαλυμένου οξυγόνου στον ορό.

Ειδικά για τον εγκέφαλο, ο οργανισμός καταβάλλει κάθε προσπάθεια έτσι ώστε η αιματική ροή στον εγκέφαλο να καθορίζεται από τις μεταβολικές ανάγκες του. Επί σταθερών μεταβολικών αναγκών, η αιματική ροή είναι σταθερή σε εύρος πίεσης διαχύσεως [114, 115].

CPP:50-150mmHg.

Η χαμηλή αιματική ροή μπορεί να οδηγήσει σε προσωρινή ισχαιμία ή μόνιμο έμφρακτο του εγκεφάλου. Ο χρόνος χαμηλής ροής είναι επίσης σημαντικός όπως φαίνεται στο κάτωθι σχήμα 6.



Σχήμα 6.

Περίπου το 1/3 των ασθενών με ΚΕΚ έχουν περιοχικά αιματική ροή μικρότερη της οριακής τιμής των 18ml/100gr/min, ιδίως το πρώτο 24ωρο μετά την κάκωση.

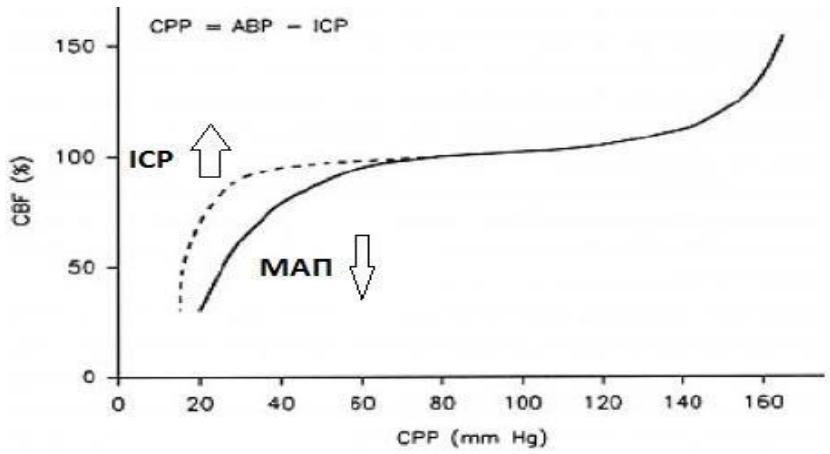
Πίεση Διαχύσεως

CPP= ΜΑΠ-ICP

όπου CPP είναι η πίεση διαχύσεως, ΜΑΠ: η μέση αρτηριακή πίεση και ICP η ενδοκράνιος πίεση.

Στις κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις με απώλεια της αυτορρύθμισης η εγκεφαλική ροή μπορεί να αρχίσει να πέφτει με πίεση διαχύσεως <70mmHg [113, 114].

Καμπύλη Πίεσης – Όγκου



Σχήμα 7

Όταν αρχίζει να αναπτύσσεται μια ενδοκράνια μάζα, ο οργανισμός αντιρροπεί με έξοδο εγκεφαλονωτιαίου υγρού, μείωση όγκου του λιμνάζοντος φλεβικού αίματος κ.λπ., με αποτέλεσμα η ενδοκράνια πίεση να ανεβαίνει αργά λόγω των αντιρροπιστικών αυτών μηχανισμών. Κάποια στιγμή όμως, τα περιθώρια εξαντλούνται, οπότε μικρές μεταβολές στον όγκο φέρνουν απότομη αύξηση της ενδοκρανίου πιέσεως [115, 116].

Σε αυτούς τους οριακούς ασθενείς με αφαίρεση λίγων κυβικών εκατοστών ενδοκρανίου βλάβης όπως π.χ. αιματώματος, μπορεί να σημειωθεί σημαντική μείωση της ενδοκρανίου πιέσεως.

Η αύξηση της ενδοκρανίου πιέσεως σε συνδυασμό με μικρές διαφορές στην περιοχική ενδοκράνια πίεση μπορεί να επιφέρουν εγκολεασμό.

ΧΡΟΝΙΚΗ ΕΞΕΛΙΞΗ

1. Μειωμένη εγκεφαλική αιμάτωση (<35ml/100gr/λεπτό) εμφανίζεται στο 65% των τραυματιών, ιδίως μεταξύ 12 και 24 ωρών από την κάκωση. Ιδιαίτερη σημασία έχει να αποφύγουμε στο διάστημα αυτό τη συστηματική υπόταση και τον υπεραερισμό. Η υποαιμάτωση παραμένει και τις επόμενες ημέρες στο 15%.
2. Υπεραιμία (>55ml/100gr/λεπτό) εμφανίζεται στο 25%, ιδίως μεταξύ της 1ης και 3ης ημέρας μετά την ΚΕΚ και κυρίως στα παιδιά και νέα άτομα. Σε αυτές τις περιπτώσεις, η μαννιτόλη δεν αποδίδει, αλλά ο υπεραερισμός που προκαλεί ανάστροφη υποκλοπή αίματος υποβοηθά την αιμάτωση πασχουσών περιοχών. Στο 15% των ασθενών η υπεραιμία είναι επιμένουσα και τις υπόλοιπες ημέρες.
3. Ο αγγειόσπασμος εμφανίζεται συνήθως μεταξύ της 5ης και 14ης ημέρας. Αυξάνει την ταχύτητα ροής στη μέση εγκεφαλική αρτηρία, αλλά όχι στην εξωκράνιο καρωτίδα (το πηλίκο ροής στις δύο αρτηρίες που καλείται ημισφαιρικός δείκτης κατά συνέπεια αυξάνει).
4. Μετά την 14η ημέρα ο τραυματίας εισέρχεται σε χρόνια κατάσταση και η αιματική ροή είναι πλέον ανάλογη της κατανάλωσης οξυγόνου.

Προς καλύτερη διάγνωση της μεταβολικής κατάστασης του εγκεφάλου μπορούν να χρησιμοποιηθούν εξετάσεις ροής και μεταβολισμού, όπως διακράνιος μέτρηση ταχύτητος ροής με Doppler, μελέτη αιματικής ροής με αξονική τομογραφία μετά την εισπνοή xenon, κορεσμός οξυγόνου σφαγίτιδος φλέβας, φασματοσκόπηση εγγύς υπερύθρων, ροομετρία θερμικής διάχυσης, ιστική οξυγόνωση εγκεφάλου κ.λπ. Ο εξετάσεις αυτές, όμως, δεν φαίνεται να βελτιώνουν την πρόγνωση.

ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΕΚ

Η πρόοδος έχει επέλθει από τις προόδους της νευροακτινολογίας, τη γρηγορότερη και καλύτερη διακομιδή των ασθενών και την εντατικότερη παρακολούθηση και δυστυχώς όχι από νέα φάρμακα.

Τα τελευταία χρόνια που η εφαρμογή της ιατρικής βασίζεται πάνω σε αποδείξεις, έχουν θεσπιστεί κάποιοι υποχρεωτικοί κανόνες και συστάσεις για την αντιμετώπιση του ασθενή με κρανιοεγκεφαλική κάκωση. Επιγραμματικά θα αναφερθούν οι σημαντικότεροι από αυτούς:

Κανόνες για την αντιμετώπιση των ΚΕΚ:

1. Όχι υπεραερισμός εάν δεν υπάρχει ενδοκράνια υπέρταση.
2. Όχι χρήση κορτικοειδών.
3. Όχι προληπτική αντιεπιληπτική αγωγή για ώψιμες κρίσεις, δηλαδή μετά την πρώτη εβδομάδα.

Συστάσεις για την αντιμετώπιση των ΚΕΚ:

1. Νοσηλεία των βαριών ΚΕΚ σε οργανωμένα κέντρα τραύματος.
2. Άμεση καταπολέμηση της υπότασης (συστολική <90mmHg) και της υποξίας (PaO_2<60mmHg).
3. Μέτρηση της ενδοκρανίου πιέσεως σε βαριές ΚΕΚ με χωροκατακτητική βλάβη ή επαπειλούμενο εγκολεασμό.
4. Θεραπεία ενδοκρανίου πιέσεως >20-25mmHg.
5. Να αποφεύγεται υπεραερισμός (το PaO_2<35mmHg για το πρώτο 24ωρο).
6. Η αποτελεσματική δόση της μαννιτόλης είναι 0,25-1gr/kgr σωματικού βάρους.
7. Η θεραπεία με βαρβιτουρικό κώμα είναι έσχατη θεραπεία σε αιμοδυναμικά σταθερούς και βιώσιμους ασθενείς.
8. Ρύθμιση διατροφής έτσι ώστε ο ασθενής την έβδομη ημέρα να λαμβάνει το 100% του βασικού μεταβολισμού αν βρίσκεται σε μυοχάλαση ή το 140% αν δεν παίρνει μυοχάλαση.

Στην παρούσα μελέτη ακολουθήθηκαν οι κάτωθι ενδείξεις για χειρουργική αντιμετώπιση και παροχέτευση των αιματωμάτων που ισχύουν τόσο γενικότερα, όσο και ειδικότερα στο Νοσοκομείο όπου αντιμετωπίστηκαν οι τραυματίες που περιελήφθησαν στην εν λόγω εργασία.

Ενδείξεις χειρουργείου

1. **Πάχος υποσκληριδίου αιματώματος >1cm ή επισκληριδίου αιματώματος >1,5cm.**
2. **Παρεκτόπιση της μέσης γραμμής >5mm ή εξάλειψη των περιμεσεγκεφαλικών δεξαμενών επί χωροκατακτητικής βλάβης.**
3. **Ενδοεγκεφαλικό αιμάτωμα >35 ml, εκτός των ασθενών με ηλικία >75 ετών και GCS<6.**
4. **Εμπιέσματα και διατιτραίνοντα τραύματα.**

Αν αντιμετωπισθεί το οξύ υποσκληρίδιο αιμάτωμα εντός των 2 πρώτων ωρών η θνητότητα είναι 20% ενώ εάν χειρουργηθεί μετά αυξάνει στο 80%. Επιτακτική είναι λοιπόν η άμεση χειρουργική αντιμετώπιση του οξέως υποσκληριδίου και επισκληριδίου αιματώματος όταν υπάρχει ένδειξη.

ΣΥΝΤΗΡΗΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΒΑΡΙΑΣ ΚΕΚ

Όταν δεν υπάρχουν οι απαραίτητες ενδείξεις για χειρουργική αντιμετώπιση του ασθενούς με βαριά κρανιοεγκεφαλική κάκωση, απαραίτητη είναι η εξασφάλιση των συνθηκών εκείνων της παροχής υψηλών απαιτήσεων ιατρικής κα νοσηλευτικής φροντίδας, που είναι αναγκαία για την παρακολούθηση του ασθενούς με ΚΕΚ. Τα κάτωθι θεωρούνται τα απολύτως στοιχειώδη, ώστε να επιτευχθεί αρχικά η διάσωση και στη συνέχεια η επιβίωση με την καλύτερη δυνατή πρόγνωση.

1. Διασωλήνωση και νάρκωση.

2. Αναλγητικά, ηρεμιστικά, μυοχάλαση. Τα αναισθησιολογικά φάρμακα θα πρέπει να μην προκαλούν άνοδο της ενδοκράνιας πίεσης και να έχουν βραχύ χρόνο δράσεως.

3. Την πρώτη ημέρα έναρξη με νορμοκαπνία με συνήθεις ρυθμίσεις αναπνευστήρα σε ελεγχόμενη αναπνοή, αλλά με κάπως μεγαλύτερο όγκο αναπνοής και μικρότερη συχνότητα.

4. Ανύψωση της κεφαλής 30° ελαττώνει την ενδοκράνια πίεση στο 50% των τραυματιών και την αυξάνει στο 20%.

5. Προσοχή σε χειρισμούς, αποφυγή πιέσεων στις καρωτίδες, εν ανάγκη αναρροφήσεις με λιδοκαϊνη.

6. Τοποθέτηση συστήματος ενδοκράνιου καθετήρα μετρήσεως της ενδοκρανίου πιέσεως προς ορθολογικότερη και αποδοτικότερη χρήση της αποιδηματικής αγωγής. Με χρήση ενδοκοιλιακού καθετήρα δυνατή είναι η αφαίρεση θεραπευτικά και διαγνωστικά εγκεφαλονωτιαίου υγρού. Παράλληλη τοποθέτηση καθετήρων για άλλες διαγνωστικές δοκιμασίες είναι προαιρετική.

7. Ο υπεραερισμός ($PaCO_2$ 30-35mmHg) είναι το ισχυρότερο συντηρητικό μέσο μείωσης της ενδοκράνιας πίεσης που έχουμε στη διάθεσή μας. Κάθε βαθμός ελάττωσης του $PaCO_2$ ελαττώνει τον όγκο των αγγείων 4%. Έτσι, η μείωση του $PaCO_2$ από 45mmHg σε 35mmHg αποφέρει μείωση του όγκου των αγγείων 10*0,04*150ml (που είναι ο όγκος των αγγείων του εγκεφάλου), δηλαδή 60ml. Δε χρησιμοποιείται προληπτικά, διότι ο αριθμός των θεραπευτικών επεμβάσεων υπεραερισμού που μπορούμε να εκτελέσουμε είναι περιορισμένος. Αποτελεί τη μόνη θεραπεία στην υπεραιμία, όπου η αποιδηματική αγωγή με μαννιτόλη δεν έχει καμία δράση. Η εφαρμογή όμως υπεραερισμού κατά την πρώτη ημέρα, που συνήθως συνυπάρχει ισχαιμία εγκεφάλου, αυξάνει την θνητότητα. Από τις μετρήσεις μας στους ασθενείς καταγραφής ο υπεραερισμός, η ελάττωση δηλαδή του $PaCO_2$ τουλάχιστον 5mmHg, ήταν αποτελεσματικός στο 100% των περιστατικών με μέση μείωση της ενδοκρανίου πιέσεως 16mmHg και η δράση διήρκεσε πάνω από 2 ώρες στο 69% των ασθενών.

8. Σχετικά με την μαννιτόλη, οι μικρότερες δόσεις και συχνότερα ελέγχουν καλύτερα την ενδοκράνια πίεση σε σχέση με την συνεχή έγχυση, που δεν ενδείκνυται. Σε κρίσιμα στάδια μπορεί να δοθεί μεγαλύτερη δόση, με μέτρηση της οσμωτικότητας, που πρέπει να φτάνει μέχρι 320mOsm. Δε δρα στην υπεραιμία και όπως κι όλες οι άλλες θεραπείες πρέπει να χρησιμοποιείται με σύνεση, γιατί η αποτελεσματικότητα της εξαντλείται. Σε μελέτη ασθενών της κλινικής μας η μανιττόλη ήταν αποτελεσματική στο 77% των περιπτώσεων. Η μέση πτώση της πίεσης ήταν 7mmHg. Το μέγιστο θεραπευτικό αποτέλεσμα επετεύχθη σε μέσο όρο 37 λεπτά. Η διάρκειατης δράσης ήταν μικρότερη των δύο ωρών στο 25% και μεγαλύτερη στο 55%. Ήταν μεγαλύτερη των 4 ωρών στο 40%. Η φουροσεμίδη έχει άλλο μηχανισμό δράσεως και μπορεί να δίνεται συμπληρωματικά.

9. Η αποφυγή της υπότασης μειώνει την θνητότητα. 26 από τους 150 ασθενείς με βαριά ΚΕΚ (17%) είχαν υπόταση συστολική, δηλαδή, πίεση <90mmHg. Είχαν θνητότητα 50% έναντι 23 % όσων διατήρησαν φυσιολογική αρτηριακή πίεση.Όπως γνωρίζουμε, η πίεση διαχύσεως αιμάτωσης του εγκεφάλου ισούται με τη μέση αρτηριακή πίεση αφαιρούμενης της ενδοκρανίου πιέσεως. Οι υψηλές συστηματικές πιέσεις, συστολική, δηλαδή, >180mmHg, επίσης αυξάνουν τη θνητότητα, λόγω επιδείνωσης του εγκεφαλικού οιδήματος. Μικρότερες αυξήσεις της συστηματικής πίεσης μπορεί να είναι εκδήλωση αντίδρασης Cushing και να παίζουν θετικό ρόλο στην επιβίωση του ασθενούς.

10. Όταν δεν υπάρχει άλλος τρόπος διατήρησης επαρκούς πίεσης διαχύσεως δύναται να χρησιμοποιηθούν

αγγειοσυσπαστικά φάρμακα όπως η αδρεναλίνη.

11. Θεραπεία Lund: υπάρχει στην βιβλιογραφία η θεραπεία βασισμένη στη θεωρία που διαφέρει από την ιδέα της πίεσης διαχύσεως και τη σχετική πειραματική βιβλιογραφία και εμφανίζει καλά δημοσιευμένα αποτελέσματα σε ασθενείς με βαριά ΚΕΚ. Κύριος σκοπός της εν λόγω θεραπείας Lund είναι η αποφυγή του εγκεφαλικού οιδήματος. Έτσι, χρησιμοποιεί την αύξηση της κολλοειδοσμωτικής πίεσης με αλβουμίνη, αυστηρή καταπολέμηση της υπέρτασης με β αναστολείς, ελαφρά αγγειοσύσπαση, όχι όμως οσμωτικά δρώντα φάρμακα όπως η μαννιτόλη. Η θεραπεία σαφώς παρουσιάζει θετικά δεδομένα και χρησιμοποιείται και από εμάς [117].

12. Η υποξία αυξάνει την θνητότητα και ως εκ τούτου πρέπει να αντιμετωπίζεται. Υποξαιμία (PaO2<60mmHg) είχαν 40 από 150 ασθενείς με βαριές ΚΕΚ της κλινικής μας (ποσοστό 27%). Η θνητότητα τους ήταν 52,5% έναντι 18% για όσους είχαν φυσιολογική οξυγόνωση. Προσοχή στη χρήση PEEP (θετικής τελοεκπνευστικής πίεσης) στον αναπνευστήρα που μπορεί να αυξήσει την ενδοκράνια πίεση.

13. Ο πυρετός αυξάνει τον εγκεφαλικό μεταβολισμό και είναι απαραίτητη η αντιμετώπιση του με αντιπυρετικά και με άλλα μέσα όπως σκεπάσματα ψύχρανσης κ.λπ. Η θεραπευτική υποθερμία δεν είναι σαφές ότι προσφέρει στην κλινική πράξη.

14. Επί μη υπάρξεως shock η υποστήριξη του ασθενούς γίνεται με ισότονα κρυσταλλοειδή, ιδίως NaCl 0,9%. Αποφεύγουμε τα υπότονα και την υπεργλυκαιμία που είναι επιβλαβής. Σκοπός είναι να δίνουμε 75-125ml/hr με διούρηση 30- 60ml/hr. Το Na έχει και νευρολογικές αιτίες απορρύθμισης. Υπερνατριαιμία στον άποιο διαβήτη, υπονατριαιμία στην απρόσφορη έκκριση αντιδιουρητικής ορμόνης και την έκκριση του νατριουρητικού πεπτιδίου. Το τελευταίο προκαλεί αφυδάτωση και δεν χρησιμοποιούμε περιορισμό υγρών.

15. Όσον αφορά την διατροφή αρχίζουμε την 3η ημέρα μετά την ΚΕΚ με προτίμηση στην εντερική σίτιση από την παρεντερική, διότι εμφανίζει λιγότερες παρενέργειες και επιτυγχάνεται και η διέγερση του ανοσοποιητικού μέσω εντέρου. Βέβαια, παρατηρείται ειδικά στις ΚΕΚ, μεγαλύτερος κίνδυνος αναγωγών στην εντερική διατροφή. Για την επίλυση του προβλήματος χρήσιμη είναι η τοποθέτηση καθετήρος νήστιδος. Επί μυοχάλασης την 7η ημέρα φθάνουμε στο 100% του βασικού μεταβολισμού (REE) ξεκινώντας τις πρώτες ημέρες από το 140%, με τις πρωτεΐνες τουλάχιστον στο 15%.

16. Ένα συχνό πρόβλημα είναι οι επιληπτικές κρίσεις που εμφανίζονται με συχνότητα 15% των ασθενών και αυξάνουν τον εγκεφαλικό μεταβολισμό και την ενδοκράνια πίεση. Ενίοτε είναι υποκλινικές, ιδιαίτερα επί μυοχάλασης. Τότε χρειάζεται παρακολούθηση με ΗΕΓ. Χορηγούμε προληπτικά φαινυτοΐνη 15μmg/kgr, δηλαδή περίπου 4 amp ενδοφλέβια σε χρόνο όχι μικρότερο από μισή ώρα και στη συνέχεια 300mg/ημέρα. Εναλλακτικά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί βαλπροϊκό Na, 3amp φόρτιση και στη συνέχεια 30mg/kgr/ημέρας. Επί κρίσεως, μπορεί να δοθεί συμπληρωματικά διαζεπάμη ή λοραζεπάμη.Η πρόληψη δεν αποδίδει στις όψιμες κρίσεις. Γι' αυτό η προληπτική αγωγή διακόπτεται συνήθως μετά από μία εβδομάδα.

17. Χρήση προληπτικά σουκραλφάτης και Η2- αναστολέων για την αποφυγή γαστρεντερολογικών επιπλοκών.

18. Για την πρόληψη των θρομβοεμβολικών επεισοδίων σε όλους τους ασθενείς τοποθετούνται ελαστικές διαβαθμισμένες κάλτσες συμπίεση φλεβών, την 5η ημέρα έγινε έναρξη αγωγής με χαμηλού ΜΒ ηπαρίνη σε μικρή δόση 20-40mg (ανάλογα με το βάρος του ασθενούς) που διπλασιάστηκε την 10η ημέρα.

19. Οι ασθενείς που έλαβαν προληπτική αντιβιοτική αγωγή λόγω εκροής ΕΝΥ εξαιρέθηκαν από την εργασία.

20. Επί ιστορικό αλκοολισμού χρησιμοποιούμε βιταμίνη Β1 σε δόση 100mg/ 24hrs και ομοίως εξαιρέθηκαν της μελέτης 2 ασθενείς με επιβεβαιωμένο ιστορικό συνδρόμου χρόνιας χρήσης αλκοόλ AUD (alcohol use disorder). Τέσσερις ασθενείς εξαιρέθηκαν με ιστορικό ψυχωσικής συνδρομής υπό αγωγή και άλλοι 3 λόγω χρόνιας χρήσης εξαρτησιογόνων και παραισθησιογόνων φαρμακευτικών

ουσιών.

21. Επίσης, ασθενείς με πολύ χαμηλό αιματοκρίτη εξαιρέθηκαν διότι φαίνεται από μελέτες πως σε βαριές ΚΕΚ, εμφανίζουν μεγαλύτερη θνητότητα όσοι έχουν αιματοκρίτη <30% σε σχέση με εκείνους που έχουν υψηλότερο (38% έναντι 25%).

22. Αγγειόσπασμος μπορεί να εμφανισθεί την 5η-14η ημέρα και η νιμοδιπίνη συχνά είναι φάρμακο εκλογής σε αυτές τις περιπτώσεις. Στη μελέτη μας κανένας ασθενείς δεν έλαβε νιμοδιπίνη.Στη μακρόχρονη νοσηλεία των ασθενών στη ΜΕΘ είναι δυνατόν να εμφανισθούν και άλλα συμβάματα που θα χρειασθούν αντιμετώπιση, όπως μυοπάθεια από μυοχάλαση σε συνδυασμό με χρήση κορτικοστεροειδών, αμινογλυκοσιδών κα άλλων φαρμάκων, ή μυασθένεια από μυοχάλαση με δυσλειτουργία ήπατος – νεφρών. Επίσης, η εμφάνιση νευροπάθειας σε σήψη και πολλαπλή οργανική ανεπάρκεια μπορεί να συμβεί.

23. Αύξηση της ενδοκρανίου πιέσεως μπορεί να παρατηρηθεί με α νάπτυξη νέας χωροκατακτητικής βλάβης με οίδημα, υπεραιμία, ισχαιμία, αύξηση κυματικών καταγραφών στις μετρήσεις της ενδοκράνιας πίεσης μέσω καθετήρα, με υδροκεφαλία, υποαερισμό, μεταβολές της αρτηριακής πίεσης, με θρόμβωση φλεβών εγκεφάλου, λοίμωξη, επιληπτικές κρίσεις, υπονατριαιμία κ.λπ. Με σταθερά ζωτικά σημεία εάν η επιδείνωση συμβαίνει εντός του 6ώρου από την ΚΕΚ τότε η πιθανότητα για εξωεγκεφαλικό (επισκληρίδιο ή υποσκληρίδιο) αιμάτωμα είναι 60%. Μετά τις πρώτες 6 ώρες η πιθανότητα είναι 77% για επιδείνωση λόγω ενδοεγκεφαλικού αιματώματος ή λόγω θλάσεων εγκεφάλου. Αυξημένος είναι ο κίνδυνος λόγω των διαταραχών πηκτικότητας.Όψιμη επιδείνωση μπορεί να παρατηρηθεί επί διαχωρισμού καρωτίδος, αγγειοσπάσμου, λοίμωξης εγκεφάλου, επιληπτικών κρίσεων που ενίοτε είναι δευτεροπαθείς από διαταραχές Na, Mg, Ca, Gly, ανοξία, σύνδρομο στέρησης ή μηνιγγίτιδα.

24. Επί αποτυχίας των θεραπειών αυτών για έλεγχο της ενδοκράνιας πίεσης σε δυνητικά βιώσιμο ασθενή, μπορούν να εφαρμοσθούν οι λεγόμενες θεραπείες δεύτερης γραμμής. Αυτές περιλαμβάνουν :

I. **Την αποσυμπιεστική κρανιεκτομή ή/και λοβεκτομή**
II. **Βαρβιτουρικό κώμα με επιπέδωση του ΗΕΓ και αποφυγή συστηματικής υπότασης**

ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ ΤΗΣ ΚΡΑΝΙΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗΣ ΚΑΚΩΣΗΣ

Οι συνέπειες των κρανιοεγκεφαλικών κακώσεων μπορούν να ταξινομηθούν ως εξής [118, 119]:

I. ΟΡΓΑΝΙΚΕΣ

a. Κινητικές: συνήθως παρουσιάζονται ως μια ελλειμματική πυραμιδική ημισυνδρομή, που συνοδεύεται από σπαστικότητα. Μπορεί να κυμαίνεται από μικρά ελλείμματα, μέχρι ημιπληγία. Μπορεί, επίσης, να παρουσιαστούν πιο σπάνια εξωπυραμιδικά και παρεγκεφαλιδικά σύνδρομα.

b. Αισθητικές: με παρουσία κεφαλαλγίας, περιστασιακή ή διαλείπουσα ή ως σταθερή εμμένουσα. Μπορεί να παρουσιαστούν προβλήματα ακοής, κώφωση ολική ή μερική, ανοσμία και αλλαγή στην αντίληψη και ανοχή σε ερεθίσματα ήχου, φωτός ή θερμοκρασίας. Μπορεί να εμφανισθούν ελλείμματα των οπτικών πεδίων, μείωση της οπτικής οξύτητας και τύφλωση ή διπλωπία ανάλογα πάντα με τη θέση και έκταση της βλάβης.Επιπλέον, οι κρίσεις επιληψίας είναι συνήθως εστιακές αλλά και γενικευμένες στα πλαίσια της εγκατάστασης όψιμης μετατραυματικής επιληψίας. Γενικά συμπτώματα, όπως έλλειψη ενεργητικότητας, αυξημένη κόπωση και αίσθηση εξάντλησης κατά τη διάρκεια της ημέρας είναι συνηθισμένα. Αλλοίωση του επιπέδου συνείδησης, αποπροσανατολισμός σε χώρο και χρόνο με τάση να αποσπάται η προσοχή με μειωμένο εύρος προσοχής είναι συχνά επακόλουθα της βαριάς ΚΕΚ.
Η διαταραχή της μνήμης, με εμφάνιση σφαιρικής αμνησίας και εκδήλωση διαφόρων βαθμών μετατραυματικής αμνησίας με δυσχέρεια στην ανάκληση γεγονότων «μετατραυματικής» μνήμης [121]. Είναι δυνατόν να αφορά τόσο το λεκτικό, όσο και το μη λεκτικό υλικό ή και τα δύο. Όσον αφορά τη γλώσσα και την επικοινωνία, εμφανίζονται δυσαρθρία, αφασία και επικοινωνιακά ελλείμματα. Γενικευμένα διανοητικά ελλείμματα, μειωμένη κριτική ικανότητα, μειωμένη αφαιρετική ικανότητα εμφανίζονται τακτικά.

II. Ψυχολογικές

Ευερεθιστότητα, μέτρια ως σοβαρή εχθρότητα απέναντι στους γύρω, θυμός συχνά για ασήμαντη αφορμή [120]. Αστάθεια διάθεσης και κυκλοθυμική διαταραχή με εναλλαγή αισιοδοξίας και απαισιοδοξίας.
Εμφάνιση κατάθλιψης και άρνηση αποδοχής της νέας πραγματικότητας, που κυμαίνεται σε ένα ευρύ φάσμα διαταραχής που εκδηλώνεται με ανοσοαγνωσία με συνοδές συναισθηματικές αλλά και διανοητικές διαταραχές. Εκδηλώσεις παρανοϊκής συμπεριφοράς με έλλειψη εμπιστοσύνης στους άλλους και αυξημένη καχυποψία ή απροκάλυπτη παράνοια.

III. Ψυχοκοινωνικές

Εμφάνιση τάσεων απομόνωσης, με απώλεια της οικογένειας, απώλεια των φίλων, της δουλειάς, του σχολείου με αισθήματα αποξένωσης.
Εμφάνιση σχέσεων εξάρτησης που ενδέχεται ο ασθενής να χρειάζεται συνεχή καθημερινή επίβλεψη ή ανάγκη για συνδρομή του οικογενειακού και κοινωνικού κύκλου για συμμετοχή σε δραστηριότητες ή για την επιτέλεση των στοιχειωδών καθημερινών εργασιών της καθημερινότητας.
Πιθανή είναι η επίδραση στην κοινωνικοοικονομική κατάσταση του ασθενούς και εμφάνιση σημαντικής οικονομικής απώλειας που πιθανό να οδηγήσει στην βοήθεια της κρατικής μέριμνας.
Επίσης, δυνατόν είναι να εμφανιστεί διαφοροποίηση σεξουαλικής συμπεριφοράς με άρση αναστολών και εμφάνιση υπερσεξουαλικότητας ή ακόμη και αδιαφορία με μειωμένη libido ή και τα δύο σε συνδυασμό. Η χρήση ουσιών και αλκοόλ, λίγο ή περισσότερο συχνή ως προσωπική προσπάθεια θεραπείας έχει συχνή εμφάνιση και πολλές φορές παρατηρείται γενικότερη μείωση της ανοχής στο αλκοόλ και στις ουσίες είτε λόγω της φαρμακευτικής αγωγής, είτε λόγω των συνεπειών της κάκωσης ή και των δύο.

Οι περισσότερες από τις παραπάνω συνέπειες είναι εύκολα προβλέψιμες στις σοβαρές ΚΕΚ, που η παρουσία νευροαπεικονιστικών ευρημάτων στις περιοχές εκείνες που συσχετίζονται με τη συγκεκριμένη κάθε φορά σημειολογία (όπως π.χ. βλάβες εγκεφαλικών συζυγιών, κατάγματα κρανίου) έχει, όμως, παρατηρηθεί πως και στις ήπιες ΚΕΚ είναι δυνατόν να υπάρξουν επιπτώσεις. Αυτές οι επιπτώσεις στο σύνολό τους λέγονται *μεταδιασεισικό σύνδρομο* και διακρίνονται σε σωματικές, συναισθηματικές και διανοητικές.

Μεταδιασεισικό σύνδρομο

Τα συμπτώματα του μεταδιασεισικού συνδρόμου που χαρακτηρίζονται ως σωματικά περιλαμβάνουν κεφαλαλγίες, εύκολη κόπωση, διαταραχές ύπνου και ίλιγγο. Λιγότερο συχνά εμφανίζονται η ναυτία, οι αιμωδίες στο πρόσωπο, οι διαταραχές οράσεως και ακοής και σπανιότερα εμφανίζεται επιληψία. Συχνά επίσης είναι τα επεισόδια μη ανοχής στο αλκοόλ.
Οι πιο συχνές συναισθηματικές διαταραχές παρουσιάζουν ευερεθιστότητα, άγχος, κατάθλιψη και συναισθηματική αστάθεια.

Λιγότερο συχνά μπορεί να παρουσιαστούν αλλαγές προσωπικότητας (ανάρμοστη κοινωνική συμπεριφορά), απάθεια καθώς και έλλειψη αυθορμητισμού.

Οι πιο συχνές διανοητικές διαταραχές περιλαμβάνουν δυσκολίες στην προσοχή με εκδήλωση τόσο με διαταραχή συγκέντρωσης όσο και με το εύρος της προσοχής αλλά και με προβλήματα μνήμης και μάθησης. Δεν είναι σπάνια η εμφάνιση διαταραχών στην ικανότητα επίλυσης προβλημάτων και στη γενικότερη επεξεργασία πληροφοριών.

Τα συμπτώματα που χαρακτηρίζονται ως μεταδιασεισικό σύνδρομο μπορεί να μείνουν έως τρεις μήνες και τότε λέγεται *οξύ μεταδιασεισικό σύνδρομο* ή να παραμείνουν περισσότερο οπότε γίνεται λόγος για *χρόνιο μεταδιασεισικό σύνδρομο*. Σπάνια παραμένουν τα συμπτώματα πέραν του έτους, όταν αφορούν το μεταδιασεισικό σύνδρομο [122].

Η ομοιότητα πολλών συμπτωμάτων αυτού του συνδρόμου με εκείνα τα συμπτώματα που εμφανίζονται μετά από βαριά ΚΕΚ οδηγεί στην αναζήτηση οργανικών βλαβών με νευροαπεικονιστικές μεθόδους παρόμοιες με εκείνες των βαριών ΚΕΚ.

Αυτό οδήγησε στην ανάδειξη (με τις σύγχρονες μεθόδους απεικόνισης PET και SPECT) σε ορισμένες περιπτώσεις, βλαβών στον εγκέφαλο ασθενών με μεταδιασεισικό σύνδρομο. Αυτές οι τεχνικές βρίσκονται σε πειραματικό ακόμη στάδιο και δεν έχουν ακόμη ευρεία κλινική εφαρμογή. Κλινικά, οι προσπάθειες πρόβλεψης της εμφάνισης μεταδιασεισικού συνδρόμου σε ασθενείς με ελαφριά ΚΕΚ, βασίζονται στην ύπαρξη ή μη απώλειας συνείδησης ή περιτραυματικής αμνησίας καθώς και στη διάρκεια αυτών.

Αποκατάσταση

Μετά από μια ΚΕΚ, ο ασθενής ανάλογα με τον βαθμό αποκατάστασής του μπορεί να ενταχθεί σε μια από τις παρακάτω κατηγορίες που αποτελούν την κλίμακα πρόγνωσης της Γλασκώβης (Glasgow Outcome Scale-GOS)

Πίνακας

Αποτέλεσμα	Περιγραφή
Καλή αποκατάσταση	Ανάληψη των καθημερινών δραστηριοτήτων χωρίς εξάρτηση και βοήθεια από άλλους.
Μέτρια αναπηρία	Παραμονή βλαβών και αναπηριών αλλά με τροποποιήσεις και κατάλληλο εξοπλισμό το άτομο παραμένει λειτουργικά ανεξάρτητο στο χώρο δράσης του.
Σοβαρή αναπηρία	Παραμονή βλαβών και αναπηριών σε τέτοιο βαθμό που είναι απαραίτητη η παρουσία τρίτων για την διεκπεραίωση των καθημερινών δραστηριοτήτων.
Φυτική κατάσταση	Αντανακλαστικές αντιδράσεις σε ερεθίσματα με κύκλους ύπνου-αφύπνισης
Θάνατος	

Υπάρχουν και άλλες κλίμακες μέτρησης του βαθμού αποκατάστασης καθώς και διάφορα διανοητικά test για την εκτίμηση της διανοητικής κατάστασης όπως και την σταδιακή παρακολούθηση της πορείας του ασθενή.
Η GOS είναι περισσότερο διαδεδομένη, αν και υπολογίζει μόνο το τελικό αποτέλεσμα χωρίς να είναι χρήσιμη για την παρακολούθηση της αποκατάστασης.

Εκτίμηση της πρόγνωσης

Για την εκτίμηση της πρόγνωσης και επομένως για το ατεθούν ρεαλιστικοί στόχοι αποκατάστασης χρήσιμα είναι τα κάτωθι:

I. Τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του κάθε ασθενούς (π.χ. ηλικία, λειτουργικότητα πριν το ατύχημα, παρουσία υποστηρικτικού περιβάλλοντος).

II. Η σοβαρότητα του αρχικού τραυματισμού, καθώς και η πορεία και η διάρκεια της αποθεραπείας (π.χ. αρχική κλίμακα Γλασκώβης GCS, διάρκεια κατά την οποία ο ασθενής ήταν σε κώμα, διάρκεια μετατραυματικής αμνησίας).

III. Νευρολογικά και λειτουργικά ευρήματα κατά την κλινική εξέταση.

Έτσι, όσον αφορά τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά κάθε ασθενούς, ένας ασθενής με προβλήματα από μια προηγούμενη ΚΕΚ το πολύ να επιστρέψει στην κατάσταση που ήταν πριν τη νέα ΚΕΚ. Σε ασθενείς που είναι χρήστες αλκοόλ, η μετατραυματική εγκεφαλική ατροφία θα είναι μεγαλύτερη με τις ανάλογες λειτουργικές συνέπειες. Η ηλικία είναι ένας, επίσης, προγνωστικός παράγοντας, καθώς οι μεγαλύτεροι ασθενείς έχουν χειρότερη πρόγνωση από τους νεότερους.

Όσον αφορά τη σοβαρότητα του αρχικού τραυματισμού, ασθενείς με χαμηλό αρχικό GCS ή που παραμένουν σε κώμα για μεγάλο χρονικό διάστημα έχουν χειρότερη πρόγνωση. Πρώτα, επέρχεται η κινητική αποκατάσταση ενώ ορισμένες διανοητικές λειτουργίες μπορεί να απαιτήσουν περισσότερο από το ένα έτος για να επανέλθουν σε κατάσταση ανάλογη με αυτήν προ του ατυχήματος. Επίσης, ασθενείς με μεγάλη διάρκεια μετατραυματικής αμνησίας έχουν χειρότερη πρόγνωση.

Σχετικά με τα νευρολογικά ευρήματα στην οξεία φάση, ιδιαίτερη προγνωστική αξία έχει η αντίδραση των κορών των οφθαλμών στο φως. Ασθενείς με διαταραχές στην αντίδραση έχουν χειρότερη πρόγνωση. Προγνωστική αξία έχουν και τα προκλητά δυναμικά, που όμως δε χρησιμοποιούνται ευρέως και οι νέες απεικονιστικές μέθοδοι που δε βρίσκουν, όμως, ακόμη εφαρμογή στην καθημερινή κλινική πράξη.

Οι γενικές αρχές αποκατάστασης μετά από ΚΕΚ περιλαμβάνουν:

1. Την πρόληψη των συνεπειών από μη χρήση (π.χ. μυϊκή σύσπαση).
2. Την επαναφορά της λειτουργικότητας (νευρομυϊκή αγωγή).
3. Παροχή βοηθητικού-προσαρμοστικού εξοπλισμού.
4. Διάγνωση και θεραπεία επιπλοκών (π.χ. έκτοπες οστεοποιήσεις).
5. Εκπαίδευση του ασθενούς.

Στην αποκατάσταση μετά από ΚΕΚ διακρίνονται δύο φάσεις: η ιατρική φάση και η ύστερη φάση, η οποία βασίζεται και αφορά εξωνοσοκομειακές υποδομές.

Η ιατρική ή πρώιμη αποκατάσταση αρχίζει όταν ο ασθενής είναι ακόμα στη ΜΕΘ και στοχεύει στην πρόληψη των επιπλοκών της ακινησίας (π.χ. κατακλίσεις). Οι ασθενείς τοποθετούνται κατάλληλα στο κρεβάτι, ενώ χρησιμοποιούνται οι ανάλογοι νάρθηκες. Η κινητοποίηση, οι θεραπευτικές ασκήσεις και η επανεκμάθηση της προσωπικής φροντίδας συνεχίζουν κατά τη διάρκεια της παραμονής του στη νευροχειρουργική κλινική. Όταν ο ασθενής σταθεροποιηθεί κλινικά κατευθύνεται σε μονάδα αποκατάστασης νοσοκομειακή ή μη, ανάλογα με τα λειτουργικά ή διανοητικά προβλήματα του και τις προοπτικές αποθεραπείας.

Η ύστερη αποκατάσταση είναι κυρίως εξωνοσοκομειακή, βασιζόμενη περισσότερο σε διανοητική και συμπεριφορολογική αποκατάσταση καθώς και σε προγράμματα που στοχεύουν σε προσαρμοστικές τεχνικές, για να μπορέσει ο ασθενής να συνεχίσει π.χ. να οδηγεί και να εργάζεται κάτω από τις νέες γι' αυτόν συνθήκες.

Φλεγμονώδης αντίδραση στη ΚΕΚ

Η φλεγμονή είναι η θεμελιώδης εκείνη αμυντική απάντηση του οργανισμού στον τραυματισμό, στην ισχαιμία, σε λοιμογόνους παράγοντες που επιδρούν στον ξενιστή καθώς και στην ανοσολογική ή αυτοάνοση απάντηση του ξενιστή σε διάφορα ερεθίσματα από εξωτερικό και εσωτερικό περιβάλλον. Η εκδήλωση της στους προσβεβλημένους ιστούς γίνεται με τα κλασσικά χαρακτηριστικά του οιδήματος, της ερυθρότητας, της θερμότητας και του πόνου.

Κομβικό σημείο στην φλεγμονώδη διαδικασία είναι η διείσδυση των κυκλοφορούντων κυττάρων του ανοσοποιητικού που προκαλούν επαγωγή της ενεργοποίησης των μορίων εκείνων που παράγονται τοπικά με αποδεδειγμένη συμμετοχή στην φλεγμονή του ιστού [123, 124]. Τέτοια μόρια είναι για παράδειγμα οι κυτοκίνες, τα προϊόντα της κυκλοοξυγενάσης και οι κινίνες και αποτελούν στις σύγχρονες πειραματικές μελέτες τους στόχους για ανεύρεση σύγχρονων αποτελεσματικών θεραπευτικών παρεμβάσεων.

Η φλεγμονή συχνά ενέχει μια γενικευμένη σειρά γεγονότων, γνωστών ως οξεία φάση της απόκρισης. Αυτό αντιπροσωπεύει έναν άλλον αμυντικό μηχανισμό του ξενιστή που μπορεί να περιορίσει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό των παθογόνων εισβολέων [125].

Η διαδικασία αυτή περιλαμβάνει την παραγωγή πρωτεϊνών οξείας φάσης από το ήπαρ, ενεργοποίηση του συμπαθητικού συστήματος, αλλαγή της καρδιακής λειτουργίας, μεταβολή της ενδοκρινικής λειτουργίας που οδηγεί στην παραγωγή αντι-φλεγμονωδών στερεοειδών.

Επίσης, παρατηρούνται αλλαγές στη συμπεριφορά, οι οποίες στοχεύουν σε διατήρηση της ενέργειας του οργανισμού, όπως λήθαργος, μειωμένη όρεξη και το συνηθέστερο χαρακτηριστικό της λοίμωξης, δηλαδή πυρετός, όπου μπορεί να περιορίσει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό των βακτηρίων.

Αυτές οι τοπικές και γενικευμένες φλεγμονώδεις αποκρίσεις έχουν εμφανή οφέλη σε λοιμώδεις καταστάσεις, και όταν ενεργοποιούνται με ένα ρυθμισμένο τρόπο για μια ορισμένη χρονική περίοδο. Όμως, εμμένουσα φλεγμονή είναι το αίτιο διαφόρων νοσημάτων, όπως της ρευματοειδούς αρθρίτιδας, ψωρίασης και φλεγμονωδών νόσων του εντέρου.

Η φλεγμονή είναι το κύριο συστατικό της βλάβης που προκαλείται από αυτοάνοσα νοσήματα και συνεισφέρει, επίσης, θεμελιωδώς σε νοσήματα όπως ο καρκίνος, ο διαβήτης και η καρδιαγγειακή νόσος. Η αθηροσκλήρυνση καθιερώθηκε ως μια φλεγμονώδης κατάσταση και η οξεία ή η χρόνια φλεγμονή είναι ένας παράγοντας κινδύνου για στεφανιαία και αγγειακή νόσο [126].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΑΝΑΤΟΜΙΚΗ ΚΟΙΛΙΑΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΕΝΥ

ΟΙ ΚΟΙΛΙΕΣ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ ΚΑΙ ΤΟ ΕΝΥ

Οι κοιλίες του εγκεφάλου είναι οι δύο πλάγιες, η τρίτη (ή μέση) κοιλία και η τέταρτη κοιλία. Οι δύο πλάγιες κοιλίες επικοινωνούν δια των δύο μεσοκοιλιακών τρημάτων (του Monro) με την τρίτη κοιλία. Η τρίτη κοιλία συνδέεται με την τέταρτη κοιλία διαμέσου του υδραγωγού του εγκεφάλου (υδραγωγού του Sylvius). Η τέταρτη κοιλία συνεχίζεται με τον κεντρικό σωλήνα του νωτιαίου μυελού, αλλά και δια των τριών τρημάτων της οροφής της επικοινωνεί με τον υπαραχνοειδή χώρο (του κρανίου και του σπονδυλικού σωλήνος). Ο κεντρικός σωλήνας στο κάτω άκρο του νωτιαίου μυελού καταλήγει τυφλά, διευρυνόμενος στην τελική κοιλία. Οι κοιλίες εσωτερικά επενδύονται με επένδυμα και είναι πλήρεις με εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ΕΝΥ) [127, 128, 129].

ΠΛΑΓΙΕΣ ΚΟΙΛΙΕΣ

Εντός εκάστου ημισφαιρίου υπάρχει ανά μία πλάγια κοιλία. Κάθε κοιλία έχει αδρώς το σχήμα «C» και υποδιαιρείται στο σώμα, που καταλαμβάνει χώρο εντός του βρεγματικού λοβού και από το οποίο αντίστοιχα εντός του μετωπιαίου, του ινιακού και του κροταφικού λοβού επεκτείνονται το μετωπιαίο (ή πρόσθιο), το ινιακό (ή οπίσθιο) και το κροταφικό (ή κάτω) κέρας της πλαγίας κοιλίας. Η πλάγια κοιλία επικοινωνεί με την τρίτη κοιλία μέσω του μεσοκοιλιακού τρήματος. Το τρήμα αυτό βρίσκεται στο πρόσθιο μέρος του έσω τοιχώματος της κοιλίας και αφορίζεται μπροστά από το πρόσθιο σκέλος της ψαλίδας και πίσω από το πρόσθιο άκρο του θαλάμου.

ΤΟ ΧΟΡΙΟΕΙΔΕΣ ΤΗΣ ΠΛΑΓΙΑΣ ΚΟΙΛΙΑΣ

Προβάλλει εντός της κοιλίας από την έσω επιφάνειά της και είναι μια αγγειοβριθής πτυχή αποτελούμενη από χοριοειδή μήνιγγα επικαλυμμένη με το επένδυμα της κοιλίας Στην πραγματικότητα το χοριοειδές πλέγμα είναι το ανώμαλο έξω χείλος του χοριοειδούς ιστίου, που είναι διπέταλη πτυχή της χοριοειδούς μήνιγγας, κείμενη μεταξύ της ψαλίδας προς τα άνω και της άνω επιφανείας του θαλάμου, προς τα κάτω. Στη θέση όπου συνενώνεται το σώμα με το κροταφικό κέρας, το χοριοειδές πλέγμα συνεχίζεται εντός του κροταφικού κέρατος και προβάλλει δια της χοριοειδούς σχισμής.

ΤΡΙΤΗ ΚΟΙΛΙΑ

Είναι σχισμοειδής κοιλότητα μεταξύ των δύο θαλάμων. Προς τα πρόσω και εκατέρωθεν επικοινωνεί με την πλάγια κοιλία, διαμέσου του μεσοκοιλιακού τρήματος (του Monro) και προς τα πίσω με την τέταρτη κοιλία διαμέσου του υδραγωγού του Sylvius. Τα χοριοειδή πλέγματα της τρίτης κοιλίας σχηματίζονται από το χοριοειδές ιστίο το υπερκείμενο της οροφής της τρίτης κοιλίας. Το αγγειοβριθές χοριοειδές ιστίο, δεξιά και αριστερά από τη μέση γραμμή, προβάλλει προς τα κάτω εντός της τρίτης κοιλίας, εγκολπώνοντας το επένδυμα της οροφής της.
Η αιμάτωση των χοριοειδών πλεγμάτων της τρίτης και των πλάγιων κοιλιών προέρχεται από τους χοριοειδείς κλάδους των έσω καρωτίδων και της βασικής αρτηρίας.
Το φλεβικό αίμα απάγεται με τις έσω εγκεφαλικές φλέβες, οι οποίες συνενούμενες σχηματίζουν τη μεγάλη φλέβα του εγκεφάλου, συνενούμενη με τον κάτω οβελιαίο φλεβώδη κόλπο εκβάλλουν στον ευθύ κόλπο.

ΥΔΡΑΓΩΓΟΣ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ (ΥΔΡΑΓΩΓΟΣ ΤΟΥ SYLVIUS)

Είναι ένας στενός σωλήνας μήκους περί το 1.8 cm που συνδέει την τρίτη με την τέταρτη κοιλία. Επενδύεται με το επένδυμα και περιβάλλεται από στιβάδα φαιάς ουσίας, που ονομάζεται κεντρική φαιά ουσία (του μέσου εγκεφάλου). Η ροή του ΕΝΥ γίνεται από την τρίτη προς την τέταρτη κοιλία. Εντός του υδραγωγού δεν υπάρχει χοριοειδές πλέγμα.

ΤΕΤΑΡΤΗ ΚΟΙΛΙΑ

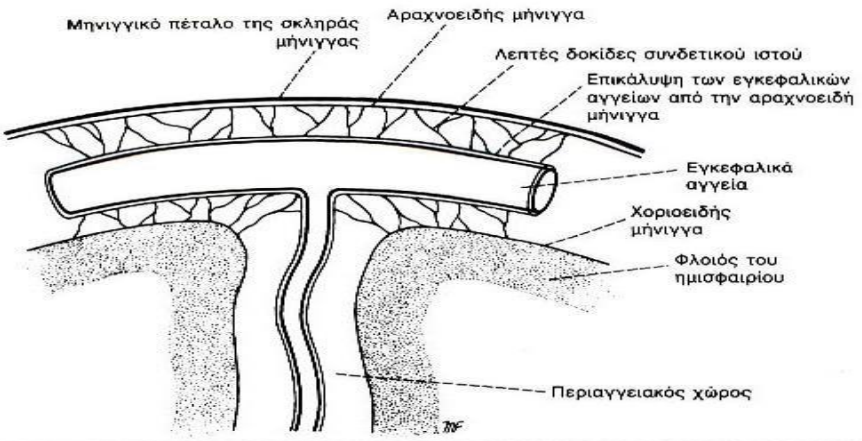
Η τέταρτη κοιλία είναι η κοιλότητα μπροστά από την παρεγκεφαλίδα και πίσω από τη γέφυρα και το άνω ήμισυ του προμήκους. Προς τα άνω συνεχίζεται με τον υδραγωγό του εγκεφάλου και προς τα κάτω με τον κεντρικό σωλήνα του νωτιαίου μυελού. Η τέταρτη κοιλία έχει πλάγια τοιχώματα, οροφή και το ρομβοειδούς σχήματος έδαφος. Η δίκην αντίσκηνου οροφή προβάλλει προς την παρεγκεφαλίδα. Τα δύο πλάγια κολπώματα επεκτείνονται προς έξω, γύρω από τον προμήκη, και εμφανίζουν έκαστον από ένα πλάγιο τρήμα της τέταρτης κοιλίας ή τρήμα του Luschka. Επίσης, στην οροφή της τέταρτης κοιλίας υπάρχει και το μέσο τρήμα ή τρήμα του Mangendie. Διαμέσου αυτών των τριών τρημάτων της οροφής της τέταρτης κοιλίας το εγκεφαλονωτιαίο υγρό εισέρχεται στον υπαραχνοειδή χώρο [130].

ΤΟ ΧΟΡΙΟΕΙΔΕΣ ΠΛΕΓΜΑ ΤΗΣ ΤΕΤΑΡΤΗΣ ΚΟΙΛΙΑΣ ΕΧΕΙ ΣΧΗΜΑ «Τ»

Το κάθετο σκέλος κρέμεται από το κάτω ήμισυ της οροφής της κοιλίας και σχηματίζεται από το εξαιρετικά αγγειοβριθές χοριοειδές ιστίο (το χοριοειδές ιστίο είναι διπέταλη πτυχή της χοριοειδούς μήνιγγας, που προβάλλει στο εσωτερικό της τέταρτης κοιλίας εγκολπώνοντας το επένδυμά της). Το οριζόντιο σκέλος επεκτείνεται εκατέρωθεν εντός του πλάγιου κολπώματος. Η αιμάτωση του πλέγματος γίνεται από κλάδους των οπίσθιων κάτω παρεγκεφαλιδικών αρτηριών.

ΚΕΝΤΡΙΚΟΣ ΣΩΛΗΝΑΣ ΤΟΥ ΝΩΤΙΑΙΟΥ ΜΥΕΛΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΠΡΟΜΗΚΟΥΣ ΜΥΕΛΟΥ

Ο κεντρικός σωλήνας, προς τα άνω, διανοίγεται στην τέταρτη κοιλία. Προς τα κάτω, διαμέσου του κλειστού κάτω ημίσεος του προμήκους μυελού, διατρέχει όλο το μήκος του νωτιαίου μυελού. Αντίστοιχα προς το μυελικό κώνο διευρύνεται λίγο και αποτελεί την τελική κοιλία. Επομένως, ο κεντρικός σωλήνας στο κάτω άκρο του καταλήγει τυφλά και είναι πλήρης με εγκεφαλονωτιαίο υγρό και επενδυόμενος με επένδυμα. Περιβάλλεται από φαιά ουσία, το φαιό σύνδεσμο του νωτιαίου μυελού. Στον κεντρικό σωλήνα δεν υπάρχει χοριοειδές πλέγμα.



Υπαραχνοειδής χώρος πέριξ του εγκεφαλικού ημισφαιρίου. Σχέσεις των εγκεφαλικών αγγείων με τις μήνιγγες και το φλοιό των ημισφαιρίων.

Σε ορισμένες περιοχές, κυρίως γύρω από τη βάση του εγκεφάλου, όπου η αραχνοειδής μήνιγγα, δεν παρακολουθεί σε επαφή τις διαμορφώσεις της επιφάνειας του εγκεφάλου με την, σε αυτήν προσκολλώμενη, χοριοειδή μήνιγγα, ο υπαραχνοειδής χώρος διευρύνεται και σχηματίζονται οι καλούμενες υπαραχνοειδείς δεξαμενές. Οι μεγαλύτερες δεξαμενές είναι η παρεγκεφαλιδοπρομηκική ή μεγάλη δεξαμενή, η γεφυρική δεξαμένη και η μεσοσκελιαία δεξαμενή [131].

Εντός του σπονδυλικού σωλήνος, προς τα κάτω, ο υπαραχνοειδής χώρος επεκτείνεται και πέραν του άκρου του νωτιαίου μυελού και περιβάλλει την ιππουρίδα και τελειώνει στο επίπεδο μεταξύ 2ου και 3ου ιερού σπονδύλου. Ο υπαραχνοειδής χώρος προσεκβάλλοντας περιβάλλει τα εγκεφαλικά και τα νωτιαία νεύρα μέχρι της θέσης εξόδου τους από το κρανίο ή τον σπονδυλικό σωλήνα, όπου η αραχνοειδής και η χοριοειδής μήνιγγα συγχωνεύονται με το επινεύριο του κάθε νεύρου.

ΥΠΑΡΑΧΝΟΕΙΔΗΣ ΧΩΡΟΣ

Είναι ο σχισμοειδής χώρος μεταξύ χοριοειδούς και αραχνοειδούς μήνιγγας και επομένως υφίσταται παντού, όπου οι μήνιγγες αυτές περιβάλλουν τον εγκέφαλο και το νωτιαίο μυελό. Ο χώρος είναι πλήρης με ΕΝΥ και περιέχει, επίσης, τα μεγάλα αγγεία του εγκεφάλου. Διασχίζεται από λεπτοφυές δίκτυο δοκίδων, χαλαρού συνδετικού ιστού. Ο υπαραχνοειδής χώρος περιβάλλει πλήρως τον εγκέφαλο και επεκτείνεται και κατά μήκος των οσφρητικών νεύρων (οσφρητικών νηματίων) μέχρι το βλεννογονοπεριόστεο της ρινικής κοιλότητας. Επίσης, επεκτείνεται και κατά μήκος των αγγείων που εισέρχονται ή εξέρχονται του εγκεφάλου μέχρις ότου αυτά, εντός του εγκεφάλου, μεταπέσουν σε αρτηρίδια ή φλεβίδια.

ΕΚΕΦΑΛΟΝΩΤΙΑΙΟ ΥΓΡΟ (ΕΝΥ)

ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Το εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ΕΝΥ) έχει εμπνεύσει επιστήμονες, γιατρούς και φιλόσοφους για σχεδόν 4.000 χρόνια. Η παλαιότερη τεκμηρίωση ενός υγρού μέσα στο κεφάλι χρονολογείται από τους αρχαίους Αιγυπτίους, που χρονολογούνται από το 1700 π.Χ. [132]. Ήταν, όμως, οι πρώτοι Έλληνες που ανέλαβαν τις πρώτες γνωστές έρευνες του ΕΝΥ. Ο Ιπποκράτης (460-370 π.Χ.) περιέγραψε τον «υδροκέφαλο», μια κατάσταση που νόμιζε ότι προκλήθηκε από υπερβολικό «νερό στο κεφάλι» [132, 137, 138]. Πιστεύεται ότι ο Galen of Pergamon (περίπου 150 μ.Χ.), λόγω της φήμης του και της δημοτικότητάς του, μπορεί να είχε την πιο ιστορική επίδραση στην περιγραφή της λειτουργίας των κοιλιών και του ΕΝΥ, περιγράφοντας ενός είδους μετασχηματισμό που συμβαίνει στη βάση του εγκεφάλου ως «ζωτικό πνεύμα» που προέρχεται από τα αιμοφόρα αγγεία και μεταμορφώνεται στο «ζωικό πνεύμα» που αναδύεται στις κοιλίες. Αυτό το «ζωικό πνεύμα» μεταφέρεται στη συνέχεια μέσα από τα νεύρα για να συστέλλει τους μυς του σώματος και να ενεργοποιεί ολόκληρο το φυσικό ον [132, 133]. Η επικρατούσα θεωρία του Galen για ένα υγρό μέσα στις κοιλίες ως πνεύμα διήρκεσε πάνω από 1.500 χρόνια, μέχρι την αναθεώρηση της ανθρώπινης ανατομίας κατά την εποχή της Αναγέννησης [132, 137, 138]. Αν και η μελέτη του ΕΝΥ χρονολογείται από τους αρχαίους Αιγύπτιους και Έλληνες, δεν ήταν πριν από περίπου 100 χρόνια που ο Harvey Cushing [151] παρατήρησε ότι το χοριοειδές πλέγμα εκκρίνει το ΕΝΥ στις κοιλίες του εγκεφάλου [132]. Αν και γνωρίζουμε ότι το ΕΝΥ παράγεται κυρίως από το χοριοειδές πλέγμα, που βρίσκεται σε κάθε κοιλία στον εγκέφαλο η κατανόηση του πλήρους φάσματος των λειτουργιών του, εξακολουθεί να αποτελεί τομέα έντονης έρευνας έως και σήμερα και έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον ως ενεργό σηματοδοτικό περιβάλλον που ρυθμίζει την ανάπτυξη του εγκεφάλου, την ομοιόσταση και τις ασθένειες.

ΣΥΣΤΑΣΗ ΕΝΥ

Είναι άχρουν και διαυγές υγρό. Αποτελείται από 99% ύδωρ και είναι πλούσιο σε πρωτεΐνες, ιόντα, λιπίδια, ορμόνες, χοληστερόλη, γλυκόζη και πολλά άλλα μόρια και μεταβολίτες. Η περιεκτικότητά του σε γλυκόζη είναι περίπου το ήμισυ του αίματος. Τα κύτταρα είναι λίγα, κατά κύριο λόγο, λεμφοκύτταρα. Εκτιμάται ότι στον ενήλικα άνθρωπο κυκλοφορεί 150ml ΕΝΥ σε όλο το κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) και ότι ανακυκλώνεται σε περίπου τρεις έως τέσσερις φορές την ημέρα, έτσι ώστε ένας ενήλικας άνθρωπος παράγει περίπου 500ml ΕΝΥ καθημερινά. Στον ενήλικο εγκέφαλο, ρέει από τις πλευρικές κοιλίες στην τρίτη κοιλία, την τέταρτη κοιλία και στη συνέχεια στο νωτιαίο μυελό και στον υποαραχνοειδή χώρο. Η ροή του προωθείται από τρεις κύριες δυνάμεις: (1) τους αρτηριακούς παλμούς στο χοριοειδές πλέγμα, (2) τη διαφορά υδροστατικής πίεσης, και (3) την ακτινωτή κίνηση των κυττάρων του επενδύματος που καλύπτουν τις κοιλίες [134].

Ο φυσιολογικός αριθμός των λεμφοκυττάρων είναι από 0-3 κύτταρα/mm^3. Στην πλάγια κατακεκλιμένη θέση η πίεση του ΕΝΥ, όπως μετράται κατά την οσφυονωτιαία παρακέντηση, είναι 60-150mm στήλης ύδατος. Η πίεση αυτή αυξάνεται αμέσως κατά την έντονη προσπάθεια, το βήχα, ή με πίεση των έσω σφαγίτιδων φλεβών στον τράχηλο. Αρκετές εργασίες για το ΕΝΥ επικεντρώθηκαν στη σημασία της πίεσής του στον αναπτυσσόμενο εγκέφαλο [135] - πολύ μικρή πίεση μειώνει το μέγεθος του εγκεφάλου [135], ενώ η υπερβολική πίεση οδηγεί σε διαταραχή της διαίρεσης των νευρικών βλαστοκυττάρων κατά την ανάπτυξη υδροκεφαλία [136].

ΠΡΩΤΕΩΜΑ ΕΝΥ

Η πρόοδος στη μελέτη του πρωτεϊνώματος του ΕΝΥ οφείλεται στην εξέλιξη των τεχνικών και στις σύγχρονες μεθόδους, συμπεριλαμβανομένης της φασματομετρίας μάζας. Αυτές οι μελέτες έχουν δείξει ότι το πρωτέωμα του ΕΝΥ αποτελείται από εκατοντάδες πρωτεΐνες της εξωκυτταρικής μήτρας, ρυθμιστές οσμωτικής πίεσης, φορείς ιόντων, πρωτεΐνες δέσμευσης ορμονών, ρυθμιστές του μεταβολισμού των λιπιδίων και διάφορα ένζυμα και ρυθμιστές τους [139]. Το ΕΝΥ έχει πολλές ομοιότητες μεταξύ των ειδών [140], διευκολύνοντας την πολυεπίπεδη πειραματική προσέγγισή του στο εργαστήριο.

Οι μελέτες σε ζωικά μοντέλα, έδειξαν ότι το ΕΝΥ από μόνο του μπορεί να προωθήσει την ανάπτυξη και την επιβίωση νευρικών βλαστοκυττάρων κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη του εγκεφάλου [141,142,143]. Αν και οι παράγοντες που ευθύνονται για τις ευνοϊκές επιδράσεις του εμβρυϊκού ΕΝΥ δεν έχουν αποκαλυφθεί πλήρως, είναι ήδη γνωστό ότι μεταξύ αυτών περιλαμβάνεται ο αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών (FGF) [144], ο αυξητικός παράγοντας παρόμοιος της ινσουλίνης (IGFs) [145, 146, 147], οι μορφογενείς πρωτεΐνες οστών [148] το Shh, το RA, καθώς και άλλες. Οι γνώσεις μας για τον ρόλο που παίζει το ΕΝΥ στην μεταφορά πληροφοριών είναι περιορισμένες.

Σύσταση	Μονάδες Μέτρησης	ΕΝΥ	Πλάσμα	ΕΝΥ:Πλάσμα
Οσμωτικότητα	mOsm/L	295	295	0
H_2O		99%	93%	
Na^+	mEq/L	138	138	1.0
K^+	mEq/L	2.8	4.5	0.6
Cl^-	mEq/L	119	102	1.2
Ca^+	mEq/L	2.1	4.8	0.4
pCO_2	mmHg	47	41*	1.1
pH		7.33	7.41	
pO_2	mmHg	43	104*	0.4
Σάκχαρο	mg/dL	60	90	0.67
Γαλακτικό	mEq/L	1.6	1.0*	1.6
Πυροσταφυλικό	mEq/L	0.08	0.11*	0.73
Γαλακτικό/ Πυροσταφυλικό		26	7.6*	
Ολική πρωτείνη†	mg/dL	35	7000	0.005
Αλβουμίνη	mg/dL	155	36600	0.004
IgG	mg/dL	12.3	9870	0.001

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΕΝΥ

Το ΕΝΥ περιλούει την εξωτερική και τις εσωτερικές επιφάνειες του εγκεφάλου και του νωτιαίου μυελού, χρησιμεύει ως μαλακό προσκέφαλο μεταξύ του ΚΝΣ και των περιβαλλόντων οστών, προφυλάσσοντάς τους, στο μέτρο του δυνατού από τις μηχανικές κακώσεις. Η στενή σχέση του υγρού με το νευρικό ιστό και με το αίμα, του παρέχει τη δυνατότητα λειτουργίας ως ρυθμιστικού διαλύματος του περιεχομένου του κρανίου. Εάν ο όγκος του εγκεφάλου ή ο όγκος του αίματος αυξηθεί, τότε ελαττώνεται ο όγκος του ΕΝΥ. Το ΕΝΥ θεωρείται ιδανικό φυσιολογικό υπόστρωμα και προφανώς παίζει σημαντικό ρόλο στη διατροφή του νευρικού ιστού και οπωσδήποτε συμβάλλει στην απομάκρυνση των προϊόντων του μεταβολισμού του νευρικού ιστού. Οι εκκρίσεις του κωναρίου, μέσω του ΕΝΥ της τρίτης κοιλίας, επηρεάζουν τη δραστηριότητα της υπόφυσης [149].

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΝΥ

Το ΕΝΥ παράγεται κυρίως στα χοριοειδή πλέγματα των πλαγίων κοιλιών, της τρίτης και της τέταρτης κοιλίας. Μικρές ποσότητες παράγονται, επίσης, από τα επενδυματικά κύτταρα των τοιχωμάτων των κοιλιών, αλλά ακόμη και από την εγκεφαλική ουσία, μέσω των περιαγγειακών χώρων.

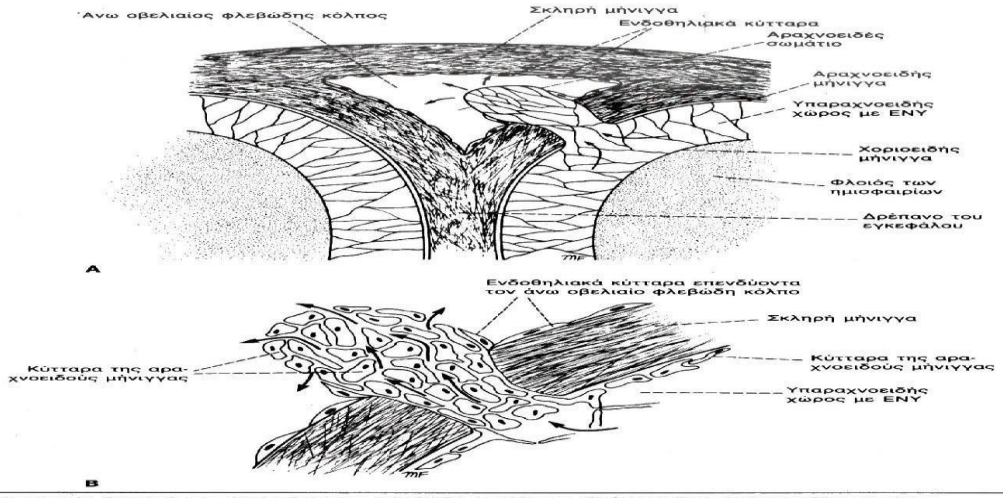
ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑ ΕΝΥ

Μετά την παραγωγή του από τα χοριοειδή πλέγματα και από την επιφάνεια του εγκεφάλου (σε μικρότερο βαθμό) αρχίζει η κυκλοφορία του ΕΝΥ. Από τις πλάγιες κοιλίες διέρχεται στην τρίτη κοιλία, μέσω των μεσοκοιλιακών τρημάτων. Ακολούθως, δια του υδραγωγού του Sylvius φέρεται στην τέταρτη κοιλία. Η κυκλοφορία του διευκολύνεται με τις αρτηριακές σφύξεις των χοριοειδών πλεγμάτων. Από την τέταρτη κοιλία, δια του μέσου και των πλαγίων τρημάτων της οροφής της, το ΕΝΥ φέρεται στον υπαραχνοειδή χώρο. Κινείται αργά δια της παρεγκεφαλιδοπρομηκικής και της γεφυρικής δεξαμενής και ρέει προς τα άνω, δια της εντομής του σκηνιδίου της παρεγκεφαλίδας, για να εξαπλωθεί στην κάτω (βασική) επιφάνεια του εγκεφάλου. Ακολούθως φέρεται προς τα άνω, επί της έξω επιφάνειας των ημισφαιρίων. Μικρή ποσότητα ΕΝΥ, μετά την έξοδο από τα τρήματα της οροφής της τέταρτης κοιλίας, ρέει προς τα κάτω στον υπαραχνοειδή χώρο του νωτιαίου μυελού και της ιππουρίδας. Πιστεύεται ότι οι σφύξεις των εγκεφαλικών και νωτιαίων αρτηριών και οι κινήσεις της σπονδυλικής στήλης διευκολύνουν τη βραδεία ροή του υγρού.

ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΤΟΥ ΕΝΥ

Οι κύριες θέσεις απορρόφησης και απαγωγής του ΕΝΥ από τον υπαραχνοειδή χώρο είναι οι αραχνοειδείς λάχνες, οι οποίες προβάλλουν εντός των φλεβωδών κόλπων της σκληράς μήνιγγας, ιδιαίτερα δε του άνω οβελιαίου φλεβώδους κόλπου. Τα αραχνοειδή σωμάτια έχουν την τάση να συσσωρεύονται σε ομάδες, που σχηματίζουν επάρματα, γνωστά ως αραχνοειδή (πακχιόνια) σωμάτια. Από άποψη κατασκευής, κάθε αραχνοειδής λάχνη αποτελεί εκκόλπωμα του υπαραχνοειδή χώρου, το οποίο διαπερνά τη σκληρή μήνιγγα, καλυπτόμενο από λεπτή κυτταρική στιβάδα, που με τη σειρά της καλύπτεται με το ενδοθήλιο του φλεβώδους κόλπου.

Τα αραχνοειδή σωμάτια αυξάνονται σε αριθμό και μέγεθος με την πάροδο της ηλικίας και ασβεστοποιούνται κατά το γήρας. Η απορρόφηση του ΕΝΥ εντός των φλεβωδών κόλπων γίνεται όταν η πίεσή του είναι μεγαλύτερη από την πίεση εντός των φλεβωδών κόλπων. Μικρή ποσότητα ΕΝΥ απορροφάται απευθείας από τις φλέβες του υπαραχνοειδούς χώρου και ενδεχομένως άλλη μικρή ποσότητα διαφεύγει δια των περινευρικών λεμφαγγείων των εγκεφαλικών και νωτιαίων νεύρων. Λόγω του ότι η παραγωγή του ΕΝΥ από τα χοριοειδή πλέγματα είναι συνεχής, η ταχύτητα απορροφήσεώς του δια των αραχνοειδών λαχνών ελέγχεται από την πίεση του ΕΝΥ.



A. Μετωπιαία διατομή του άνω οβελιαίου φλεβώδους κόλπου. Φαίνεται ένα αραχνοειδές σωμάτιο.
B. Μεγέθυνση του αραχνοειδούς σώματος. Φαίνεται η οδός την οποία ακολουθεί το εγκεφαλονωτιαίο υγρό προς το φλεβικό σύστημα.

ΥΔΡΟΚΕΦΑΛΟΣ

Είναι η ανώμαλη αύξηση του όγκου του ΕΝΥ εντός του κρανίου. Εάν ο υδροκέφαλος συνοδεύεται και από αύξηση της πίεσης του ΕΝΥ, τότε οφείλεται σε : 1) Ανώμαλη αύξηση της παραγωγής του υγρού. 2) Κώλυμα στην κυκλοφορία του. 3) Σε ελαττωμένη απορρόφηση του υγρού.

Ιδιαίτερη μορφή είναι ο υδροκέφαλος με φυσιολογική πίεση του ΕΝΥ και σε αυτούς τους ασθενείς υπάρχει αντισταθμιστική υποπλασία ή ατροφία της εγκεφαλικής ουσίας.

Υδροκέφαλος από υπερβολική παραγωγή του ΕΝΥ: Πρόκειται για μια σπάνια κατάσταση που μπορεί να οφείλεται σε όγκο τω χοριοειδών πλεγμάτων. Υδροκέφαλος από ελαττωμένη απορρόφηση του ΕΝΥ: Διαταραχή της απορρόφησης του ΕΝΥ από τα αραχνοειδή σωμάτια μπορεί να προκληθεί από φλεγμονώδεις διεργασίες, εξιδρώματα, φλεβική θρόμβωση, πίεση των φλεβωδών κόλπων ή πίεση ή απόφραξη των σφαγιτίδων φλεβών.

Υδροκέφαλος από κώλυμα στην κυκλοφορία του ΕΝΥ: Η απόφραξη του μεσοκοιλιακού τρήματος από όγκο παρεμποδίζει την αποχέτευση του ΕΝΥ από τη σύστοιχη πλάγια κοιλία Η συνεχιζόμενη παραγωγή ΕΝΥ από το χοριοειδές πλέγμα αυτής της κοιλίας θα προκαλέσει διάτασή της και ατροφία του περιβάλλοντος νευρικού ιστού. Η απόφραξη του υδραγωγού του εγκεφάλου μπορεί να είναι συγγενείς ή να οφείλεται σε φλεγμονή ή σε πίεση από όγκο. Προκαλείται συμμετρική διάταση των πλαγίων κοιλιών και διάταση της τρίτης κοιλίας. Η απόφραξη του μέσου τρήματος (του Magendie) της οροφής της τετάρτης κοιλίας και των δύο πλάγιων τρημάτων (του Luschka) των πλαγίων κολπωμάτων της τέταρτης κοιλίας από φλεγμονώδης εξίδρωμα ή όγκο, θα προκαλέσει συμμετρική διάταση της τρίτης και τέταρτης κοιλίας. Μερικές φορές το φλεγμονώδες εξίδρωμα από μηνιγγίτιδα, μπορεί να μπλοκάρει την υπαραχνοειδή χώρα και να παρεμποδίζει την ελεύθερη ροή του ΕΝΥ επί της έξω επιφάνειας των ημισφαιρίων, οπότε και πάλι όλο το σύστημα των κοιλιών του εγκεφάλου να διαταθεί.

ΤΟ ΕΓΚΕΦΑΛΟΝΩΤΙΑΙΟ ΥΓΡΟ ΚΑΙ Ο ΤΡΑΥΜΑΤΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ

Το ΕΝΥ έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον στον τομέα της τραυματικής εγκεφαλικής βλάβης. Χρησιμοποιείται για τη ροή νευρογενών και νευροπροστατευτικών παραγόντων που πιστεύεται ότι έχουν θεραπευτικές επιδράσεις μετά από εγκεφαλική βλάβη. Η συνεχής ανταλλαγή του ΕΝΥ χρησιμεύει, επίσης, ως «νεροχύτης» που εκκενώνει το κοιλιακό σύστημα από τα τοξικά προϊόντα της βλάβης.

Το σύστημα χοριοειδούς-πλέγματος-ΕΝΥ μπορεί να διαταραχθεί σε ευρύ φάσμα τραυματισμών του ΚΝΣ, από υδροκεφαλία έως νευρολογικές παθήσεις που συνδέονται με την ηλικία (π.χ. νόσος του Alzheimer) [149, 150, 151]. Για τους σκοπούς αυτής της μελέτης, επικεντρωθήκαμε κυρίως στον εγκεφαλικό τραυματισμό που επιφέρει αλλοιώσεις στην έκκριση του ΕΝΥ, αύξηση των λευκοκυττάρων εντός του εγκεφάλου και του ΕΝΥ, μειωμένη κάθαρση τοξινών, καταβολιτών και πρωτεϊνών και επομένως, μειωμένη προσφορά θρεπτικών ουσιών και αυξητικών παραγόντων στον εγκέφαλο [152, 153, 154].

Πιστεύεται ότι η αποκατάσταση από εγκεφαλική βλάβη συνεπάγεται τη σταδιακή επιδιόρθωση αυτών των μηχανισμών, προκειμένου να επέλθει ομοιόσταση και να προωθηθεί η νευροαναγέννηση και η νευροπροστασία [155, 156].

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΣΤΟΝ ΤΡΑΥΜΑΤΙΣΜΟ ΤΟΥ ΚΝΣ

Ένας αριθμός αυξητικών παραγόντων αυξάνουν την παραγωγή τους στον εγκέφαλο και στο ΕΝΥ μετά τον τραυματισμό. Σε αυτούς περιλαμβάνονται ορισμένοι όπως ο IGF1 [157], ο IGF2 [157], ο FGF [157], ο παράγοντας ανάπτυξης νεύρου (NGF) [158, 159, 160], ο νευροτροφικός παράγοντας προερχόμενος από νευρογλοία (GDNF) [161, 162],ο νευροτροφικός παράγοντας προερχόμενος από εγκεφάλους (BDNF) [163], η νευροτροφίνη 3 (NT-3) [164, 165], η νευροτροφίνη 4/5 [166], ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF)[167], η ερυθροποιητίνη [168, 169, 170], ο παράγοντας νέκρωσης όγκου άλφα (TNF-α) [171, 172, 173] η διαλυτή πρόδρομη πρωτεΐνη του αμυλοειδούς (soluble amyloid precursor protein-sAPP) [174, 175].

Πρόσφατα, βρέθηκε ότι ο NGF είναι αυξημένος στο ΕΝΥ των παιδιών μετά από ΚΕΚ και στις 2 και 48 ώρες μετά τον τραυματισμό. Επιπλέον, τα αυξημένα επίπεδα του NGF, μαζί με τα χαμηλότερα επίπεδα της IL-1β, αναφέρθηκαν ότι συσχετίζονται με βελτιωμένα νευρολογικά αποτελέσματα [176, 177].

Φαίνεται ότι ένας βασικός μηχανισμός για την προαγωγή της νευρικής αποκατάστασης μετά από ΚΕΚ, είναι μέσω της ενδογενούς αύξησης των νευροτροφικών παραγόντων που είναι σημαντικοί για την νευρογένεση και την επιβίωση των νευρώνων.

Ένας αυξανόμενος αριθμός αυξητικών παραγόντων ανακαλύπτονται στο ΕΝΥ σε απόκριση εγκεφαλικής βλάβης και ο μηχανισμός δράσης ανακαλύπτεται αργά.

Το ΕΝΥ φαίνεται πως λειτουργεί ως όχημα για τη «σηματοδότηση», τη μεταφορά σημαντικών θρεπτικών ουσιών και αυξητικών παραγόντων στα σημεία της εγκεφαλικής βλάβης, ώστε να διατηρηθεί η ομοιόσταση, να προωθηθεί η νευροπροστασία και η νευρογένεση και να απομακρυνθούν τα τοξικά παραπροϊόντα που παράγονται στην βλάβη.

Η ΠΙΘΑΝΗ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΤΗΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΟΥ ΕΝΥ ΣΕ ΤΡΑΥΜΑΤΙΣΜΟ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ

Τα συστατικά του ΕΝΥ είναι οι πιο σημαντικοί και διαδεδομένοι ρυθμιστές της ανάπτυξης του φλοιού, της ανανέωσης των νευρικών βλαστικών κυττάρων, των νόσων, της νευροεκφύλισης, της συμπεριφοράς, των κύκλων ύπνου/αφύπνισης και άλλων συνθηκών συνειδητότητας.

Τα κύτταρα που επενδύουν τον νευρικό σωλήνα κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης ανταποκρίνονται στα σήματα του ΕΝΥ που ρυθμίζουν τη νευρογένεση. Στον ώριμο εγκέφαλο, τα κύτταρα με πρόσβαση στις κοιλίες μπορούν παρομοίως να ανταποκριθούν σε παράγοντες που απελευθερώνονται στο ΕΝΥ μετά από εγκεφαλική βλάβη, νευροεκφυλιστικές ασθένειες, γήρανση, καθώς και καθημερινές αλλαγές στη συμπεριφορά και τη δραστηριότητα.

Το ΕΝΥ περιέχει πλήθος πρωτεϊνών, επιπλέον των αυξητικών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεασών, των αντιοξειδωτικών, των μικρών μορίων και των ορμονών, των οποίων η λειτουργία στο ΚΝΣ δεν είναι πλήρως κατανοητή.

Η δυνατότητα που έχει το ΕΝΥ να επιτρέπει τη χορήγηση ενός συνδυασμού νευρογόνων και νευροπροστατευτικών παραγόντων στο ΚΝΣ, παρέχει μια ενδιαφέρουσα, μη επεμβατική μέθοδο που είναι ιδιαίτερα συναρπαστική από θεραπευτική άποψη. Ένα αυξανόμενο σύνολο στοιχείων σε ζωικά μοντέλα ΚΕΚ και προκλητών εγκεφαλικών επεισοδίων υποδηλώνει ότι η διαμόρφωση του περιβάλλοντος του ΕΝΥ και η δημιουργία μιας ενισχυμένης νευρογενούς και νευροπροστατευτικής κατάστασης, διεγείρει τον πολλαπλασιασμό ενδογενών νευρικών βλαστικών κυττάρων, βοηθά τη μετανάστευσή τους, συμβάλλοντας στη βελτίωση των νευρολογικών λειτουργιών. Η ικανότητα των ενδογενών νευρικών βλαστοκυττάρων να μεταναστεύσουν στο σημείο της βλάβης του ΚΝΣ έχει αποδειχθεί από ορισμένες μελέτες σε ζωικά μοντέλα [178]. Θεωρήθηκε λοιπόν, ότι το ΕΝΥ μπορεί να αποτελέσει έναν φορέα για τη μεταφορά εμφυτευμένων βλαστικών κυττάρων, κάτι που μέχρι σήμερα έχει μελετηθεί μόνο σε ζωικά μοντέλα κακώσεων εγκεφάλου και νωτιαίου μυελού [179, 180, 181, 182].

Αρκετές μελέτες έχουν εξετάσει άμεσα τη δυνατότητα επαγωγής νευρογένεσης ή προαγωγής νευροπροστασίας με άμεση έγχυση γνωστών νευρογενών αυξητικών παραγόντων στις κοιλίες εγκεφάλου σε ζωικά μοντέλα ΚΕΚ [183]. Η έγχυση ενδοκοιλιακά FGF για 1 εβδομάδα μετά την ΚΕΚ, είχε αποτέλεσμα τον αυξημένο πολλαπλασιασμό των κυττάρων στις νευρογενείς ζώνες της υποκοιλιακής ζώνης (subventricular zone-SVZ) και της οδοντωτής έλικας (DG) και παρατηρήθηκε παράταση της επιβίωσης των νευρώνων.

Η ενδοκοιλιακή χορήγηση του FGF2 είχε, επίσης, νευροπροστατευτικά αποτελέσματα σε μοντέλα αρουραίων με εστιακή εγκεφαλική ισχαιμία και σε ορισμένες περιπτώσεις αναφέρθηκε μείωση του μέγεθος του ισχαιμικού εμφράκτου. Είναι ενδιαφέρον, επίσης, ότι σε άλλες μελέτες, μετά από έγχυση στις πλάγιες κοιλίες NGF, φάνηκε να βελτιώνονται τα ελλείμματα χωρικής μνήμης μετά από πρόκληση φλοιϊκής τραυματικής βλάβης. Οι ακριβείς μοριακοί μηχανισμοί που μεσολαβούν σε αυτές τις βελτιώσεις στη συμπεριφορά, πρέπει να διασαφηνιστούν.

Πολλοί άλλοι νευροτροφικοί παράγοντες όπως ο VEGF, ο GDNF και ο BDNF, έχουν εγχυθεί στο ΕΝΥ για να εκτιμήσουν την ικανότητά τους να προάγουν νευρογένεση και νευροπροστασία και να καθορίσουν εάν το έλλειμμα συμπεριφοράς, η γνωστική λειτουργία και η μνήμη μπορούν να βελτιωθούν μετά από τραυματισμό.

Ωστόσο, απομένει να αποδειχθεί το πόσο αποτελεσματικοί είναι αυτοί οι νέοι νευρώνες ώστε να μπορούν να δημιουργούν μακροχρόνιες συνδέσεις στον εγκέφαλο. Αν και η πλειονότητα των μελετών έχουν διεξαχθεί σε ζωικά μοντέλα με ενδοκοιλιακά εγχυμένους αυξητικούς παράγοντες λόγω του περιορισμού που υφίσταται η εφαρμογή ενδοκοιλιακών ή ενδοεγκεφαλικών εγχύσεων, έχει προταθεί τα νευρικά βλαστοκύτταρα επίσης να χορηγούνται στο ΚΝΣ ενδορρινικά ή ενδορραχιαία [184 , 185 , 186 , 187 , 188 , 189 , 190 , 191].

Οι πρόοδοι στην έρευνα διασαφηνίζουν τις βασικές οδούς νευρογενούς σηματοδότησης που μεταδίδονται μέσω του ΕΝΥ κατά την ανάπτυξη μέχρι την ενηλικίωση. Λόγω της άμεσης επαφής του με νευρικά βλαστοκύτταρα στον αναπτυσσόμενο και ενήλικο εγκέφαλο, η ικανότητα του ΕΝΥ να διανέμει γρήγορα σήματα σε τεράστιες αποστάσεις στο κεντρικό νευρικό σύστημα ανοίγει δρόμους για νέες και συναρπαστικές θεραπευτικές προσεγγίσεις. Φαίνεται να ρυθμίζει ενεργά την ανάπτυξη, τη συμπεριφορά και τις αντιδράσεις του εγκεφάλου των θηλαστικών, καθώς και τις απαντήσεις σε εγκεφαλικό τραύμα [192].

Η χρησιμότητά του ως όχημα για άμεση σηματοδότηση σε μεγάλα κέντρα ελέγχου του εγκεφάλου, μπορεί να το αναδείξει σε θεραπευτικό φορέα για την επιλεκτική θεραπευτική στόχευση και την ανάπτυξη νέων στρατηγικών αντιμετώπισης, θεραπείας και αποκατάστασης των τραυματικών εγκεφαλικών βλαβών και άλλων παθήσεων του ΚΝΣ [192, 193, 194, 195].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΕΓΚΕΦΑΛΟΣ ΚΑΙ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Μέχρι και πριν λίγα χρόνια, ο εγκέφαλος θεωρούταν απροσπέλαστος για τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, χωρίς να μπορεί να ενεργοποιείται από αυτά και χωρίς να επηρεάζεται από συστηματικές φλεγμονώδεις απαντήσεις. Αυτή η θεώρηση, πλέον, δεν ισχύει αν και χωρίς αμφιβολία ο εγκέφαλος διαφέρει σημαντικά από τους άλλους ιστούς στις αποκρίσεις του σε παθολογικές καταστάσεις.

Το οίδημα που αναπτύσσεται μετά από ΚΕΚ, ναι μεν περιορίζεται από το κρανίο, αλλά αυτό μπορεί να έχει καταστρεπτικές επιπτώσεις, καθώς δύναται να οδηγήσει σε αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο ή και σε καταστροφή του εγκεφαλικού παρεγχύματος, αύξηση της ενδοκράνιας πίεσης, διαταραχές σε ζωτικές λειτουργίες και τελικά ακόμα και στον θάνατο.

Λοίμωξη, ή φλεγμονή οδηγεί σε διαφορετικές αποκρίσεις στον εγκέφαλο από ότι σε άλλους ιστούς. Αυτό είναι περισσότερο εμφανές κατά την «στρατολόγηση» των λευκοκυττάρων που γίνεται γρήγορα σε πολλά όργανα, αλλά καθυστερημένα στον εγκέφαλο.

Παρά τις διαφορές αυτές, ο εγκέφαλος εκδηλώνει βασικά χαρακτηριστικά της φλεγμονής, όπως ενεργοποίηση γλοίας, οίδημα, έκφραση Μείζονος Συστήματος Ιστοσυμβατότητας, συστηματική απόκριση οξείας φάσης με γενικευμένη φλεγμονή και πρωτεϊνοσύνθεση οξείας φάσης, ενεργοποίηση συμπληρώματος – (π.χ. αναφυλατοξίνες, επίθεση συμπλέγματος μεμβράνης) σύνθεση φλεγμονωδών διαμεσολαβητών – (π.χ. κυτταροκίνες, ελεύθερες ρίζες, προσταγλανδίνες), έκφραση μορίων προσκόλλησης, διείσδυση κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος.

Ενώ η διείσδυση λευκοκυττάρων στην περιοχή της βλάβης μπορεί να είναι καθυστερημένη, η ενεργοποίηση της μικρογλοίας του εγκεφάλου και η απελευθέρωση φλεγμονωδών παραγόντων είναι άμεση και πραγματοποιείται εντός λεπτών ή ωρών.

ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ ΤΡΑΥΜΑ και ΦΛΕΓΜΟΝΗ

Το τραύμα στον εγκέφαλο, ως γνωστόν, μπορεί να οδηγήσει σε μόνιμες και σοβαρές βλάβες της γνωσιακής, της αισθητικής και της κινητικής λειτουργίας καθώς και της ψυχικής υγείας.

Περαιτέρω, η φλεγμονή και η παθολογία που προκαλείται από την ΚΕΚ έχουν ισχυρά συνδεθεί με αυξημένους κινδύνους ανάπτυξης πολυάριθμων νευρολογικών διαταραχών, όπως άγχος, κατάθλιψη, PTSD, νόσος Αλτσχάιμερ (AD), χρόνια τραυματική εγκεφαλοπάθεια (CTE), ασθένεια Parkinson και πλάγια μυοατροφική σκλήρυνση.Τα τελευταία χρόνια, οι έρευνες τόσο σε ασθενείς με ΚΕΚ όσο και σε ζωϊκά μοντέλα εγκεφαλικού τραυματισμού δείχνουν τον σημαντικό ρόλο της διαταραγμένης ανοσολογικής και φλεγμονώδους απόκρισης του οργανισμού, που αρχίζει με την απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Καθυστερημένη βλάβη του ΚΝΣ συμβαίνει συχνά μετά την τραυματική βλάβη του εγκεφάλου και οι μεσολαβητές φλεγμονής έχουν εμπλακεί στη διεργασία αυτή. Έτσι λοιπόν, η αυξημένη παραγωγή κυτοκίνης αποτελεί έναν από τους ισχυρότερους προγνωστικούς δείκτες της κακής κλινικής πρόγνωσης και έχει αποδειχθεί ότι το εγκεφαλικό τραύμα προκαλεί ανοσολογικές φλεγμονώδεις αποκρίσεις, που μπορούν να διαρκέσουν χρόνια μετά τον τραυματισμό.[196]

Η συνειδητοποίηση, επίσης, ότι το ΚΝΣ ρυθμίζει μερικώς ή και σε μεγάλο βαθμό τη συστηματική φλεγμονή και την ανοσολογική απάντηση, ήταν απρόσμενη. Η αναγνώριση της ιντερλευκίνης 1 (IL- 1), που είναι ένας δυναμικός ενδογενής και εξωγενής επαγωγέας του πυρετού, ως πρότυπης ενδογενούς κυτταροκίνης [197, 198, 199, 200] ήταν καθοριστική.

Είναι τώρα κοινώς αποδεκτό, ότι ο εγκέφαλος συντονίζει και ρυθμίζει πολλά τμήματα της αμυντικής απόκρισης του ξενιστή και ότι η ανάπτυξη της νευροφλεγμονής έχει δυναμικό ρόλο στα νοσήματα του ΚΝΣ, περιλαμβανομένης της ΚΕΚ, της πολλαπλής σκλήρυνσης, της νόσου Parkinson, της άνοιας και ορισμένων ψυχιατρικών διαταραχών, όπως η κατάθλιψη, η σχιζοφρένεια και το άγχος.

ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΤΟΥ ΚΝΣ

ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΩΝ ΜΕΣΟΛΑΒΗΤΩΝ ΣΤΟ ΚΝΣ

Οι περισσότεροι φλεγμονώδεις μεσολαβητές έχουν σχετικά λίγες δράσεις στον υγιή ιστό του ΚΝΣ και εκφράζονται σε πολύ χαμηλά ή μη ανιχνεύσιμα επίπεδα. Όμως, επάγονται γρήγορα ως απόκριση στον τραυματισμό ή τη λοίμωξη του ιστού και εκτελούν διάφορες δράσεις. Προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες και άλλοι μεσολαβητές, παίζουν σημαντικό ρόλο στη φλεγμονή του ΚΝΣ μέσω της επαγωγής των χημειοκινών και των μορίων προσκόλλησης, «στρατολόγηση» και ενεργοποίηση των ανοσολογικών κυττάρων εντός του παρεγχύματος και των ενδογενών γλοιακών κυττάρων [196, 197, 198, 199].

Οι νευρώνες, τα αστροκύτταρα, η μικρογλοία και τα ολιγοδενδροκύτταρα μπορεί να παράγουν φλεγμονώδεις μεσολαβητές και υποδοχείς κυτταροκίνης, που εκφράζονται σταθερά σε όλο το ΚΝΣ, αν και σε χαμηλά επίπεδα. Η σταθερή έκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν κυτταροκίνες και τους υποδοχείς τους στον εγκέφαλο, δηλώνει ότι οι κυτταροκίνες μπορεί να συνεισφέρουν σε φυσιολογικές λειτουργίες του ΚΝΣ. Υπάρχουν αυξανόμενα αποδεικτικά στοιχεία για τη συμμετοχή της IL-1 στον ύπνο, την πρόσληψη τροφής και τη μνήμη [201, 202]. Σε παθοφυσιολογικές συνθήκες, η μικρογλοία και τα μακροφάγα του αίματος ενεργοποιούνται από τη βλάβη ή τη λοίμωξη του ΚΝΣ και μετακινούνται γρήγορα στο σημείο της εισβολής.

Η παρουσία των κατεστραμμένων κυττάρων και των κυτταρικών υπολειμμάτων, προκαλεί συσσώρευση μικρογλοίας που θα μετασχηματιστεί σε στρογγυλά μεταναστευτικά μακροφάγα. Στην ενεργή αυτή κατάσταση, η μικρογλοία παράγει κυτταροκίνες και τροφικούς παράγοντες που μπορούν να ασκούν καταστροφικές ή προστατευτικές επιδράσεις σε γειτονικά κύτταρα.

Οι κυτταροκίνες μπορούν, επίσης, να περάσουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό (ΑΕΦ), όταν είναι διαταραγμένος από μια παθολογική κατάσταση. Επομένως, το ΚΝΣ μπορεί να επηρεαστεί όχι μόνο από φλεγμονώδεις μεσολαβητές παραγόμενους εντός του εγκεφάλου, αλλά και μέσω των δράσεων των μεσολαβητών που προέρχονται από την περιφέρεια.

ΦΛΕΓΜΟΝΗ, ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΚΑΜΨΗ

Ανοσοαπάντηση στη Νευροεκφύλιση

Παρόλο που οι ως τώρα πληροφορίες δείχνουν ένα τοξικό ρόλο της φλεγμονής στο ΚΝΣ, κάποιες φορές μπορεί να είναι και ωφέλιμη.

Σε απάντηση στην τραυματική προσβολή του εγκεφάλου, τα αστροκύτταρα ενεργοποιούνται, αυξάνοντας την έκφραση της GFAP (Glial Fibriliary Acidic Protein-ινώδης όξινη πρωτεΐνη γλοίας) και παράγοντας κυτταροκίνες. Επίσης, συνεισφέρουν στο σχηματισμό γλοίωσης που απομονώνει την περιοχή της βλάβης, αλλά και που ταυτόχρονα εμποδίζει την επιδιόρθωση του νευρικού κυττάρου.

Πρόληψη αυτής της αντιδραστικής αστρογλοίωσης μπορεί να φανεί ωφέλιμη για επιδιόρθωση και ανάκαμψη, αλλά στην πραγματικότητα αυτό αυξάνει την απώλεια νευρώνων από την περιοχή της βλάβης και αναστέλλει την επιδιόρθωση της επαναμυελίνωσης του αιματοεγκεφαλικού φραγμού και των αξόνων μερικώς, διότι τα αστροκύτταρα παράγουν νευροτροφικούς παράγοντες, όπως τον αυξητικό παράγοντα των νεύρων και τον BDNF (BrainDerivedNeurotrophicFactor) που αυξάνεται κατά το τραύμα [203].

Παρόμοια, τα κύτταρα της μικρογλοίας παράγουν προφλεγμονώδεις μεσολαβητές, αλλά ταυτόχρονα έχουν και ωφέλιμες επιπτώσεις, απομακρύνοντας τα υπολείμματα και τα βλαβερά στοιχεία από το εγκεφαλικό παρέγχυμα, αν και η φαγοκυτταρική τους ικανότητα είναι περιορισμένη. Οι κυτταροκίνες μπορεί να έχουν διπλό ρόλο, με δραματικές οξείες επιπτώσεις, αλλά μακροχρόνια μπορεί να αποδειχθούν ωφέλιμες.

Τόσο ο TNF-α όσο και η IL-1 εμπλέκονται στην απώλεια νευρώνων κατά τη διάρκεια οξέων και χρόνιων νευροεκφυλιστικών νοσημάτων, αλλά επίσης συμμετέχουν στην επιδιόρθωση και στην ανάκαμψη.

Παρόλο που ο TNF-α φαίνεται να σχετίζεται με ενεργές αλλοιώσεις πολλαπλής σκλήρυνσης και να επάγει το θάνατο των ολιγοδενδροκυττάρων, το μπλοκάρισμα αυτής της κυτταροκίνης σε κλινικές δοκιμές με ανθρώπους δεν ήταν ωφέλιμο και στην πραγματικότητα επιδεινώνει τη νόσο. Ο διπλός ρόλος του TNF-α έχει αποδειχθεί σε πειράματα με ινδικά χοιρίδια, με έλλειψη αυτής της κυτταροκίνης: αμέσως μετά τη βλάβη του φλοιού του εγκεφάλου, τα στελέχη χωρίς TNF-α έδειξαν μικρότερη διαταραχή συμπεριφοράς από ό,τι οι μάρτυρες του άγριου τύπου. Αλλά ενώ τα άγριου τύπου στελέχη, ανάνηψαν εβδομάδες μετά τον τραυματισμό, αυτά με την έλλειψη δεν ανάνηψαν, παραμένοντας με σημαντική ιστολογική βλάβη και με ελλείμματα στη συμπεριφορά [204]. Αυτές οι διαφοροποιημένες δραστηριότητες μπορεί να οφείλονται στην ύπαρξη δυο TNF- α υποδοχέων.

Επιπλέον, η ενεργοποίηση των κυτταροκινών πριν την έναρξη της νόσου μπορεί να αποδειχτεί ωφέλιμη. Για παράδειγμα, προ-θεραπεία με IL-1 λειτουργεί νευροπροστατευτικά κατά της ισχαιμικής βλάβης και μειώνει τις νευρολογικές διαταραχές σε ένα μοντέλο με ζώα με πολλαπλή σκλήρυνση [205]. Η IL-1 αναφέρεται επίσης, να επηρεάζει την επαναμυελίνωση, καθώς στελέχη με έλλειψη IL-1 απέτυχαν να επαναμυελινώσουν αλλοιώσεις πολλαπλής σκλήρυνσης. Αυτές οι επιπτώσεις μπορούν να εξηγηθούν μερικώς με την επαγωγή νευροπροστατευτικών παραγόντων αύξησης, συμπεριλαμβανομένου του αυξητικού παράγοντα που ομοιάζει της ινσουλίνης, από την IL-1. Πράγματι, πολλοί από τους μεσολαβητές που παράγονται ως αποτέλεσμα της ενεργοποίησης της μικρογλοίας έχουν διττά χαρακτηριστικά: μπορεί να είναι νευροπροστατευτικοί καθώς και νευροτοξικοί, με συμμετοχή σε διεργασίες μακροχρόνιας επιδιόρθωσης και ανάνηψης.

Η περίπλοκη αλληλεπίδραση και ισορροπία μεταξύ αυτών των διαφορετικών μεσολαβητών, η γήρανση, το γενετικό υπόβαθρο και περιβαλλοντικοί παράγοντες μπορούν να προσδιορίσουν τελικά την έκβαση της οξείας βλάβης του ΚΝΣ και να ρυθμίσουν την έναρξη και την εξέλιξη της χρόνιας νευροεκφύλισης. Η κατανόηση αυτών των αλληλεπιδράσεων με μεγαλύτερη λεπτομέρεια θα οδηγήσει στην ανάπτυξη αποτελεσματικών θεραπειών για την αντιμετώπιση νόσων του ΚΝΣ.

Ανοσοαπάντηση σε Εγκεφαλικό Τραύμα

Το ανοσοποιητικό σύστημα κατά αντίστοιχο τρόπο, εμπλέκεται, επίσης, στην αποκατάσταση της ομοιόστασης του ιστού μετά από τραυματισμό. Οι σημαντικές λειτουργίες που εκτελούνται από το ανοσοποιητικό σύστημα σε απόκριση στον τραυματισμό περιλαμβάνουν την απομόνωση ερεθιστικών ουσιών που επιδρούν καταστροφικά στον ιστό, την κατακρήμνιση και την απόρριψη κυτταρικών υπολειμμάτων και την προώθηση της επούλωσης των βλαβών. Η βλάβη του ιστού που προκύπτει από τραύμα, από βλάβη ισχαιμίας-επαναιμάτωσης, μεταβολική διαταραχή και ερεθίσματα του περιβάλλοντος, προκαλεί την απελευθέρωση σχετιζόμενων με βλάβες «προκαθορισμένων μορίων μετά από βλάβη κυττάρων» (DAMPs - Danger Pathogen Associated Molecular Patterns), {[π.χ. ATP, αντιδραστικά είδη οξυγόνου (ROS), κατεστραμμένα μιτοχόνδρια και νεκρωτικά κύτταρα] καθώς και αλαρμίνες (alarmins) [π.χ., ιντερλευκίνη (IL) -1α, IL-33, HMGB1]}.

Η αναγνώριση των DAMPs και των αλαρμίνων από ανοσολογικούς υποδοχείς στη συνέχεια διεγείρει την τοπική παραγωγή κυτοκινών και χημειοκινών στη θέση της βλάβης, η οποία στη συνέχεια συντονίζει την ενεργοποίηση, επέκταση και πρόσληψη των ανοσοκυττάρων σε περιοχές βλάβης των ιστών.

Το τραύμα του εγκεφάλου έχει ως αποτέλεσμα δύο φάσεις βλάβης ιστού. Στην πρώτη φάση, το αποτέλεσμα είναι άμεσο της ισχυρής μηχανικής πρόσκρουσης στον ιστό του εγκεφάλου. Το επακόλουθο ενός σοβαρού πλήγματος στο κεφάλι οδηγεί σε άμεσο θάνατο νευρωνικών κυττάρων και νευρογλοιακών κυττάρων, νευραξονική βλάβη, διάσπαση του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (ΑΕΦ), οίδημα και απελευθέρωση DAMPs και διεγερτικών-τοξικών παραγόντων. Η ανοσοαπάντηση στην ΚΕΚ προορίζεται για την προαγωγή της νευροπροστασίας και της επιδιόρθωσης, αλλά μπορεί να γίνει και επιβλαβής εάν παρουσιαστεί δυσλειτουργία και απορρύθμιση του ανοσοποιητικού μηχανισμού. Το εάν η ανοσοαπόκριση συμβάλλει στην αποκατάσταση ή στην περαιτέρω καταστροφή τελικά εξαρτάται από τη φύση, τη διάρκεια και το μέγεθος των ανοσολογικών γεγονότων που αναπτύσσονται σε απόκριση εγκεφαλικής βλάβης.

Εάν δεν ελέγχεται σωστά, το ανοσοποιητικό σύστημα μπορεί να προκαλέσει δευτερογενή φάση βλάβης ιστού και νευροφλεγμονής. Σε αντίθεση με την οξεία φύση της πρωταρχικής εγκεφαλικής βλάβης, η δευτερογενής βλάβη ιστού γενικά οδηγεί σε διάχυτη, μακροχρόνια βλάβη.

Ο θεμελιώδης ρόλος που διαδραματίζει το ανοσοποιητικό σύστημα στην οδήγηση της δευτερογενούς φάσης της βλάβης των ιστών μετά από εγκεφαλικό τραύμα έχει οδηγήσει πολλούς να πιστεύουν ότι οι «ανοσσορυθμιστικές» προσεγγίσεις μπορούν να προσφέρουν μια πολύ χρήσιμη στρατηγική για τη θεραπεία της ΚΕΚ.

Οι πτυχές της ανοσοαπόκρισης μπορούν να επηρεάσουν την κλινική πρόγνωση μετά από ΚΕΚ. Συγκεκριμένα, υπογραμμίζεται σε πρόσφατα ευρήματα από πειραματικά μοντέλα κρανιοεγκεφαλικής κάκωσης που καθορίζουν τους κεντρικούς ρόλους που παίζουν συγκεκριμένοι τύποι ανοσοκυττάρων και κυτταροκινών στην παθογένεση της ΚΕΚ.

Η κινητική της ανοσολογικής αντίδρασης στον τραυματισμό του εγκεφάλου

Μετά την εγκεφαλική βλάβη, οι DAMP και οι αλαρμίνες απελευθερώνονται στο εξωκυτταρικό χώρο, όπου μπορούν έπειτα να σηματοδοτούν μέσω υποδοχέων αναγνώρισης και υποδοχέων κυτοκίνης σε κύτταρα που βρίσκονται στο ΚΝΣ. Αυτό προάγει την παραγωγή κυτοκινών και χημειοκινών που εμπλέκονται στο συντονισμό της πρόσληψης ανοσοκυττάρων στις θέσεις ιστικής βλάβης.

- Τα ουδετερόφιλα είναι τα πρώτα ανοσοκύτταρα που προσλαμβάνονται στον εγκέφαλο ως απάντηση στο τραύμα. Εμφανίζονται αρχικά στον υπαραχνοειδή και στον αγγειακό χώρο που περιβάλλει το σημείο της βλάβης των ιστών μέσα σε λίγες ώρες από τον τραυματισμό. Στη συνέχεια, τα ουδετερόφιλα αρχίζουν να διεισδύουν στο εγκεφαλικό παρέγχυμα στις 24 ώρες μετά τον τραυματισμό. Ως πρώτη γραμμή απόκρισης, διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στη συγκράτηση της βλάβης τραυματισμού και στην αφαίρεση των κυτταρικών υπολειμμάτων και των κατεστραμμένων κυττάρων. Τα ουδετερόφιλα κυριαρχούν κατά τις πρώτες ημέρες μετά τον τραυματισμό. Ωστόσο, ο αριθμός τους μειώνεται σημαντικά μεταξύ των ημερών 3 και 5 μετά τον τραυματισμό. Αυτό το χρονικό σημείο συμπίπτει με την πρόσληψη άλλων περιφερικών ανοσοκυττάρων και την τοπική ενεργοποίηση μικρογλοίας και αστροκυττάρων.
- Η συντονισμένη παραγωγή χημειοκινών μετά από τραύμα ευοδώνει την πρόσληψη ανοσοκυττάρων σε περιοχές εγκεφαλικού τραυματισμού. Μέχρι 2 εβδομάδες μετά τη βλάβη, ο εγκέφαλος είναι σε μεγάλο βαθμό απαλλαγμένος από οποιαδήποτε διηθητικά ανοσοποιητικά κύτταρα.

Ωστόσο, ενεργοποιημένα μικρογλοιακά κύτταρα και αστροκύτταρα καθώς και αυξημένα επίπεδα

φλεγμονωδών κυτταροκινών μπορούν να ανιχνευθούν για μήνες έως χρόνια μετά τον εγκεφαλικό τραυματισμό. Αυτό δεν συμβαίνει με αυτό που παρατηρείται μετά από βλάβη ιστού σε άλλα περιφερειακά όργανα, όπου τα μακροφάγα και τα στρωματικά κύτταρα τυπικά επιστρέφουν σε κατάσταση ανοσολογικής ηρεμίας εντός εβδομάδων μετά τη βλάβη.

Η ύπαρξη ενεργοποιημένων νευρογλοιακών κυττάρων και η παρεκκλίνουσα ρύθμιση της έκφρασης των κυτοκινών για μήνες έως χρόνια μετά την ΚΕΚ υποδηλώνει ότι η ανοσοαπόκριση στην ΚΕΚ μπορεί να παραμείνει για μεγάλες χρονικές περιόδους πέρα από το αρχικό τραύμα.

ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ

Ο όρος κυτταροκίνη (Cytokine) χρησιμοποιείται για να χαρακτηρίσει μια οικογένεια πρωτεϊνών με μεγάλες δομικές και λειτουργικές διαφορές. Είναι μικρού μοριακού βάρους διαλυτές πρωτεΐνες ή γλυκοπρωτεΐνες, οι οποίες εκκρινόμενες από ένα κύτταρο μεταβάλουν τη συμπεριφορά ή/και τα χαρακτηριστικά του ίδιου του κυττάρου ή και κάποιων άλλων.

Πρόκειται για πλειοτροπικά μόρια με διαφορετικές - ειδικές λειτουργίες σε διαφορετικούς τύπους κυττάρων. Η λειτουργία των κυτταροκινών γίνεται με τη διαμεσολάβηση ειδικών υποδοχέων και μεταξύ των διαφορετικών λειτουργιών περιλαμβάνονται: η αιμοποίηση, η απόπτωση, η κυτταρική μετανάστευση και ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός. Λόγω όλων αυτών των διαφορετικών λειτουργιών εμπλέκονται και στη φυσική αλλά και στην ειδική ανοσία. Επί παραδείγματι, οι κυτταροκίνες μπορεί να συμβάλλουν στην ωρίμανση των κυττάρων, στη διαφοροποίηση ή στον πολλαπλασιασμό τους, στη μεταστροφή της τάξης των ανοσοσφαιρινών (εάν το κύτταρο στόχος είναι ένα Β-λεμφοκύτταρο), στη διέγερση της διαδικασίας απόπτωσης, στη συγκέντρωση των λευκοκυττάρων στην περιοχή της φλεγμονής, καθώς και στην ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων και των δραστικών τους μηχανισμών. Επίσης, μερικές κυτταροκίνες αναστέλλουν την ανάπτυξη των κυττάρων, συμμετέχουν στην εξουδετέρωση του κυττάρου-στόχου και έχουν αντιιική και αντιβακτηριδιακή δράση.

Η κύρια πηγή κυτταροκινών είναι τα λευκοκύτταρα, αν και μπορεί να παραχθούν και σε άλλους τύπους κυττάρων. Πολλές κυτταροκίνες μπορεί να παράγονται από διάφορα κύτταρα, παρά το γεγονός ότι ένας συγκεκριμένος τύπος κυττάρου μπορεί να αποτελεί την κυριότερη πηγή μιας συγκεκριμένης κυτταροκίνης. Τα μονοκύτταρα/μακροφάγα και τα Τ-λεμφοκύτταρα, ειδικότερα τα βοηθητικά Τ-λεμφοκύτταρα, αποτελούν τις κύριες κατηγορίες κυττάρων που παράγουν κυτταροκίνες. Οι κυτταροκίνες οι οποίες παράγονται από τα λεμφοκύτταρα ονομάζονται λεμφοκίνες, συνήθως όμως προτιμάται η ορολογία ιντερλευκίνες ακολουθούμενες από τον κατάλληλο αριθμό που τις χαρακτηρίζει. Οι περισσότερες κυτταροκίνες έχουν πολλούς διαφορετικούς βιολογικούς ρόλους. Ουσιαστική λειτουργία των κυτταροκινών είναι ο συντονισμός της λειτουργίας πολλών διαφορετικών κυττάρων που συμμετέχουν στην ανοσιακή απάντηση.

Έτσι, ο γενικός όρος «κυτταροκίνες» έχει καθιερωθεί για: τις λεμφοκίνες (εκκρίνονται από τα λεμφοκύτταρα, lymphokines), τις μονοκίνες (εκκρίνονται από τα μονοκύτταρα, monokines), τις ιντερλευκίνες (interleukins), τις ιντερφερόνες (interferones), καθώς και διάφορους αυξητικούς παράγοντες (growth factors).

Η κύρια κυτταροκίνη, η οποία απελευθερώνεται από τα CD8 κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα, είναι η ιντερφερόνη-γ, η οποία μπορεί να παρεμποδίζει το διπλασιασμό των ιών ή ακόμα και να οδηγεί στην ολική καταστροφή του ιού στα προσβεβλημένα κύτταρα χωρίς όμως να καταστρέφει τα ίδια. Τα CD4-βοηθητικά και CD8-κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα παράγουν διαφορετικές κυτταροκίνες, οι οποίες χαρακτηρίζουν το διαφορετικό είδος της δράσης των συγκεκριμένων κυττάρων.

ΡΟΛΟΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ

Οι περισσότερες διαλυτές κυτταροκίνες έχουν τοπική δράση και δρουν συνεργιστικά με τα μόρια τα οποία εντοπίζονται στην κυτταρική μεμβράνη. Προκειμένου να δράσουν οι κυτταροκίνες πρέπει να συνδεθούν με τον κατάλληλο υποδοχέα στη μεμβράνη του κυττάρου στόχου. Ο τρόπος δράσης των κυτταροκινών διακρίνεται σε αυτοκρινή (autocrine) (προσδένεται σε υποδοχείς του ίδιου του κυττάρου που την εκκρίνει), σε παρακρινή (paracrine) (προσδένεται σε υποδοχείς κυττάρων στόχων που βρίσκονται κοντά στο κύτταρο που την εκκρίνει), καθώς και σε ενδοκρινή (endocrine) (προσδένεται σε υποδοχείς κυττάρων στόχων που βρίσκονται σε απομακρυσμένα μέρη, από το κύτταρο έκκρισης της).

Τα Τ-βοηθητικά κύτταρα εκκρίνουν IL-4, IL-5 και IL-10, οι οποίες ενεργοποιούν τα Β-λεμφοκύτταρα. Ενώ τα Τ-κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα εκκρίνουν ιντερφερόνη-γ, η οποία ενεργοποιεί τα μονοκύτταρα-μακροφάγα. Επιπρόσθετα, τα Τ-κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα παράγουν και λυμφοκίνη, η οποία είναι απευθείας τοξική για κάποια κύτταρα.

Μια κυτταροκίνη μπορεί να έχει διαφορετικές βιολογικές δράσεις σε διαφορετικά κύτταρα και ιστούς. Η κυτταροκίνη αυτή ονομάζεται πλειοτροπική (pleiotropic). Στην περίπτωση που το ίδιο αποτέλεσμα μπορεί να επιτυγχάνεται από την δράση διαφορετικών κυτταροκινών, το φαινόμενο αυτό ονομάζεται «πλεονασμός» (redundancy). Επιπρόσθετα, μια κυτταροκίνη μπορεί να υποβοηθά ή να εμποδίζει τη δράση μιας άλλης κυτταροκίνης. Στην περίπτωση που δύο κυτταροκίνες ασκούν την ίδια δράση στο κύτταρο στόχο, τότε ασκούν συνεργική (synergistic) δράση, ενώ, όταν μια κυτταροκίνη εμποδίζει τη δράση μιας άλλης κυτταροκίνης, τότε οι δύο κυτταροκίνες έχουν ανταγωνιστική (antagonistic) δράση.

Φαίνεται λοιπόν, ότι η δράση των κυτταροκινών επηρεάζεται συχνά από άλλες κυτταροκίνες. Επιπλέον, μερικές κυτταροκίνες μπορεί να παράγονται κατά τη διέγερση διαφόρων κυττάρων, από άλλες κυτταροκίνες. Αυτό το δίκτυο αλληλεπιδράσεων μεταξύ των κυτταροκινών, αναφέρεται σαν «δίκτυο κυτταροκινών» (cytokine network).

Πέραν της τοπικής δράσης που παρουσιάζουν πολλές κυτταροκίνες υπάρχουν και αρκετές οι οποίες δρουν και σε απόσταση. Συγκεκριμένα, η IL-3 και GM-CSF (Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor, παράγοντας διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων μακροφάγων) που απελευθερώνονται από τα Τ-βοηθητικά λεμφοκύτταρα έχουν ως στόχο να συγκεντρώνουν ενεργοποιημένα κύτταρα στην περιοχή της φλεγμονής προκαλώντας την ενεργοποίηση του μυελού των οστών και την ακόλουθη παραγωγή μακροφάγων και κοκκιοκυττάρων (κυτταρική μη ειδική ανοσία). Επιπρόσθετα, η IL-3 και GM-CSF ενεργοποιούν την παραγωγή δενδριτικών κυττάρων από πρόδρομα κύτταρα του μυελού των οστών και επίσης, η IL-5 ενεργοποιεί την παραγωγή ηωσινοφίλων, τα οποία εμπλέκονται στο τελικό στάδιο της αλλεργικής αντίδρασης. Τα αν η δράση της κυτταροκίνης θα είναι τοπική ή σε απόσταση, εξαρτάται από την ποσότητα που παράγεται, από το αν στοχεύει ένα συγκεκριμένο τύπο κυττάρων, καθώς και την σταθερότητα του μορίου in vivo.

ΚΥΤΤΑΡΟ-ΟΡΓΑΝΟ ΣΤΟΧΟΣ

Οι κυτταροκίνες δρουν στους υποδοχείς, οι οποίοι μπορούν να ομαδοποιηθούν κατά αντίστοιχο τρόπο με τις κυτταροκίνες. Οι υποδοχείς ομαδοποιούνται με βάση γενετικές, δομικές και λειτουργικές ομοιότητες. Οι κυτταροκίνες επηρεάζουν τα κύτταρα στόχους με το να συνδέονται με τους κατάλληλους υποδοχείς.

ΜΗ ΕΙΔΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ-ΦΛΕΓΜΟΝΗ

Σημαντική λειτουργία της μη ειδικής ανοσιακής απάντησης είναι η συσσώρευση φαγοκυττάρων και δραστικών μορίων στην περιοχή της φλεγμονής με την απελευθέρωση κυτταροκινών και άλλων φλεγμονωδών μεσολαβητών που έχουν πολλαπλή δράση.

Οι κυτταροκίνες που εκκρίνονται από τα μακροφάγα σε απάντηση εμμένουσας φλεγμονής αποτελούν μια δομικά ποικιλόμορφη ομάδα η οποία περιλαμβάνει τις: IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 και TNF-α. Όλα τα προαναφερθέντα μόρια έχουν τοπική και συστημική δράση.

Τα μακροφάγα απελευθερώνουν επίσης και άλλες πρωτεΐνες με πιθανή τοπική δράση, όπως τα ένζυμα: ενεργοποιητής πλασμινογόνου και φωσφολιπάση. Αναλυτικότερα, τα μονοκύτταρα/μακροφάγα και τα κύτταρα του μυελού των οστών εκκρίνουν την IL-6 αν και η μεγαλύτερη ποσότητα παράγεται από τα Τ-βοηθητικά λεμφοκύτταρα. Η *IL-8* είναι ισχυρός χημειοτακτικός παράγοντας για τα ουδετερόφιλα. Τα μακροφάγα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα μπορούν και εκκρίνουν IL-8, έτσι ώστε να προσελκύουν τα ουδετερόφιλα και να τους επιτρέπουν να προσκολλώνται στα ενδοθηλιακά κύτταρα.

ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ ΚΑΙ ΕΓΚΕΦΑΛΟΣ

Η νευροφλεγμονή μετά από κρανιοεγκεφαλική κάκωση (ΚΕΚ), θεωρείται βασικός παράγοντας δευτερογενούς εγκεφαλικής βλάβης στην οξεία/υποξεία φάση μετά από τραυματισμό.

Τα κύτταρα που απαρτίζουν τη δομή του κεντρικού νευρικού συστήματος είναι οι νευρώνες αλλά και μια σειρά υποστηρικτικών κυττάρων που γενικά ονομάζονται γλοιακά κύτταρα ή κύτταρα της γλοίας και αυτά είναι τα αστροκύτταρα, τα μικρογλοιακά και τα ολιγοδενδροκύτταρα, καθώς και επίσης και τα ενδοθηλιακά κύτταρα.

Σε περιπτώσεις διάσπασης του αιματοεγκεφαλικού φραγμού λόγω κάποιας παθολογικής διαταραχής, τα λευκοκύτταρα (ουδετερόφιλα, μακροφάγα και λεμφοκύτταρα) εισέρχονται στο εγκεφαλικό παρέγχυμα από την αιματική κυκλοφορία. Οι μοριακοί μηχανισμοί που διέπουν την διακυτταρική επικοινωνία δεν έχουν πλήρως διαλευκανθεί.

Από μελέτες φαίνεται πως ουσιαστικό ρόλο στην ομοιόσταση του εγκεφάλου παίζει η διακυτταρική επικοινωνία και οι κυτταροκίνες ως χημικοί μεσολαβητές. Φαίνεται να εμπλέκονται στον εγκέφαλο και οδηγούν τα κύτταρα του κεντρικού νευρικού συστήματος σε λειτουργικές μεταβολές [205, 206, 207, 208]. Αρχικά οι κυτταροκίνες είχαν αναγνωριστεί ως παράγοντες φλεγμονής μόνο στην περιφέρεια αλλά σύγχρονα ερευνητικά δεδομένα παρουσιάζουν συσχέτιση μεταξύ του κεντρικού νευρικού συστήματος και των μορίων των κυτταροκινών σε καταστάσεις που αφορούν παθήσεις του κεντρικού νευρικού συστήματος [209].

Αν και ο εγκέφαλος παραδοσιακά θεωρούταν ένα όργανο απομονωμένο από την επίδραση του ανοσοποιητικού συστήματος, χάρη στην παρουσία του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, σύγχρονες μελέτες έδειξαν ότι τα κύτταρα του εγκεφάλου είναι ικανά να συνθέτουν μια μεγάλη ποικιλία από προ φλεγμονώδεις μεσολαβητές, απαραίτητους για την αποφυγή της εμφάνισης φλεγμονής στα κύτταρα του νευρικού συστήματος.

Κατά τη διάρκεια της επέλευσης της τραυματικής κάκωσης του εγκεφάλου προκαλείται απελευθέρωση μορίων κυτταροκινών και χυμοκινών, τα οποία μπορούν να διαπεράσουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και να προκαλέσουν την δημιουργία ερεθίσματος στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος στην περιφέρεια με αποτέλεσμα την εισροή λευκοκυττάρων στην περιοχή της φλεγμονής [210].

Η διαμεσολάβηση μηνυμάτων μέσω των κυτταροκινών οδηγεί την έκφραση μορίων προσκόλλησης και τη διήθηση του εγκεφαλικού παρεγχύματος από λευκοκύτταρα [212]. Η συσσώρευση λευκοκυττάρων στην περιοχή του τραύματος επιτείνει το φαινόμενο της συσσώρευσης λευκοκυττάρων στον εγκέφαλο λόγω της απελευθέρωσης κυτταροτοξικών ουσιών, όπως ελεύθερες ρίζες και άλλους προ-φλεγμονώδεις παράγοντες [213].

Κατά το εγκεφαλικό τραύμα, διεγείρεται η ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού μηχανισμού και ακολουθεί φλεγμονώδης αντίδραση των γλοιακών κυττάρων. Λαμβάνει χώρα έντονη ενεργοποίηση των μικρογλοιακών κυττάρων και είναι αυτά που παίζουν καθοριστικό ρόλο στη φαγοκυττάρωση του τραυματισμένου εγκεφαλικού ιστού [214].

Επίσης, ενεργοποίηση των αστροκυττάρων με αποτέλεσμα την αύξηση της έκφραση της πρωτεΐνης των μικροσωληνίσκων GFAP (GliaryFibrilicAcidicProtein) [215, 216]. Τα αστροκύτταρα αποτελούν πηγή προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών και στα τελικά στάδια της βλάβης παρεμποδίζουν την αναγέννηση των νευρώνων προκαλώντας μόνιμες βλάβες [217, 218].

Τα αντιδρώντα αστροκύτταρα γενικά έχουν προστατευτικό ρόλο στα πρώτα στάδια του τραύματος και είναι υπεύθυνα για τη διατήρηση της ομοιόστασης, όταν η ενέργεια του οργανισμού είναι περιορισμένη λόγω του τραύματος και μια σειρά από γεγονότα συμβαίνουν, όπως αύξηση ελευθέρων ριζών, απελευθέρωση πρωτεϊνών αίματος, ενεργοποίηση προφλεγμονωδών ενζύμων, αύξηση διαρροής ηλεκτρονίων από τα μιτοχόνδρια, διαταραχή μεταφοράς ηλεκτρονίων, αύξηση οξειδωτικών ενζύμων, απελευθέρωση ελεύθερων ιόντων μετάλλου, μείωση αντιοξειδωτικών, ενεργοποίηση φαγοκυττάρων και παραγωγή ROS (Reactive Oxygen Species, Ενεργά Είδη Οξυγόνου) και RNS (Reactive Nitrogen Species, Ενεργές Μορφές Αζώτου), με συνέπεια την επέκταση της νευροφλεγμονής και εμφάνιση των δευτεροπαθών φαινομένων, όπως το εγκεφαλικό οίδημα και ισχαιμία, ρήξη του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, αιμορραγία, ανοσοκαταστολή, ιογενείς και βακτηριακές λοιμώξεις, σηπτικό shock, διαταραχή του 24ωρου κύκλου απελευθέρωσης της μελατονίνης κ.α.

Ιντερλευκίνη-1

Η ιντερλευκίνη-1 είναι μια ισχυρή προ-φλεγμονώδης κυτοκίνη, που έχει εμπλακεί σε πολυάριθμες φλεγμονώδεις και νευρολογικές διαταραχές. Η έκκριση της IL-1 πρέπει να ρυθμίζεται αυστηρά στον εγκέφαλο, καθώς η ανεξέλεγκτη παραγωγή IL-1 έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί νευροφλεγμονή και νευροεκφύλιση. Υπάρχουν δύο διαφορετικές μορφές IL-1, η IL-1α και η IL-1β. Και οι δύο μπορούν να επάγουν παρόμοια επίπεδα φλεγμονώδους σηματοδότησης μετά από δέσμευση υποδοχέα IL-1 (IL-1R) και προκαλούν σχεδόν ταυτόσημες φλεγμονώδεις αποκρίσεις, τα πρότυπα έκφρασης των οποίων και οι απαιτήσεις για ενεργοποίηση διαφέρουν πολύ.

Η ιντερλευκίνη-1β είναι μία από τις κυτοκίνες που έχουν μελετηθεί στη εγκεφαλική βλάβη και έχει αποδειχθεί ότι αυξάνεται μετά από ΚΕΚ, τόσο σε μοντέλα ανθρώπων όσο και ποντικών. Κατά τη διάρκεια της νευροφλεγμονής, η IL-1β είναι γνωστό ότι έχει βαθιές επιδράσεις στη διαπερατότητα του ΑΕΦ, στην ενεργοποίηση των κυττάρων της γλοίας, στην πρόσληψη ανοσοκυττάρων και στη νευροεκφύλιση και είναι πιθανότατα ένας από τους πρώτους ανοσο-διαμεσολαβητές, καθώς κορυφώνεται νωρίς μετά τον τραυματισμό. Η IL-1β είναι γνωστό ότι ενισχύει σημαντικά τις φλεγμονώδεις αποκρίσεις μετά από την ΚΕΚ και αυτό οδήγησε πολλούς να ισχυριστούν ότι η παραγωγή IL-1 μπορεί να έχει αρνητικές επιπτώσεις στις κλινικές εκβάσεις μετά από εγκεφαλικό τραύμα.Πρόσφατα, έχει σημειωθεί πρόοδος χρησιμοποιώντας μεθόδους για εξουδετέρωση ή ανταγωνισμό της δραστικότη-τας της IL-1β σε ΚΕΚ [218, 219, 220]. Σε αυτές τις μελέτες, η εξουδετέρωση της IL- 1β οδηγεί σε μείωση του αριθμού μικρογλοιακών/ μακροφάγων, ουδετερόφιλων και Τ κυττάρων στον εγκέφαλο σε διάστημα 7 ημερών μετά τον τραυ-ματισμό. Τα ινδικά χοιρίδα που έλαβαν αντι-IL-1β εμφάνισαν καλύτερες επιδόσεις κατά τη διάρκεια των δοκιμασιών μάθησης καθώς και μειωμένη απώλεια εγκεφαλικού ιστού [221].

Σε άλλα μοντέλα τραυματισμού του ΚΝΣ, η ευόδωση της παραγωγής της IL-1α περιορίζει τη νευρωνική βλάβη και προάγει την επιταχυνόμενη λειτουργική ανάκτηση. Η IL-1α έχει, επίσης, προταθεί να ξεκινάει έναν φλεγμονώδη κύκλο που διατηρείται και ενισχύεται με την αύξηση της ρύθμισης της IL-1β, γεγονός που αντιπροσωπεύει την περίσσεια της σηματοδότησης της IL-1 που παρατηρείται συνήθως στις φλεγμονώδεις καταστάσεις. Έτσι, οι μελλοντικές μελέτες θα πρέπει να διερευνήσουν τις επιδράσεις της IL-1α ξεχωριστά από την IL-1β, καθώς η βασική τους έκφραση, ρύθμιση και έκκριση διαφέρουν σημαντικά και μπορούν έτσι να ελέγξουν την κινητική της φλεγμονής με διαφορετικούς τρόπους [222].

Στον άνθρωπο, έγινε γνωστό ότι η σηματοδότηση της IL-1 είναι ένας βασικός ρυθμιστής της αύξησης της παραγωγής κυτοκινών που προκαλείται από ΚΕΚ, η οποία, σε μια μεταγενέστερη δοκιμασία, μπορεί να οδηγήσει σε μετατόπιση των μακροφάγων ώστε να εκφράσουν υψηλότερα επίπεδα προ-φλεγμονώδων κυτοκινών, όπως ο παράγοντας διέγερσης αποικίας κοκκιοκυττάρων - μακροφάγων (GM-CSF) και η IL-1β. Αυτό το αποτέλεσμα υποδεικνύει ότι απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση των εμπλεκόμενων μηχανισμών, καθώς και οριοθέτηση των διαφορετικών λειτουργιών της IL-1α και IL-1β κατά τη διάρκεια της νευρο-φλεγμονής, ώστε να κατανοηθεί ο ρόλος της σηματοδότησης της IL-1 στην παθογένεια της ΚΕΚ [223].

Μελλοντικές in vitro μελέτες ΚΕΚ που θαχρησιμοποιούν αυτά τα γενετικά εργαλεία θα πρέπει να συμβάλλουν στην πληρέστερη περιγραφή των συνεισφορών συγκεκριμένων πτυχών της φλεγμονώδους σηματοδότησης στο εγκεφαλικό τραύμα.

Ιντερλευκίνη-6

Η δράση της *IL-6* εντοπίζεται στα Β-λεμφοκύτταρα, όπου και τα προωθεί να διαφοροποιηθούν σε πλασματοκύτταρα και να εκκρίνουν αντισώματα. Η ιντερλευκίνη αυτή έχει χαρακτηριστεί και ως μόριο διέγερσης, καθώς ωθεί τα ηπατοκύτταρα να παράγουν πρωτεΐνες οξείας φάσεως σε απάντηση στη φλεγμονή.

Η IL-6 μπορεί να επάγεται από μια ποικιλία μορίων, που περιλαμβάνουν IL-1, TNFα (Tumor Necrosis Factor-α), TGFβ (Transforming Growth Factor-β) και προσταγλανδίνες (PGs), και πολλοί άλλοι μεσολαβητές, όπως το β-αμυλοειδές, η ιντερφερόνη-γ (IFNγ) και η IL-4 μπορούν να ενισχύσουν τη δράση αυτών των κύριων επαγωγέων, επισημαίνοντας την πολύπλοκη φύση της ρύθμισης της IL-6. Για παράδειγμα, η IL-2 επάγει την έκφραση της IL-6, αλλά επίσης αυξάνει τα επίπεδα γνωστών επαγωγέων της IL-6, όπως IL-1β και TNF-a.

Οι μηχανισμοί που ελέγχουν την έκφραση διαφορετικών κυτταροκινών συχνά σχετίζονται. Το TNF-a διεγείρει την έκφραση της IL-1 και IL-6, και η IL-1 μπορεί να επάγει τόσο την IL-6 όσο και το TNF-a [224].

Επομένως, μετά από μια εισβολή στον εγκέφαλο, η αρχική υπερέκφραση των κυτταροκινών οδηγεί σε διήθηση άλλων φλεγμονωδών μεσολαβητών στην περιοχή της βλάβης και ξεκινά δευτερογενές σήμα κυτταροκίνης. Παρόλο που η μικρογλοία προκαλεί την αρχική αύξηση στο επίπεδο κυτταροκίνης, το πραγματικό ερέθισμα για την παραγωγή κυτταροκινών στον εγκέφαλο είναι άγνωστο. Η αμεσότητα της απόκρισης δείχνει, όμως, ότι το ερέθισμα πρέπει να είναι άμεσο και ταχύ, όπως μια έντονη δραστηριότητα των νευρώνων. Οι PGs είναι φλεγμονώδεις μεσολαβητές που παράγονται μέσω του μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος από την κυκλοοξυγενάση (COX) και συνθετάση PG. Παρόλο που οι PGs κλασσικά θεωρούνται δυναμικά προφλεγμονώδη μόρια, έχουν επίσης αντιφλεγμονώδεις δράσεις σε ορισμένες περιπτώσεις.

Οι πρώτες μελέτες σε ζώα επιβεβαίωσαν ότι η IL-6 είναι αυξημένη σε ΕΝΥ και στον ορό μετά από ΚΕΚ και επιβεβαίωσαν, επίσης, ότι είναι μια προ-φλεγμονώδης κυτοκίνη, η οποία προσλαμβάνει ενεργοποιημένα κύτταρα γλοίας και ανοσοποίησης σε περιοχές τραυματισμού.

Αντίθετα, η υπερέκφραση της IL-6 στα αστροκύτταρα ενίσχυσε την πρόσληψη γλοίας και ανοσολογικών κυττάρων στη θέση της βλάβης και μείωσε τόσο το οξειδωτικό στρες, όσο και το θάνατο των νευρώνων.

Αυτές οι μελέτες υποδεικνύουν ότι ο ρόλος της IL-6 στην πρόκληση φλεγμονής και σχηματισμού ουλής είναι σημαντικός για τη μείωση του κυτταρικού θανάτου. Φαίνεται από τις μελέτες πως είτε η πλήρης εξάλειψη είτε η υπερέκφραση της IL-6 είναι επιβλαβής και πως χρειάζεται κάποιο επίπεδο IL-6 για την παραγωγή μιας φλεγμονώδους κατάστασης, που επηρεάζει θετικά την έκβαση της ΚΕΚ.

Η ιντερλευκίνη-6 συσχετίζεται συχνά με την έκβαση της ΚΕΚ στους ανθρώπους, αλλά δεν είναι σαφές εάν ο ρόλος της είναι κατά κύριο λόγο ευεργετικός ή επιβλαβής. Η ανίχνευση της παραγωγής παρεγχυματικής IL-6 έχει συσχετιστεί με τη βελτίωση της επιβίωσης σε ασθενείς με ΚΕΚ. Ωστόσο, πιο πρόσφατα στοιχεία καταδεικνύουν έναν επιζήμιο ρόλο για την IL-6 [225].Σε κάποιες μελέτες, τα επίπεδα της IL-6 στο πλάσμα μετρήθηκαν σημαντικά υψηλότερα στους ασθενείς με βαριά ΚΕΚ σε σχέση με αυτούς μέτριας βαρύτητας. Επίσης, η χρονική παραμονή των αυξημένων επιπέδων IL-6 στον ορό έχουν συσχετιστεί με δυσμενείς βραχυπρόθεσμες και μακροπρόθεσμες εκβάσεις. Γενικά όμως, ο ρόλος της IL-6 στην ΚΕΚ εξακολουθεί να είναι ασαφής και τα έως τώρα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η IL-6 ρυθμίζεται συνεχώς μετά από ΚΕΚ και δύναται να μείνει αυξημένη για μακρό χρονικό διάστημα, καθιστώντας την, δυνητικά, έναν σημαντικό μεσολαβητικό παράγοντα στην περαιτέρω εξέλιξη της βλάβης.

Ιντερλευκίνη-10

Η ιντερλευκίνη-10 έχει δειχθεί ότι είναι αυξημένη στους ασθενείς με ΚΕΚ και έχει συσχετιστεί με δυσμενή έκβαση και θνησιμότητα. Ο Chen et al. βρήκε έναν ρόλο για την IL-10 στην παροχή νευροπροστασίας με θεραπεία με υπερβαρικό οξυγόνο (HBO).
Διαπίστωσαν ότι οι προστατευτικές επιδράσεις του HBO σε ΚΕΚ περιλάμβαναν μείωση της επέκτασης της βλάβης και μείωση του οιδήματος, βελτιώσεις στις γνωσιακές επιδόσεις και την απόσβεση της προ-φλεγμονώδους παραγωγής κυτοκίνης στον φλοιό. Είναι πιθανό ότι η συσχέτιση μεταξύ της IL-10 (και πιθανώς πολλών άλλων κυτοκινών) και της κακής έκβασης οφείλεται, κυρίως, σε εκτεταμένη ρύθμιση προς αύξηση της παραγωγής των κυτοκινών μετά από ΚΕΚ [226].Απαιτούνται πολλές έρευνες ανάλυσης των συγκεκριμένων ρόλων της IL-10, ώστε υπάρξει κατανόηση του ρόλου της στην τραυματική εγκεφαλική βλάβη.

Μεσολαβητές Σηματοδότησης σε ΚΕΚ

Άλλοι παράγοντες που έχει μελετηθεί η επίδρασή τους σε ΚΕΚ είναι:

- *Ο Μετασχηματισμένος Αυξητικός Παράγοντας β (TGFβ -Transforming growth factor β)* που αυξάνει οξέως στον ορό και στο ΕΝΥ των ασθενών με ΚΕΚ. Αρκετοί μεσολαβητές της σηματοδότησής του έχουν δειχθεί ότι είναι ρυθμισμένοι σε μοντέλα ΚΕΚ ώστε να αυξάνεται η παραγωγή του [227].
- *Ο Παράγοντας Νέκρωσης Όγκου-α (TNFα- tumornecrosisfactor-α),* που σε εργασίες σχετικά με τον ρόλο του σε μοντέλα ΚΕΚ ινδικών χοιριδίων, φαίνεται να έχει πρώιμες βλαβερές επιδράσεις μετά από το τραύμα, ενώ παράλληλα εμφανίζει περισσότερα προστατευτικά αποτελέσματα σε χρόνια στάδια. Ωστόσο, άλλες εργασίες πρότειναν ότι ο TNFα είναι απαραίτητος για την προστασία από την πρόωρη θνησιμότητα μέσα σε μια εβδομάδα τραυματισμού.
- *Ο Τύπος 1 ιντερφερόνη,* όπου σε πρόσφατη μελέτη από τους Karve et al. διερευνάται η εμπλοκή της σηματοδότησης IFN τύπου 1 στην παθογένεση της ΚΕΚ και πως αυτή μπορεί να επηρεάσει δυνητικά την κλινική έκβαση σε ασθενείς με ΚΕΚ [228, 229, 230].
- *Ο Παράγοντας διέγερσης αποικίας κοκκιοκυττάρων(G-CSF)/παράγοντας διέγερσης αποικιών μακροφάγων/κοκκιοκυττάρων,* που και οι δύο εμπλέκονται στην επέκταση και κινητοποίηση ανοσοκυττάρων από τον μυελό των οστών και δρουν ως βασικές κυτταροκίνες στη φλεγμονώδη απόκριση. Είναι ενδιαφέρον, ότι μερικές πρόσφατες ενδείξεις υποδηλώνουν ότι τόσο το G-CSF όσο και το GM-CSF μπορούν να διαδραματίσουν προστατευτικό ρόλο στο ΚΕΚ. Η κατανόηση του τρόπου με τον οποίο τα μόρια αλληλεπιδρούν με τα κύτταρα γλοίας για την προαγωγή της νευρωνικής προστασίας και αναγεννητικής δράσης, μπορεί να διασαφηνίσει άλλες νευροπροστατευτικές διεργασίες που μπορεί να περιλαμβάνουν τις γνωσιακές λειτουργίες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΑΙΜΑΤΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟΣ ΦΡΑΓΜΟΣ

Ανατομία

Για να διατηρηθεί η φυσιολογική λειτουργία του εγκεφάλου, το νευρικό περιβάλλον πρέπει να διατηρεί την ομοιόστασή του εντός στενών ορίων. Αυτό καθορίζεται από την ελεγχόμενη ρύθμιση της μεταφοράς κυττάρων, μορίων και ιόντων μεταξύ του αίματος και του εγκεφάλου. Μια τέτοια ελεγχόμενη ρύθμιση διατηρείται από ένα μοναδικό ανατομικό και φυσιολογικό φράγμα που σχηματίζεται στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ). Η ύπαρξη μιας φυσικής διασύνδεσης μεταξύ του ΚΝΣ, της περιφερικής κυκλοφορίας και της αγγειακής διαπερατότητας περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Paul Ehrlich. Αργότερα, ο Edwin Goldmann έδειξε ότι η άμεση έγχυση κυανού του τρυπανίου στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ΕΝΥ) ανιχνευόταν σε κύτταρα εντός του ΚΝΣ, όχι όμως στην περιφέρεια. Πρόσθετο στοιχείο στην κατανόηση της λειτουργίας του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (ΑΕΦ) ήταν αργότερα η ανάδειξη, από τους Reese και Karnovsky [231], της λειτουργίας του συμπλέγματος των στενών ενδοθηλιακών συνδέσεων ανταλλαγής διαλυτών ουσιών μεταξύ του αίματος και του εγκεφάλου.

Αποδείχθηκε ότι η διαπερατότητα του φραγμού είναι αντιστρόφως ανάλογη του μεγέθους των μορίων και ευθέως ανάλογη με τη λιποδιαλυτότητά τους. Αέρια και ύδωρ διέρχονται εύκολα, ενώ η γλυκόζη και οι ηλεκτρολύτες βραδύτερα. Ο φραγμός είναι αδιαπέραστος για τις πρωτεΐνες του πλάσματος και άλλα οργανικά μόρια.

Δομή του Αιματοεγκεφαλικού Φραγμού

Τρία είναι τα στρώματα που συμβάλλουν στον διαχωρισμό του αίματος και των νευρικών ιστών:

1. Ένα εξαιρετικά εξειδικευμένο στρώμα ενδοθηλιακών κυττάρων (EC- endothelialcells) που περιλαμβάνει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό (ΑΕΦ- blood-brainbarrier-BBB) και διαχωρισμό του αίματος και του διάμεσου εξωκυττάριου υγρού του εγκεφάλου [232]. Ο νευρικός ιστός στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο δείχνει ότι το αιμοφόρο τριχοειδές χωρίζεται από τον εξωκυττάριο χώρο μεταξύ νευρώνων και νευρογλοίας με τα κάτωθι: α)τα ενδοθηλιακά κύτταρα του τοιχώματος του τριχοειδούς, β)τον συνεχή βασικό υμένα που περιβάλλει το τριχοειδές έξω από τη στιβάδα των ενδοθηλιακών κυττάρων και γ)τα πόδια των αποφυάδων των αστροκυττάρων που προσκολλώνται στην εξωτερική επιφάνεια του τοιχώματος του τριχοειδούς. Οι ενωτικοί δεσμοί μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων αποτελούν το αίτιο του ΑΕΦ [233]. Η δομή του ΑΕΦ δεν είναι ίδια σε όλες τις περιοχές του ΚΝΣ. Σε περιοχές που δεν υφίσταται, το ενδοθήλιο των τριχοειδών είναι θυριδωτό και διαμέσου αυτών των θυρίδων διέρχονται από το αίμα στο νευρικό ιστό πρωτεΐνες και οργανικά μικρομόρια. Τέτοιες περιοχές είναι εκείνες που οι νευροϋποδοχείς πρέπει να ελέγχουν αμέσως το περιεχόμενο του πλάσματος, όπως η εσχάτη πτέρυγα του εδάφους της τετάρτης κοιλίας και ο υποθάλαμος που ρυθμίζει τη μεταβολική δραστηριότητα του σώματος [234]. Το επιθήλιο του χοριοειδούς πλέγματος εκκρίνει το ΕΝΥ στις εγκεφαλικές κοιλίες και συμβάλλει στον φραγμό αίματος-ΕΝΥ. Στα χοριοειδή πλέγματα ο φραγμός που υφίσταται, όπως ο αιματοεγκεφαλικός, μεταξύ αίματος και εγκεφαλονωτιαίου υγρού επιτρέπει την ελεύθερη διέλευση ύδατος, αερίων και λιποδιαλυτών ουσιών από το αίμα στο ΕΝΥ, αλλά εμποδίζει να περάσουν μεγαλομοριακές ενώσεις, όπως οι πρωτεΐνες και οι εξόζες (εκτός της γλυκόζης που διέρχεται).
2. Το επιθήλιο των αραχνοειδών κυττάρων που δημιουργούν φραγμό μεταξύ αίματος και του ΕΝΥ στον υπαραχνοειδή χώρο.

ΑΦΟΡΙΣΤΙΚΟ ΟΡΙΟ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ- ΕΝΥ

Τα συστατικά του ΑΕΦ περιλαμβάνουν το στρώμα των ενδοθηλιακών κυττάρων και τη βασική τους μεμβράνη, τα οποία ενώνονται κύτταρο προς κύτταρο με δεσμούς μέσω διακυτταρικών πρωτεϊνών που διαθέτουν ειδικούς μηχανισμούς μεταφοράς. Το ενδοθήλιο περιβάλλεται από κυτταρικά στοιχεία, περιλαμβανομένων των περικυττάρων και των αστρογλοιακών αποφυάδων, σχηματίζοντας ένα επιπρόσθετο συνεχές στρώμα που διαχωρίζει τα αιμοφόρα αγγεία από τον εγκεφαλικό ιστό. Γύρω από τα διεισδυτικά αγγεία και τα φλεβίδια υπάρχει κάποια απόσταση μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων και του εγκεφαλικού ιστού με αποτέλεσμα να σχηματίζεται ο χώρος Virchow-Robin, στον οποίο βρίσκονται περιαγγειακά μακροφάγα, που εκτελούν μερικές από τις ανοσολογικές λειτουργίες του ΚΝΣ [235].

ΝΕΥΡΟΑΓΓΕΙΑΚΗ ΜΟΝΑΔΑ

Η στενή επαφή μεταξύ νευρώνων, αστροκυττάρων, μικρογλοιακών κυτάρων, περικυττάρων και αιμοφόρων αγγείων επιφέρει την λειτουργική αλληλεπίδραση μεταξύ τους, έτσι ώστε να σχηματίζουν μια ενιαία δυναμική λειτουργική μονάδα, γνωστή ως νευροαγγειακή μονάδα.

Η νευροαγγειακή μονάδα αποτελείται από ένα μονό εξειδικευμένο στρώμα ενδοθηλιακών κυττάρων που καλύπτει τα τριχοειδή αγγεία του εγκεφάλου, με μεγαλύτερο αριθμό και όγκο μιτοχονδρίων, αυξάνοντας την εκλεκτική μοριακή διαπερατότητα του ΑΕΦ.

Η βασική μεμβράνη, πάχους 30 έως 40 nm, αποτελείται από κολλαγόνο τύπου IV, πρωτεογλυκάνες θειικής ηπαρίνης, λαμινίνη, φιμπρονεκτίνη και άλλες πρωτεΐνες της εξωκυτταρικής μήτρας. Περικλείει περικύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα, στενά συνδεδεμένα με τις μεμβράνες του κυτταροπλάσματος των ακραίων ποδιών των αστροκυττάρων, περιβάλλοντας τα εγκεφαλικά τριχοειδή.

Τα περικύτταρα περιβάλλουν τα μικρά αγγεία και τα τριχοειδή αγγεία του εγκεφάλου και βρίσκονται σε στενή γειτνίαση τόσο με τα αστροκύτταρα, όσο και με τους νευρώνες. Η αναλογία περικυττάρων προς ενδοθηλιακά κύτταρα εκτιμάται ότι είναι 1:3 και φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στον σχηματισμό και την ωρίμανση του ΑΕΦ, κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης και της ρύθμισης της επιβίωσης των ιστών [236]. Επιπρόσθετα, ασκούν έλεγχο στην εγκεφαλική αιματική ροή ασκώντας έλεγχο στη ρύθμιση της διαμέτρου του τριχοειδούς μέσω των ινών ακτίνης που φέρουν. Η δυσλειτουργία και η απουσία τους, λόγω γήρανσης σε ζωικά μοντέλα, οδηγεί σε απώλεια της ακεραιότητας του ΑΕΦ και μείωση της εγκεφαλικής αιματικής ροής [237].

Τα αστροκύτταρα αλληλεπιδρούν με τα περικύτταρα και τα μικροαγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω αποφυάδων. Αλληλεπιδράσεις μπορεί, επίσης, να υπάρχουν με κύτταρα λείου μυός στα αρτηριόλια. Τα αστροκύτταρα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη συντήρηση του ΑΕΦ, στην ομοιόσταση της εξωκυτταρικής συγκέντρωσης διαμεσολαβητών, μεταβολιτών, ιόντων και νερού, αλλά επίσης χρησιμεύουν ως βλαστοκύτταρα κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης και παρέχουν τα πρότυπα ανάπτυξης των μεταναστευτικών νευρωνικών οδών. Η αλληλεπίδραση μεταξύ αστροκυττάρων και νευρώνων καθορίζει τη συναπτική μετάδοση, καθώς και την κάθαρση των νευροδιαβιβαστών [238].

Η καλυμμένη από τη χοριοειδή μήνιγγα εξωτερική επιφάνεια του εγκεφάλου αποτελείται από τα αραιά σε διάταξη κύτταρα της χοριοειδούς μήνιγγας που επικάθονται στον βασικό υμένα. Υπό τον βασικό υμένα είναι τα πόδια των αποφυάδων των αστροκυττάρων, χωρίς να υφίστανται μεσοκυττάριοι ενωτικοί δεσμοί μεταξύ των παρακείμενων χοριοειδών κυττάρων ή των παρακείμενων αστροκυττάρων, ώστε οι εξωκυττάριοι χώροι του νευρικού ιστού να βρίσκονται σε σχεδόν άμεση συνέχεια με τον υπαραχνοειδή χώρο [239].

Η περιαγγειακή επέκταση του υπαραχνοειδούς χώρου εντός του κεντρικού νευρικού ιστού είναι βραχεία μέχρις ώτου συγχωνευθεί ο έξω χιτώνας των αγγείων με την χοριοειδή μήνιγγα. Η εντός των κοιλιών επιφάνεια του εγκεφάλου επενδύεται με κυλινδρικά επενδυματικά κύτταρα με κατά θέσεις μόνο ενωτικούς δεσμούς.

Υφίστανται μεσοκυττάριες δίοδοι που επιτρέπουν την ελεύθερη επικοινωνία μεταξύ της κοιλότητας της κοιλίας και του εξωκυττάριου χώρου του νευρικού ιστού. Το επένδυμα δεν έχει βασικό υμένα και ούτε υπάρχουν ειδικά πόδια των αστρροκυτταρικών αποφυάδων, διότι τα νευρογλοιακά κύτταρα είναι αραιά [240].

Η ενδοφλέβια έγχυση χρωστικής δε δύναται να προσπελάσει τους περισσότερους εγκεφαλικούς ιστούς. Αν η έγχυση γίνει εντός του κοιλιών ή εντός του υπαραχνοειδούς χώρου, πολύ γρήγορα θα εμφανιστεί η χρωστική στον εξωκυττάριο χώρο μεταξύ των νευρώνων και των νευρογλοιακών κυττάρων. Επομένως, δεν υφίσταται συγκρίσιμος φυσιολογικός φραγμός μεταξύ του ΕΝΥ και του εξωκυττάριου χώρου του ΚΝΣ. Οι δομές που παρεμβάλλονται μεταξύ νευρικού ιστού και ΕΝΥ είναι: 1)η επικαλυπτόμενη με τη χοριοειδή μήνιγγα επιφάνεια του εγκεφάλου και του νωτιαίου μυελού 2)οι περιαγγειακές επεκτάσεις του υπαραχνοειδούς χώρου εντός του νευρικού ιστού 3)η επικαλυμμένη με επένδυμα επιφάνεια των τοιχωμάτων των κοιλιών του εγκεφάλου.

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΦΡΑΓΜΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ-ΕΝΥ

Υπό φυσιολογικές συνθήκες αυτοί οι δύο ημιδιαπερατοί φραγμοί, προφυλάσσουν τον εγκέφαλο καιτον νωτιαίο μυελόαπότην είσοδοδυνητικώς επιβλαβών ουσιών εντός του νευρικού ιστού.

Σε κανένα άλλο όργανο δεν έχει τόση μεγάλη σημασία η μεταξύ λεπτών ορίων ρύθμιση της σύστασης του εξωκυττάριου υγρού, όσο στον εγκέφαλο και τον νωτιαίο μυελό. Οι λειτουργίες του αιματοεγκεφαλικού και του φραγμού αίματος – ΕΝΥ είναι να προστατεύουν τον εγκέφαλο και τον νωτιαίο μυελό από τις διακυμάνσεις στη σύσταση του αίματος και ειδικότερα από τοξικούς παράγοντες. Στα νεογνά και στη μικρή νηπιακή ηλικία δεν έχει αναπτυχθεί πλήρως ο φραγμός.

ΤΡΑΥΜΑΤΙΚΗ ΒΛΑΒΗ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ ΚΑΙ ΑΙΜΑΤΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟΣ ΦΡΑΓΜΟΣ

Η παθοφυσιολογία της τραυματικής εγκεφαλικής βλάβης περιλαμβάνει τη διάσπαση του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, την εκτεταμένη νευροφλεγμονή, τη διάχυτη νευραξονική βλάβη με επακόλουθο τη νευροεκφύλιση. Οποιαδήποτε βλάβη στον εγκέφαλο, είτε οφειλόμενη σε άμεση κάκωση ή σε φλεγμονώδεις ή χημικές τοξίνες, προκαλεί ρήξη του ΑΕΦ, με αποτέλεσμα την ελεύθερη διάχυση μεγαλομορίων εντός του νευρικού ιστού, λόγω της καταστροφής των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων και της διάσπασης των ενωτικών δεσμών.

Μετα-τραυματική αύξηση της διαπερατότητας του ΑΕΦ

Η διάσπαση της αγγειακής ακεραιότητας που προκαλείται από τον άμεσο εγκεφαλικό τραυματισμό, πυροδοτεί έναν καταρράκτη ενδαγγειακής πήξης, ο οποίος οδηγεί σε μια σημαντική μείωση της ροής αίματος στις περιοχές της περιτραυματικής εγκεφαλικής περιοχής. Ως εκ τούτου, η μετατραυματική διάσπαση του ΑΕΦ που διαπιστώνεται με δείκτες υψηλού μοριακού βάρους, επαναλαμβάνεται σταθερά σε ζωικά μοντέλα κρανιοεγκεφαλικής κάκωσης και φαίνεται να συνδέεται, κυρίως, με τις λειτουργικές μεταβολές και όχι με τη μηχανική διάσπαση των αγγειακών εγκεφαλικών τοιχωμάτων [241].

Μελέτες σε πειραματικά μοντέλα ΚΕΚ έχουν δείξει μια διφασική αύξηση της διαπερατότητας του ΑΕΦ σε αλβουμίνη και άλλες πρωτεΐνες υψηλού μοριακού βάρους, που κορυφώνονται σε 4-6 ώρες και σε 2-3 ημέρες μετά τον τραυματισμό. Ενώ η πρώτη αιχμή της μετα-τραυματικής αύξησης της διαπερατότητας του ΑΕΦ γενικά συμπίπτει με την αυξημένη παραγωγή ενός αριθμού πιθανών παραγόντων που μπορεί να συνεισφέρουν στη δυσλειτουργία του ΑΕΦ και στην εισροή ουδετερόφιλων, οι μηχανισμοί που αποτελούν τη βάση της καθυστερημένης αύξησης της διαπερατότητας του ΑΕΦ είναι επί του παρόντος ασαφείς [242].

Η μετα-τραυματική αύξηση της διαπερατότητας του ΑΕΦ σε μόρια υψηλού μοριακού βάρους θα μπορούσε να προκύψει από την αυξημένη παρακυτταρική διαπερατότητα του ενδοθηλιακού φραγμού που σχετίζεται με μεταβολές στην έκφραση, κατανομή και/ή τη λειτουργία των στενά συνδεδεμένων μεσοκυττάριων πρωτεϊνών και

από την επαυξημένη μεταφορά των πινοκυτταρικών κυστιδίων κατά μήκος του ΑΕΦ. Υπάρχουν ενδείξεις για αυξημένη πινοκυτταρική δραστηριότητα στο εγκεφαλικό τριχοειδικό ενδοθήλιο ασθενών με ΚΕΚ.

Ο σχηματισμός αγγειογενούς και κυτταροτοξικού οιδήματος στον τραυματισμένο εγκέφαλο

Το αγγειογενές οίδημα προκαλείται από μια παθολογική αύξηση της διαπερατότητας του ΑΕΦ, οδηγώντας σε διάμεση συσσώρευση οσμωτικώς ενεργών μορίων που προέρχονται από το πλάσμα (όπως πρωτεΐνες πλάσματος) και νερού.

Συγκριτικά, το κυτταροτοξικό ή κυτταρικό οίδημα σχετίζεται με μεταβολές στον κυτταρικό μεταβολισμό και δυσλειτουργία αντλιών και μεταφορέων ιόντων που σχετίζονται με τη μεμβράνη, με αποτέλεσμα την κυτταρική συσσώρευση οσμωτικά ενεργών μορίων και νερού. Μεταξύ των εγκεφαλικών παρεγχυματικών κυττάρων, τόσο το εγκεφαλοαγγειακό ενδοθήλιο, όσο και τα αστροκύτταρα φαίνεται να επηρεάζονται περισσότερο από το μετατραυματικό κυτταροτοξικό οίδημα [243].

ΑΕΦ και μετατραυματική νευροφλεγμονή

Αυξανόμενες ενδείξεις δείχνουν ότι η φλεγμονώδης ανταπόκριση του εγκεφάλου σε τραυματισμό είναι ένα σημαντικό μέρος της παθοφυσιολογίας της ΚΕΚ. Λίγο μετά το τραύμα, παρατηρείται αύξηση της παραγωγής προφλεγμονωδών κυτοκινών (όπως TNF-α και IL-1β), από τα εγκεφαλικά παρεγχυματικά κύτταρα, ακολουθούμενη από αυξημένη σύνθεση χημειοκινών και έκφραση μορίων προσκόλλησης κυττάρων στην επιφάνεια του εγκεφαλικού αγγειακού ενδοθηλίου, η οποία τελικά οδηγεί στην εισροή φλεγμονωδών κυττάρων από το αίμα στον εγκέφαλο. Σε μελέτες σε πειραματόζωα, η εισβολή ουδετερόφιλων παρατηρήθηκε μέσα σε λίγες ώρες μετά τον τραυματισμό, ενώ τα μονοκύτταρα/ μακροφάγα διεισδύσουν στο τραυματισμένο παρέγχυμα μέσα σε λίγες μέρες μετά την ΚΕΚ.

Υπάρχουν, επίσης, ενδείξεις για την εισροή περιφερικών φλεγμονωδών κυττάρων στο τραυματισμένο εγκεφαλικό παρέγχυμα ασθενών με ΚΕΚ .

Η μηχανική διάσπαση των αγγειακών τοιχωμάτων, η οποία μπορεί να συμβεί μετά την πρόσκρουση, προκαλεί την εξαγγείωση των ερυθρών αιμοσφαιρίων, αλλά δε συνοδεύεται από σημαντική εισροή λευκοκυττάρων. Η στρατολόγηση λευκοκυττάρων στο τραυματισμένο παρέγχυμα του εγκεφάλου απαιτεί συντονισμένη ρύθμιση και επαγωγή έκφρασης στο εγκεφαλικό ενδοθήλιο μορίων κυτταρικής προσκόλλησης, τα οποία στη συνέχεια αλληλεπιδρούν με τα αντίστοιχά τους που εκφράζονται στην επιφάνεια των λευκών αιμοσφαιρίων [244].

Αυτό συμβαίνει σε συνδυασμό με την αύξηση της παραγωγής χημειοκινών που προσελκύουν φλεγμονώδη κύτταρα και ρυθμίζουν τη διαδικασία της μετανάστευσής τους κατά μήκος του ενδοθηλιακού φραγμού.

Ένας άλλος λόγος για την περιορισμένη αρχική μετανάστευση των λευκών αιμοσφαιρίων στα κατεστραμμένα αγγειακά τοιχώματα είναι ότι η μηχανική διάσπαση της ακεραιότητας του εγκεφαλικού αγγειακού συστήματος ενεργοποιεί ταχέως τον καταρράκτη πήξης, που έχει σαν αποτέλεσμα σημαντική μείωση της εγκεφαλικής αιματικής ροής [245].

Το χρονικό πλαίσιο της εισροής φλεγμονωδών κυττάρων στον τραυματισμένο εγκέφαλο υποδηλώνει ότι υπάρχει ένα ενδεχομένως παρατεταμένο παράθυρο ευκαιρίας για θεραπευτική παρέμβαση που στρέφεται κατά της μετατραυματικής νευροφλεγμονής [246 ,247].

Μετατραυματική εισβολή των φλεγμονωδών κυττάρων

Αρκετές μελέτες μοντέλων ινδικών χοιριδίων με τραυματική εγκεφαλική βλάβη, έδειξαν ότι υπάρχει σχέση μεταξύ του μεγέθους της μετατραυματικής εισροής ουδετερόφιλων και μονοκυττάρων με του σχηματισμού

οιδήματος και της έκτασης της βλάβης του εγκεφαλικού ιστού. Ωστόσο, ορισμένες μελέτες έχουν αναφέρει διαφορετικά αποτελέσματα και θα απαιτηθούν περαιτέρω μελέτες για τη διευκρίνιση των αποκλίσεων.

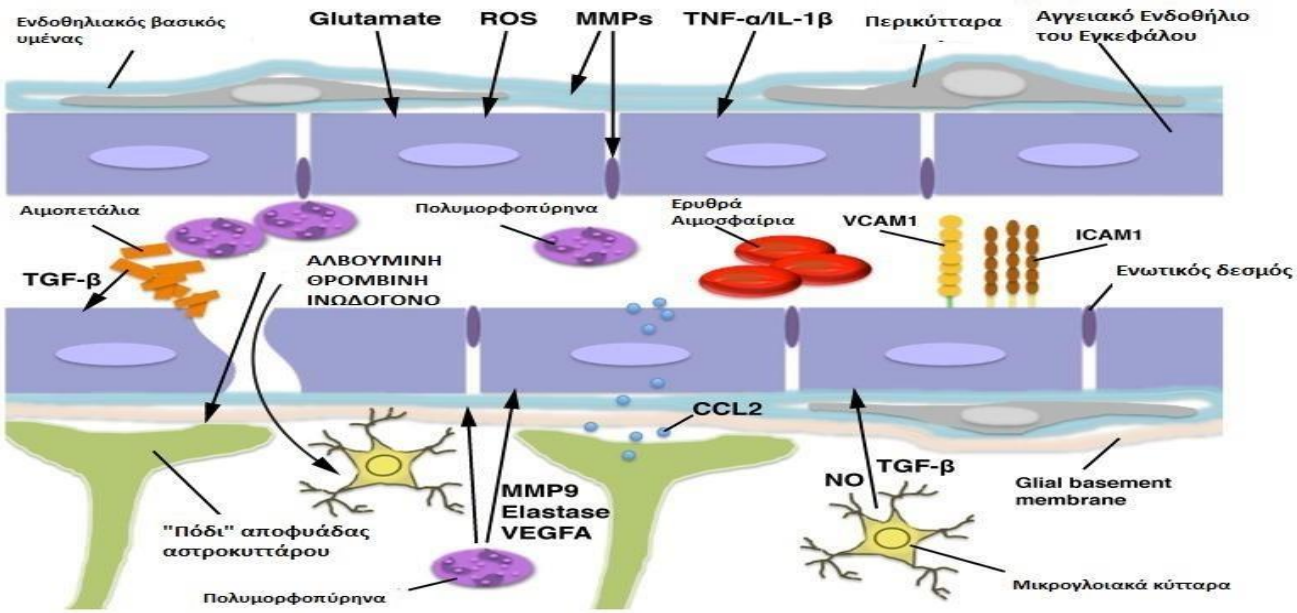
Τα ουδετερόφιλα είναι ιδιαίτερα τοξικά για τους νευρώνες, ειδικά σε συνθήκες υποξίας και στέρησης της γλυκόζης. Αυτά τα φλεγμονώδη κύτταρα έχουν την ικανότητα να παράγουν προφλεγμονώδεις κυτοκίνες, όπως ο TNF-α, μεγάλες ποσότητες δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS-reactiveoxygenspecies) σε καταστάσεις οξειδωτικού στρες, αλλά να φέρουν, επίσης, διάφορα πρωτεολυτικά ένζυμα, συμπεριλαμβανομένης της ελαστάσης των ουδετερόφιλων (ELANE) και της MMP9 [248, 249].
Είναι, επίσης, σημαντικό να σημειωθεί ότι τα ουδετερόφιλα μπορεί να αυξάνουν τη διαπερατότητα του ΑΕΦ απελευθερώνοντας το VEGFA, το οποίο πιθανότατα συμβαίνει όταν αυτά τα φλεγμονώδη κύτταρα εισβάλλουν στο τραυματισμένο εγκεφαλικό παρέγχυμα.

Παράγοντες που συμβάλλουν στη μετα-τραυματική δυσλειτουργία του ΑΕΦ

Οι λειτουργικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των συστατικών της νευροαγγειακής μονάδας είναι πολύπλοκες και περιλαμβάνουν (αλλά δεν περιορίζονται σε) παρακρινή σηματοδότηση μεταξύ των νευρογλοιακών κυττάρων και του εγκεφαλοαγγειακού ενδοθηλίου και μεταξύ των ίδιων των κυττάρων της γλοίας. Όπως αναφέρεται, τόσο τα αστροκύτταρα όσο και τα μικρογλοιακά κύτταρα μπορούν γρήγορα να ανταποκριθούν σε τραυματισμό αυξάνοντας την παραγωγή πολλαπλών παραγόντων που μπορεί να έχουν βαθιά επίδραση στη λειτουργία ΑΕΦ.

Διάφοροι επιλεγμένοι παράγοντες έχουν αναγνωρισθεί με τους παθοφυσιολογικούς τους ρόλους στην προαγωγή της δυσλειτουργίας του ΑΕΦ στον τραυματισμένο εγκέφαλο (π.χ. TGF-β, Vascular endothelial growth factor (VEGF) A, Glutamate, ROS, MMPs, TNF-a/IL-1β, IL-6 κ.α.).

Στην μελέτη μας διερευνήθηκαν από τις μεταλλοπρωτεϊνάσες του εξωκυττάριου σκελετού (matrix metallo proteinases - MMPS) η Emmprin και η Osteopontin, καθώς και οι ιντερλευκίνες.



Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες του εξωκυττάριου σκελετού (Matrix Metalloproteinases -MMPs)

Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες είναι μία μεγάλη ομάδα ενδοπεπτιδασών. Είναι ένζυμα (πρωτεάσες), οι οποίες

χρησιμοποιούν κάποιο μέταλλο (συνήθως ψευδάργυρο) στον καταλυτικό μηχανισμό και συμβάλλουν στην επαναδιοργάνωση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας (matrix remodeling enzymes). Μεταβολές στα ένζυμα αυτά πιθανώς προκαλούν ανωμαλίες στον μεταβολισμό της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Αυτή η ομάδα ενζύμων αδρανοποιείται από χηλοποιητικούς παράγοντες (chelators). Θεωρείται πως προσβάλλουν βασικές πρωτεΐνες και αποικοδομούν τα συστατικά των συμπλεγμάτων των ενωτικών συνδέσμων, οδηγώντας στον σχηματισμό αγγειογενούς οιδήματος. Τα μόρια της εξωκυτταρικής θεμέλιας ουσίας συνιστούν τη βασική μεμβράνη, η οποία βρίσκεται κάτω από το αγγειακό δίκτυο και παίζει αποφασιστικό ρόλο στη διατήρηση της ακεραιότητας του αιματο-εγκεφαλικού φραγμού [250].

Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες μπορούν, επίσης, να απελευθερωθούν από τα εισβάλλοντα λευκοκύτταρα. Τα ουδετερόφιλα φέρουν κατά κύριο λόγο MMP9, ενώ τα μονοκύτταρα μπορούν να παράγουν πολλαπλές MMPs. Οι φλεγμονώδεις κυτοκίνες που δρουν διαμέσου διαφόρων μεταγραφικών δικτύων είναι σημαντικοί διεγέρτες της έκφρασης των MMPs. Ο επαγωγέας μεταλλοπρωτεϊνάσης της εξωκυτταρικής μήτρας (EMMPRIN), που είναι επίσης γνωστός και ως CD147, αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή της δραστηριότητας των MMPs. Οι MMPs εμπλέκονται στην αποδόμηση της εξωκυτταρικής θεμέλιας ουσίας και συμμετέχουν σε αρκετά βήματα αυτού του καταρράκτη. Η αυξημένη έκφραση των MMPs, ιδίως της MMP-2 (gelatinase A) και της MMP-9 (gelatinase B) η οποία έχει παρατηρηθεί σε πειραματικά μοντέλα εγκεφαλικής ισχαιμίας, φαίνεται ότι σχετίζεται με την έκταση του εμφράκτου, τη διάσπαση του αιματο-εγκεφαλικού φραγμού και την κακή πρόγνωση.

Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες μπορούν να αποδομούν τα συστατικά της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, όπως συμβαίνει στη ρευματοειδή αρθρίτιδα, στην οστεοαρθρίτιδα, την αθηρωματοσκλήρυνση, την κακοήθη εξάλλαξη και τις καρκινικές μεταστάσεις [255, 256, 257].

Αν και η δράση τους δεν είναι ακόμη απολύτως γνωστή, όλο και περισσότερα ερευνητικά πρωτόκολλα φιλοδοξούν να αποσαφηνίσουν τον ρόλο που διαδραματίζουν στην πρόγνωση, πρόληψη και πιθανόν στη θεραπευτική προσέγγιση των εγκεφαλικών βλαβών και να εξεταστεί ο τρόπος με τον οποίο δρουν στο ΚΝΣ. Αποδείχθηκε πως η διεισδυτικότητα των κυττάρων του γλοιοβλαστώματος συσχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με την ενεργοποίηση των μελών των MMPs, συμπεριλαμβανομένων των MMP-1, MMP-2 και MMP-9 [253, 254]. Οι MMPs εμπλέκονται επίσης, στην παθογένεια νευροεκφυλιστικών διαταραχών, όπως το γλαύκωμα, η νόσος Alzheimer, η άνοια της Επίκτητης Ανοσολογικής Ανεπάρκειας, η σκλήρυνση κατά πλάκας και τα Αγγειακά Εγκεφαλικά επεισόδια (ΑΕΕ) [251, 258, 259 , 260, 261 , 262, 263, 264].

Μετά από ένα εστιακό εγκεφαλικό επεισόδιο παρατηρείται διάσπαση του αιματο-εγκεφαλικού φραγμού, αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας, εισροή φλεγμονωδών παραγόντων και κυτταρικός θάνατος των νευρικών κυττάρων [251].

Οι MMPs εμπλέκονται και στην αιμορραγική μετατροπή του ισχαιμικού εμφράκτου μέσω μη σαφώς τεκμηριωμένου μηχανισμού. Οι MMPs, ιδίως η MMP-9, ανιχνεύονται πολύ πρώιμα, κατά την εγκατάσταση της ισχαιμικής βλάβης μαζί με τα ενδοθηλιάκα κύτταρα και όψιμα μαζί με τα μακροφάγα. Η έκφραση της MMP-9 από τα ενδοθηλιακά κύτταρα εντός αλλά και περιφερικά της ισχαιμικής βλάβης αποτελεί το κλειδί της προσβολής του τοιχώματος των εγκεφαλικών αγγείων, οδηγώντας σε οίδημα και αιμορραγία.

Στον τραυματισμένο εγκέφαλο, φαίνεται ότι οι MMPs παράγονται τόσο από τύπους παρεγχυματικών κυττάρων και αστροκυττάρων, όσο και νευρικών κυττάρων και του αγγειακού ενδοθηλίου του εγκεφάλου [252].

Στις διάφορες μελέτες, αν και φαίνεται ότι οι MMPs θα μπορούσαν να αντιπροσωπεύσουν πιθανούς στόχους για φαρμακολογική παρέμβαση σε ασθενείς με ΚΕΚ, επισημαίνεται ότι μπορεί να διαδραματίζουν

σημαντικό ρόλο στις διαδικασίες νευρωνικής αποκατάστασης σε μεταγενέστερο στάδιο μετά τη βλάβη, με αποτέλεσμα η αναστολή της δραστηριότητάς τους μετά τον τραυματισμό να έχει πραγματικά αρνητικές συνέπειες.

Συμπέρασμα

Επομένως, οι MMPs θα μπορούσαν να αποτελέσουν έναν πολύ σημαντικό προγνωστικό δείκτη της έκτασης της ισχαιμικής βλάβης και της αιμορραγικής μετατροπής.

Ελπιδοφόρα είναι τα μηνύματα της χρήσης των MMPs στο μέλλον και ως θεραπευτικού παράγοντα με τη χρήση αναστολέων της δράσης τους, ούτως ώστε να μπορεί να περιοριστεί η ισχαιμική βλάβη, να ελαττωθεί η συχνότητα της αιμορραγικής μετατροπής αλλά και να χρησιμοποιηθεί σαν συμπληρωματικός θεραπευτικός παράγοντας αυξάνοντας την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια της σύγχρονης θρομβολυτικής αγωγής.

Οι MMPs αποτελούν σίγουρα ένα νέο, φιλόδοξο ερευνητικό πεδίο στην διερεύνηση των ΑΕΕ, χρειάζονται όμως ακόμη πολλές έρευνες μέχρι να ταυτοποιηθεί και να διευκρινιστεί πλήρως ο ρόλος που διαδραματίζουν.

OSTEOPONTIN

Ορισμός

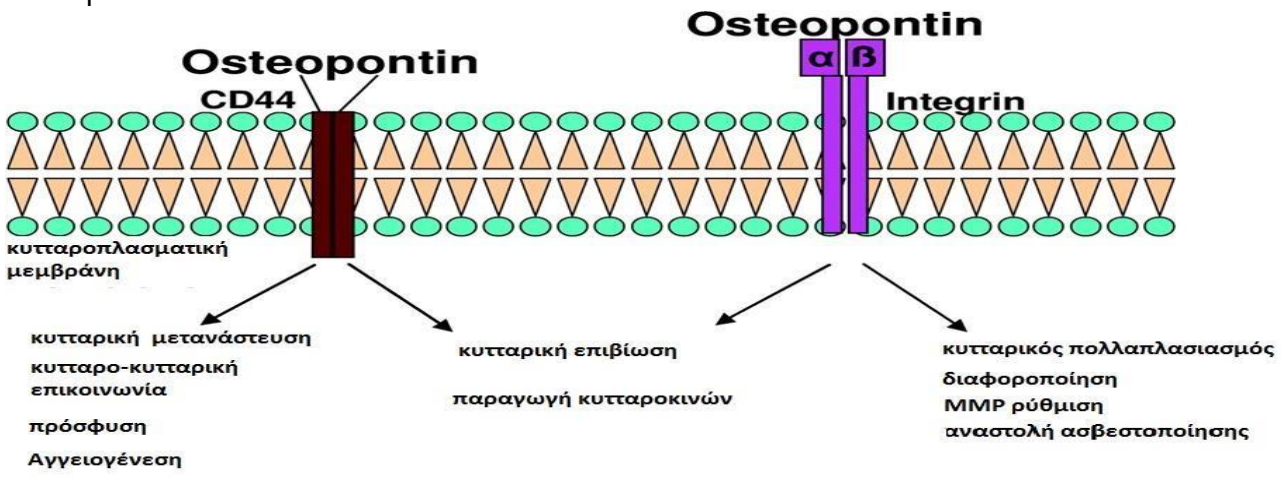
Το αρχικό πρόθεμα *osteo-* από τον ελληνικό όρο για το οστό δηλώνει πως η πρωτεΐνη εκφράζεται στα οστά. Το επίθεμα *–pontin* προέρχεται από το "pons", τη λατινική λέξη για τη γέφυρα. Ο όρος λοιπόν περιγράφει μια πρωτεΐνη «γεφυρώσεως των οστών» και επισημαίνει τον ρόλο της ως συνδετική πρωτεΐνη. Αυτός ο συνδετικός της ρόλος παρατηρείται και σε άλλους ιστούς.

Μοριακή Δομή

Η οστεοποντίνη (OPN) είναι μια γλυκοπρωτεΐνη που αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά το 1986 σε οστεοβλάστες και είναι μια εξωκυτταρική δομική πρωτεΐνη. Αποτελεί, επομένως, ένα οργανικό συστατικό του οστού. Τα συνώνυμα για αυτή την πρωτεΐνη περιλαμβάνουν την σιαλοπρωτεΐνη 1 και 44K BPP (φωσφοπρωτεΐνη του οστού) [265].

Άλλοι όροι που έχουν χρησιμοποιηθεί στη βιβλιογραφία κατά καιρούς είναι: σιαλοπρωτεΐνη οστών 1 (BSP-1 ή BNSP), πρώιμο γονίδιο ενεργοποίησης Τ-λεμφοκυττάρων 1 (ETA-1), εκκρινόμενη φωσφοπρωτεΐνη 1 (SPP1) και ανθεκτική στη Rickettsia πρωτεΐνη (Ric). Κωδικοποιείται στους ανθρώπους από το γονίδιο SPP1 (εκκρινόμενη φωσφοπρωτεΐνη 1).

Πρόκειται για μία αρνητικά φορτισμένη όξινη υδρόφιλη πρωτεΐνη που παράγεται από διάφορους κυτταρικούς τύπους και συμμετέχει σε διάφορες φυσιολογικές και παθολογικές διεργασίες, όπως στην ασβεστοποίηση των οστών, στη διαδικασία του οξειδωτικό στρες, στην επαναμυελίνωση, στην επούλωση πληγών, στη φλεγμονή και στην ανοσία.



Σχετικά με την Οστεοποντίνη

Η λειτουργία που επιτελεί η ενεργή μορφή OPN-L είναι σε μεγάλο βαθμό άγνωστη. Το πλήρες μόριο (OPN-FL) μπορεί να τροποποιηθεί με μια αντίδραση διάσπασης με θρομβίνη, η οποία εκθέτει μια κρυπτική αλληλουχία SVVYGLR επί της διασπασμένης μορφής της πρωτεΐνης (γνωστής ως OPN-R).

Αυτό το αποκομμένο μόριο OPN (OPN-R) εκθέτει έναν επίτοπο για υποδοχείς ιντεγκρίνης των α4β1, α9β1 και α9β4. Αυτοί οι υποδοχείς ιντεγκρίνης είναι παρόντες σε έναν αριθμό κυττάρων ανοσίας όπως ιστιοκύτταρα, ουδετερόφιλα και Τ κύτταρα. Εκφράζεται, επίσης, από μονοκύτταρα και μακροφάγα.Με τη δέσμευση αυτών των υποδοχέων, τα κύτταρα χρησιμοποιούν αρκετές οδούς μεταγωγής σήματος για την πρόκληση ανοσολογικής απάντησης σε αυτά τα κύτταρα.

Το OPN-R μπορεί περαιτέρω να διασπαστεί με καρβοξυπεπτιδάση Β (CPB) με απομάκρυνση της C-τερματικής αργινίνης και να γίνει OPN-L.

Φαίνεται ότι μια ενδοκυτταρική παραλλαγή της OPN (iOPN) εμπλέκεται σε έναν αριθμό κυτταρικών διεργασιών περιλαμβανομένης της μετανάστευσης, της σύντηξης και της κινητικότητας.

Η ενδοκυτταρική OPN δημιουργείται χρησιμοποιώντας μία εναλλακτική θέση έναρξης μετάφρασης επί του ιδίου mRNA, που χρησιμοποιείται για τη δημιουργία της εξωκυτταρικής ισομορφής. Αυτή η εναλλακτική θέση έναρξης μετάφρασης εντοπίζεται στην Ν-τερματική πλευρά της αλληλουχίας σήματος στόχευσης του

ενδοθηλιακού ενδοπλασματικού δικτυωτού δικτύου, επιτρέποντας έτσι την κυτταροπλασματική μετάφραση της OPN.

Διάφοροι καρκίνοι του ανθρώπου, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού, έχουν παρατηρηθεί ότι εκφράζουν παραλλαγές ματίσματος της OPN. Οι ειδικές για τον καρκίνο παραλλαγές ματίσματος είναι η οστεοποντίνη-α, η οστεοποντίνη-β και η οστεοποντίνη-c. Το εξόνιο 5 λείπει από την οστεοποντίνη-β, ενώ η οστεοποντίνη-c στερείται εξονίου 4.

Μελέτες έχουν δείξει τον αξιοσημείωτο ρυθμιστικό ρόλο της OPN σε διάφορες φλεγμονώδεις και αυτοάνοσες παθήσεις.

Βιοσύνθεση

Η οστεοποντίνη βιοσυντίθεται σε ποικίλους τύπους ιστών. Έτσι, σε διάφορες μελέτες έχει αποδειχθεί η βιοσύνθεση σε καρδιακούς ινοβλάστες, σε βλαστικά κύτταρα, σε οστεοβλάστες, σε οστεοκύτταρα, σε κύτταρα μυελού των οστών, σε υπερτροφικά χονδροκύτταρα, σε δενδριτικά κύτταρα, σε μακροφάγα, σε κύτταρα λείων μυών, σε μυοβλάστες σκελετικών μυών, σε ενδοθηλιακά κύτταρα και σε κύτταρα του έσω ωτός, σε κύτταρα του νευρικού συστήματος τόσο στον εγκέφαλο όσο και σε κύτταρα του νωτιαίου μυελού και των περιφερικών νεύρων, καθώς και σε νεφρικά κύτταρα και σε πλήθος άλλες ομάδες κυττάρων.

Η σύνθεση της οστεοποντίνης διεγείρεται από την καλσιτριόλη (1,25-διϋδροξυ-βιταμίνη D3).

Ρύθμιση

Η κατανόηση με λεπτομέρειες της βιοσύνθεσης της OPN δεν έχει ακόμη επιτευχθεί και η ερμηνεία της βιολογικής οδού ρύθμισης του γονιδίου δεν είναι πλήρως κατανοητή.

Διαφορετικοί τύποι κυττάρων μπορεί να διαφέρουν ως προς τους ρυθμιστικούς μηχανισμούς του γονιδίου της OPN. Η έκφραση της OPN στα οστά εμφανίζεται κυρίως στους οστεοβλάστες και στα οστεοκύτταρα (κύτταρα που σχηματίζουν οστίτη ιστό), καθώς επίσης και στους οστεοκλάστες (κύτταρα που απορροφούν οστίτη ιστό).

Η υποκαλιαιμία και η υποφωσφαταιμία (περιπτώσεις που διεγείρουν τα κύτταρα των εγγύς σωληναρίων των νεφρών για την παραγωγή καλσιτριόλης [1α, 25-διυδροξυβιταμίνης D3]), οδηγούν σε αύξηση της μεταγραφής, μετάφρασης και έκκρισης της OPN.

Το εξωκυτταρικό ανόργανο φωσφορικό (ePi) έχει, επίσης, αναγνωριστεί ως ρυθμιστής της έκφρασης της OPN. Η διέγερση της έκφρασης της OPN συμβαίνει, επίσης, μετά την έκθεση των κυττάρων σε προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες, κλασσικούς μεσολαβητές οξείας φλεγμονής (π.χ. παράγοντας νέκρωσης όγκου α [TNPα], ιντερλευκίνη-1β [IL-1β], αγγειοτενσίνη II) και της παραθυρεοειδούς ορμόνης (PTH).

Η υπεργλυκαιμία και η υποξία είναι, επίσης, γνωστό ότι αυξάνουν την έκφραση της οστεοποντίνης.

Βιολογική λειτουργία

Ρόλος στην ασβεστοποίηση των οστών

Η OPN ανήκει σε μια οικογένεια εκκρινόμενων όξινων πρωτεϊνών, που περιέχουν αφθονία αρνητικά φορτισμένων αμινοξέων, όπως τα Asp και Glu. Έχουν, επίσης, μεγάλο αριθμό θέσεων αλληλουχίας σύνδεσης για μετα-μεταφραστική φωσφορυλίωση κατακερματισμένων κατάλοιπων προς σχηματισμό φωσφοσερίνης, παρέχοντας επιπλέον αρνητικό φορτίο.

Συνεχείς αλληλουχίες υψηλού αρνητικού φορτίου στην OPN αναγνωρίστηκαν και καλούνται ως το polyAsp μοτίβο (του πολυ-ασπαρτικού οξέως) και το μοτίβο ASARM (όξινο μοτίβο πλούσιο σε σερίνη και ασπαρτικό), με την τελευταία αλληλουχία να έχει πολλαπλές θέσεις φωσφορυλίωσης [266].

Αυτό το συνολικό αρνητικό φορτίο της OPN, μαζί με τα ειδικά όξινα μοτίβα που σχηματίζονται και με το γεγονός ότι η OPN είναι μια εγγενώς ασταθής πρωτεΐνη, που επιτρέπει σχηματισμό ανοικτών και εύκαμπτων δομών, της επιτρέπει να σχηματίζει ισχυρούς δεσμούς με τα άτομα ασβεστίου που είναι διαθέσιμα στις κρυσταλλικές επιφάνειες σε διάφορα βιολογικά συστατικά.

Τέτοιου είδους δεσμοί είναι αυτοί που σχηματίζονται σε διάφορες οργανικές δομές, με ποικίλους τύπους βιοστοιχείων βασισμένων στο ασβέστιο (όπως το φωσφορικό ασβέστιο σε οστά και δόντια, το ανόργανο ανθρακικό ασβέστιο του έσω ωτός και στα ωοθυλάκια, το οξαλικό ασβέστιο στους νεφρικούς λίθους) με αποτέλεσμα η οστεοποντίνη να επιδρά στη ρύθμιση της ανάπτυξης των κρυστάλλων, δρώντας ως αναστολέας της ασβεστοποίησης.

Πρόκειται, δηλαδή, για μια πρωτεΐνη υποστρώματος για έναν μεγάλο αριθμό ενζύμων, των οποίων οι δράσεις μπορούν να τροποποιήσουν την ανασταλτική λειτουργία της οστεοποντίνης όσον αφορά την ασβεστοποίηση.

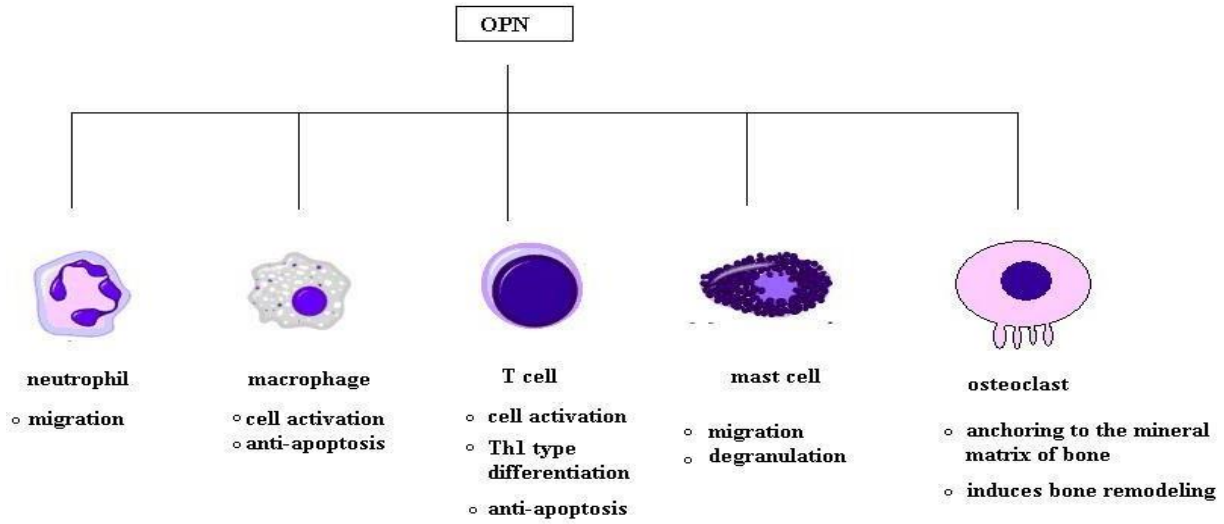
Εκτός από τον ρόλο της στη ρύθμιση της φυσιολογικής ασβεστοποίησης εντός της εξωκυττάριας ουσίας στα οστά και στα δόντια, η OPN, επίσης, παίζει καθοριστικό ρόλο στις περιοχές όπου συμβαίνει παθολογική, έκτοπη ασβεστοποίηση - όπως για παράδειγμα σε περιπτώσεις ουρολιθίασης ή ενδαγγειακής ασβέστωσης - πιθανώς διότι εν μέρει συντελεί στην αναστολή της ασβεστοποίησης σε αυτούς τους μαλακούς ιστούς [267].

Ρόλος στις ανοσολογικές λειτουργίες

Όπως συζητήθηκε, το OPN δεσμεύεται σε αρκετούς υποδοχείς ιντεγκρίνης συμπεριλαμβανομένων των α4β1, α9β1 και α9β4 που εκφράζονται από λευκοκύτταρα.

Αυτοί οι υποδοχείς έχουν αναγνωρισθεί να δρουν στην κυτταρική προσκόλληση, τη μετανάστευση και την επιβίωση σε αυτά τα κύτταρα. Ως εκ τούτου, οι πρόσφατες ερευνητικές προσπάθειες επικεντρώθηκαν στον ρόλο της OPN στη διαμεσολάβηση τέτοιων απαντήσεων.

Η OPN αναφέρθηκε ότι δρα ως ένας ρυθμιστής ανοσίας με διάφορους τρόπους. Πρώτον, έχει χημειοτακτικές ιδιότητες, οι οποίες προάγουν την πρόσληψη κυττάρων σε φλεγμονώδεις θέσεις. Λειτουργεί, επίσης, ως πρωτεΐνη προσκόλλησης που εμπλέκεται στην προσκόλληση των κυττάρων και στην εποίκιλωση πληγών. Επιπλέον, το OPN διαμεσολαβεί στην ενεργοποίηση κυττάρων και παραγωγή κυτοκίνης, καθώς και στην προαγωγή της κυτταρικής επιβίωσης ρυθμίζοντας την απόπτωση.



Ενεργοποίηση κυττάρων

Τα ενεργοποιημένα Τ κύτταρα προάγονται από την IL-12 για να διαφοροποιηθούν προς τον τύπο Th1, παράγοντας κυτοκίνες. Η OPN αναστέλλει την παραγωγή της Th2 κυτοκίνης IL-10, η οποία οδηγεί σε αυξημένη Th1 απόκριση. Η OPN επηρεάζει την ανοσία που προκαλείται από κύτταρα και έχει λειτουργίες κυτοκίνης Th1. Αυξάνει την παραγωγή και τον πολλαπλασιασμό ανοσοσφαιρίνης των Β-κυττάρων [271].

Μελέτες του 2008 υποδεικνύουν ότι η OPN προκαλεί, επίσης, αποκοκκίωση των μαστοκυττάρων. Οι ερευνητές παρατήρησαν ότι η αναφυλαξία με μεσολάβηση IgE μειώθηκε σημαντικά σε πειραματόζωα με OPN «knock-out» σε σύγκριση με αυτά του άγριου τύπου [269].

Ο ρόλος της OPN στην ενεργοποίηση των μακροφάγων έχει, επίσης, εμπλακεί σε μια μελέτη καρκίνου, όταν οι ερευνητές ανακάλυψαν ότι οι όγκοι που παράγουν OPN ήταν σε θέση να προκαλέσουν ενεργοποίηση μακροφάγων σε σύγκριση με όγκους με έλλειψη OPN.

Απόπτωση

Η OPN είναι ένας σημαντικός αντι-αποπτωτικός παράγοντας σε πολλές περιπτώσεις. Η OPN αποκλείει τον επαγόμενο από την ενεργοποίηση κυτταρικό θάνατο των μακροφάγων και των Τ κυττάρων, καθώς και των ινοβλαστών και των ενδοθηλιακών κυττάρων που εκτίθενται σε επιβλαβείς ερεθισμούς.

Πιθανή κλινική εφαρμογή

Το γεγονός ότι η OPN αλληλεπιδρά με πολλαπλούς υποδοχείς κυτταρικής επιφάνειας, την καθιστά ενεργό παράγοντα σε πολλές φυσιολογικές και παθολογικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένης της επούλωσης των πληγών, της οστικής μεταβολής, της γένεσης του όγκου, της φλεγμονής, της ισχαιμίας και των ανοσοαποκρίσεων [268, 270, 272].

Ρόλος στις νευρολογικές διαταραχές

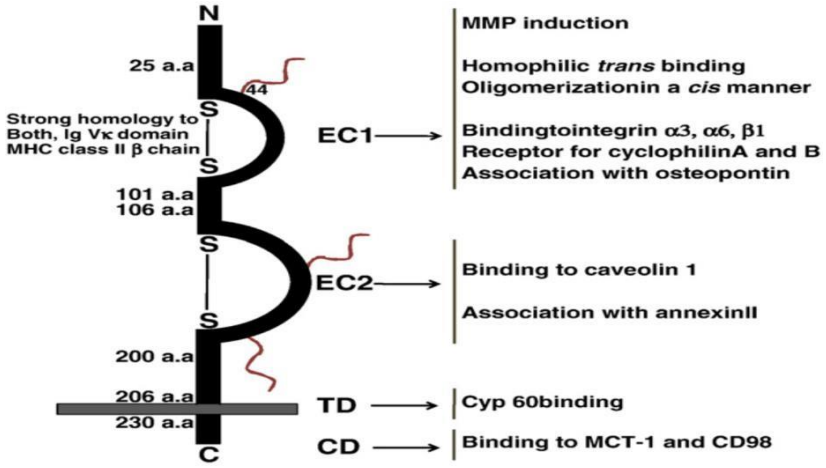
Η έκφραση της OPN ήταν αυξημένη στους εγκεφάλους αρουραίων με πειραματική αυτοάνοση εγκεφαλομυελίτιδα (EAE), αλλά όχι σε εγκεφάλους αρουραίων προστατευμένων από EAE. Η σοβαρότητα της EAE μειώθηκε σημαντικά σε αυτούς με έλλειψη OPN. Τα επίπεδα έκφρασης της OPN στο πλάσμα και στους ιστούς είναι, επίσης, αυξημένα σε αρκετές φλεγμονώδεις ή αυτοάνοσες διαταραχές, όπως ρευματοειδή αρθρίτιδα, φλεγμονώδους νόσους του εντέρου, συστηματικό ερυθηματώδη λύκο κ.α.
Πρόσφατα, ο σημαντικός ρόλος της OPN στη νόσο του Alzheimer, έχει διερευνηθεί σε μοντέλο ανθρώπων και ζώων [273, 274, 275, 276].

EMMPRIN

Μοριακή δομή

Η EMMPRIN (Extracellular Matrix MetalloPRoteinase INducer, EMMPRIN, EMP) προάγει τη σύνθεση των MMPs και διεγείρει την έκκριση των MMP-9 από τα μονοκύτταρα και την έκκριση των MMP-2 από τα κύτταρα των λείων μυϊκών ινών. Πρόκειται για μια ισχυρά γλυκοζυλιωμένη, διαμεμβρανική πρωτεΐνη τύπου Ι που ανήκει στην υπεροικογένεια των Ig ανοσοσφαιρινών.

Αποτελείται από δύο εξωκυτταρικά (extracellular- EC) μέρη (ECI και ECII), μία μεμονωμένη διαμεμβρανική περιοχή και ένα μικρό κυτταροπλασματικό τμήμα. Η ανάλυση της κρυσταλλικής δομής αποκάλυψε ότι η περιοχή ECI έχει μία σταθερή διάταξη 2-σετ Ig (περιοχή IgC2) και ότι η περιοχή ECII έχει μια διάταξη Ig με ενδιάμεση διάταξη (περιοχή Ig1). Ένας επιπλέον τομέας (Ig0), ο οποίος περιγράφηκε πρόσφατα σε ειδική ισόμορφη του μορίου της, (αναφερόμενος ως basigin-1) έχει, επίσης, δομή τομέα Ig1. Αυτές οι περιοχές περιέχονται σε πολλά μέλη της υπερ-οικογένειας των ανοσοσφαιρινών που σχηματίζουν μόρια κυτταρικής προσκόλλησης και επιφανειακούς υποδοχείς [277, 278].



S.M. Agrawal, V.W. Yong / Biochimica et Biophysica Acta 1812 (2011) 213–219

Ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά σε καρκινικά κύτταρα που προκάλεσαν την έκφραση της MMP-1 ή κολλαγενάσης, σε γειτονικούς ινοβλάστες. Το γονίδιο που την κωδικοποιεί προσδιορίστηκε ως προς την αλληλουχία των βάσεων και χαρακτηρίστηκε. Βρέθηκε να έχει υψηλό βαθμό συντήρησης μεταξύ των ειδών.

Κάθε τομέας της (EMP) μπορεί να αλληλεπιδράσει με διαφορετικές πρωτεΐνες και να παρουσιάσει διαφορετικές λειτουργίες. Η περιοχή ECI είναι κρίσιμη για την επαγωγή της δράσης των μεταλλοπρωτεϊνασών. Η αλληλεπίδραση της περιοχής ECII με caveolin-1 έχει αποδειχθεί ότι ευοδώνει τη συσσώρευσή της στη μεμβράνη του πλάσματος και ρυθμίζει την επαγωγή της δραστικότητας της MMP-1.

Οι κυκλοφιλίνες A και B (CypA/B) δεσμεύονται επίσης στην περιοχή ECII της (EMP) και μπορούν να συμμετέχουν σε οδούς για επιβίωση και χημειοταξία.

Η διαμεμβρανική περιοχή του μορίου, μπορεί να αλληλεπιδράσει με πρωτεΐνες όπως το Cyp60 και οι μονοκαρβοξυλικοί μεταφορείς (MCTs), (MCT-1 και MCT-4). Είναι πιθανό ότι το κατάλοιπο γλουταμικού οξέος που βρίσκεται στη διαμεμβρανική περιοχή της (EMP) αλληλεπιδρά με τα υπολείμματα αργινίνης που υπάρχουν στην όγδοη διαμεμβρανική περιοχή των MCT-1 και MCT-4.

ΚΝΣ και EMMPRIN

Στο ΚΝΣ, η (EMP) αποδείχθηκε ότι εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στο ενδοθήλιο των τριχοειδών του εγκεφάλου και σε διάφορες υποπεριοχές του εγκεφάλου, συμπεριλαμβανομένου του μεταιχμιακού συστήματος και των νευρωνικών στρωμάτων εντός του φλοιού και της παρεγκεφαλίδας. Οι διάφορες μελέτες επισημαίνουν την κοινή έκφρασή της σε εγκέφαλο ανθρώπων και ποντικών, υπογραμμίζοντας τη σημασία αυτής της γλυκοπρωτεΐνης στις κανονικές λειτουργίες του εγκεφάλου [279].

EMMPRIN σε διαταραχές του ΚΝΣ- Σκλήρυνση κατά πλάκας (MS)

Η πολλαπλή σκλήρυνση ή σκλήρυνση κατά πλάκας (ΣΚΠ) (multiple sclerosis -MS), είναι μια σύνθετη νευρολογική ασθένεια που εκδηλώνεται με απομυελίνωση των νευραξόνων και νευρωνική/νευραξονική απώλεια εντός του ΚΝΣ. Η ΣΚΠ αποτελεί πρότυπο διήθησης CD4 + και CD8 + Τ λεμφοκυττάρων, μονοκυττάρων/μακροφάγων, φυσικών «φονικών» κυττάρων και αντισωμάτων που παράγουν τα Β-λεμφοκύτταρα εντός του ΚΝΣ, ώστε να εκδηλωθεί το σύνολο της διαδικασίας της νευρικής βλάβης [280].

Οι ιντεγκρίνες διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στη μεταφορά λευκοκυττάρων στο παρέγχυμα του ΚΝΣ διευκολύνοντας την προσκόλληση των λευκοκυττάρων στα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα.

Η αντιφλεγμονώδης θεραπεία με μονοκλωνικό αντίσωμα, που είναι μια αντι-α4 ιντεγκρίνη, βελτιώνει τις εκδηλώσεις των οξέων φλεγμονωδών διεργασιών που σχετίζονται με την ΣΚΠ [281, 282].

Δεδομένου ότι η (EMP) αλληλεπιδρά επίσης με τις ιντεγκρίνες, μπορεί να έχει ένα δυναμικό θεραπευτικό στόχο στην σκλήρυνση κατά πλάκας. Πράγματι, η χορήγηση ενός αντισώματος αντι- EMMPPIN σε ινδικά χοιρίδια με πειραματική αυτοάνοση εγκεφαλομυελίτιδα (EAE) -που αποτελεί ένα πειραματικό μοντέλο της ΣΚΠ στα πειραματόζωα- μείωσε την παρεγχυματική διείσδυση των λευκοκυττάρων στο ΚΝΣ. Ένας μηχανισμός του θεραπευτικού αποτελέσματος του αντι-EMMPPIN αντισώματος μπορεί να περιλαμβάνει τη μεταβολή της αλληλεπίδρασης ιντεγκρίνης - EMMPPIN στα λευκοκύτταρα.

Η διάσπαση του αιματο-εγκεφαλικού φραγμού (ΑΕΦ) από τις MMPs είναι υψηλής σημασίας, ώστε να επιτευχθεί η μετανάστευση των λευκοκυττάρων στο ΚΝΣ. Πράγματι, παρατηρήθηκε αύξηση της δραστικότητας των MMPs σε βλάβες της λευκής ουσίας καθώς και σε περιπτώσεις κανονικής εμφάνισης της λευκής ουσίας σε εγκέφαλους με ΣΚΠ, η οποία συνοδεύτηκε από αύξηση των προ-φλεγμονωδών κυτοκινών.

Περαιτέρω, η εφαρμογή αντισώματος αντι-EMMPPIN σε πειραματόζωα με (EAE) μειώνει την έκφραση των MMPs, μειώνεται η διείσδυση των λευκοκυττάρων στο ΚΝΣ και ως εκ τούτου μειώνεται η σοβαρότητα της νόσου.

Αυτές οι παρατηρήσεις αποτελούν απόδειξη της συμμετοχής της (EMP) στην παθολογία της MS και υποστηρίζουν τη στόχευσή της, ως μέτρο για τη θεραπευτική αντιμετώπιση της πάθησης.

Εγκεφαλικό επεισόδιο / ισχαιμία

Η βλάβη των εγκεφαλικών κυττάρων μετά από εγκεφαλικό επεισόδιο μπορεί να προκληθεί είτε από διακοπτόμενη παροχή αίματος (ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο) είτε από ρήξη αιμοφόρων αγγείων στο ενδοεγκεφαλικό παρέγχυμα ή στον υπαραχνοειδή ή ενδοκοιλιακό χώρο (αιμορραγικό εγκεφαλικό επεισόδιο).

Μελέτες έχουν δείξει ότι τα επίπεδα των MMP-2 και MMP-9 αυξήθηκαν μετά από παροδική εστιακή ισχαιμία σε εγκεφάλους αρουραίου και ότι αυτή η αύξηση στην παραγωγή MMP συσχετίστηκε με αυξημένο μέγεθος του ισχαιμικού εμφράκτου.

Μία ισχυρή συσχέτιση παρατηρήθηκε, επίσης, μεταξύ της πρώιμης έκφρασης της MMP- 2 και MMP-9 και τη διάσπαση του ΑΕΦ τόσο σε πειραματικά μοντέλα με πρόκληση παροδικών ισχαιμικών σε ινδικά χοιρίδια, όσο και σε μελέτες των αγγειακών εγκεφαλικών στους ανθρώπους. Σε ασθενείς με οξύ ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο φάνηκε ότι η έκφραση των MMPs συσχετίζεται με τη σοβαρότητα του εγκεφαλικού επεισοδίου, υπογραμμίζοντας έτσι τη σημασία των MMPs στην παθολογία αυτής της ασθένειας [283, 284].

Ως καθορισμένος επαγωγέας των MMPs, η (EMP) χαρακτηρίζει τη βιωσιμότητα ενός υποψήφιου πειραματικού μοντέλου, για την έρευνα των εγκεφαλικών επεισοδίων. Πράγματι, βρέθηκε αυξημένη στα βασικά γάγγλια και στον φλοιό ενός πειραματικού μοντέλου εγκεφαλικής ισχαιμίας ινδικού χοιριδίου (μοντέλο ισχαιμίας-επαναιμάτωσης), όπου τα επίπεδά της φάνηκαν να συσχετίζονται ισχυρά με την αυξημένη έκφραση της MMP. Επίσης, σε μοντέλο πρόκλησης μόνιμης εστιακής εγκεφαλικής βλάβης-εμφράκτου, η έκφραση της (EMP) αυξήθηκε σημαντικά στην περιοχή γύρω από το έμφρακτο, 2 έως 7 ημέρες μετά την πρόκληση της ισχαιμικής βλάβης, σε σύγκριση με το αντίπλευρο μη ισχαιμικό ημισφαίριο, κάτι που συσχετίσθηκε με την αυξημένη έκφραση της MMP-9.

Ενώ αυτές οι μελέτες έδειξαν την συσχέτιση μεταξύ της αυξημένης δράσης της (EMP) και της έκφρασης των MMPs, απέτυχαν να αποδείξουν την εμπλοκή της στον νευρωνικό θάνατο που σχετίζεται με την ισχαιμία-εγκεφαλικό επεισόδιο. Τα διάφορα ευρήματα επισημαίνουν τις πλειοτροπικές λειτουργίες της EMMPRIN και θέτουν τη βάση για την περαιτέρω έρευνα σχετικά με τη συμμετοχή της στην ισχαιμία και το εγκεφαλικό επεισόδιο [285].

Η ασθένεια Αλτσχάϊμερ

Η νόσος του Αλτσχάιμερ (Alzheimer's Disease-AD), είναι μια νευροεκφυλιστική διαταραχή που χαρακτηρίζεται από προοδευτική νευρωνική απώλεια λόγω εναπόθεσης εξωκυτταρικών πλακών που περιέχουν πεπτίδια Αβ (β-αμυλοειδούς) και νευροϊνιδιακών πλεγμάτων αποτελούμενων από υπερφωσφορυλιωμένες πρωτεΐνες tau [286].

Σημαντική είναι η αύξηση στην ενεργοποίηση της μικρογλοίας και των φλεγμονωδών διεργασιών, συμπεριλαμβανομένης της διήθησης των περιφερειακών λευκοκυττάρων στο εγκεφαλικό παρέγχυμα.

Από την άποψη αυτή, έχει αποδειχθεί ότι τα αστροκύτταρα που περιβάλλουν τις πλάκες του αμυλοειδούς εκφράζουν υψηλά επίπεδα της MMP-2 και του ενεργοποιητή MT1-MMP, που βοηθάει στην εισχώρηση των λευκοκύτταρων στον πάσχοντα εγκέφαλο [287, 288, 289].

Αυξημένα επίπεδα MMP-9 και μειωμένα επίπεδα ιστικών αναστολέων των MMPs (TMP-1) βρέθηκαν να είναι υπεύθυνα για την αποικοδόμηση των πεπτιδίων Αβ και την κάθαρσή τους στον εγκέφαλο. Φάνηκε πως αν η (EMP) απορυθμιστεί και καταστεί ανενεργή στα εγκεφαλικά κύτταρα των ασθενών με AD και ειδικά στους νευρώνες, το αποτέλεσμα είναι η συσσώρευση πεπτιδίων Αβ. Αυτό υποστηρίζεται από πρόσφατα ευρήματα που έδειξαν μειωμένα επίπεδα MMP-9 στο ΕΝΥ ασθενών με AD, σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες.

Γλοιώματα

Τα γλοιώματα είναι όγκοι γλοιακής προέλευσης στο ΚΝΣ και μπορούν να ταξινομηθούν ως βαθμοί I-II (σχετικά καλοήθεις και καλά διαφοροποιημένοι όγκοι) του WHO (World Health Organization - Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας - ΠΟΥ) ή βαθμοί III-IV του WHO (πολύ κακοήθεις και αδιαφοροποίητοι όγκοι) με βάση τις μεταστατικές τους ιδιότητες [290].Η βάση δεδομένων oncomine (http://www.oncomine.org) και Repository για τη βάση δεδομένων Molecular Neoplasia DaTa (REMBRANDT, www.betastasis.com, καταδεικνύουν ότι τα γλοιώματα παρουσιάζουν υψηλότερη έκφραση της (EMP) σε σύγκριση με όγκους από την περιφέρεια, κάτι που την ανέδειξε σε έναν ισχυρό αρνητικό προγνωστικό δείκτη [291, 292, 293].

Για παράδειγμα, σε ασθενείς με αστροκυτταρικά γλοιώματα, η έκφρασή της αυξήθηκε στους ιστούς του γλοιώματος, σε σύγκριση με ιστούς από φυσιολογικούς εγκεφάλους και η έκφρασή της συσχετίστηκε σημαντικά με τα προχωρημένα στάδια της νόσου [294].

EMMPRIN και μεταβολισμός

Στο ΚΝΣ, τα αστροκύτταρα είναι η κύρια πηγή γαλακτικού οξέος, ένα υποπροϊόν της γλυκόλυσης και μια κύρια πηγή ενέργειας για τους νευρώνες. Το γαλακτικό εκκρίνεται από τα αστροκύτταρα χάρη στα συνδεδεμένα με πρωτόνια MCTs, MCT-1 και MCT-4 και μεταφέρεται σε νευρώνες μέσω MCT-2. Έχει αποδειχθεί ότι η (EMP) αλληλεπιδρά και ρυθμίζει την έκφραση του MCT-1 στα αστροκύτταρα.

Η (EMP) εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό σε διάφορες περιοχές του εγκεφάλου των θηλαστικών και αυξάνεται η παραγωγή της σε αρκετές διαταραχές του ΚΝΣ. Μελέτες που καταδεικνύουν τη συμμετοχή των MMPs στην αιτιολογία της νόσου, υποστηρίζουν τη στόχευση της (EMP) ως μέτρο για την επίλυση της παθολογίας, μια προσέγγιση που ανοίγει νέες προοπτικές για πολλά υποσχόμενες θεραπείες. Ωστόσο, δεδομένου ότι η (EMP) παίζει σημαντικό ρόλο για τις βασικές λειτουργίες του ΚΝΣ, προτείνεται η προσεκτική χρήση θεραπειών.

Μία λύση είναι η χρήση θεραπευτικών στρατηγικών με αντι-EMMPRIN αντισώματα, που εμποδίζουν τη λειτουργία χωρίς να εισέρχονται στο ΚΝΣ. Με αυτόν τον τρόπο, η (EMP) που ρυθμίζει λειτουργίες των λευκοκυττάρων, μπορεί να ανασταλεί και να παρεμποδιστούν αυτά, χωρίς να επηρεαστούν οι σημαντικές λειτουργίες της (EMP) εντός του ΚΝΣ.

Στην παρούσα μελέτη διερευνάται ο ρόλος της EMP ως προγνωστικός δείκτης στην κρανιοεγκεφαλική κάκωση, τόσο σε ασθενείς που αντιμετωπίσθηκαν χειρουργικά, όσο κα σε αυτούς που αντιμετωπίσθηκαν συντηρητικά, σε σχέση με νευρολογικούς ασθενείς και μάρτυρες της ομάδα ελέγχου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΒΛΑΣΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Η εξέλιξη της επιστημονικής έρευνας όσον αφορά στη μελέτη των βλαστοκυττάρων και σε συνδυασμό με την εφαρμογή των νέων βιοτεχνολογιών έχει επιτρέψει τη δημιουργία σύγχρονων, πολλά υποσχόμενων, θεραπευτικών μεθόδων και ένα νέο επιστημονικό πεδίο, αυτό της αναγεννητικής ιατρικής. Η αξιοποίηση των βλαστικών κυττάρων διερευνάται σε ποικίλες θεραπείες, κάποιες εκ των οποίων έχουν δώσει θετικά και ελπιδοφόρα αποτελέσματα, ιδιαίτερα σε σχέση με ανίατες εκφυλιστικές παθήσεις και τραυματισμούς που έχουν σαν αποτέλεσμα τη δυσλειτουργία ή και καταστροφή εξειδικευμένων κυτταρικών πληθυσμών [295].

α) σε νευροεκφύλιση

Η έρευνα μέχρι σήμερα προσπαθεί να υποστηρίξει τη χρήση των βλαστικών κυττάρων να προσφέρει κυτταρική αντικατάσταση ή/και να παρέχει εμπλουτισμό του περιβάλλοντος προς εξασθένηση και εξουδετέρωση της διαδικασίας της νευροεκφύλισης. Η κυτταρική αντικατάσταση σκοπό έχει την αναπαραγωγή, πολλαπλασιασμό και νευροτροποποίηση ώστε να σταθεροποιηθούν τα νευρωνικά δίκτυα [296].

Τα βλαστικά κύτταρα θα μπορούσαν δυνητικά να βοηθήσουν στη μείωση των μακροπρόθεσμων επιπτώσεων της νευροαξονικής εκφύλισης, μέσω πολλαπλών μηχανισμών που περιλαμβάνουν την επαγωγή της αγγειογένεσης, την προώθηση της νευρογένεσης, την πρόληψη της απόπτωσης και την ανοσορύθμιση [297]. Πρόσφατες μελέτες σε πειραματικά ζωικά μοντέλα στα οποία προκαλείται άμεσος τραυματισμός του εγκεφάλου, δοκίμασαν τις δυνατότητες επαγωγής της νευρογένεσης και δημιουργίας νευροπροστατευτικού περιβάλλοντος με την έγχυση νευρογενών αυξητικών παραγόντων είτε στο περιφερικό κυκλοφορικό σύστημα είτε ενδοκοιλιακώς, ενδοεγκεφαλικώς και ενδορραχιαίως.

Επιπλέον, ο εμπλουτισμός του μικρο-περιβάλλοντος μπορεί να παρέχει νευροτροφική υποστήριξη και νευροπροστασία σε «εν δυνάμει» υγιή κύτταρα, μέσω της παρεμπόδισης παραγωγής και συσσώρευσης τοξικών παραγόντων. Η νευροτροφική δράση, η νευροτροποποίηση και η νευροπροστασία θα ελεγχθούν μέσω των μηχανισμών επαγωγής της αγγειογένεσης, προώθησης της νευρογένεσης, μελέτης της απόπτωσης και της ανοσορύθμισης και ανοσοαπάντησης [298, 299, 301].

β) σε Κρανιοεγκεφαλική Κάκωση

Η λεπτομερής παθοφυσιολογία της ΚΕΚ δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως, αλλά υπάρχουν πολλά στοιχεία που έχουν εκτενώς μελετηθεί στα πλαίσια της επέλευσης της πρωτογενούς και δευτερογενούς εγκεφαλικής βλάβης. Σε άμεση αντίθεση με άλλους ιστούς στο σώμα των θηλαστικών, στον εγκέφαλο δεν είναι δυνατή η αναγέννηση και η επανασύνδεση των τραυματισμένων περιοχών με τις μη τραυματισμένες.

Θεραπείες που βασίζονται σε βλαστοκύτταρα έχουν προταθεί ως εναλλακτική θεραπευτική οδό στοχεύοντας στο θεραπευτικό παράθυρο μετά τον τραυματισμό του εγκεφάλου, προκειμένου να προωθηθεί η «νευροαναγέννηση», ή η «νευροπροστασία» τόσο κατά τη διάρκεια της οξείας φάσης της κρανιοεγκεφαλικής κάκωσης, όσο και κατά το στάδιο της αποκατάστασης [300, 306].

- Τα ενδογενή ενήλικα νευρικά βλαστοκύτταρα, καθώς και τα προγονικά κύτταρα που βρίσκονται στις νευρογενείς περιοχές του εγκεφάλου [305], μπορούν να παράσχουν αναγεννητική και επανορθωτική λειτουργία σε τραυματισμούς του ΚΝΣ. Υπάρχει αυξημένη νευρογενής απόκριση μετά

από ΚΕΚ, ιδιαίτερα στην υποκοιλιακή ζώνη (SVZ) και την οδοντωτή έλικα (DG) του ιππόκαμπου. Η εκδήλωση αυτής της ενδογενούς απόκρισης θα μπορούσε να προσφέρει βελτιωμένη αναγέννηση και αποκατάσταση μετά από εγκεφαλικό τραυματισμό [30].

- Η εξωγενής θεραπεία με βλαστοκύτταρα είναι, επίσης, μια περιοχή ενδιαφέροντος για τη θεραπεία της ΚΕΚ, καθώς πιστεύεται ότι όχι μόνο παρέχει μηχανισμούς επιδιόρθωσης, αλλά επίσης διεγείρει τον πολλαπλασιασμό ενδογενών νευρικών βλαστικών κυττάρων.

Η διάσπαση του αιματοεγκεφαλικού φραγμού και η αρχή των διαδικασιών νευροεκφύλισης σε περιοχές όπως ο τραυματισμένος φλοιός, ο ιππόκαμπος και τα τμήματα του διεγκεφάλου έχουν μελετηθεί σε πειραματικά μοντέλα [302, 303, 304].

Τα μικρογλοιακά κύτταρα, τα μονοκύτταρα, τα μακροφάγα και τα ουδετερόφιλα εισβάλλουν σε περιοχές που εμφανίζεται η διάρρηξη του αιματοεγκεφαλικού φραγμού [307, 308]. Αυτή η διαδικασία διεξάγεται μέσω εγγενών οδών σηματοδότησης και στην περίπτωση της ΚΕΚ, μέσω απελευθέρωσης μορίων μοριακού προτύπου σχετιζόμενου με βλάβες (DAMPs-Damage-associated molecular patterns (DAMPs), επίσης γνωστά και ως σήματα κινδύνου (alarmins). Τα σχετιζόμενα με τη βλάβη μοριακά πρότυπα (DAMPs), είναι μόρια που απελευθερώνονται από κύτταρα με διαταραγμένη λειτουργία που υφίστανται νέκρωση και δρουν ως σήματα ενδογενούς κινδύνου για την προαγωγή και επίταση της φλεγμονώδους απόκρισης [307]. Τα περισσότερο γνωστά DAMPs είναι τα HMGB1 (high mobility group box-1), S100A8 (MRP8, καλγκρανουλίνη Α) και S100A9 (MRP14, καλγκρανουλίνη Β) και αμυλοειδές Α (SAA) στον ορό.

Αυτή η ανταπόκριση είναι μια προσπάθεια να αποκατασταθεί η φυσιολογική ομοιόσταση, αλλά εάν η έκταση του τραυματισμού είναι μεγάλη, μπορεί να προκύψουν επιβλαβείς παθολογικές προσαρμογές της ανοσολογικής απόκρισης.

Αυτή η φλεγμονώδης απόκριση μπορεί να παραμείνει για χρόνια και τελικά να συμβάλλει στην χρόνια νευροεκφύλιση.

Ωστόσο, η χρήση για παράδειγμα αντιφλεγμονωδών φαρμάκων λίγο μετά την ΚΕΚ, δεν έχει αποδειχθεί ότι είναι αποτελεσματική θεραπεία, γεγονός που υποδηλώνει ότι η φλεγμονή έχει πολυπαραγοντικό ρόλο, ιδιαίτερα στην οξεία φάση της τραυματικής εγκεφαλικής βλάβης [307, 308, 309].

Βλαστοκύτταρα και Μικρογλοία σε ΚΕΚ

Τα κύτταρα της μικρογλοίας είναι τα πρώτα που ανταποκρίνονται στον εγκεφαλικό τραυματισμό και προκαλούν φλεγμονώδη φαινόμενα. Αυτά τα κύτταρα έχει αποδειχθεί ότι παραμένουν στην τραυματισμένη περιοχή για χρονικό διάστημα μεγαλύτερο του ενός χρόνου. Δεν είναι σαφές εάν τα κύτταρα της μικρογλοίας ανταποκρίνονται στην εκφυλιστική διαδικασία ή την ευοδώνουν ως ενεργοί διαμεσολαβητές και συντελούν έτσι στην παρατεταμένη εκφύλιση της λευκής ουσίας.

Μελέτες έχουν αποκαλύψει ότι στην απόκριση της οξείας φάσης κατά τον κυτταρικό θάνατο, τα μικρογλοιακά κύτταρα παίζουν νευροπροστατευτικό ρόλο, καθώς μετασχηματίζονται σε ιδιαίτερα κινητά φαγοκυτταρικά κύτταρα, τα οποία εισέρχονται σε οριακά κατεστραμμένες περιοχές και σχηματίζουν ένα φαγοκυτταρικό φράγμα. Τα μικρογλοιακά κύτταρα είναι ικανά για διαφορετικές απαντήσεις, γνωστές ως Μ1 και Μ2. Η απόκριση μακροφάγων Μ1 προκαλείται γρήγορα και διατηρείται στο σημείο της βλάβης και τυπικά υπερισχύει της μικρότερης και βραχύτερης αντιφλεγμονώδους απόκρισης των κυττάρων Μ2.

Ο TNF-α και η INFγ προάγουν τη διαφοροποίηση σε Μ1, η οποία είναι ικανή να παράγει οξειδωτικούς μεταβολίτες και προφλεγμονώδεις κυτοκίνες [310, 311, 312, 313, 316].

Αυτή η απάντηση είναι απαραίτητη για την άμυνα του ξενιστή, αλλά μπορεί να οδηγήσει σε δευτερογενή βλάβη

στα υγιή κύτταρα και στον ιστό. Τα κύτταρα M2 ενεργοποιούνται παρουσία IL-4 ή IL-1β, προάγουν την αγγειογένεση και την αναδιαμόρφωση του εξωκυτταρικού σκελετού μήτρας και ρυθμίζουν το ανοσοποιητικό σύστημα.

Ο Kigerl και οι συνεργάτες του, βρήκαν περαιτέρω στοιχεία που υποστηρίζουν ότι τα μακροφάγα M1 είναι νευροτοξικά και ότι τα κύτταρα M2 είναι νευροπροστατευτικά. Η εύρεση ενός τρόπου μετατόπισης των μονοκυττάρων αίματος προς το φαινότυπο M2 μετά από την ΚΕΚ μπορεί να προωθήσει την αποκατάσταση και την αναγέννηση και να μειώσει τη δευτερογενή βλάβη που προκαλείται [317, 318, 319].

Η χρήση βλαστικών κυττάρων για την πρόκληση μακροχρόνιων επιδράσεων της φάσης M2, μελετήθηκε με τη χρήση μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων (MSCs) μετά από ΚΕΚ. Διαπιστώθηκε αυξημένη ρύθμιση των δεικτών έκφρασης M2 σε ποντίκια 3 και 7 ημέρες μετά από την ΚΕΚ. Η ενδοκοιλιακή έγχυση των MSCs προάγει την αναπαραγωγική δραστηριότητα και μειώνει τη φαγοκυττάρωση αντιστρέφοντας αποτελεσματικά τον προφλεγμονώδη φαινότυπο M1, που τυπικά απαντάται ευθύς μετά από την έλευση της εγκεφαλικής βλάβης [314 , 315].

Στην περίπτωση των MSCs, αυτά φαίνεται να δρουν τοπικά στον εγκέφαλο στη θέση της βλάβης και να ελέγχουν την απάντηση της μικρογλοίας μέσω της απελευθέρωσης ενεργών μορίων και όχι μέσω επαφής με κύτταρα-στόχους.

Μία μελέτη που χρησιμοποίησε MSCs σε ένα μοντέλο ποντικών βρήκε ότι ήταν σε θέση να μεταβάλλουν την αναλογία IL-10 και TNF-α προς όφελος της IL-10, υποστηρίζοντας την ικανότητα των MSCs να μετατοπίζουν την μικρογλοία σε έναν αντιφλεγμονώδη φαινότυπο.

Η διερεύνηση βλαστοκυττάρων που μπορούν να προκαλέσουν πρώιμα και επίμονα φαινότυπα M2 για να προωθήσουν την ανάπτυξη και την επισκευή των ιστών είναι ένα σημαντικό θέμα στη έρευνα των βλαστικών κυττάρων.

Βλαστοκύτταρα και Ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα, μακροφάγα σε ΚΕΚ

Η εισβολή ουδετερόφιλων έχει σημαντική επίδραση στις παθολογικές διεργασίες του εγκεφαλικού τραύματος, που περιλαμβάνει αλλοίωση της αγγειακής διαπερατότητας και συμμετοχή στην οξειδωτική βλάβη μέσω έκκρισης λυσοσωμικών ενζύμων και μεταβολών στη εγκεφαλική αιματική ροή.

Τα ουδετερόφιλα δρουν απελευθερώνοντας φλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως IL-6, IL-1 και παράγοντα νέκρωσης όγκων άλφα (TNF-α).

Λίγο μετά την ΚΕΚ σε ανθρώπους, οι ερευνητές βρήκαν συστηματική φλεγμονώδη απόκριση, όπως αποδεικνύεται από την αύξηση του αριθμού των κυκλοφορούντων λευκοκυττάρων, αυξάνοντας την έκφραση των TNF-α, IL-6, C-αντιδρώσας πρωτεΐνης κ.α. Αυτή η αύξηση της οξειδωτικής δραστηριότητας όχι μόνο μπορεί να οδηγήσει σε συστημική βλάβη αλλά μπορεί να επιδεινώσει περαιτέρω δευτερογενή τοπική βλάβη, στην αρχική θέση της ΚΕΚ [320, 321, 322].Τα μακροφάγα εμφανίζουν μια αρχική φάση φαγοκυτταρικών, πρωτεολυτικών και προφλεγμονωδών λειτουργιών, ενώ σε δεύτερη φάση εμφανίζουν αντιφλεγμονώδεις λειτουργίες, οι οποίες περιλαμβάνουν την αναγέννηση, την ανάπτυξη, την αγγειογένεση και την εναπόθεση μορίων του εξωκυττάριου σκελετού.

Βλαστοκύτταρα και αντιφλεγμονώδεις /ανοσολογικές αντιδράσεις

Το προφλεγμονώδες περιβάλλον οδηγεί σε διάσπαση του ΑΕΦ και επιδεινώνει τα νευρολογικά ελλείμματα μετά από τραυματισμό.

Η στόχευση της φλεγμονώδους απόκρισης μετά από οξεία ΚΕΚ είναι μια σημαντική πτυχή της θεραπείας με βλαστοκύτταρα, καθώς η πλειοψηφία των νευρολογικών ελλειμμάτων μετά από ΚΕΚ προκαλείται τόσο από την αρχική προσβολή όσο και από τις δευτερογενείς φλεγμονώδεις αποκρίσεις.

Τα MSCs και η χρήση εξωσωμάτων ενδείκνυνται για κλινική μετάφραση, καθώς οι μελέτες σε ζώα συνεχίζουν να υποστηρίζουν την ικανότητά τους να ρυθμίζουν τη φλεγμονή και να προάγουν τη νευροαναγέννηση [323, 324].

Σημαντικοί τομείς που πρέπει να ληφθούν υπόψη κατά την εργασία για την κλινική μετάφραση της θεραπείας με βλαστοκύτταρα είναι η επιλογή του τύπου των βλαστοκυττάρων που θα χρησιμοποιηθούν, καθώς και ο έλεγχος των συστηματικών επιδράσεων των θεραπειών αυτών.

Τα MSCs έχουν βρεθεί ότι μειώνουν την έντονη φλεγμονώδη απόκριση μετά από την ΚΕΚ, μειώνοντας τα λεμφοκύτταρα. Μία μελέτη που διερευνά τα MSCs και τον τρόπο με τον οποίο ρυθμίζουν την επίδραση των μακροφάγων, διαπίστωσε ότι μπορούν να αναστείλουν την ενεργοποίηση των μακροφάγων και να αποτρέψουν την ωρίμανση και την έκκριση προφλεγμονωδών κυτοκινών, συμπεριλαμβανομένης της IL-1β.

Η κατανόηση του τρόπου βελτίωσης της αποτελεσματικότητας με την επέκταση και τη διαφοροποίηση των κυττάρων, συμβάλλει στην αύξηση της αποτελεσματικότητας της χρήσης βλαστικών κυττάρων για την προώθηση της αποκατάστασης μετά από ΚΕΚ [325, 327, 328, 329 , 330] .

Κλινική μετάφραση σε διάχυτη αξονική βλάβη

Η άμεση εμφύτευση βλαστοκυττάρων προάγει την αναγέννηση των νευρώνων, βελτίωση της νευρολογικής εικόνας και εμφάνιση αντιφλεγμονωδών δράσεων σε ζωικά μοντέλα μελέτης της απάντησης μετά από ελεγχόμενη βλάβη του φλοιού του εγκεφάλου.

Αν και η διάχυτη αξονική βλάβη δεν έχει μελετηθεί διεξοδικά σε ζωικά μοντέλα, διάφοροι ερευνητές, χρησιμοποίησαν ένα πρότυπο επιτάχυνσης κρούσης σε αρουραίους για να μελετήσουν τις επιδράσεις προγονικών κυττάρων ολιγοδενδροκυττάρων (hOPCs) από μια ανθρώπινη σειρά ESC, στην αναδιαμόρφωση της μυελίνης και της νευραξονικής αναγέννησης μετά από διάχυτη αξονική βλάβη.

Τα hOPCs ήταν σε θέση να επιβιώσουν και να μεταναστεύσουν με σχεδόν αποκλειστική συγγένεια προς τις οδούς της λευκής ουσίας.

Στην περιοχή γύρω από τη θέση μεταμόσχευσης, το ποσοστό των ολιγοδενδροκυττάρων με βασική πρωτεΐνη μυελίνης (+), που είναι εκείνα που τροφοδοτούν τους νευράξονες, ήταν σημαντικά υψηλότερο για 3 μήνες. Αυτό υποστηρίζει την ιδέα ότι τα ανθρώπινα ESCs και NSCs μπορούν να οδηγηθούν σε συγκεκριμένη κατεύθυνση μετά τη μεταμόσχευση, και επειδή δεν παρατηρήθηκε γρήγορος πολλαπλασιασμός, θεωρήθηκε πως ήταν μικρή η πιθανότητα υπερανάπτυξης ή ογκογένεσης [331, 332].

Αυτή η μελέτη παρέχει ένα μοντέλο κρανιοεγκεφαλικής κάκωσης που στοχεύει στην αναδιαμόρφωση της μυελίνης ως στρατηγική αναγέννησης μετά από διάχυτη αξονική βλάβη.

Ενδογενή νευρικά βλαστοκύτταρα

Η τραυματική εγκεφαλική βλάβη δημιουργεί σημαντικό stress στον ανθρώπινο εγκέφαλο, καθιστώντας πολύ δύσκολη τη διατήρηση των κατάλληλων γνωστικών ικανοτήτων. Αν και άλλα όργανα του σώματος, όπως το

δέρμα, έχουν την ικανότητα να αυτοανανεώνονται μετά από τραυματισμό, ο εγκεφαλικός νευρικός ιστός δεν μπορεί να αναγεννηθεί. Ένα μεγάλο μέρος της προσοχής τα τελευταία 10 χρόνια έχει αφιερωθεί στην ανακάλυψη της δράσης των νευρικών βλαστοκυττάρων στις ανανεωτικές προσπάθειες του εγκεφάλου.

Τα νευρικά βλαστοκύτταρα έχουν εντοπιστεί σε δύο περιοχές του ενήλικου εγκεφάλου, δηλαδή στην υποκοιλιακή ζώνη (subventricularzone-SVZ) των πλάγιων κοιλιών, οι οποίες παράγουν νευροβλάστες που μετακινούνται μέσω μιας μεταναστευτικής νευρικής οδού (rostral migratory stream -RMS) στον οσφρητικό βολβό και στην υποκοκκώδη ζώνη (SGZ) του ιππόκαμπου προς την οδοντωτή ζώνη. Οι νευροβλάστες ενσωματώνονται σε αυτή και γίνονται πλήρως ώριμοι μέσα σε λίγες εβδομάδες σε μια διαδικασία που ονομάζεται νευρογενέση ενηλίκου ιππόκαμπου [333]. Παραμένει ασαφές εάν αυτές οι περιοχές NSC μπορούν να αντικαταστήσουν τους χαμένους νευρώνες μετά από βλάβη ή τραυματισμό.

Πιο πρόσφατα, έχει προταθεί ότι το νευρογενές σύστημα εντός του SVZ των ενηλίκων είναι ανενεργό. Αν και αυτό το σύστημα έχει αποδειχθεί ότι υπάρχει και σε άλλα ζωικά μοντέλα, όπως σε μελέτες ινδικών χοιριδίων, παραμένει ασαφές κατά πόσο ευνοείται η ανάπτυξη νευροβλαστών στον οσφρητικό βολβό. Ωστόσο, οι επαναλαμβανόμενες ενδείξεις υποδηλώνουν ότι τα NSCs βρίσκονται στο SVZ των ενηλίκων και η εκτεταμένη μετανάστευση στον οσφρητικό βολβό εμφανίζεται σε βρέφη ηλικίας έως 18 μηνών [334, 335, 336].

Υπάρχουν κάποιες ενδείξεις για την υποστήριξη της αυτοανανέωσης των προγονικών κυττάρων στην οδοντωτή έλικα που εμφανίζονται καθ 'όλη τη διάρκεια ζωής, γεγονός που υποδηλώνει ότι μερικά πρόσφατα αναγεννημένα κύτταρα είναι μορφολογικά και φαινοτυπικά όμοια με τους νευρώνες του ιππόκαμπου. Ακριβώς το πως γίνεται η νευροαναγέννηση του ιππόκαμπου και η λειτουργική σημασία της, έχει οδηγήσει σε περαιτέρω διερεύνηση των μηχανισμών ελέγχου στο νευρωνικό κύκλωμα, σχετικά με τον βαθμό νευρογενέσεως και το πρότυπο δημιουργίας μνήμης [337].

Ανταπόκριση των NSC σε ΚΕΚ

Αυξημένες ενδείξεις υποδεικνύουν ότι η ΚΕΚ επάγει νευρογένεση σε ζωικά μοντέλα μέσω ωρίμανσης των NSCs και ενσωμάτωσης σε λειτουργικά ενεργά εγκεφαλικά κύτταρα περιφερικών περιοχών του ιππόκαμπου. Είναι ενδιαφέρον ότι τόσο ο ανθρώπινος όσο και ο ζωικός εγκεφαλικός φλοιός και περιοχές λευκής ουσίας, επιδεικνύουν επαγόμενη από ΚΕΚ νευρογένεση είτε από πολλαπλασιασμό κυττάρων από νευρογενείς περιοχές, όπως η SVZ, είτε από τοπικά κύτταρα.

Είναι αποδεκτό ότι «νευρογένεση» προκαλείται μετά από τραυματική εγκεφαλική βλάβη, αλλά πιο πρόσφατα οι προσπάθειες για ποσοτικοποίηση της ανάκτησης μετά από ΚΕΚ, έδειξαν μεταβλητά αποτελέσματα.

Θεωρήθηκε, λοιπόν, πως η αναγεννητική ικανότητα των NSCs που βρίσκονται στον ενήλικο εγκέφαλο είναι σημαντική για την ανταπόκριση σε τραυματικές εγκεφαλικές βλάβες. Πρόσφατα, η μελέτη διαφόρων αυξητικών παραγόντων έδειξε σημαντική αποτελεσματικότητα στην προαγωγή της νευρογένεσης [351, 352].

Σε μελέτες ενήλικων ζώων έχει αποδειχθεί ότι η ενδοκοιλιακή έγχυση του βασικού παράγοντα ανάπτυξης ινοβλαστών (bFGF) και του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGF) ενισχύει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων στον ιππόκαμπο και την υποκοιλιακή ζώνη (SVZ) οδηγώντας σε βελτιωμένη γνωσιακή λειτουργία. Εκτός από τους παράγοντες ανάπτυξης, φαρμακευτικοί παράγοντες όπως οι στατίνες, η ερυθροποιητίνη και ακόμη και τα αντικαταθλιπτικά, όπως η ιμιπραμίνη, έχουν δείξει ότι ενισχύουν την ενδογενή νευρογένεση και οδηγούν σε βελτίωση της πρόγνωσης [339, 340].

Σε σύγκριση με τα μοντέλα των ζωικών εγκεφάλων, η απλή προαγωγή της νευρογένεσης είναι σημαντικά πιο πολύπλοκη στους ανθρώπους. Οι ανησυχίες σχετικά με πιθανούς τραυματισμούς που σχετίζονται με τη θεραπεία από τη διέγερση της ενδογενούς νευρογένεσης μετά από ΚΕΚ, εξακολουθούν να αποτελούν αντικείμενο

έρευνας. Έχει προταθεί ότι η επαγόμενη από ΚΕΚ νευρογένεση συμβάλλει στην εμφάνιση μετατραυματικής επιληψίας. Συγκεκριμένα, η αυξημένη νευρογένεση εντός του ιππόκαμπου είναι γνωστό ότι έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη επιληπτογόνου δραστηριότητας [341, 342].

Στους ενήλικους ανθρώπους, σε πολλές παθήσεις έχει αποδειχθεί ότι προκαλείται νευρογένεση, όπως στη νόσο του Huntington, σε ισχαιμικό εγκεφαλικό, σε νόσο του Alzheimer, σε επιληψία και σε ενδοεγκεφαλική αιμορραγία. Η νευρογένεση μετά από ΚΕΚ είναι υπό μελέτη, για να διαπιστωθεί εάν υπάρχει η ικανότητα αντικατάστασης των κυττάρων που έχουν υποστεί βλάβη, αποκαθιστώντας έτσι τη λειτουργία του εγκεφάλου. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν την ανάκτηση ελλείμματος σε ανθρώπινα μοντέλα μετά από ΚΕΚ με καλύτερη βελτίωση της γνωσιακής λειτουργίας στα παιδιά, σε σχέση με τους ενήλικες [343. 344].

Εξωγενή βλαστοκύτταρα

Εμβρυονικά βλαστοκύτταρα

Η χρήση εμβρυϊκών βλαστικών κυττάρων (ESCs) στη θεραπεία της τραυματικής εγκεφαλικής βλάβης είναι ένα ερευνητικό πεδίο με αυξανόμενη τάση. Τρεις αξιοσημείωτες κλινικές δοκιμές έχουν χρησιμοποιήσει εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα σε μοντέλα τρωκτικών με ΚΕΚ, με πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα. Σε όλες τις μελέτες, η χρήση ESCs συνδέεται με θετικά αποτελέσματα, όπως η ανάκτηση της κινητικής λειτουργίας, η βελτιωμένη γνωσιακή λειτουργία και η υψηλή επιβίωση των μεταμοσχευμένων κυττάρων.

Σε ορισμένες έρευνες χρησιμοποιήθηκαν μη ανθρώπινα βλαστοκύτταρα πρωτεύοντος, τα οποία βοήθησαν στη μελέτη της ικανότητας των εμβρυϊκών βλαστικών κυττάρων στην αποκατάσταση της λειτουργία τους σε κατεστραμμένους νευρικούς ιστούς. Εμβρυονικά βλαστοκύτταρα πιθήκου Cynomolgus μεταμοσχεύθηκαν σε ποντικούς που είχαν υποβληθεί σε πειραματικό μοντέλο προκλητής εγκεφαλικής βλάβης. Περίπου ένα μήνα μετά τη μεταμόσχευση, οι ποντικοί του πειραματικού μοντέλου είχαν μεγαλύτερη ανάκτηση της κινητικής λειτουργίας από ό,τι οι ποντικοί ελέγχου [345, 346, 347, 348].

Η εργασία του Peruzzaro και των συνεργατών του, είχε ως στόχο να καθορίσει εάν ένα εμπλουτισμένο μετατραυματικό περιβάλλον θα έχει ευεργετική επίδραση στους τρεις βασικούς στόχους της μεταμόσχευσης εμβρυϊκών βλαστικών κυττάρων, α)την ενσωμάτωση, β)τη μετανάστευση και γ)την επιβίωση. Τα αποτελέσματα ήταν ελπιδοφόρα και αποτελούν βασικά στοιχεία για την έρευνα της χρήσης εμπλουτισμένου περιβάλλοντος σε μελέτες βλαστοκυττάρων σε ΚΕΚ [349].

Πολυδύναμα προγονικά κύτταρα ενηλίκων

Τα πολυδύναμα προγονικά κύτταρα ενηλίκων (MAPCs) είναι ένας πληθυσμός κυττάρων που προέρχονται από τον μυελό οστών. Πρώτα απομονωμένα το 2002, τα MAPCs είναι σε θέση να διαφοροποιηθούν in vitro σε MSCs και πολλαπλασιάζονται εκτεταμένα με μικρή απώλεια δυναμικού διαφοροποίησης ή ωρίμανσης. Τα MAPCs μπορούν να θεωρηθούν ως ένας ξεχωριστός in vitro κυτταρικός πληθυσμός από τα MSCs, καθώς εκφράζουν διαφορετικές επιφανειακές πρωτεΐνες, έχουν χαμηλότερη έκφραση MHC Τάξης I και εμφανίζουν πιο ισχυρή ενδοθηλιακή διαφοροποίηση. Ο Bedi και οι συνάδελφοί του διερεύνησαν τις μακροπρόθεσμες επιδράσεις της θεραπείας με MAPCs μετά από ΚΕΚ.
Εντόπισαν μια τοπική μείωση της νευροφλεγμονώδους αντίδρασης και της διατήρησης των φυσιολογικών νευρωνικών αποκρίσεων. Η θεραπεία με MAPCs βελτίωσε τη χωρική εκμάθηση, τη συγκράτηση πληροφοριών και την ανάκτηση μνήμης, καθώς και τα κινητικά ελλείμματα, αποδεικνύοντας τη χρησιμότητα της ενδοφλέβιας χορήγησης MAPCs για τη βελτίωση της μακροχρόνιας γνωσιακής λειτουργίας μετά από ΚΕΚ [350].

Ενήλικα νευρικά βλαστοκύτταρα

Τα νευρικά βλαστικά κύτταρα (NSCs) είναι πολυδύναμα κύτταρα που μπορούν να διαφοροποιηθούν

σε νευρικά κύτταρα. Ωστόσο, η διαφοροποίησή τους σε άλλους τύπους ιστών είναι περιορισμένη. Τα NSCs βρίσκονται στο SVZ της πλάγιας κοιλίας και στην οδοντωτή έλικα του ιππόκαμπου, καθώς και σε άλλα μέρη στον εγκέφαλο, όπως στον εγκεφαλικό φλοιό, την αμυγδαλή, τον υποθάλαμο και τη μέλαινα ουσία. Αυτά τα κύτταρα μπορούν να απομονωθούν, να αναπτυχθούν σε καλλιέργεια και να δημιουργήσουν πολλαπλές νευρικές σειρές, οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε νευρολογικές διαταραχές ως βασικό συστατικό της θεραπείας αντικατάστασης κυττάρων.

Σε ένα μοντέλο ινδικών χοιριδίων με ΚΕΚ, τα ενήλικα NSCs μεταμοσχεύθηκαν σε τραυματισμένες περιοχές του εγκεφάλου. Επέζησαν της διαδικασίας της μεταμόσχευσης και μετανάστευσαν σε τραυματισμένες θέσεις ενώ εξέφρασαν δείκτες για ώριμα αστροκύτταρα και ολιγοδενδροκύτταρα. Σε άλλες μελέτες μοντέλων, δύο εβδομάδες μετά τη μεταμόσχευση των NSCs στον φλοιό, αποκαλύφθηκε ότι ήταν ικανά να βελτιώσουν την κινητική λειτουργία. Ο Lee και οι συνεργάτες του παρουσίασαν σε πειραματικό μοντέλο αιμορραγικού εγκεφαλικού επεισοδίου σε ινδικά χοιρίδια, ότι η έγχυση NCSs ενδοφλεβίως ή ενδοεγκεφαλικά είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της αρχικά προκληθείσας πρωτογενούς βλάβης, με συνέπεια τη μείωση του εγκεφαλικού οιδήματος, γεγονός που αποδόθηκε στις αντιφλεγμονώδεις και αντιαποπτωτικές ιδιότητες των NSCs. Το βέλτιστο χρονικό παράθυρο για τη μεταμόσχευση ήταν 7-14 ημέρες. Οι οδοί χορήγησης περιελάμβαναν ενδορραχιαία, ενδοφλέβια και ενδοαρτηριακή έγχυση. Τα ποσοστά εμφύτευσης ήταν χαμηλά και ο κίνδυνος σχηματισμού εμβόλου κατά τη διάρκεια των ενδοαγγειακών εγχύσεων ήταν υψηλός [353, 354, 355, 356, 357, 358].

Επαγωγικά πολυδύναμα βλαστοκύτταρα

Για να παρατηρηθούν οι χαρακτήρες των μεταμοσχευμένων πολυδύναμων βλαστικών κυττάρων (iPSCs) σε σύγκριση με εκείνα των ESCs, ο Wang και οι συνεργάτες χρησιμοποίησαν ένα μοντέλο ισχαιμίας τρωκτικών με τρεις διαφορετικές επιλογές θεραπείας: 1)από πολυδύναμα βλαστοκύτταρα, 2)εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα και 3)με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού άλατος, για την ομάδα ελέγχου. Και οι δύο ομάδες θεραπείας με βλαστοκύτταρα είχαν καλύτερη νευρολογική βαθμολογία σε σχέση με την ομάδα ελέγχου [362, 363].

Παρόλο που η θεραπεία iPSC είναι πολλά υποσχόμενη, όπως και άλλες θεραπείες, δεν είναι ελεύθερη από πιθανές παρενέργειες. Οι μελέτες πρώιμου ζωικού μοντέλου των iPSC έδειξαν μια τάση για κύτταρα που προέρχονται από εμβρυονικά κύτταρα να σχηματίσουν καλοήθεις όγκους από τα εμβρυϊκά στρώματα βλαστών. Ορισμένα από τα κύτταρα που μεταμοσχεύθηκαν σε ζωικά μοντέλα οδήγησαν τα ζώα να αναπτύξουν νευροεκφυλιστική ασθένεια [359, 360, 361].

Στρωματικά Κύτταρα του Μυελού των Οστών

Ο ανθρώπινος μυελός των οστών περιέχει αιματοποιητικά και μη αιματοποιητικά βλαστοκύτταρα με πολυδύναμα χαρακτηριστικά. Τα στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών (BMSC) διαφοροποιούνται σε μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα που όταν εκτίθενται σε κατάλληλες συνθήκες, έχουν την ικανότητα να διαφοροποιούνται σε πολυάριθμους κυτταρικούς τύπους, ανάμεσα στους οποίους και κύτταρα νευρικού ιστού και νευρογλοίας [364, 365].Ο Shen και οι συνεργάτες του διερεύνησαν τα αποτελέσματα σε μοντέλα αρουραίων με ΚΕΚ που είχαν μεταμοσχευθεί με BMSCs. Τα καλλιεργημένα BMSCs εμφυτεύτηκαν στην τραυματισμένη περιοχή του εγκεφάλου και ακολούθησε αξιολόγηση της νευρολογικής λειτουργίας. Η ανάλυση δεδομένων αποκάλυψε μια αύξηση της έκφρασης του νευροτροφικού παράγοντα, που προέρχεται από νευρογλοιακές κυτταρικές σειρές (GDNF), ο οποίος πιστεύεται ότι είναι ισχυρός προωθητής νευρωνικής επιβίωσης, καθώς και γονίδια άλλων νευροτροφικών παραγόντων.

Επιπλέον, οι αρουραίοι με μεταμοσχευμένα BMSCs παρουσίασαν λιγότερα αποπτωτικά κύτταρα σε σύγκριση με εκείνα της ομάδας ελέγχου και είχαν βελτιωμένα νευρολογικά αποτελέσματα [368, 369, 370].

Η τοπική και ενδοφλέβια χορήγηση BMSCs έχει ερευνηθεί για τη θεραπεία νευρολογικών βλαβών και άλλων

νευρολογικών ασθενειών. Ένα πρωτόκολλο μελέτης πρότεινε την ενδορρινική οδό χορήγησης BMSCs στο ΚΝΣ. Στα πρώτα αποτελέσματα ένας ασθενής με ν.Parkinson ανέφερε βελτίωση σε πολλές αισθητικές, αλλά και κινητικές λειτουργίες. Οι συγγραφείς αναφέρουν τουλάχιστον 10% βελτίωση στη νευρολογική λειτουργία [366, 367].

Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα

Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα (MSCs) είναι πολυδύναμα στρωματικά κύτταρα που προέρχονται από μια ποικιλία ιστών και έχουν την ικανότητα να διαφοροποιούνται σε κύτταρα μεσεγχυματικής όσο και μη μεσεγχυματικής προέλευσης, συμπεριλαμβανομένων κυττάρων νευρικού ιστού.

Μελέτες έδειξαν ότι όταν τα MSCs ανθρώπων και ποντικών, εκτίθενται σε συγκεκριμένες συνθήκες πειραματικής καλλιέργειας και έχουν την ικανότητα να διαφοροποιούνται σε νευρώνες και κύτταρα γλοίας.

Επιπροσθέτως, έχει φανεί ότι προκαλούν αύξηση του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των φυσικών NSCs, με μηχανισμό που σχετίζεται άμεσα με τις κυτοκίνες που απελευθερώνονται από τα MSCs ή έμμεσα, μέσω της ενεργοποίησης των αστροκυττάρων.

Εκτός από την ικανότητά τους για διαφοροποίηση, τα MSCs, φαίνεται να μπορούν να μεταναστεύουν επιλεκτικά σε τραυματισμένους ιστούς στα πειραματικά ζωικά μοντέλα ΚΕΚ, με επαγωγή της διαφοροποίησής τους σε νευρώνες και αστροκύτταρα και βελτίωση της κινητικής λειτουργίας μετά από ΚΕΚ [371, 372, 373].

Ο προτεινόμενος μηχανισμός μέσω του οποίου συμβαίνει αυτό, είναι συνδεδεμένος με κυτοκίνες, αυξητικούς παράγοντες και μόρια προσκόλλησης, όπως το μόριο προσκόλλησης των αγγειακών κυττάρων (VCAM-1), το οποίο επιτρέπει στα MSCs να προσκολληθούν στο ενδοθήλιο του τραυματισμένου ιστού.

Ο Zhang και οι συνεργάτες του εξέτασε τα αντιφλεγμονώδη και ανοσοτροποποιητικά χαρακτηριστικά των MSCs χρησιμοποιώντας μοντέλα ινδικών χοιριδίων με ΚΕΚ. Η νευρολογική λειτουργία βελτιώθηκε στην ομάδα των MSCs εντός χρονικού διαστήματος 3 έως 28 ημερών μετά την ΚΕΚ, σε σύγκριση με αυτή των μαρτύρων, που δεν έγινε χρήση MSCs.

Η ομάδα θεραπείας με MSCs είχε, επίσης, σημαντική μείωση του εγκεφαλικού οιδήματος, ώστε 72 ώρες μετά την ΚΕΚ δεν υπήρχε σημαντική διαφορά μεταξύ αυτής και της ομάδας χωρίς κρανιοεγκεφαλική κάκωση. Η θεραπεία με MSCs μείωσε τον αριθμό των μικρογλοιακών, μακροφάγων/ουδετερόφιλων, των CD3 λεμφοκυττάρων και των αποπτωτικών κυττάρων στον τραυματισμένο εγκεφαλικό φλοιό, καθώς και τις προφλεγμονώδεις κυτοκίνες [381, 382, 383, 384].

Ένα άλλο αξιοσημείωτο γεγονός, όσον αφορά τα MSCs, είναι η ικανότητά τους να καταστέλλουν τα λεμφοκύτταρα. Αυτό το χαρακτηριστικό παρατηρήθηκε σε in vitro και σε in vivo μοντέλα. Σε μια μελέτη έγινε εμφανές ότι τα MSCs μείωσαν την πολλαπλασιαστική απόκριση των λεμφοκυττάρων, κάτι που θα μπορούσε να είναι χρήσιμο στη μείωση των δευτερογενών επιδράσεων της ΚΕΚ.

Επιπλέον, η ερευνητική μελέτη χρησιμοποιεί γενετικώς τροποποιημένα MSCs αποκλειστικά για την παραγωγή αυξητικών παραγόντων, κυτοκινών και χημειοκινών που ενισχύουν τα νευρωνικά κύτταρα μετά από βλάβη, αποτελώντας μια νέα δυνατότητα θεραπείας μετά από ΚΕΚ, χωρίς πραγματική μεταμόσχευση MSCs. [374, 375, 376, 377, 378, 379, 379]

Μία σημαντική επιπλοκή με τη χρήση των MSCs στη θεραπεία της ΚΕΚ παραμένει μακροπρόθεσμα, η πιθανότητα ανάπτυξης όγκου στον εγκέφαλο. Κλινικές δοκιμές που αποσκοπούσαν στον έλεγχο της ασφάλειας χρήσης MSCs σε άτομα με ΚΕΚ, που έκαναν μεταμόσχευση MSCs κατά τη διάρκεια μιας

κρανιακής επέμβασης και στη συνέχεια έλαβαν δεύτερη δόση χορηγούμενη ενδοφλεβίως κατά την εξάμηνη παρακολούθηση, δεν παρουσίασαν ενδείξεις τοξικότητας.

Το 2013, δέκα ασθενείς με σοβαρή ΚΕΚ προσλήφθηκαν για μια κλινική δοκιμή φάσης Ι. Τα MSCs χορηγήθηκαν ενδοφλέβια και ενδορραχιαία. Τα άτομα είχαν βελτίωση στη νευρολογική λειτουργία όπως μετρήθηκε από την κλίμακα NIHSS (Κλίμακα Εγκεφαλικών Εργασιών των Εθνικών Ινστιτούτων Υγείας), GCS (κλίμακα κομματιών της Γλασκώβης) και GOS (Glasgow Outcome Scale). Δεν σημειώθηκε καμία θνησιμότητα ή ανεπιθύμητες ενέργειες, υποστηρίζοντας την ασφάλεια και τη σκοπιμότητα αυτής της θεραπείας. Οι μελέτες αυτές όμως έχουν τον περιορισμό του μικρού μεγέθους δείγματος και της έλλειψης ομάδας ελέγχου.

Παρόλο που η εφαρμογή θεραπείας με MSCs στην ΚΕΚ φαίνεται να είναι ασφαλής και εφικτή, απαιτείται περαιτέρω έρευνα για την τεκμηρίωση.

Η ευκολία πρόσβασης και η αφθονία των πηγών, καθώς και η δυνατότητα διαφοροποίησής τους, έχουν φέρει τα κύτταρα αυτά στην προσοχή των ερευνητών που διεξάγουν μελέτες αναγεννητικής ιατρικής.

Στην βιβλιογραφία, ο τρόπος της απομόνωσης, η συγκομιδή, η δοκιμή, όπως και η καλλιέργεια των βλαστικών κυττάρων ποικίλλουν σημαντικά, όπως και οι τεχνικές λήψης και χαρακτηρισμού αυτών ως αρχέγονων νευροτροφοβλαστικών κυττάρων.

Στην δική μας μελέτη, χρησιμοποιήθηκαν MSCs λαμβανόμενα από το υποδόριο λίπος του προσθίου κοιλιακού τοιχώματος ενήλικα και επιλέχθηκε η εξασφάλιση της ακεραιότητας της διαδικασίας με χρήση προτυπωμένων σειρών, με προμήθεια του ανάλογου υλικού σε μορφή κυτίων για συλλογή του λίπους, από την εταιρεία Theracell Advanced Biotechnology S.A. Στα εργαστήρια της εταιρείας έγινε και η επεξεργασία και η καλλιέργεια των κυτταρικών σειρών ως το επίπεδο του πολυδύναμου βλαστικού κυττάρου, ώστε να είναι σε θέση η χρησιμοποίηση αυτών στη συνέχεια του πειράματος, που ακολουθεί στο ειδικό μέρος.

Οι ασθενείς ή οι συγγενείς πρώτου βαθμού, σε αδυναμία του ιδίου του ασθενούς, συναίνεσαν εγγράφως και πλήρως και η συλλογή των υλικών δεν ήταν ούτε επιβλαβής για την υγεία τους, ούτε επιβαρυντική για την κλινική τους κατάσταση και δεν επηρέασαν άμεσα ή έμμεσα το τελικό κλινικό αποτέλεσμα ούτε άλλαξαν την έκβαση της νόσου. Το υλικό συγκεντρώθηκε υπό τους κανόνες ηθικής και δεοντολογίας που διέπουν την ιατρική επιστήμη.

Βιβλιογραφία Γενικού Μέρους

1. Brain Injury Association of America, www.biausa.org
2. J.A. Langlois, W. Rutland-Brown and K. Thomas, Traumatic brain injury in the United States: emergency department visits, hospitalizations, and deaths, N.C.f.I.P.a. Control (ed.), Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta (GA), 2006.
3. Ghajar J: Essay: The future of traumatic brain injury. Mt Sinai J Med 76:190-193, 2009
4. Teasdale G, Jenett B. Assessment and prognosis of coma after head injury.Acta Neurochir (Wien). 1976;34(1-4):45-55. PMID:961490
5. Borgaro S., Prigatano G., Kwasnica C., and Rexer J. (2003). Cognitive and affective sequelae in complicated anduncomplicated mild traumatic brain injury. Brain Inj. 17, 189–198
6. Kwok F., Lee T., Leung C., and Poon W. (2008). Changes of cognitive functioning following mild traumatic brain injury over a 3-month period. Brain Inj. 22, 740–751
7. Washington PM, Villapol S, Burns MP. Polypathology and dementia after brain trauma: Does brain injury trigger distinct neurodegenerative diseases, or should they be classified together as traumatic encephalopathy? Exp Neurol. 2016;275:381–388
8. Ganpule S, Daphalapurkar NP, Cetingul MP, Ramesh KT Effect of bulk modulus on deformation of the brain under rotational accelerations. Shock Waves. 2018 Jan;28(1):127-139.
9. Schwartz M., and Shechter R. (2010). Systemic inflammatory cells fight off neurodegenerative disease. Nat. Rev. Neurol. 6, 405–410
10. Gougeon P.Y., Lourenssen S., Han T.Y., Nair D.G., Ropeleski M.J., and Blennerhassett M.G. (2013). The pro-inflammatory cytokines IL-1beta and TNFalpha are neurotrophic for enteric neurons. J. Neurosci.33, 3339–3351
11. Wilcockson DC, Campbell SJ, Anthony DC, Perry VH. The systemic and local acute phase response following acute brain injury. J Cereb Blood Flow Metab. 2002; 22:3 18–26.
12. Chung I.Y., and Benveniste E.N. (1990). Tumor necrosis factor-alpha production by astrocytes. Induction by lipopolysaccharide, IFN-gamma, and IL-1 beta. J. Immunol. 144, 2999–3007
13. Kelso M.L., Gendelman H.E. Bridge between neuroimmunity and traumatic brain injury. Curr. Pharm. Des. 2014; 20:4284–4298.
14. Radaelli M, Merlini A, Greco R, *et al.* Autologous bone marrow transplantation for the treatment of multiple sclerosis. Curr Neurol Neurosci Rep 2014; 14:478
15. Burman J, Iacobaeus E, Svenningsson A, *et al.* Autologous haematopoietic stem cell transplantation for aggressive multiple sclerosis: the Swedish experience. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2014;85: 1116–21.
16. Burt RK, Balabanov R, Han X, *et al*Association of nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation with neurological disability in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. JAMA 2015; 313:275–84.
17. Rashid B, Destrade M, Gilchrist MD Mechanical characterization of brain tissue in tension at dynamic strain rates.J Mech Behav Biomed Mater. 2014 May;33: 43-54.
18. Ommaya AK, Goldsmith W, Thibault L Biomechanics and neuropathology of adult and paediatric head injury.Br J Neurosurg. 2002 Jun;16(3):220-42. Review.PMID:12201393
19. Kasper CE. Chapter 2 traumatic brain injury research in military populations.Annu Rev Nurs Res. 2015;33:13-29.
20. Wang HC, Sun CF, Chen H, Chen MS, Shen G, Ma YB, Wang BD. Where are we in the modelling of traumatic brain injury? Models complicated by secondary brain insults. Brain Inj. 2014;28(12):1491-503
21. McCrory P, Feddermann-Demont N, Dvořák J, Cassidy JD, McIntosh A, Vos PE, Echemendia RJ, Meeuwisse W, Tarnutzer AA. What is the definition of sports-related concussion: a systematic review. Br J Sports Med. 2017 Jun;51(11):877-887.
22. Reis C, Wang Y, Akyol O, Ho WM, Ii RA, Stier G, Martin R, Zhang JH. What's New in Traumatic Brain Injury: Update on Tracking, Monitoring and Treatment.Int J Mol Sci. 2015 May 26;16(6):11903-65.
23. Tsitsopoulos PP, Abu Hamdeh S, Marklund N Current Opportunities for Clinical Monitoring of Axonal Pathology in Traumatic Brain Injury. Front Neurol. 2017 Nov 20; 8:599.
24. Hunter JV, Wilde EA, Tong KA, Holshouser BA. Emerging imaging tools for use with traumatic brain injury research. J Neurotrauma. 2012;29(4):654–671
25. Maugeri R, Anderson DG, Graziano F, Meccio F, Visocchi M, Iacopino DG.Conservative vs. Surgical Management of Post-Traumatic Epidural Hematoma: A Case and Review of Literature.Am J Case Rep. 2015 Nov 14;16:811-7. PMID:26567227
26. Bolouri H, Zetterberg H.Animal Models for Concussion: Molecular and Cognitive Assessments—Relevance to Sport and Military Concussions. In: Kobeissy FH, editor. Brain Neurotrauma: Molecular, Neuropsychological, and Rehabilitation Aspects. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2015. Chapter 46. PMID:26269898
27. Adams JH, Jennett B, Murray LS, Teasdale GM, Gennarelli TA, Graham DI Neuropathological findings in disabled survivors of a head injury.J Neurotrauma. 2011 May;28(5):701-9.doi: 0.1089/neu.2010.1733.PMID:21401319
28. Thompson FJ, Hou J, Bose PK Closed-Head TBI Model of Multiple Morbidity.Methods Mol Biol. 2016;1462:521-36. doi: 10.1007/978-1-4939-3816-2_28.PMID:27604736
29. Romine J, Gao X, Chen J.Controlled cortical impact model for traumatic brain injury.J Vis Exp. 2014 Aug 5;(90):e51781. doi: 10.3791/51781.PMID:25145417
30. Osier ND, Dixon CE.The Controlled Cortical Impact Model: Applications, Considerations for Researchers, and Future Directions.Front Neurol. 2016 Aug 17;7:134. doi: 10.3389/fneur.2016.00134.PMID:27582726
31. Ghadiri T, Sharifzadeh M, Khodagholi F, Modarres Mousavi SM, Hassanzadeh G, Zarrindast MR, Gorji A.A novel traumatic brain injury model for induction of mild brain injury in rats.J Neurosci Methods. 2014 Aug 15;233:18-27. doi: 10.1016/j.jneumeth.2014.05.035.PMID:24906055
32. Bartels RH, Meijer FJ, van der Hoeven H, Edwards M, Prokop M Midline shift in relation to thickness of traumatic acute subdural hematoma predicts mortality. BMC Neurol. 2015 Oct 24;15:220. doi: 10.1186/s12883-015-0479-x. PMID:26496765
33. Meaney DF, Ross DT, Winkelstein BA, Brasko J, Goldstein D, Bilston LB, Thibault LE, Gennarelli TA.Modification of the cortical impact model to produce axonal injury in the rat cerebral cortex.J Neurotrauma. 1994 Oct;11(5):599-612. PMID:7861451
34. Kotapka MJ, Gennarelli TA, Graham DI, AdamsJH, Thibault LE, Ross DT, Ford I.Selective vulnerability of hippocampal neurons in acceleration-induced experimental head injury.J Neurotrauma. 1991 Winter;8(4):247-58.PMID:1803033
35. Margulies SS, Thibault LE, Gennarelli TA.Physical model simulations of brain injury in the primate. J Biomech. 1990;23(8):823-36. PMID:2384494
36. Liu J, Kou Z, Tian Y.Diffuse axonal injury after traumatic cerebral microbleeds: an evaluation of imaging techniques.Neural Regen Res. 2014 Jun 15;9(12):1222-30. doi: 10.4103/1673-5374.135330..PMID:25206786
37. Siedler DG, Chuah MI, Kirkcaldie MT, Vickers JC, King AE.Diffuse axonal injury in brain trauma: insights from alterations in neurofilaments.Front Cell Neurosci. 2014 Dec 17;8:429. doi: 10.3389/fncel.2014.00429.PMID:25565963
38. Greer JE, McGinn MJ, Povlishock JT.Diffuse traumatic axonal injury in the mouse induces atrophy, c-Jun activation,and axonal outgrowth in the axotomized neuronal population. J Neurosci. 2011 Mar 30;31(13):5089-105. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5103-10.2011.PMID:21451046
39. Kirov II, Tal A, Babb JS, Lui YW, Grossman RI, Gonen O.Diffuse axonal injury in mild traumatic brain injury: a 3D multivoxel proton MR spectroscopy study.J Neurol. 2013 Jan;260(1):242-52. doi: 10.1007/s00415-012-6626. PMID:22886061

40. Kunitz SC.Traumatic Coma Data Bank data-collection protocol.J Neurosurg. 1992 Jul;77(1):159.PMID:1607961
41. Marshall SB, Cayard C, Foulkes MA, Hults K, Gautille T, Charlebois DB, Tisdale NA, Turner H.The Traumatic Coma Data Bank: a nursing perspective, Part I.J Neurosci Nurs. 1988 Aug;20(4):253-7.PMID:2973503
42. Vos PE, van Voskuilen AC, Beems T, Krabbe PF, Vogels OJ.Evaluation of the traumatic coma data bank computed tomography classification for severe head injury.J Neurotrauma. 2001 Jul;18(7):649-55.PMID:11497091
43. Marshall LF, Toole BM, Bowers SA The National Traumatic Coma Data Bank. Part 2: Patients who talk and deteriorate: implications for treatment.J Neurosurg. 1983 Aug;59(2):285-8. PMID:6864295
44. Werner C., Engelhard K. (2007). Pathophysiology of traumatic brain injury. Br. J. Anaesth. 99, 4–9. 10.1093
45. O'Connor WT, Smyth A, Gilchrist MD.Animal models of traumatic brain injury: a critical evaluation.Pharmacol Ther. 2011 May;130(2):106-13. doi: 10.1016/ j.pharmthera. 2011.01.001. PMID:21256863
46. Li SX, Wang BW, Liu D, He GL, Wang H, Duan YJ, Xing JJ, Zhou HY, Zhou YW.Advance in animal models of traumatic brain injury.Fa Yi Xue Za Zhi. 2011 Aug;27(4):286- 9, 294.PMID:21913561
47. Corps KN, Roth TL, McGavern DB Inflammationand neuroprotection in traumatic brain injury.JAMA Neurol. 2015 Mar;72(3):355-62.doi:10.1001/jamaneurol.2014.3558. PMID: 25599342
48. Stocchetti N, Taccone FS, Citerio G, Pepe PE, Le Roux PD, Oddo M, Polderman KH, Stevens RD, Barsan W, Maas AI, Meyfroidt G, Bell MJ, Silbergleit R, Vespa PM, Faden AI, Helbok R, Tisherman S, Zanier ER, Valenzuela T, Wendon J, Menon DK, Vincent JL.Neuroprotection in acute brain injury: an up-to-date review.Crit Care. 2015 Apr 21;19:186. doi: 10.1186/s13054-015-0887-8.PMID:25896893
49. Loane DJ, Stoica BA, Faden AI.Neuroprotection for traumatic brain injury.Handb Clin Neurol. 2015;127:343-66. doi: 10.1016/B978-0-444-52892-6.00022-2.PMID:25702227
50. Kabadi SV, Faden AI.Neuroprotective strategies fortraumatic brain injury: improving clinical translation.Int J Mol Sci. 2014 Jan17;15(1):1216-36.doi:10.3390/ijms15011216.PMID: 24445258
51. Veenith TV, Carter EL, Geeraerts T, Grossac J, Newcombe VF, Outtrim J, Gee GS, Lupson V, Smith R, Aigbirhio FI, Fryer TD, Hong YT, Menon DK, Coles JP.Pathophysiologic Mechanisms of Cerebral Ischemia and Diffusion Hypoxia in Traumatic Brain Injury.JAMA Neurol. 2016 May 1;73(5):542-50. doi: 10.1001/jamaneurol.2016.0091. PMID:27019039
52. Adams JH, Doyle D, Ford I, Gennarelli TA, Graham DI, McLellan DR.Diffuse axonal injury in head injury: definition, diagnosis and grading Histopathology. 1989 Jul;15(1):49-59. PMID:2767623
53. Adams JH, Graham DI, Scott G, Parker LS, Doyle D.Brain damage in fatal non-missile head injury.J Clin Pathol. 1980 Dec;33(12):1132-45. PMID:7451661
54. Graham DI, Adams JH, Doyle D, Ford I, Gennarelli TA, Lawrence AE, Maxwell WL, McLellan DR.Quantification of primary and secondary lesions in severe head injury.Acta Neurochir Suppl (Wien). 1993;57:41-8.PMID:8421953
55. Adams JH, Doyle D, Graham DI, Lawrence AE, McLellan DR.Gliding contusions in nonmissile head injury in humans.Arch Pathol Lab Med. 1986 Jun;110(6):485-8. Erratum in: Arch Pathol Lab Med 1986 Nov;110(11):1075. PMID:3754720
56. Adams JH, Scott G, Parker LS, Graham DI, Doyle D.The contusion index: a quantitative approach to cerebral contusions in head injury.Neuropathol Appl Neurobiol. 1980 Jul-Aug;6(4):319-24. PMID:7413017
57. Graham DI, Adams JH, Doyle D.Ischaemic brain damage in fatal non-missile head injuries.J Neurol Sci. 1978 Dec;39(2-3):213-34. PMID:739268
58. Graham DI, Ford I, Adams JH, Doyle D, Lawrence AE, McLellan DR, Ng HK.Fatal head injury in children.J Clin Pathol. 1989 Jan;42(1):18-22.PMID:2921340
59. Adams H, Mitchell DE, Graham DI, Doyle D.Diffuse brain damage of immediate impact type. Its relationship to 'primary brain-stem damage' in head injury.Brain. 1977 Sep;100(3):489-502.PMID:589428
60. Adams JH, Doyle D, Ford I, Graham DI, McGee M, McLellan DR.Brain damage in fatal non-missile head injury in relation to age and type of injury.Scott Med J. 1989 Feb;34(1):399-401. PMID:2711172
61. Adams JH, Doyle D, Graham DI, Lawrence AE, McLellan DR.Microscopic diffuse axonal injury in cases of head injury.Med Sci Law. 1985 Oct;25(4):265-9
62. Adams JH, Doyle D, Graham DI, Lawrence AE, McLellan DR Diffuse axonal injury in head injuries caused by a fall.Lancet. 1984 Dec 22;2(8417-8418):1420-2.PMID:6151042
63. Graham DI, Lawrence AE, Adams JH, Doyle D, McLellan DR Brain damage in fatal non-missile head injury without high intracranial pressure.J Clin Pathol. 1988 Jan;41(1):34-7. PMID:3343378
64. Miller JD, Piper IR, Dearden NM.Management of intracranial hypertension in head injury: matching treatment with cause.Acta Neurochir Suppl (Wien). 1993;57:152-9. PMID: 8421950
65. Miller JD.The management of cerebral oedema.Br J Hosp Med. 1979 Feb;21(2):152, 154, 161 PMID:465850
66. Marion DW, Darby J, Yonas H. Acute regional cerebral blood flow changes caused by severe head injuries.J Neurosurg. 1991 Mar;74(3):407-14.
67. Bouma GJ, Muizelaar JP, Choi SC, Newlon PG, Young HF Cerebral circulation and metabolism after severe traumatic brain injury: the elusive role of ischemia.J eurosurg. 1991 Nov; 75(5): 685-93. PMID:1919689
68. Bouma GJ, Muizelaar JP, Bandoh K, Marmarou A.Blood pressure and intracranial pressure-volume dynamics in severe head injury: relationship with cerebral blood flow.J Neurosurg. 1992 Jul; 77(1):15-9. PMID:1607958
69. Bouma GJ, Muizelaar JP.Cerebral blood flow, cerebral blood volume, and cerebrovascular reactivity after severe head injury.J Neurotrauma. 1992 Mar;9 Suppl 1:S333-48.PMID:1588625
70. Rungta RL, Choi HB, Tyson JR, Malik A, Dissing-Olesen L, Lin PJC, Cain SM, Cullis PR, Snutch TP, MacVicar BA. The cellular mechanisms of neuronal swelling underlying cytotoxic edema. Cell. 2015 Apr 23;161(3):610-621. doi: 10.1016/j .cell .2015 .03. 029.
71. Rungta RL, Choi HB, Tyson JR, Malik A, Dissing-Olesen L, Lin PJC, Cain SM, Cullis PR, Snutch TP, MacVicar BA.The cellular mechanisms of neuronal swelling underlying cytotoxic edema. Cell. 2015 Apr 23;161(3):610-621. doi: 10.1016/ j.cell. 2015 .03. 029. PMID:25910210
72. Hussain ZM, Fitting S, Watanabe H, Usynin I, Yakovleva T, Knapp PE, Scheff SW, Hauser KF, Bakalkin G.Lateralized response of dynorphin a peptide levels after traumatic brain injury. J Neurotrauma. 2012 Jun 10;29(9):1785-93. doi: 10.1089 /neu.2011.2286. PMID: 22468884
73. McIntosh TK, Hayes RL, DeWitt DS, Agura V, Faden AI.Endogenous opioids may mediate secondary damage after experimental brain injury.Am J Physiol. 1987 Nov;253(5 Pt 1):E565-74.PMID:2891303
74. McIntosh TK, Fernyak S, Faden AI.Endogenous opioids, opiate receptors and traumatic brain injury.NIDA Res Monogr. 1986;75:527-30. PMID:2893281
75. Sun ZL, Feng DF.Biomarkers of cognitive dysfunction in traumatic brain injury.J Neural Transm (Vienna). 2014 Jan;121(1):79-90. doi: 10.1007/s00702-013-1078-x. Epub 2013 Aug 14. Review. PMID:23942913
76. Croxson PL, Browning PG, Gaffan D, Baxter MG.Acetylcholine facilitates recovery of episodic memory after brain damage.J Neurosci. 2012 Oct 3;32(40):13787-95. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2947-12.2012.PMID:23035090
77. Jenkins PO, Mehta MA, Sharp DJ.Catecholamines and cognition after traumatic brain injury.Brain. 2016 Sep;139(Pt 9):2345-71. doi: 10.1093/brain/aww128.PMID:27256296
78. Aleksandrova EV, Zaĭtsev OS, Tenedieva VD, Potapov AA,

Zakharova NE, Kravchuk AD, Oshorov AV, Sokolova EIu, Shukhraĭ VA, Vorob'ev IuV .Plasma catecholamines in consciousness recovery in patients with severetraumatic braininjury .Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova. 2011;111(3):58-63. Russian.PMID:21423117

79. Kawa L, Arborelius UP, Yoshitake T, Kehr J, Hökfelt T, Risling M, Agoston D Neurotransmitter Systems in a Mild Blast Traumatic Brain Injury Model: Catecholamines and Serotonin.J Neurotrauma. 2015 Aug 15;32(16):1190-9. doi: 10.1089/neu.2014.3669. PMID:25525686

80. Kim HG, Lee JS, Han JM, Lee JS, Choi MK, Son SW, Kim YK, Son CG.Myelophil attenuates brain oxidative damage by modulating the hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) axis in a chronic cold-stress mouse model.J Ethnopharmacol. 2013 Jul 9;148(2):505-14. doi: 10.1016/j.jep.2013.04.046 PMID:23665312

81. Aleksandrova EV, Zaytsev OS, Potapov AA Clinical syndromes of neurotransmitter system dysfunction in severe brain injury.Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.2015;115(7):40-46. doi: 10.17116/jnevro20151157140-46. Russian. PMID:26356514

82. Tümer N, Svetlov S, Whidden M, Kirichenko N, Prima V, Erdos B, Sherman A, Kobeissy F, Yezierski R, Scarpace PJ,Vierck C, Wang KK.Overpressure blast-wave induced brain injury elevates oxidative stress in thehypothalamus and catecholamine biosynthesis in the rat adrenal medulla.Neurosci Lett. 2013 Jun 7;544:62-7. doi: 10.1016/j.neulet.2013.03.042. PMID:23570732

83. Friess SH, Bruins B, Kilbaugh TJ, Smith C, Margulies SS.Differing effects when using phenylephrine and norepinephrine to augment cerebral blood flow aftertraumatic brain injury in the immature brain.J Neurotrauma. 2015 Feb 15;32(4):237-43. doi: 10.1089/neu.2014.3468PMID:25072522

84. Edut S, Rubovitch V, Rehavi M, Schreiber S, Pick CG.A study on the mechanism by which MDMA protects against dopaminergic dysfunction after minimaltraumatic brain injury (mTBI) in mice. J Mol Neurosci. 2014 Dec;54(4):684-97. doi: 10.1007/s12031-014-0399-z. PMID: 25124230

85. Hayashi N.The control of brain tissue temperature and stimulation of dopamine-immune system to thesevere brain injury patients.Nihon Rinsho. 1998 Jun; 56(6):1627-35.PMID:9648493

86. Chao C.C., Hu S., Ehrlich L., and Peterson P.K. (1995). Interleukin-1 and tumor necrosis factor-alphasynergistically mediate neurotoxicity: involvement of nitric oxide and of N-methyl-D-aspartate receptors. Brain Behav. Immun. 9, 355–365

87. Gruol D.L and Nelson T.E. (1997). Physiological and pathological roles of interleukin-6 in the central nervous system. Mol. Neurobiol. 15, 307–339

88. Spooren A., Kolmus K., Laureys G., Clinckers R., De Keyser J., Haegeman G., and Gerlo S. (2011). Interleukin-6, a mental cytokine. Brain Res. Rev. 67, 157–183

89. Scheller J., Chalaris A., Schmidt-Arras D., and Rose-John S. (2011). The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. Biochim. Biophys. Acta 1813, 878–888

90. Parnet P., Kelley K.W., Bluthe R.M., and Dantzer R.(2002). Expression and regulation of interleukin-1 receptors in the brain. Role in cytokines-induced sickness behavior. J. Neuroimmunol. 125, 5–14

91. Carlson N.G., Wieggel W.A., Chen J., Bacchi A., Rogers S.W., and Gahring L.C. (1999). Inflammatory cytokines IL-1 alpha, IL- 1 beta, IL-6, and TNF-alpha impart neuroprotection to an excitotoxin through distinct pathways. J. Immunol. 163, 3963–3968

92. Yousefzadeh-Chabok S, Dehnadi Moghaddam A, Kazemnejad-Leili E, Saneei Z, Hosseinpour M, Kouchakinejad-Eramsadati L, Razzaghi A, Mohtasham-Amiri Z.The Relationship Between Serum Levels of Interleukins 6, 8, 10 and Clinical Outcome in Patients With Severe Traumatic Brain Injury.Arch Trauma Res. 2015 Feb 20;4(1):e18357. doi: 10.5812/atr.18357. PMID: 26064865

93. Casault C, Al Sultan AS, Banoei M, Couillard P, Kramer A, Winston BW.Cytokine Responses in Severe Traumatic Brain Injury: Where There Is Smoke, Is There Fire?Neurocrit Care. 2018 Mar 22. doi: 10.1007/s12028-018-0522-z.PMID:29569129

94. Liu Z, Sheng J, Peng G, Yang J, Chen W, Li K.TGF-β1 Regulation of P-JNK and L-Type Calcium Channel Cav1.2 in Cortical Neurons.J Mol Neurosci. 2018 Mar;64(3):374-384. doi: 10.1007/s12031-018-1033-2. PMID:29423686

95. Patel RK, Prasad N, Kuwar R, Haldar D, Abdul-Muneer PM Transforming growth factor-beta 1 signaling regulates neuroinflammation and apoptosis in mild traumatic brain injury.Brain Behav Immun. 2017 Aug;64:244-258. doi: 10.1016/j.bbi.2017.04.012.PMID:28433746

96. Foerstner P, Rehman R, Anastasiadou S, Haffner-Luntzer M, Sinske D, Ignatius A, Roselli F, Knoell B.Neuroinflammation after traumatic brain injury (TBI) is enhanced in activating transcription factor 3 (ATF3) mutant mice.J Neurotrauma. 2018 Feb 20. doi: 10.1089/neu.2017.5593. PMID:29463176

97. Tsitsopoulos PP, Abu Hamdeh S, Marklund N.Current Opportunities for Clinical Monitoring of Axonal Pathology in Traumatic Brain Injury.Front Neurol. 2017 Nov 20;8:599. doi: 10.3389/fneur.2017.00599.PMID:29209266

98. Woodcock TM, Frugier T, Nguyen TT, Semple BD, Bye N, Massara M, Savino B, Besio R, Sobacchi C, Locati M, Morganti-Kossmann MC.The scavenging chemokine receptor ACKR2 has a significant impact on acute mortality rate and early lesion development after traumatic brain injury.PLoS One. 2017 Nov 27;12(11):e0188305. doi: 10.1371/journal.pone.0188305.PMID:29176798

99. Pei D, Liu N, Li D, Yan H, Wang QB, Fang Y, Xie L, Li HP.Inhibition of platelet-derived growth factor receptor β reduces reactive glia and scar formation after traumatic brain injury in mice.Brain Res Bull. 2017 Sep;134:121-127. doi: 10.1016/j.brainresbull.2017.06.020. PMID:28684344

100. Kyyriäinen J, Ekolle Ndode-Ekane X, Pitkänen A.Dynamics of PDGFRβ expression in different cell types after brain injury.Glia. 2017 Feb;65(2):322-341. doi: 10.1002/glia.23094. PMID:27778377

101. Hiebert JB, Shen Q, Thimmesch AR, Pierce JD.Traumatic brain injury and mitochondrial dysfunction.Am J Med Sci. 2015 Aug;350(2):132-8. doi: 10.1097/MAJ.0000000000000506. Review. PMID:26083647

102. Corps KN, Roth TL, McGavern DB .Inflammation and neuroprotection in traumatic brain injury.JAMA Neurol. 2015 Mar;72(3):355-62. doi: 10.1001/jamaneurol.2014.3558. PMID:25599342

103. Rodríguez-Rodríguez A, Egea-Guerrero JJ, Murillo-Cabezas F, Carrillo-Vico A.Oxidative stress in traumatic brain injury.Curr Med Chem. 2014 Apr;21(10):1201- 11.PMID:24350853

104. Staffa K, Ondruschka B, Franke H, Dreßler J.Cerebellar gene expression following human traumatic brain injury.J Neurotrauma. 2012 Nov 20;29(17):2716-21. doi: 10.1089/neu.2011.2246. PMID:23030803

105. Drexel M, Puhakka N, Kirchmair E, Hörtnagl H, Pitkänen A, Sperk G Expression of GABA receptor subunits in the hippocampus and thalamus after experimental traumatic brain injury.Neuropharmacology. 2015 Jan;88:122-33. doi: 10.1016/j.neuropharm. 2014.08.023. PMID:25229716

106. Shin SS, Bales JW, Yan HQ, Kline AE, Wagner AK, Lyons-Weiler J, Dixon CE The effect of environmental enrichment on substantia nigra gene expression after traumatic brain injury in rats.J Neurotrauma. 2013 Feb 15;30(4):259-70. doi: 10.1089/neu.2012.2462. PMID:23094804.

107. Jennet B, Bond M. Assessment of outcome after severe brain damage.Lancet. 1975 Mar 1;1(7905):480-4.PMID:46957

108. Jennett B, Plum F, Shaw D.Letter: Prognosis in coma.Lancet. 1975 Jan 11;1(7898):100.PMID:45985

109. Jennett B.Predicting outcome after head injury.J R Coll Physicians Lond. 1975 Apr;9(3):231-7. PMID:1142324

110. Brody DL, Mac Donald CL, Shimony JS.Current and future diagnostic tools for traumatic brain injury: CT, conventional MRI, and diffusion tensor imaging. Handb Clin Neurol. 2015;127:267-75. doi: 10.1016/B978-0-444-52892-6.00017-9.PMID:25702222

111. Khormi YH, Gosadi I, Campbell S, Senthilselvan A, O'kelly C, Zygun D Adherence to Brain Trauma Foundation guidelines for management of traumatic brain injury patients: study protocol for a systematic review and meta-analysis.Syst Rev. 2015 Nov 5;4:149. doi: 10.1186/s13643-015-0140-1. PMID:26538163

112. Domínguez-Berrot AM, González-Vaquero M, Díaz-Domínguez FJ, Robla-Costales J.Multimodal neuromonitoring in traumatic brain injury: contribution of PTiO2.Med Intensiva. 2014 Nov;38 (8):513-21. doi: 10.1016/j.medin.2014.02.005 PMID:24793091

113. Veenith TV, Carter EL, Geeraerts T, Grossac J, Newcombe VF, Outtrim J, Gee GS, Lupson V, Smith R, Aigbirhio FI,Fryer TD, Hong YT, Menon DK, Coles JP.Pathophysiologic Mechanisms of Cerebral Ischemia and Diffusion Hypoxia in Traumatic Brain Injury.JAMA Neurol. 2016 May 1;73(5):542-50. doi: 10.1001/ jamaneurol. 2016.0091. PMID:27019039

114. Hackenberg K, Unterberg A.Traumatic brain injury].Nervenarzt. 2016 Feb;87(2):203-14; quiz 215-6. doi: 10.1007/s00115-015-0051-3.PMID:26810405

115. Fehnel CR, Wendell LC, Potter NS, Klinge P, Thompson BB.Severe cerebral vasospasm after traumatic brain injury.R I Med J (2013). 2014 Jul 1;97(7):45-6.PMID:24983022

116. Liu S, Wan X, Wang S, Huang L, Zhu M, Zhang S, Liu X, Xiao Q, Gan C, Li C, Shu K, Lei T.Posttraumatic cerebral infarction in severe traumatic brain injury: characteristics, risk factors and potential mechanisms.Acta Neurochir (Wien). 2015 Oct;157(10):1697-704. doi: 10.1007/s00701-015-2559-5. PMID:26306582

117. Grände PO.The Lund concept for the treatment of patients with severe traumatic brain injury.J Neurosurg Anesthesiol. 2011 Oct;23(4):358-62.doi: 10.1097/01.ana.0000405612.20356.84. PMID:21908989

118. Carron SF, Alwis DS, Rajan R.Traumatic Brain Injury and Neuronal Functionality Changes in Sensory Cortex.Front Syst Neurosci.2016Jun2;10:47.doi:10.3389/fnsys.2016.00047. PMID:27313514

119. Choi GS, Kim OL, Kim SH, Ahn SH, Cho YW, Son SM, Jang SH.Classification of cause of motor weakness in traumatic brain injury using diffusion tensor imaging.Arch Neurol. 2012 Mar;69(3):363-7. doi: 10.1001/archneurol.2011.1930. PMID:22083801

120. Chauhan NB, Gatto R, Chauhan MB.Neuroanatomical correlation of behavioral deficits in the CCI model of TBI.J Neurosci Methods. 2010 Jun 30;190(1):1-9. doi: 10.1016/j.jneumeth.2010.04.004. PMID:20385166

121. Liu NK, Zhang YP, Zou J, Verhovshek T, Chen C, Lu QB, Walker CL, Shields CB, Xu XM. A semicircular controlled cortical impact produces long-term motor and cognitive dysfunction that correlates well with damage to both the sensorimotor cortex and hippocampus.Brain Res. 2014 Aug 12;1576:18-26. doi: 10.1016/j.brainres.2014.05.042. PMID:24905625

122. Broshek DK, De Marco AP, Freeman JR.A review of post-concussion syndrome and psychological factors associated with concussion.Brain Inj. 2015;29(2):228-37. doi: 10.3109/02699052.2014.974674. PMID:25383595

123. Werner C., and Engelhard K. (2007). Pathophysiology of traumatic brain injury. Br. J. Anaesth. 99, 4–9

124. Morganti-Kossmann M.C., Rancan M., Stahel P.F., and Kossmann T. (2002). Inflammatory response in acute traumatic brain injury: a double-edged sword. Curr. Opin. Crit. Care. 8, 101–105

125. Babcock A.A., Wirenfeldt M., Holm T., Nielsen H.H., Dissing-Olesen L., Toft-Hansen H., Millward J.M., Landmann R., Rivest S., Finsen B., and Owens T. (2006). Toll-like receptor 2 signaling in response to brain injury: an innate bridge to neuroinflammation. J. Neurosci. 26, 12826–12837

126. Helmy A., De Simoni M.G., Guilfoyle M.R., Carpenter K.L., and Hutchinson P.J. (2011). Cytokines and innate inflammation in the pathogenesis of human traumatic brain injury. Prog. Neurobiol. 95, 352–372

127. Mortazavi MM, Adeeb N, Griessenauer CJ, Sheikh H, Shahidi S, Tubbs RI, Tubbs RS.The ventricular system of the brain: a comprehensive review of its history, anatomy, histology, embryology, and surgical considerations.Childs Nerv Syst. 2014 Jan;30(1):19-35. doi: 10.1007/s00381-013-2321-3. PMID:24240520

128. Schoenwolf, Gary C. (2009). ""Development of the Brain and Cranial Nerves"". Larsen's human embryology (4th ed.). Philadelphia: Churchill Livingstone/ Elsevier.ISBN 9780443068119

129. Saladin, Kenneth S. Anatomy & Physiology. The Unit of Form and Function. 5th Edition. McGraw-Hill: New York. 2007

130. Clinical Anatomy by SystemsTextbook by Richard S Snell.2007

131. Sobotta Atlas of Human Anatomy, Package, 15th ed., English: Musculoskeletal system, internal organs, head, neck, neuroanatomy, 15th Edition

132. Zappaterra MW, Lehtinen MK.The cerebrospinal fluid: regulator of neurogenesis, behavior, and beyond.Cell Mol Life Sci. 2012 Sep;69(17):2863-78. doi: 10.1007/s00018-012-0957-PMID:22415326

133. Lehtinen MK, Zappaterra MW, Chen X, Yang YJ, Hill AD, Lun M, Maynard T, Gonzalez D, Kim S, Ye P, D'Ercole AJ,Wong ET, LaMantia AS, Walsh CA.The cerebrospinal fluid provides a proliferative niche for neural progenitor cells.Neuron. 2011 Mar 10;69(5):893-905. doi: 10.1016/j.neuron.2011.01.023.PMID:21382550

134. Zhang Y, Guo Z, Zou L, Yang Y, Zhang L, Ji N, Shao C, Sun W, Wang Y A comprehensive map and functional annotation of the normal human cerebrospinal fluid proteome.J Proteomics. 2015 Apr 24;119:90-9. doi: 10.1016/j. jprot. 2015.01.017. PMID:25661039

135. Utsuki T.Development of a cerebral circulation model for the automatic control of brain physiology.Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc. 2015;2015:1890-3. doi: 10.1109/ EMBC. 2015. 7318751.PMID:26736651

136. Klarica M, Miše B, Vladić A, Radoš M, Orešković D."Compensated hyperosmolarity" of cerebrospinal fluid and the development of hydrocephalus.Neuroscience. 2013 Sep 17;248:278-89. doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.06.022. PMID:23806710

137. Liddelow SA. Fluids and barriers of the CNS: a historical viewpoint. Fluids Barriers CNS. 2011;8(1):2

138. Woollam DH. The historical significance of the cerebrospinal fluid. Med Hist. 1957;1(2):91–114.

139. Lehtinen MK, Walsh CA. Neurogenesis at the brain-cerebrospinal fluid interface. Annu Rev Cell Dev Biol. 2011;27:653–79.

140. Redzic ZB, Preston JE, Duncan JA, Chodobski A, Szmydynger-Chodobska J. The choroid plexus-cerebrospinal fluid system: from development to aging. Curr Top Dev Biol. 2005;71:1–52.

141. Bailey P. Morphology of the roofplate of the forebrain and the lateral choroid plexuses in the human embryo. J Comp Neurol. 1916;26:79–120.

142. Sturrock RR. A morphological study of the development of the mouse choroid plexus. J Anat. 1979;129(Pt 4):777–93.

143. Bayer SA, Altman J. Atlas of human central nervous system development. Boca Raton, Florida USA: CRC Press; 2007. p. 5v.

144. Lehtinen MK, Zappaterra MW, Chen X, Yang YJ, Hill AD, Lun M, Maynard T, Gonzalez D, Kim S, Ye P, D'Ercole AJ, Wong ET, LaMantia AS, Walsh CA. The cerebrospinal fluid provides a proliferative niche for neural progenitor cells. Neuron. 2011; 69 (5) :893–905.

145. Baker J, Liu JP, Robertson EJ, Efstratiadis A. Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth. Cell. 1993; 75 (1) :73–82.

146. DeChiara TM, Robertson EJ, Efstratiadis A. Parental imprinting of the mouse insulin-like growth factor II gene. Cell. 1991 ; 64 (4) :849–59.

147. Sutter NB, Bustamante CD, Chase K, Gray MM, Zhao K, Zhu L, Padhukasahasram B, Karlins E, Davis S, Jones PG, Quignon P, Johnson GS, Parker HG, Fretwell N, Mosher DS, Lawler DF, Satyaraj E, Nordborg M, Lark KG, Wayne RK, Ostrander EA. A single IGF1 allele is a major determinant of small size indogs.

Science. 2007;316(5821):112–5.
148. Salehi Z, Mashayekhi F, Naji M, Pandamooz S. Insulin-like growth factor-1 and insulin-like growth factor binding proteins in cerebrospinal fluid during the development of mouse embryos. J Clin Neurosci. 2009;16(7):950–3.
149. Johanson CE, Stopa EG, McMillan PN. The blood-cerebrospinal fluid barrier: structure and functional significance. Methods Mol Biol. 2011;686:101–31.
150. Johansson PA, Dziegielewska KM, Liddelow SA, Saunders NR. The blood-CSF barrier explained: when development is not immaturity. Bioessays. 2008;30(3):237–48.
151. Cushing H. Studies on the Cerebro-Spinal Fluid : I. Introduction. J Med Res. 1914;31(1):1–19]
152. Desmond ME, Jacobson AG. Embryonic brain enlargement requires cerebrospinal fluid pressure.DevBiol.1977;57(1):188–98.
153. Lowery LA, Sive H. Totally tubular: the mystery behind function and origin of the brain ventricular system. Bioessays. 2009; 31 (4) :446–58.
154. Pexieder T, Jelinek R. Pressure of the CSF and the morphogenesis of the CNS. II. Pressure necessary for normal development of brain vesicles. Folia Morphol (Praha) 1970; 18 (2):181–92.
155. Desmond ME, Levitan ML, Haas AR. Internal luminal pressure during early chick embryonic brain growth: descriptive and empirical observations. Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol. 2005;285(2):737–47.
156. Sawamoto K, Wichterle H, Gonzalez-Perez O, Cholfin JA, Yamada M, Spassky N, Murcia NS, Garcia-Verdugo JM, Marin O, Rubenstein JL, Tessier-Lavigne M, Okano H, Alvarez-BuyllaA.New neurons follow the flow of cerebrospinal fluid in the adult brain. Science. 2006;311 (5761):629–32.
157. Zappaterra MD, Lisgo SN, Lindsay S, Gygi SP, Walsh CA, Ballif BA.A comparative proteomic analysis of human and rat embryonic cerebrospinal fluid.J Proteome Res2007;6(9):3537–48.
158. Parada C, Gato A, Bueno D. All-trans retinol and retinol-binding protein from embryonic cerebrospinal fluid exhibit dynamic behaviour during early central nervous system development. Neuroreport. 2008;19(9):945–50.
159. Mashayekhi F, Azari M, Moghadam LM, Yazdankhah M, Naji M, Salehi Z. Changes in cerebrospinal fluid nerve growth factor levels during chick embryonic development. J ClinNeurosci. 2009;16(10):1334–7.
160. Chiaretti A, Antonelli A, Riccardi R, Genovese O, Pezzotti P, Di Rocco C, Tortorolo L, Piedimonte G. Nerve growth factor expression correlates with severity and outcome of traumatic brain injury in children. Eur J Paediatr Neurol. 2008;12(3):195–204.
161. Patterson SL, Grady MS, Bothwell M. Nerve growth factor and a fibroblast growth factor-like neurotrophic activity in cerebrospinal fluid of brain injured human patients. Brain Res1993;605(1):43–9.
162. Cheng Q, Di Liberto V, Caniglia G, Mudo G. Time-course of GDNF and its receptor expression after brain injury in the rat. Neurosci Lett. 2008;439(1):24–9.
163. Korhonen L, Riikonen R, Nawa H, Lindholm D. Brain derived neurotrophic factor is increased in cerebrospinal fluid of children suffering from asphyxia. Neuroscience letters.1998;240(3):151–4.
164. Mocchetti I, Wrathall JR. Neurotrophic factors in central nervous system trauma. J Neurotrauma. 1995;12(5):853–70.
165. Pasarica D, Gheorghiu M, Toparceanu F, Bleotu C, Ichim L, Trandafir T. Neurotrophin-3, TNF-alpha and IL-6 relations in serum and cerebrospinal fluid of ischemic stroke patients. Roumanian archives of microbiology and immunology. 2005;64(1-4):27–33.
166. Royo NC, Conte V, Saatman KE, Shimizu S, Belfield CM, Soltesz KM, Davis JE, Fujimoto ST, McIntosh TK. Hippocampal vulnerability following traumatic brain injury: a potential role for neurotrophin-4/5 in pyramidal cell neuroprotection. Eur J Neurosci. 2006;23(5):1089–102.
167. Shore PM, Jackson EK, Wisniewski SR, Clark RS, Adelson PD, Kochanek PM. Vascular endothelial growth factor is increased in cerebrospinal fluid after traumatic brain injury in infants and children. Neurosurgery. 2004;54(3):605–11. discussion 611-2.
168. Brines ML, Ghezzi P, Keenan S, Agnello D, de Lanerolle NC, Cerami C, Itri LM, Cerami A. Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2000;97(19):10526–31.
169. Juul SE, Stallings SA, Christensen RD. Erythropoietin in the cerebrospinal fluid of neonates who sustained CNS injury. Pediatric research. 1999;46(5):543–7.
170. Sakanaka M, Wen TC, Matsuda S, Masuda S, Morishita E, Nagao M, Sasaki R. In vivo evidence that erythropoietin protects neurons from ischemic damage. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1998;95(8):4635–40
171. Ross SA, Halliday MI, Campbell GC, Byrnes DP, Rowlands BJ.The presence of tumour necrosis factor in CSF and plasma after severe head injury. British journal of neurosurgery. 1994;8 (4):419–25.
172. Sriram K, O'Callaghan JP. Divergent roles for tumor necrosis factor-alpha in the brain. Journal of neuroimmune pharmacology the official journal of the Society on NeuroImmunePharmacology. 2007;2(2):140–53.
173. Stover JF, Schoning B, Beyer TF, Woiciechowsky C, Unterberg AW.Temporal profile of cerebrospinal fluid glutamate, interleukin-6, and tumor necrosis factor-alpha in relation to brainedema and contusion following controlled cortical impact injuryin rats. Neuroscience letters. 2000;288(1):25–8.
174. Chasseigneaux S, Allinquant B. Functions of Abeta, sAPPalpha and sAPPbeta : similarities and differences. Journal of neurochemistry. 2012;120(Suppl 1):99–108.
175. Olsson A, Csajbok L, Ost M, Hoglund K, Nylen K, Rosengren L, Nellgard B, Blennow K. Marked increase of beta-amyloid (1-42) and amyloid precursor protein in ventricular cerebrospinal fluidafter severe traumatic brain injury. Journal of neurology. 2004;251(7):870–6.176.
176. Chiaretti A, Antonelli A, Genovese O, Pezzotti P, Rocco CD, Viola L, Riccardi R. Nerve growth factor and double cortinexpression correlates with improved outcome in children withsevere traumatic brain injury. J Trauma. 2008;65(1):80–5.
177. Chiaretti A, Barone G, Riccardi R, Antonelli A, Pezzotti P, Genovese O, Tortorolo L, Conti G. NGF, DCX, and NSEupregulation correlates with severity and outcome of head traumain children. Neurology. 2009;72(7):609–16.
178. Sun D, Bullock MR, McGinn MJ, Zhou Z, Altememi N, HagoodS, Hamm R, Colello RJ. Basic fibroblast growth factor-enhancedneurogenesis contributes to cognitive recovery in rats followingtraumatic brain injury. Exp Neurol. 2009;216(1):56–65.
179. Ohta M, Suzuki Y, Noda T, Kataoka K, Chou H, Ishikawa N,Kitada M, Matsumoto N, Dezawa M, Suzuki S, Ide C.Implantation of neural stem cells via cerebrospinal fluid into theinjured root. Neuroreport. 2004;15(8):1249–53.
180. Wu S, Suzuki Y, Kitada M, Kataoka K, Kitaura M, Chou H, Nishimura Y, Ide C. New method for transplantation ofneurosphere cells into injured spinal cord through cerebrospinalfluid in rat. Neurosci Lett. 2002;318(2):81–4.
181. Wu S, Suzuki Y, Kitada M, Kitaura M, Kataoka K, Takahashi J, Ide C, Nishimura Y. Migration, integration, and differentiation ofhippocampus-derived neurosphere cells after transplantation intoinjured rat spinal cord. Neurosci Lett. 2001;312(3):173–6.182.
182. Johanson C, Stopa E, Baird A, Sharma H. Traumatic brain injury and recovery mechanisms: peptide modulation of periventricularneurogenic regions by the choroid plexus-CSF nexus. J NeuralTransm. 2011;118(1):115–33.
183. Park D, Joo SS, Kim TK, Lee SH, Kang H, Lee HJ, Lim I, Matsuo A, Tooyama I, Kim YB, Kim SU. Human Neural Stem Cells Overexpressing Choline Acetyltransferase Restore Cognitive Function of Kainic Acid-Induced Learning and

Memory Deficit Animals. Cell Transplant. 2011
184. Vasco Meneghini, Giacomo Frati, Davide Sala, Silvia De Cicco, Marco Luciani, Chiara Cavazzin, Marianna Paulis,Wieslawa Mentzen, Francesco Morena, Serena Giannelli,Francesca Sanvito, Anna Villa, Alessandro Bulfone, Vania Broccoli, Sabata Martino, Angela Gritti.Generation of HumanInduced Pluripotent Stem Cell-Derived Bona Fide Neural Stem Cells for Ex Vivo Gene Therapy of Metachromatic Leukodystrophy.Stem Cells Transl Med. 2017 Feb; 6(2): 352–368. Published online 2016 Sep 16. doi: 10.5966/sctm.2015- 0414,PMCID: PMC5442804
185. Wen-Di Lee, Kuo-Chuan Wang, Yi-Fen Tsai, Pin-Chun Chou, Li-Kai Tsai, Chung-Liang Chien.Subarachnoid Hemorrhage Promotes Proliferation, Differentiation, and Migration of Neural Stem Cells via BDNF UpregulationPLoS One. 2016; 11(11):e0165460.doi:10.1371/journal.pone.0165460PMCID:PMC5104421
186. Lorelei D. Shoemaker, Harley I. Kornblum Neural StemCells (NSCs) and Proteomics Mol Cell Proteomics. 2016Feb; 15(2): 344–354. Published online 2015 Oct26. doi:10.1074/mcp.O115.052704 PMCID: PMC4739658
187. Linda Ottoboni, Arianna Merlini, Gianvito MartinoNeural Stem Cell Plasticity: Advantages in Therapy for theInjured Central Nervous System Front Cell Dev Biol. 2017; 5:52. doi: 10.3389/fcell.2017.00052.PMCID: PMC5427132
188. Ilaria Decimo, Francesco Bifari, Mauro Krampera, GuidoFumagalli. Neural Stem Cell Niches in Health andDiseases.Curr Pharm Des. 2012 May; 18(13): 1755–1783.doi:10.2174/138161212799859611.PMCID:PMC3343380
189. Gianvito Martino, Stefano Pluchino, Luca Bonfanti, MichalSchwartz.BRAIN REGENERATION IN PHYSIOLOGY ANDPATHOLOGY: THE IMMUNE SIGNATURE DRIVINGTHERAPEUTIC PLASTICITY OF NEURAL STEMCELLS.Physiol Rev. Author manuscript; available in PMC2013 Jan 23.Published in final edited form as: Physiol Rev.2011 Oct; 91(4): 1281–1304. doi: 10.1152/ physrev. 00032.2010 .PMCID: PMC3552310
190. Fu-Xing Zuo, Xin-Jie Bao, Xi-Cai Sun, Jun Wu, Qing-RanBai, Guo Chen, Xue-Yuan Li, Qiang-Yi Zhou, Yuan-FanYang, Qin Shen, Ren-Zhi Wang.Transplantation ofHuman Neural Stem Cells in a Parkinsonian Model ExertsNeuroprotection viaRegulation of the Host Microenvironment.Int J Mol Sci. 2015 Nov; 16(11): 26473–26492.5. doi: 10.3390/ijms161125966.PMCID: PMC4661825
191. Mingxin Zhu, Yun Feng, Sean Dangelmajer, Hugo Guerrero-Cázares, Kaisorn L. Chaichana, Christopher L. Smith, AndreLevchenko, Ting Lei, Alfredo Quiñones-Hinojosa. HumanCerebrospinal Fluid Regulates Proliferation and Migrationof Stem Cells Through Insulin-Like Growth Factor-1Stem Cells Dev. 2015 Jan 15; 24(2): 160–17129. doi: 10.1089/scd.2014.0076.PMCID: PMC4291213
192. Ikede la Peña, Cesar V. BorlonganTranslating G-CSF as anadjunct therapy to stem cell transplantation for stroke.TranslStroke Res. Author manuscript; available in PMC 2016 Dec 1.Published in final edited form as: Transl Stroke Res. 2015 Dec;6(6): 421–429. doi: 10.1007/s12975-015-0430-x PMCID:PMC4733422
193. Chao Ren, Peiyuan Yin, Neng Ren, Zhe Wang, Jiahui Wang,Caiyi Zhang, Wei Ge, Deqin Geng, Xiaotong Wang.Cerebrospinal fluid-stem cell interactions may pave the pathfor cell-based therapy in neurological diseases.Stem Cell ResTher. 2018; 9: 66. 9. doi: 10.1186/s13287-018-0807-3.PMCID: PMC5845187
194. Margherita Neri, Alessandra Ricca, Ilaria di Girolamo, BeatrizAlcala'-Franco, Chiara Cavazzin, Aldo Orlacchio, SabataMartino, Luigi Naldini, Angela Gritti Neural Stem Cell GeneTherapy Ameliorates Pathology and Function in a MouseModel of Globoid Cell Leukodystrophy Stem Cells. 2011Oct; 29(10): 1559–1571 .PMCID: PMC3229988
195. Stuart M Allan, Nancy J RothwellInflammation in centralnervous system injury.Philos Trans R Soc Lond B BiolSci. 2003 Oct 29; 358(1438): 1669–1677. doi:10.1098/rstb.2003.1358PMCID: PMC1693261
196. Stuart M. Allan, Lisa C. Parker, Barry Collins, Ralph Davies,Giamal N. Luheshi, Nancy J. Rothwell Cortical cell deathinduced by IL-1 is mediated via actions in the hypothalamus ofthe ratProc Natl Acad Sci U S A. 2000 May 9; 97(10): 5580–5585. doi: 10.1073/pnas.090464197 .PMCID: PMC25871
197. Giamal N. Luheshi, Jason D. Gardner, David A. Rushforth, Andrew S. Loudon, Nancy J. Rothwell Leptin actions on food intake and body temperature are mediated by IL-1Proc Natl Acad Sci U S A. 1999 Jun 8; 96(12): 7047–7052.PMCID: PMC22051
198. Lisa C Parker, Giamal N Luheshi, Nancy J Rothwell,Emmanuel Pinteaux IL -1β signalling in glial cells in wildtype and IL-1RI deficient mice.Br J Pharmacol. 2002 May; 136(2): 312–320. doi: 10.1038/sj.bjp.0704715.PMCID: PMC1573350
199. Nadia M Luheshi, Nancy J Rothwell, David BroughTheDynamics and Mechanisms of Interleukin-1α and β NuclearImportTraffic. 2008 Jan; 10(1): 16–25. Prepublished online2008 Oct 7. Publishedonline2008Nov3.doi:10.1111/j.16000854.2008.00840.xPMCID:PMC2682621
200. H Moldofsky Central nervous system and peripheral immune functions and the sleep-wake system.J PsychiatryNeurosci. 1994 Nov; 19(5): 368–374.PMCID: PMC1188626
201. C Korth, J Mullington, W Schreiber, T Pollmächer.Influence of endotoxin on daytime sleep in humans.Infect Immun. 1996 Apr; 64(4): 1110–1115.PMCID: PMC173891
202. Tarsis F. Gesteira, Yvette M. Coulson-Thomas, Vivien J. Coulson-Thomas. Anti-inflammatory properties of the glial scar.Neural Regen Res. 2016 Nov; 11(11): 1742–1743. doi: 10.4103/1673-5374.194710.PMCID: PMC5204217
203. Uwe Scherbel, Ramesh Raghupathi, Michio Nakamura, Kathryn E. Saatman, John Q. Trojanowski, Edmund Neugebauer, Michael W. Marino, Tracy K. McIntosh. Differential acute and chronic responses of tumor necrosis factor-deficient mice to experimental brain injury Proc Natl Acad Sci U S A. 1999 Jul 20; 96(15): 8721–8726.PMCID: PMC17583
204. Debbie AE Hendrickx, Karianne G Schuurman, Michael van Draanen, Jörg Hamann, Inge Huitinga Enhanced uptake of multiple sclerosis-derived myelin by THP-1 macrophages and primary human microglia J Neuroinflammation. 2014; 11: 64Published online 2014 Mar 31. doi: 10.1186/1742-2094-11-64.PMCID: PMC4108133
205. J C Hope, M Cumberbatch, I Fielding, R J Dearman, I Kimber, S J Hopkins Identification of dendritic cells as a major source of interleukin-6 in draining lymph nodes following skin sensitization of mice.Immunology. 1995 Nov; 86(3): 441–447.PMCID: PMC1383949
206. Andrew J Miller, Stephen J Hopkins, Giamal N Luheshi.Sites of action of IL-1 in the development of fever and cytokine responses to tissue inflammation in the rat.Br JPharmacol. 1997 Mar; 120(7): 1274–1279. doi: 10.1038/sj.bjp. 0701049.PMCID: PMC1564605
207. T Cartmell, G N Luheshi, S J Hopkins, N J Rothwell, S Poole.Role of endogenous interleukin-1 receptor antagonist in regulating fever induced by localised inflammation in the ratJ Physiol. 2001 Feb 15; 531(Pt 1): 171–180. doi: 10.1111/j. 1469-7793. 2001.0171j.x.PMCID: PMC2278459
208. A. Stefferl, S. J. Hopkins, N. J. Rothwell, G. N. Luheshi.The role of TNF-alpha in fever: opposing actions of human and murine TNF-alpha and interactions with IL-beta in the rat. Br J Pharmacol. 1996 Aug; 118(8): 1919–1924 .PMCID : PMC1909906
209. Yang ., Blumbergs P.C., Jones N.R., Manavis J., Sarvestani G.T., and Ghabriel M.N. (2004). Early expression and cellular localization of proinflammatory cytokines interleukin-1beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor-alpha in human traumatic spinal cord injury. Spine (Phila Pa 1976) 29, 966– 971
210. C Price, E Warburton, D Menon Human cellular inflammation in the pathology of acute cerebral ischaemia. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2003 Nov; 74(11): 1476–1484. doi: 10.1136/jnnp.74.11.1476.PMCID:PMC1738225

211. Anthony J Williams, Hans H Wei, Jitendra R Dave, Frank C Tortella.Acute and delayed neuroinflammatory response following experimental penetrating ballistic brain injury in the rat J Neuroinflammation. 2007; 4: 17. Published online 2007 Jul 2. doi: 10.1186/1742-2094-4-17 PMCID: PMC1933533
212. Dennis W. Simon, Mandy McGeachy, Hülya Bayır, RobertS.B. Clark, David J. Loane, Patrick M. Kochanek.Neuroinflammationin the Evolution of SecondaryInjury,Repair, and Chronic Neurodegeneration afterTraumaticBrain Injury Nat Rev Neurol. Authormanuscript;available in PMC 2018 Mar 1.Published infinal edited form as: Nat Rev Neurol. 2017 Mar; 13(3): 171191.doi:10.1038/nrneurol.2017.13.Correction I n: Nat RevNeurol. 2017 Aug 4. PMCID: PMC5675525
213. Wolfgang J Streit, Robert E Mrak, W Sue T Griffin Microglia and neuroinflammation: a pathological perspective.J Neuroinflammation. 2004; 1: 14. doi: 10.1186/1742-2094-1-14. PMCID: PMC509427
214. M Pekny, P Levéen, M Pekna, C Eliasson, C H Berthold, B Westermark, C Betsholtz Mice lacking glial fibrillary acidic protein display astrocytes devoid of intermediate filaments but develop and reproduce normally.EMBO J. 1995 Apr18; 14(8): 1590–1598.PMCID: PMC398251
215. VladimirParpura,MichaelT.Heneka,Vedrana Montana,Stéphane H.R. Oliet, Arne Schousboe, Philip. G.Haydon, Randy F. Stout, Jr, David C. Spray, AndreasReichenbach,Thomas Pannicke, Milos Pekny, MarcelaPekna, RobertZorec, Alexei Verkhratsky Glialcellsin(patho)physiology. JNeurochem. Authomanuscript available in PMC 2013 Apr1.Published infinal editedform as: J Neurochem.2012 Apr; 121(1): 4–27.doi:10.1111/j.1471-4159.2012.07664.x.PMCID: PMC3304021
216. Jennifer N. Dulin, Andrew F. Adler, Hiromi Kumamaru, GunnarH. D. Poplawski, Corinne Lee-Kubli, Hans Strobl,Daniel Gibbs, Ken Kadoya, James W. Fawcett, Paul Lu, MarkH. Tuszynski. Injured adult motor and sensoryaxons regenerate into appropriateorganotypic domains of neuralprogenitor grafts Nat Commun. 2018; 9: 84.doi: 10.1038/s41467- 017-02613-x.PMCID:PMC5758751
217. Hiroaki Koseki, Matteo Donegá, Brian YH Lam, Veselina Petrova, Susan van Erp, Giles SH Yeo, Jessica CF Kwok, Charles ffrench-Constant, Richard Eva, James W Fawcett.Selective rab11 transport and the intrinsic regenerative ability of CNS axons eLife. 2017; 6: e26956. doi: 10.7554/ eLife.26956. PMCID: PMC5779230
218. Celia A. McKee, John R. Lukens.Emerging Roles for theImmune System in Traumatic Brain Injury.FrontImmunol. 2016; 7: 556. Published online 2016 Dec 5. doi: 10. 3389/fimmu.2016.00556. PMCID:PMC5137185
219. Zachary R. Patterson, Matthew R. Holahan. Understanding the neuroinflammatory response following concussion to develop treatment strategies.Front Cell Neurosci. 2012; 6: 58. doi: 10.3389 /fncel.2012.00058PMCID: PMC3520152
220. Frederick A. Zeiler, Eric Peter Thelin, Adel Helmy, Marek Czosnyka, Peter J. A. Hutchinson, David K. Menon.A systematic review of cerebral microdialysis and outcomes in TBI: relationships to patient functional outcome, neurophysiologic measures, and tissue outcome.Acta Neurochir (Wien) 2017; 159(12): 2245–2273. doi: 10. 1007/s00701-017-3338-2. PMCID: PMC5686263
221. Celia A. McKee, John R. Lukens.Emerging Roles for the Immune System in Traumatic Brain Injury. Front Immunol. 2016; 7: 556. doi: 10.3389/fimmu. 2016.00556. PMCID: PMC137185
222. Adel Helmy, Mathew R Guilfoyle, Keri LH Carpenter, John D Pickard, David K Menon, Peter J Hutchinson.Recombinant human interleukin-1 receptor antagonist promotes M1 microglia biased cytokines and chemokines following human traumatic brain injury.J Cereb Blood Flow Metab. 2016Aug; 36(8): 1434–1448. doi:10.1177/0271678X15620204.PMCID:PMC4976751
223. M Costas, T Trapp, M P Pereda, J Sauer, R Rupprecht, V E Nahmod, J M Reul, F Holsboer, E Arzt.Molecular and functional evidence for in vitro cytokine enhancement of human and murine target cell sensitivity to glucocorticoids. TNF-alpha priming increases glucocorticoid inhibition of TNF- alpha-induced cytotoxicity/apoptosis.J Clin Invest. 1996 Sep 15; 98(6): 1409–1416. doi: 10.1172/ JCI118928.PMCID: PMC507567
224. Woodcock T., Morganti-Kossmann M. C. (2013). The role of markers of inflammation in traumatic brain injury. Front. Neurol. 4:18. 10.3389/fneur.2013.00018
225. Simon D.W., McGeachy M.J., Bayir H., Clark R.S., Loane D.J., and Kochanek P.M. (2017). The far-reaching scope of neuroinflammation after traumatic brain injury. Nat. Rev. Neurol. 13, 572.
226. Ziebell J.M., and Morganti-Kossmann M.C. (2010). Involvement of pro- and anti-inflammatory cytokines and chemokines in the pathophysiology of traumatic brain injury. Neurotherapeutics 7,22–30
227. Cavaillon J.M. (2001). Pro- versus anti-inflammatory cytokines:myth or reality. Cell. Mol. Biol. (Noisy-le-grand) 47, 695–702
228. Helmy A., Antoniades C.A., Guilfoyle M.R., Carpenter K.L., andHutchinson P.J. (2012). Principal component analysis of thecytokine and chemokine response to human traumatic braininjury. PLoS One 7
229. Thelin E.P., Tajsic T., Zeiler F.A., Menon D.K., Hutchinson P.J.,Carpenter K.L., Morganti-Kossmann M.C., and Helmy A.(2017). Monitoring the neuroinflammatory response followingacute brain injury. Front. Neurol. 8, 351.
230. Reese TS, Karnovsky MJ. Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase.J Cell Biol. 1967Jul;34(1):207-17.PMID:6033532
231. Abbott NJ, Ronnback L, Hansson E 2006. Astrocyte–endothelialinteractions at the blood–brain barrier. Nat Rev Neurosci 7: 41–53.
232. Dyrna F, Hanske S, Krueger M, Bechmann I.The blood-brainbarrier.J Neuroimmune Pharmacol. 2013 Sep;8(4):763-73. doi:10.1007/s11481-013-9473-5. Epub 2013 Jun 6.Review.PMID:23740386
233. Aird WC 2007b. Phenotypic heterogeneity of the endothelium: I.Structure, function, and mechanisms. Circ Res 100: 158–173
234. Armulik A, Genové G, Mäe M, Nisancioglu MH, Wallgard E,Niaudet C, He L, Norlin J, Lindblom P, Strittmatter K, et al.2010. Pericytes regulate the blood–brain barrier. Nature468: 557–561.
235. Armulik A, Genové G, Betsholtz C 2011. Pericytes:Developmental, physiological, and pathological perspectives,problems, and promises. Dev Cell 21: 193–215.
236. Attwell D, Buchan AM, Charpak S, Lauritzen M, Macvicar BA,Newman EA 2010. Glial and neuronal control of brain bloodflow. Nature 468: 232–243.
237. Del Zoppo GJ, Milner R, Mabuchi T, Hung S, Wang X, Koziol JA2006. Vascular matrix adhesion and the blood–brainbarrier. Biochem Soc Trans 34: 1261–1266.
238. Engelhardt B, Sorokin L 2009. The blood–brain and the blood–cerebrospinal fluid barriers: Function and dysfunction. SeminImmunopathol 31: 497–511.
239. Engelhardt B 2008. Immune cell entry into the central nervoussystem: Involvement of adhesion molecules and chemokines. JNeurol Sci 274: 23–26.
240. Hue CD, Cao S, Haider SF, Vo KV, Effgen GB, Vogel E 3rd,Panzer MB, Bass CR, Meaney DF, Morrison B 3rd.Blood-brainbarrier dysfunction after primary blast injury in vitro.JNeurotrauma. 2013 Oct 1;30(19):1652-63. doi: 10.1089/neu.2012.2773. PMID:23581482
241. Chodobski A, Zink BJ, Szmydynger-Chodobska J. Blood - brainbarrier pathophysiology in traumatic brain injury.Transl StrokeRes. 2011 ec;2(4):492-516. doi: 10.1007/s12975-011-0125-x.PMID:22299022
242. Ghabriel MN, Zdziarski IM, Leigh C, Vink R Changes inthe blood-CSF barrier in experimental traumatic brain injury.ActaNeurochir Suppl. 2010;106:239-45. doi:10.1007/978-3-211-98811-4_45. PMID:19812957
243. Scholz M, Cinatl J, Schädel-Höpfner M, Windolf.J.Neutrophilsand the blood-brain barrier dysfunction

after trauma.Med ResRev. 2007 May;27(3): 401-16. Review. PMID:16758487
244. Johanson C, Stopa E, Baird A, SharmaH.Traumatic brain injury and recovery mechanisms: peptidemodulation of periventricular neurogenic regions by thechoroid plexus-CSF nexus.J Neural Transm (Vienna). 2011Jan;118(1):115-33. doi: 10.1007/s00702-010-04980. PMID:20936524
245. Ekmark-Lewén S, Flygt J, Kiwanuka O, Meyerson BJ,LewénA, Hillered L, Marklund N.Traumatic axonal injury in themouse is accompanied by a dynamic inflammatory response,astroglial reactivity and complex behavioral changes.JNeuroinflammation. 2013 Apr4;10:44. doi: 10.1186/1742-2094-10-44.PMID:23557178
246. Badeli H, Shahrokhi N, KhoshNazar M, Asadi-Shekaari M,Shabani M, Eftekhar Vaghefi H, Khaksari M, Basiri M.AqueousDate Fruit Efficiency as Preventing Traumatic Brain Deteriorationand Improving Pathological Parametersafter Traumatic Brain Injury in Male Rats.Cell J. 2016Fall;18(3):416-24. Epub 2016 Aug 24. PMID:27602324
247. Guilfoyle MR, Carpenter KL, Helmy A, Pickard JD, MenonDK, Hutchinson PJ.Matrix Metalloproteinase Expression inContusional Traumatic Brain Injury: A Paired MicrodialysisStudy.J Neurotrauma. 2015 Oct 15;32(20):1553-9. doi:10.1089/neu.2014.3764. Epub 2015 May 14.PMID:25858502
248. Ghabriel MN, Zdziarski IM, Leigh C, Vink R.Changes inthe blood-CSF barrier in experimental traumatic brain injury.Acta Neurochir Suppl. 2010;106:239-45. doi: 10.1007/978-3-211-98811-4_45.PMID:19812957
249. Brkic M, Balusu S, Van Wonterghem E, Gorlé N, Benilova I,Kremer A, Van Hove I, Moons L, De Strooper B, Kanazir S,Libert C, Vandenbroucke RE. Amyloid β Oligomers DisruptBlood-CSF Barrier Integrity by Activating MatrixMetalloproteinases.J Neurosci. 2015 Sep 16;35(37):12766-78.doi: 10.1523/JNEUROSCI.0006-15.2015.PMID:26377465
250. Duits FH, Hernandez-Guillamon M, Montaner J, Goos JD,Montañola A, Wattjes MP, Barkhof F, Scheltens P, TeunissenCE, van der Flier WM.Matrix Metalloproteinases inAlzheimer's Disease and Concurrent Cerebral Microbleeds.JAlzheimers Dis.2015;48(3):711-20. doi: 10.3233/JAD-143186.PMID:26402072
251. Liu CL, Chen CC, Lee HC, Cho DY.Matrix metalloproteinase-9 in the ventricular cerebrospinal fluid correlated with theprognosis of traumatic brain injury.Turk Neurosurg.2014;24(3):363-8. doi: 10.5137/1019-5149.JTN.8551-13.0.PMID:24848175
252. Musumeci G, Magro G, Cardile V, Coco M, Marzagalli R,Castrogiovanni P, Imbesi R, Graziano AC, Barone F, Di RosaM, Castorina S, Castorina A.Characterization of matrixmetalloproteinase-2 and -9, ADAM-10 and N-cadherinexpression in human glioblastoma multiforme.Cell Tissue Res.2015 Oct;362(1):45-60. doi: 10.1007/s00441-015-2197-5.PMID:25948484
253. Hsieh WT, Yeh WL, Cheng RY, Lin C, Tsai CF, Huang BR,Wu CY, Lin HY, Huang SS, Lu DY.Exogenous endothelin-1induces cell migration and matrix metalloproteinase expressionin U251 human glioblastoma multiforme.J Neurooncol. 2014Jun;118(2):257-69. doi: 10.1007/s11060-014-1442-1.PMID:24756349
254. Radisky ES, Radisky DC.Matrix metalloproteinases asbreast cancer drivers and therapeutic targets.Front Biosci(Landmark Ed). 2015 Jun 1;20:1144-63.PMID:25961550
255. Alcantara MB, Dass CR.Pigment epithelium-derived factor asa natural matrix metalloproteinase inhibitor: a comparison withclassical matrix metalloproteinase inhibitors usedfor cancer treatment. J Pharm Pharmacol. 2014 Jul;66(7):895-902. doi: 10.1111/jphp.12218. PMID:24697787
256. Tauro M, McGuire J, Lynch CC.New approaches to selectivelytarget cancer-associated matrix metalloproteinase activity.Cancer Metastasis Rev. 2014 Dec;33(4):1043-57. doi:10.1007/s10555-014-9530-4. PMID:25325988
257. Wang XX, Tan MS, Yu JT, Tan L.Matrixmetalloproteinases and their multiple rolesin Alzheimer's disease.Biomed Res Int. 2014;2014:908636.doi: 10.1155/2014/908636. PMID:25050378
258. Wang W.-Y., Tan M.-S., Yu J.-T., Tan L. (2015). Role of pro-inflammatory cytokines released from microglia in Alzheimer'sdisease. Ann. Transl. Med. 3, 136. 10.3978/j.issn.2305-5839.2015.03.49
259. Chaturvedi M, Kaczmarek L.Mmp-9 inhibition: a therapeuticstrategy in ischemic stroke.Mol Neurobiol. 2014 Feb;49(1):563-73. doi: 10.1007/s12035-013-8538-z. PMID:24026771
260. Kurzepa J, Kurzepa J, Golab P, Czerska S, Bielewicz J.Thesignificance of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9in the ischemic stroke.Int J Neurosci. 2014 Oct;124(10):707-16. doi: 10.3109/00207454.2013.872102PMID:24304146
261. Gołąb P, Boguszewska-Czubara A, Kiełbus M, Kurzepa J.The rtPA increases MMP-9 activity in serum during ischaemic stroke.Neurol Neurochir Pol. 2014;48(5):309-14.doi: 10.1016/j.pjnns.2014.07.012.PMID:25440008
262. Sapojnikova N, Kartvelishvili T, Asatiani N, Zinkevich V,Kalandadze I, Gugutsidze D, Shakarishvili R, TsiskaridzeA.Correlation between MMP-9 and extracellular cytokineHMGB1 in prediction of human ischemic stroke outcome.Biochim Biophys Acta. 2014 Sep;1842(9):1379-84. doi:10.1016/j.bbadis.2014.04.031.PMID:24815357
263. Yang Y, Rosenberg GA.Matrix metalloproteinases as therapeutictargets for stroke.Brain Res. 2015 Oct14;1623:30-8. doi:10.1016/j.brainres.2015.04.024.PMID:25916577
264. Lindsey ML, Zouein FA, Tian Y, Padmanabhan Iyer R, deCastro Brás LE.Osteopontin is proteolytically processed by matrix metalloproteinase 9.Can J Physiol Pharmacol. 2015 Oct;93(10):879-86. doi: 10.1139/cjpp-2015-0019. .PMID:26176332
265. Leavenworth JW, Verbinnen B, Wang Q, Shen E, Cantor H.Intracellular osteopontin regulates homeostasis and function ofnatural killer cells.Proc Natl Acad Sci U S A. 2015 Jan13;112(2):494-9. doi: 10.1073/pnas.1423011112 PMID:25550515
266. Wolak T.Osteopontin - a multi-modal marker and mediator in atherosclerotic vascular disease.Atherosclerosis. 2014 Oct;236(2):327-37. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.07.004. PMID:25128758
267. Aderhold C, Grobschmidt GM, Sauter A, Faber A, HörmannK, Schultz JD. Interleukin 4, interleukin 6 and osteopontin-serological markers of head and neck malignancy in primarydiagnostics: A pilot study.Oncol Lett. 2014 Sep;8(3):1112-1118.PMID:25120668
268. Toyonaga T, Nakase H, Ueno S, Matsuura M, Yoshino T,Honzawa Y, Itou A, Namba K, Minami N, Yamada S,Koshikawa Y, Uede T, Chiba T, Okazaki K.Osteopontin Deficiency Accelerates Spontaneous Colitis inMice with Disrupted Gut Microbiota and MacrophagePhagocytic Activity.PLoS One. 2015 Aug 14;10(8):e0135552.doi: 10.1371/journal.pone.0135552.PMID:26274807
269. Yang Y, Gao SG, Zhang FJ, Luo W, Xue JX, Lei GH.Effectsof osteopontin on the expression of IL-6 and IL-8inflammatory factors in human knee osteoarthritischondrocytes.Eur Rev Med Pharmacol Sci.2014;18(23):3580-6. PMID:25535126
270. Leavenworth JW, Verbinnen B, Wang Q, Shen E, Cantor H.Intracellular osteopontin regulates homeostasis and function ofnatural killer cells.Proc Natl Acad Sci U S A. 2015 Jan13;112(2):494-9. doi: 10.1073/pnas.1423011112.PMID:25550515
271. Chen J, Yang L, Chen Y, Zhang G, Fan Z Controlled releaseof osteopontin and interleukin-10 from modified endovascular coilpromote cerebral aneurysm healing.J Neurol Sci. 2016 Jan15;360:13-7. doi: 10.1016/j.jns.2015.11.037 PMID:26723964
272. Sun Y, Yin XS,Guo H, Han RK, He RD, ChiLJ.Elevated osteopontin levels in mild cognitive impairmentand Alzheimer's disease.Mediators Inflamm. 2013;2013:615745. doi: 10.1155/2013/615745.PMID:23576854
273. Comi C, Carecchio M, Chiocchetti A, Nicola S, Galimberti D,Fenoglio C, Cappellano G, Monaco F, Scarpini E, DianzaniU.Osteopontin is increased in the cerebrospinal fluid ofpatients with Alzheimer's disease and its levels correlate withcognitive decline.J Alzheimers Dis. 2010;19(4):1143-8. doi:10.3233/JAD-2010-1309.PMID:20308780
274. Paterson RW, Heywood WE, Heslegrave AJ, Magdalinou NK,Andreasson U, Sirka E, Bliss E, Slattery CF, Toombs

J,Svensson J, Johansson P, Fox NC, Zetterberg H, Mills K,Schott JM.A targeted proteomic multiplex CSF assay identifiesincreased malate dehydrogenase and other neurodegenerativebiomarkers in individuals with Alzheimer's disease pathology.Transl Psychiatry. 2016 Nov 15;6(11):e952.doi: 10.1038/tp.2016.194.PMID:27845782

275. Wung JK, Perry G, Kowalski A, Harris PL, Bishop GM,Trivedi MA, Johnson SC, Smith MA, Denhardt DT, AtwoodCS.Increased expression of the remodeling- and tumorigenic-associated factor osteopontin in pyramidal neurons ofthe Alzheimer's disease brain.Curr Alzheimer Res. 2007Feb;4(1):67-72.PMID:17316167
276. Ge H, Yuan W, Liu J, He Q, Ding S, Pu J, He B.Functionalrelevance of protein glycosylation to the pro-inflammatoryeffects of extracellular matrix metalloproteinase inducer(EMMPRIN) on monocytes/macrophages.PLoS One. 2015Feb6;10(2):e0117463.doi:10.1371/journal.pone. 0117463. PMID:25658763
277. Kaushik DK, Hahn JN, Yong VW.EMMPRIN, an upstreamregulator of MMPs, in CNS biology.Matrix Biol. 2015May-Jul;44-46:138-46.doi:10.1016/j.matbio. 2015.01.018. Review. PMID:25644103
278. http://human.brain-map.org/microarray
279. Agrawal SM, Silva C, Tourtellotte WW, Yong VWEMMPRIN: a novel regulator of leukocyte transmigration intothe CNS in multiple sclerosis and experimental autoimmuneencephalomyelitis.J Neurosci. 2011 Jan 12;31(2):669-77.doi:10.1523/JNEUROSCI.3659-10.2011. PMID:21228176
280. Agrawal SM, Silva C, Wang J, Tong JP, Yong VW.A novelanti-EMMPRIN function-blocking antibody reduces T cellproliferation and neurotoxicity: relevance to multiplesclerosis.J Neuroinflammation. 2012 Apr 5;9:64. doi:10.1186/1742-2094-9-64.PMID:22480370
281. Kaushik DK, Yong HY, Hahn JN, Silva C, Casha S, HurlbertRJ, Jacques FH, Lisak R, Khan O, Ionete C, Larochelle C, PratA, Bar-Or A, Yong VW. Evaluating Soluble EMMPRIN as aMarker of Disease Activity in Multiple Sclerosis: Studies ofSerum and Cerebrospinal Fluid.PLoS One. 2016 Oct11;11(10):e0163802. doi:10.1371/ journal.pone. 0163802.PMID:27727297
282. Zhu W, Khachi S, Hao Q, Shen F, Young WL, Yang GY, ChenY.Upregulation of EMMPRIN after permanent focal cerebralischemia.Neurochem Int. 2008 May;52(6):1086-91. doi:10.1016/j.neuint.2007.11.005. PMID:18164515
283. Burggraf D, Liebetrau M, Martens HK, Wunderlich N, JägerG, Dichgans M, Hamann GF.Matrix metalloproteinaseinduction by EMMPRIN in experimental focal cerebralischemia.Eur J Neurosci. 2005 Jul;22(1):273-7.PMID: 16029217
284. Burggraf D, Martens HK, Dichgans M, Hamann GF.Matrixmetalloproteinase (MMP) induction and inhibition at differentdoses of recombinant tissue plasminogen activator followingexperimental stroke.Thromb Haemost. 2007 Nov;98(5):963-9.PMID:18000599
285. Kanyenda LJ, Verdile G, Boulos S, Krishnaswamy S, Taddei K,Meloni BP, Mastaglia FL, Martins RN.The dynamics of CD147in Alzheimer's disease development and pathology.J Alzheimers Dis. 2011; 26(4):593-605. doi: 10.3233/JAD-2011-110584.PMID:21694447
286. Nahalkova J, Volkmann I, Aoki M, Winblad B, Bogdanovic N,Tjernberg LO, Behbahani H.CD147, a gamma-secretaseassociated protein is upregulated in Alzheimer's disease brainand its cellular trafficking is affected by presenilin-2.Neurochem Int. 2010 Jan;56(1):67-76. doi:10.1016/j.neuint.2009.09.003. PMID:19751784
287. Guo JH, Cheng HP, Yu L, Zhao S Natural antisense transcriptsof Alzheimer's disease associated genes.DNA Seq. 2006Apr;17(2):170-3.PMID:17076261
288. Iacono KT, Brown AL, Greene MI, Saouaf SJ CD147immunoglobulin superfamily receptor function and role in pathology.Exp Mol Pathol. 2007 Dec;83(3):283-95.PMID:17945211
289. Tian L, Zhang Y, Chen Y, Cai M, Dong H, Xiong L.EMMPRIN is an independent negative prognostic factor for patients with astrocytic glioma.PLoS One. 2013;8(3):e58069.1doi: 10.1371/journal.pone.0058069.PMID:23516431
290. Tsai WC, Chen Y, Huang LC, Lee HS, Ma HI, Huang SM,Sytwu HK, Hueng DY.EMMPRIN expression positively correlates with WHO grades of astrocytomas and meningiomas.J Neurooncol. 2013 Sep;114(3):281-90. doi: 10.1007/s11060-013-1184-5. PMID:23817808
291. Miranda-Gonçalves V, Honavar M, Pinheiro C, Martinho O, Pires MM, Pinheiro C, Cordeiro M, Bebiano G, Costa P, Palmeirim I, Reis RM, Baltazar F.Monocarboxylate transporters (MCTs) in gliomas: expression and exploitation as therapeutic targets.Neuro Oncol. 2013 Feb;15(2):172-88. doi: 10.1093/neuonc/nos298. PMID:23258846
292. Kaushik DK, Hahn JN, Yong VW.EMMPRIN, an upstream regulator of MMPs, in CNS biology.Matrix Biol. 2015 May-Jul;44-46:138-46. doi: 10.1016/j.matbio.2015.01.018. PMID:25644103
293. Fei F, Li S, Fei Z, Chen Z.The roles of CD147 in the progression of gliomas.Expert Rev Anticancer Ther. 2015;15(11):1351-9. doi: 10.1586/14737140.2015.1092874. Review.PMID:26414447
294. Timothy O'Brien, MD, PhD and Frank P. Barry, PhD Mayo Clin Proc. 2009 Oct; 84(10): 859-861. PMCID: PMC2755803, PMID: 19797773 Stem Cell Therapy and Regenerative Medicine
295. Lladó J, Haenggeli C, Maragakis NJ, Snyder EY, Rothstein JD. Neural stem cells protect against glutamate-induced excitotoxicity and promote survival of injured motor neurons through the secretion of neurotrophic factors. Mol CellNeurosci.2004;27:322–331.doi:10.1016/j.mcn. 2004.07.010.
296. Caplan AI. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. J Cell Physiol. 2007;213:341–347. doi: 10.1002/jcp.21200.
297. Harting MT, Baumgartner JE, Worth LL, Ewing-Cobbs L, Gee AP, Day MC, Cox CS., Jr Cell therapies for traumatic brain injury. Neurosurg Focus. 2008; 24: E18. doi: 10.3171/FOC/2008/24/3-4/E17.
298. Maegele M, Schaefer U. Stem cell-based cellular replacement strategies following traumatic brain injury (TBI) Minim Invasive Ther Allied Technol. 2008;17:119–131. doi: 10.1080/ 13645700801970087.
299. Schouten JW, Fulp CT, Royo NC, Saatman KE, Watson DJ, Snyder EY, Trojanowski JQ, Prockop DJ, Maas AI, McIntosh TK. A review and rationale for the use of cellular transplantation as a therapeutic strategy for traumatic brain injury. J Neurotrauma. 2004;21:1501–1538. doi: 10.1089 /neu. 2004. 21.1501.
300. Healthy human CSF promotes glial differentiation of hESC-derived neural cells while retaining spontaneous activity in existing neuronal networks
301. Lehtinen MK, Zappaterra MW, Chen X, Yang YJ, Hill AD, Lun M, Maynard T, Gonzalez D, Kim S, Ye P, D'Ercole AJ, Wong ET, LaMantia AS, Walsh CA. The cerebrospinal fluid provides a proliferative niche for neural progenitorcells. Neuron. 2011;69(5):893–905.
302. Martin C, Bueno D, Alonso MI, Moro JA, Callejo S, Parada C, Martin P, Carnicero E, Gato A. FGF2 plays a key role in embryonic cerebrospinal fluid trophic properties over chick embryo neuroepithelial stem cells. Dev Biol. 2006;297(2):402–16.
303. Salehi Z, Mashayekhi F, Naji M, Pandamooz S. Insulin-like growth factor-1 and insulin-like growth factor binding proteins in cerebrospinal fluid during the development of mouse embryos. J Clin Neurosci. 2009;16(7):950–3.
304. Mashayekhi F, Azari M, Moghadam LM, Yazdankhah M, Naji M, Salehi Z. Changes in cerebrospinal fluid nerve growth factor levels during chick embryonic development. J Clin Neurosci. 2009;16(10):1334–7.
305. Johanson C, Stopa E, Baird A, Sharma H. Traumatic brain injury and recovery mechanisms: peptide modulation of periventricular neurogenic regions by the choroid plexus-CSF nexus. J Neural Transm. 2011;118(1):115–33.
306. Islam A, Choudhury ME, Kigami Y, Utsunomiya R, Matsumoto S, Watanabe H, Kumon Y, Kunieda T, Yano H, Tanaka J. Sustained anti-inflammatory effects of TGF-β1 on microglia/macrophages.Biochim Biophys Acta. 2018 Mar;1864(3):721-734.doi:10.1016/j.bbadis. 2017.12.022. PMID:29269050

307. Braun M, Vaibhav K, Saad NM, Fatima S, Vender JR, Baban B, Hoda MN, Dhandapani KM. White matter damage after traumatic brain injury: A role for damage associated molecular patterns.Biochim Biophys Acta. 2017 Oct;1863(10 Pt B):2614-2626. doi: 10.1016/j.bbadis. 2017.05.020 .PMID:28533056
308. Corps KN, Roth TL, McGavern DB. Inflammation and neuroprotection in traumatic brain injury.JAMA Neurol. 2015 Mar;72(3):355-62. doi: 10.1001/jamaneurol.2014.3558. PMID:25599342
309. Chiaretti A, Antonelli A, Riccardi R, Genovese O, Pezzotti P, Di Rocco C, Tortorolo L, Piedimonte G. Nerve growth factor expression correlates with severity and outcome of traumatic brain injury in children. Eur J Paediatr Neurol. 2008;12(3):195–204.
310. Patterson SL, Grady MS, Bothwell M. Nerve growth factor and a fibroblast growth factor-like neurotrophic activity in cerebrospinal fluid of brain injured human patients.Brain Res.1993;605(1):43–9.
311. Morganti-Kossmann MC, Hans VH, Lenzlinger PM, Dubs R, Ludwig E, Trentz O, Kossmann T. TGF-beta is elevated in the CSF of patients with severe traumatic brain injuries and parallels blood-brain barrier function. J Neurotrauma. 1999;16(7):617–28.
312. Pasinetti GM, Nichols NR, Tocco G, Morgan T, Laping N, Finch CE. Transforming growth factor beta 1 and fibronectin messenger RNA in rat brain: responses to injury and cell-type localization. Neuroscience. 1993;54(4):893–907.
313. Xu C, Fu F, Li X, Zhang S. Mesenchymal stem cells maintain the microenvironment of central nervous system by regulating the polarization of macrophages/microglia after traumatic brain injury.Int J Neurosci. 2017 Dec;127(12):1124-1135. doi: 10.1080/00207454.2017. 1325884. PMID:28464695
314. Kota DJ, Prabhakara KS, Toledano-Furman N, Bhattarai D, Chen Q, DiCarlo B, Smith P, Triolo F, Wenzel PL, Cox CS Jr, Olson SD. Prostaglandin E2 Indicates Therapeutic Efficacy of Mesenchymal Stem Cells in Experimental Traumatic Brain Injury.Stem Cells. 2017 May;35(5):1416-1430. doi: 10.1002/ stem.2603. PMID:28233425
315. Ross SA, Halliday MI, Campbell GC, Byrnes DP, Rowlands BJ. The presence of tumour necrosis factor in CSF and plasma after severe head injury.British journal of neurosurgery.1994; (4) :419– 25.
316. Gensel JC, Kigerl KA, Mandrekar-Colucci SS, Gaudet AD, Popovich PG.Achieving CNS axon regeneration by manipulating convergent neuro-immune signaling.Cell Tissue Res. 2012 Jul;349(1):201-13.doi: 10.1007/s00441-012-1425-5. PMID:22592625
317. Kigerl KA, de Rivero Vaccari JP, Dietrich WD, Popovich PG, Keane RW.Pattern recognition receptors and central nervous system repair.Exp Neurol. 2014 Aug;258:5-16. doi: 10.1016/ j.expneurol.2014.01.001.PMID:25017883
318. Brothers HM, Bardou I, Hopp SC, Marchalant Y, Kaercher RM, Turner SM, Mitchem MR, Kigerl K, Wenk GL.Time-Dependent Compensatory Responses to Chronic Neuroinflammation in Hippocampus and Brainstem: The Potential Role of Glutamate Neurotransmission.J Alzheimers Dis Parkinsonism. 2013 Mar 28;3:110.PMID:24600537
319. Sriram K, O'Callaghan JP. Divergent roles for tumor necrosis factor-alpha in the brain. Journal of neuroimmune pharmacology: the official journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology. 007;2(2):140–53.
320. Stover JF, Schoning B, Beyer TF, Woiciechowsky C, Unterberg AW. Temporal profile of cerebrospinal fluid glutamate, interleukin-6, and tumor necrosis factor-alpha in relation to brain edema and contusion following controlled cortical impact injury in rats. Neuroscience letters. 2000;288(1):25–8.
321. Doyle KP, Cekanaviciute E, Mamer LE, Buckwalter MS. TGFbeta signaling in the brain increases with aging and signals to astrocytes and innate immune cells in the weeks afterstroke. Journal of neuroinflammation. 2010;7:62.
322. Sun D, Bullock MR, Altememi N, Zhou Z, Hagood S, Rolfe A, McGinn MJ, Hamm R, Colello RJ. The effect of epidermal growth factor in the injured brain after trauma in rats. J Neurotrauma. 2010;27(5):923–38.
323. Dixon CE, Flinn P, Bao J, Venya R, Hayes RL. Nerve growthfactor attenuates cholinergic deficits following traumatic braininjury in rats. Exp Neurol. 1997;146(2):479–90.
324. Lee C, Agoston DV. Vascular endothelial growth factor isinvolved in mediating increased de novo hippocampalneurogenesis in response to traumatic braininjury. JNeurotrauma. 2010;27(3):541–53.
325. Madathil SK, Evans HN, Saatman KE. Temporal and regionalchanges in IGF-1/IGF-1R signaling in the mouse brain aftertraumatic brain injury. J Neurotrauma. 2010;27(1):95–107
326. Sandberg Nordqvist AC, von Holst H, Holmin S, Sara VR,Bellander BM, Schalling M. Increase of insulin-like growth factor(IGF)-1, IGF binding protein-2 and -4 mRNAs following cerebralcontusion. Brain Res Mol Brain Res. 1996;38(2):285–93.
327. Cheng Q, Di Liberto V, Caniglia G, Mudo G. Time-course ofGDNF and its receptor expression after brain injury in therat. Neurosci Lett. 2008;439(1):24–9.
328. Yang K, Perez-Polo JR, Mu XS, Yan HQ, Xue JJ,Iwamoto Y,Liu SJ, Dixon CE, Hayes RL. Increased expression of brain-derived neurotrophic factor but not neurotrophin-3 mRNA in ratbrain after cortical impact injury. J Neurosci Res. 1996;44(2):157–64.
329. Sun D, Bullock MR, McGinn MJ, Zhou Z, Altememi N, Hagood S, Hamm R, Colello RJ. Basic fibroblast growth factor-enhanced neurogenesis contributes to cognitive recovery in rats following traumatic brain injury. Exp Neurol. 2009;216(1):56–65.
330. Vaquero J, Zurita M, Bonilla C, Fernández C, Rubio JJ,Mucientes J, Rodriguez B, Blanco E, Donis L.Progressiveincrease in brain glucose metabolism after intrathecaladministration of autologous mesenchymal stromal cells inpatients with diffuse axonal injury.Cytotherapy. 2017Jan;19(1):88-94. doi: 10.1016/j.jcyt.2016.10.001.PMID:27816409
331. Gao M, Dong Q, Lu Y, Yao H, Zou M, Yang Y, Zhu J, Yang Z, Xu M, Xu R.Induced neural stem cell-derived astrocytes modulate complement activation and mediate neuroprotection following closed head injury.Cell Death Dis. 2018 Jan 24;9(2):101. doi: 10.1038/s41419-017-0172-7. PMID: 29367701
332. Chang EH, Adorjan I, Mundim MV, Sun B, Dizon ML, Szele FG.Traumatic Brain Injury Activation of the Adult Subventricular Zone Neurogenic Niche. Front Neurosci. 2016 Aug 2;10:332. doi: 10.3389 /fnins.2016.00332. MID:27531972
333. Liu SJ, Zou Y, Belegu V, Lv LY, Lin N, Wang TY, McDonald JW, Zhou X, Xia QJ, Wang TH.Co-grafting of neural stem cells with olfactory en sheathing cells promotes neuronal restoration in traumatic brain injury with an anti-inflammatory mechanism. Neuroinflammation. 2014 Apr 2;11:66. doi: 10.1186/1742-2094-11-66.PMID:24690089
334. Fu XM, Liu SJ, Dan QQ, Wang YP, Lin N, Lv LY, Zou Y,LiuS, Zhou X, Wang TH.Combined Bone Mesenchymal Stem Cell and Olfactory Ensheathing Cell Transplantation Promotes Neural Repair Associated With CNTF Expression in Traumatic Brain-Injured Rats.Cell Transplant. 2015;24(8):1533-44.doi:10.3727/096368914X679345. PMID:24612678
335. Sun L, Lee J, Fine HA. Neuronally expressed stem cell factor induces neural stem cell migration to areas of brain injury. J Clin Invest. 2004;113(9):1364–74.
336. Toda T, Gage FH.Review: adult neurogenesis contributes to hippocampal plasticity.Cell Tissue Res. 2017 Nov 29. doi: 10.1007/s00441-017-2735 4.PMID:29185071
337. Poppe D, Doerr J, Schneider M, Wilkens R, Steinbeck JA, Ladewig J, Tam A, Paschon DE, Gregory PD, Reik A, Müller CE, Koch P, Brüstle O Genome Editing in Neuroepithelial Stem Cells to Generate Human Neurons with High Adenosine-Releasing Capacity.Stem Cells Transl Med. 2018 Mar 28. doi: 10.1002/sctm.16-0272. PMID:29589874
338. Ngwenya LB, Mazumder S, Porter ZR, Minnema A, Oswald DJ,Farhadi HF.Implantation of Neuronal Stem Cells Enhances Object Recognition without Increasing Neurogenesis after

Lateral Fluid Percussion Injury in Mice.Stem Cells Int. 2018 Feb 6;2018:4209821. doi:10.1155/2018/4209821. PMID:29531536
339. Pang AL, Xiong LL, Xia QJ, Liu F, Wang YC, Liu F, Zhang P,Meng BL, Tan S, Wang TH Neural Stem Cell Transplantation IsAssociated with Inhibition of Apoptosis, Bcl-xL Upregulation,and Recovery of Neurological Function in a Rat Model of Traumatic Brain Injury.Cell Transplant. 2017Jul;26(7):1262-1275. Doi:10.1177/0963689717715168. PMID:28933221
340. Gu J, Bao Y, Chen J, Huang C, Zhang X, Jiang R, Liu Q, LiuY, Xu X, Shi W The Expression of NP847 and Sox2after TBI and Its Influence on NSCs.Front Cell Neurosci. 2016Dec 22;10:282. doi: 10.3389/ fncel.2016.00282.PMID:28066182
341. Dori I, Petrakis S, Giannakopoulou A, Bekiari C, Grivas I,Siska EK, Koliakos G, Papadopoulos GC.Seven days post-injury fate and effects of genetically labelled adipose-derivedmesenchymal cells on a rat traumatic brain injury experimental model.Histol Histopathol. 2017 Oct;32(10):1041-1055. doi:10.14670/HH-11-864. PMID:28035654
342. Ye Y, Zhao Z, Xu H, Zhang X, Su X, Yang Y, Yu X, He X Activation of Sphingosine 1-Phosphate Receptor 1 Enhances Hippocampus Neurogenesis in a Rat Model of Traumatic Brain Injury: An Involvement of MEK/Erk Signaling Pathway.Neural Plast. 2016;2016:8072156. doi: 10.1155/2016/8072156. PMID:28018679
343. Wang X, Seekaew P, Gao X, Chen J.Traumatic Brain Injury Stimulates Neural Stem Cell Proliferation via Mammalian Target of Rapamycin Signaling Pathway Activation.eNeuro. 2016 Nov 1;3(5). pii: ENEURO.0162-16.2016.PMID:27822507
344. Komada M, Takahashi M, Ikeda Y Involvement of SF-1in neurogenesis and neuronal migration in the developing neocortex.Neurosci Lett. 2015 Jul 23;600:85-90. doi: 10.1016/j.neulet.2015.06.005. PMID:26067405
345. Okano H, Nakamura M, Yoshida K, Okada Y, Tsuji O, NoriS, Ikeda E, Yamanaka S, Miura K.Steps toward safe cell therapy using induced pluripotent stem cells.Circ Res. 2013 Feb 1;112(3):523-33. doi: 10.1161/ CIRCRESAHA .111. 256149 . PMID:23371901
346. Ikeda K, Kageyama R, Suzuki Y, Kawakami K.Six1 is indispensable for production of functional progenitor cells during olfactory epithelial development.Int J Dev Biol. 2010;54(10):1453-64.doi:10.1387/ijdb.093041ki. PMID:21302255
347. Wataya T, Ando S, Muguruma K, Ikeda H, Watanabe K,Eiraku M, Kawada M, Takahashi J, Hashimoto N, SasaiY.Minimization of exogenous signals in ES cell cultureinduces rostral hypothalamic differentiation.Proc Natl AcadSci U S A. 2008 Aug 19;105(33):11796-801. doi:10.1073/pnas.0803078105. Epub 2008 Aug12.PMID:18697938
348. Peruzzaro ST, Gallagher J, Dunkerson J, Fluharty S, MuddD, Hoane MR, Smith JS. The impact of enriched environmentand transplantation of murine cortical embryonic stem cells onrecovery from controlled cortical contusion injury. RestorNeurol Neurosci. 2013;31(4):431-50. doi: 10.3233/RNN-120299.
349. Bedi SS, Hetz R, Thomas C, Smith P, Olsen AB, WilliamsS, Xue H, Aroom K, Uray K, Hamilton J, Mays RW, Cox CSJr. Intravenous multipotent adult progenitor cell therapy attenuates activated microglial/macrophage response and improves spatial learning after traumatic brain injury. Stem Cells Transl Med. 2013 Dec;2(12):953-60. doi:10.5966/sctm.2013-0100.
350. Nakajima-Koyama M, Lee J, Ohta S, Yamamoto T, Nishida E. Induction of Pluripotency in Astrocytes through a Neural Stem Cell-like State. J Biol Chem. 2015 Dec 25;290 (52):31173-88. doi: 10.1074/jbc.M115.683466. PMID:26553868
351. Yu JH, Seo JH, Lee JY, Lee MY, Cho SR.Induction ofNeurorestoration From Endogenous Stem Cells.Cell Transplant. 2016;25(5):863-82. doi: 10.3727/096368916X690511. PMID:26787093
352. Kim JH, Sun W, Han DW, Lim DJ, Lee J.Induced neural stemcells have protective effects on cortical neuronal cells invitro.Neurol Sci. 2015 Apr;36(4):527-34. doi: 10.1007/s10072-014-2012-1.PMID:25410028
353. Kim SU, Lee HJ, Kim YB.Neural stem cell-based treatment forneurodegenerative diseases.Neuropathology. 2013 Oct;33(5):491-504. doi: 10.1111/neup.12020. PMID:23384285
354. Kim SU, Lee HJ, Kim YB.Neural stem cell-based treatment forneurodegenerativediseases.Neuropathology. 2013Oct;33(5): 491-504. doi:10.1111/neup.12020.PMID:23384285
355. Lee C, Hu J, Ralls S, Kitamura T, Loh YP, Yang Y,Mukouyama YS, Ahn S. The molecular profiles of neural stemcell niche in the adult subventricular zone..PLoS One.2012;7(11):e50501. doi:10.1371/journal.pone.0050501.PMID:23209762
356. Chang DJ, Lee N, Park IH, Choi C, Jeon I, Kwon J, Oh SH,Shin DA, Do JT, LeeDR, Lee H, Moon H, Hong KS, DaleyGQ, Song J Therapeutic potential of human inducedpluripotent stem cells in experimental stroke.Cell Transplant.2013;22(8):1427-40.doi:10.3727/096368912 X657314. PMID:23044029
357. Lee DH, Lee JY, Oh BM, Phi JH, Kim SK, Bang MS, Kim SU,Wang KC.Functional recovery after injury of motor cortex in rats: effects of rehabilitation and stem cell transplantation in a traumatic brain injury model of cortical resection.Childs Nerv Syst. 2013 Mar;29(3):403-11. doi: 10.1007/s00381-012-1969-4.PMID:23180314
358. Zhang C, Cao J, Li X, Xu H, Wang W, Wang L, Zhao X, LiW, Jiao J, Hu B, Zhou Q, Zhao T.Treatment of multiple sclerosis by transplantation of neural stem cells derived from induced pluripotent stem cells.Sci China Life Sci. 2016 Sep;59(9):950-7. doi: 10.1007/s11427-016-0114-9.PMID:27233903
359. Xu X, Huang J, Li J, Liu L, Han C, Shen Y, Zhang G, Jiang H, Lin Z, Xiong N, WangT. Induced pluripotent stem cells and Parkinson's disease: modelling and treatment.Cell Prolif. 2016 Feb;49(1):14-26. doi: 10.1111/cpr.12229. PMID:26748765
360. Liu L, Huang JS, Han C, Zhang GX, Xu XY, Shen Y, Li J,Jiang HY, Lin ZC, Xiong N, Wang T Induced Pluripotent Stem Cells in Huntington's Disease: Disease Modeling and the Potential for Cell-Based Therapy.Mol Neurobiol. 2016 Dec;53(10):6698-6708. PMID:26659595
361. Zhao Y, Ye S, Liang D, Wang P, Fu J, Ma Q, Kong R, Shi L, Gong X, Chen W, Ding W, Yang W, Zhu Z, Chen H, Sun X, Zhu J, Li Z, Wang Y.In Vitro Modeling of Human Germ Cell Development Using Pluripotent Stem Cells.Stem Cell Reports. 2018Feb 13;10(2):509-523. doi: 10.1016/j.stemcr.2018.01.001. PMID:29398481
362. Wang LT, Jiang SS, Ting CH, Hsu PJ, Chang CC, Sytwu HK, Liu KJ, Yen BL Differentiation of Mesenchymal Stem Cells from Human Induced Pluripotent Stem Cells Results in Downregulation of c-Myc and DNA Replication Pathways with Immunomodulation Toward CD4 and CD8 Cells.Stem Cells. 2018 Feb 3. doi: 10.1002/stem.2795. PMID:29396902
363. Kwon JW, Jo HG, Park SM, Ku CH, Park DJ Engraftment and regenerative effects of bone marrow stromal cell transplantation on damaged rat olfactory mucosa.Eur Arch Otorhinolaryngol. 2016 Sep;273(9):2585-90. doi: 10.1007/s00405-016-3957-x. PMID:26940801
364. Buzoianu-Anguiano V, Orozco-Suárez S, García-Vences E, Caballero-Chacón S, Guizar-Sahagún G, Chavez-Sanchez L, Grijalva I The Morphofunctional Effect of the Transplantation of Bone Marrow Stromal Cells and Predegenerated Peripheral Nerve in Chronic Paraplegic Rat Model via Spinal Cord Transection.Neural Plast. 2015;2015:389520. doi:10.1155/2015/389520. PMID:26634157
365. Sun Z, Satomoto M, Makita K.Therapeutic effects of intravenous administration of bone marrow stromal cells on sevoflurane-induced neuronal apoptosis andneuroinflammation in neonatal rats.Korean J Anesthesiol. 2015 Aug;68(4):397-401. doi: 10.4097/kjae. 2015.68.4.397. PMID:26257854
366. Tan H, Kang X, Lu S, Liu L.The therapeutic effects of bone marrow mesenchymal stem cells after optic nervedamage in the adult rat.Clin Interv Aging. 2015 Feb 16;10:487-90. doi: 10.2147/CIA.S75319. PMID:25733825
367. Fang H, Song P, Shen Y, Shen C, Liu X Bone mesenchymal stem cell-conditioned medium decreases the generation of astrocytes during the process of neural stem cells

differentiation.J Spinal Cord Med. 2018 Jan;41(1):10-16. doi: 10.1080/10790268.2017.1314880. PMID:28649933
368. Shen Q, Yin Y, Xia QJ, Lin N, Wang YC, Liu J, Wang HP, Lim A, Wang TH Bone Marrow Stromal Cells Promote Neuronal Restoration in Rats with Traumatic Brain Injury: Involvement of GDNF Regulating BAD and BAX Signaling.Cell Physiol Biochem. 2016;38(2):748-62. doi: 10.1159/000443031. PMID:26871686
369. Zhang LX, Shen LL, Ge SH, Wang LM, Yu XJ, Xu QC, Yang PS, Yang CZ.Systemic BMSC homing in the regeneration of pulp-like tissue and the enhancing effect of stromal cell- derived factor-1 on BMSC homing.Int J Clin Exp Pathol. 2015 Sep 1;8(9):10261-71. PMID:26617734
370. Li G, Yang Y, Dong HJ, Lin L The research progress of mesenchymal stem cells in the treatment of Traumatic brain injury.Turk Neurosurg. 2017 Jul 16. doi: 10.5137/1019-5149.JTN.20829-17.1.PMID:28944949
371. Wang Z, Luo Y, Chen L, Liang W.Safety of neural stem cell transplantation in patients with severe traumatic brain injury.Exp Ther Med. 2017 Jun;13(6):3613-3618. doi: 10.3892/etm.2017.4423. PMID:28588689
372. Lee JY, Xu K, Nguyen H, Guedes VA, Borlongan CV, Acosta SA.Stem Cell-Induced Biobridges as Possible Tools to Aid Neuroreconstruction after CNS Injury.Front Cell Dev Biol. 2017May10;5:51.doi:10.3389/fcell.2017.00051. PMID:28540289
373. Xu C, Fu F, Li X, Zhang S Mesenchymal stem cells maintain the microenvironment of central nervous system by regulating the polarization of macrophages/microglia after traumatic brain injury.Int J Neurosci. 2017 Dec;127(12):1124-1135. doi: 10.1080/00207454.2017.1325884. PMID:28464695
374. Yang Y, Ye Y, Su X, He J, Bai W, He X.MSCs-DerivedExosomes and Neuroinflammation, Neurogenesis and Therapy of Traumatic Brain Injury.Front Cell Neurosci. 2017 Feb 28;11:55. doi: 10.3389/fncel.2017.00055. PMID:28293177
375. Hasan A, Deeb G, Rahal R, Atwi K, Mondello S, Marei HE, Gali A, Sleiman E.Mesenchymal Stem Cells in the Treatment of Traumatic Brain Injury.Front Neurol. 2017 Feb 20;8:28. doi: 10.3389/fneur.2017. 00028..PMID: 28265255
376. Xiong Y, Mahmood A, Chopp M.Emerging potential of exosomes for treatment of traumatic brain injury.Neural Regen Res. 2017 Jan;12(1):19-22. doi: 10.4103/1673-5374.198966. PMID:28250732
377. Diaz MF, Vaidya AB, Evans SM, Lee HJ, Aertker BM, Alexander AJ, Price KM, Ozuna JA, Liao GP, Aroom KR, Xue H, Gu L, Omichi R, Bedi S, Olson SD, Cox CS Jr, Wenzel PL.Biomechanical Forces Promote Immune Regulatory Function of Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cells.Stem Cells. 2017 May;35(5):1259-1272. doi: 10.1002/stem.2587. PMID:28181347
378. Mishra SK, Rana P, Khushu S, Gangenahalli G.Therapeutic Prospective of Infused Allogenic Cultured Mesenchymal Stem Cells in Traumatic Brain Injury Mice: A longitudinal Proton Magnetic Resonance Spectroscopy Assessment.Stem Cells Transl Med. 2017 Jan;6(1):316-329. doi: 10.5966/sctm.2016-0087. PMID:28170180
379. Vaquero J, Zurita M, Bonilla C, Fernández C, Rubio JJ,Mucientes J, Rodriguez B, Blanco E, Donis L.Progressive increase in brain glucose metabolism after intrathecal administration of autologous mesenchymal stromal cells in patients with diffuse axonal injury.Cytotherapy. 2017 Jan;19(1):88-94.doi:10.1016/j.jcyt.2016.10.001. PMID:27816409
380. Kappy NS, Chang S, Harris WM, Plastini M, Ortiz T, Zhang P,Hazelton JP, Carpenter JP, Brown SA.Human adipose-derived stem cell treatment modulates cellular protection in both in vitro and in vivo traumatic brain injury models.J Trauma Acute Care Surg.2018 May;84(5):745-751.doi: 10.1097/TA.00000000 00001770.PMID:29251705
381. Lyu Q, Zhang ZB, Fu SJ, Xiong LL, Liu J, Wang TH.Microarray Expression Profile of lncRNAs and mRNAs in Rats with Traumatic Brain Injury after A2B5Cell Transplantation.Cell Transplant. 2017 Oct;26(10):1622-1635. doi: 10.1177/0963689717723014. PMID:29251113
382. Chen C, Zhong X, Smith DK, Tai W, Yang J, Zou Y, Wang LL, Sun J, Qin S, ZhangCL.Astrocyte-Specific Deletion of Sox2 Promotes Functional Recovery After Traumatic Brain Injury.Cereb Cortex. 2017 Nov 17:1-16. doi: 10.1093/ cercor/bhx303. PMID:29161339
383. Shi X, Bai Y, Zhang G, Liu Y, Xiao H, Liu X, Zhang W.Effects of over-expression of SOD2 in bone marrow-derived mesenchymal stem cells on traumatic brain injury.Cell Tissue Res. 2018 Apr;372(1):67-75. doi: 10.1007/s00441-017-2716-7. PMID:29082445

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοποί της παρούσης μελέτης είναι:

- η διερεύνηση των αλληλεπίδρασεων μεταξύ του ΕΝΥ ασθενών με κρανιοεγκεφαλική κάκωση και των βλαστοκύτταρων
- έλεγχος της δυνατότητας που έχουν αυτά ώστε να αναπτύξουν χαρακτήρες και ιδιότητες νευρικών κυττάρων
- Να διευκρινιστεί εάν το ΕΝΥ αποτελεί ασφαλές τροφικό περιβάλλον για τα μεταμοσχευμένα βλαστικά κύτταρα και
- εάν η αλληλεπίδραση με αυτά επηρεάζει τις αναγεννητικές και νευρουποστηρικτικές ιδιότητες τους σε συνθήκες εγκεφαλικής τραυματικής βλάβης.
- η δυνατότητατων δύο πρωτεϊνικών μορίων του κυτταρικού εξωσκελετού, της Emmprin (EMP) και της Osteopontin(OPN) -που έχουν μελετηθεί μερικώς σε πειραματικά μοντέλα, να αποτελέσουν χρήσιμους κλινικούς δείκτες για την πρόγνωση και την έκβαση του ασθενούς με κρανιοεγκεφαλική κάκωση, συγκρίνοντας τα επίπεδα τους σε ασθενείς με νευροεκφυλιστικές παθήσεις, πρόσφατα διαγνωσμένες και χρόνιες, με εκείνα που ελήφθησαν από ομάδες υγιούς ελέγχου και από ασθενείς με μη φλεγμονώδεις νευρολογικές ασθένειες.

Στάδια πειραματικής διαδικασίας

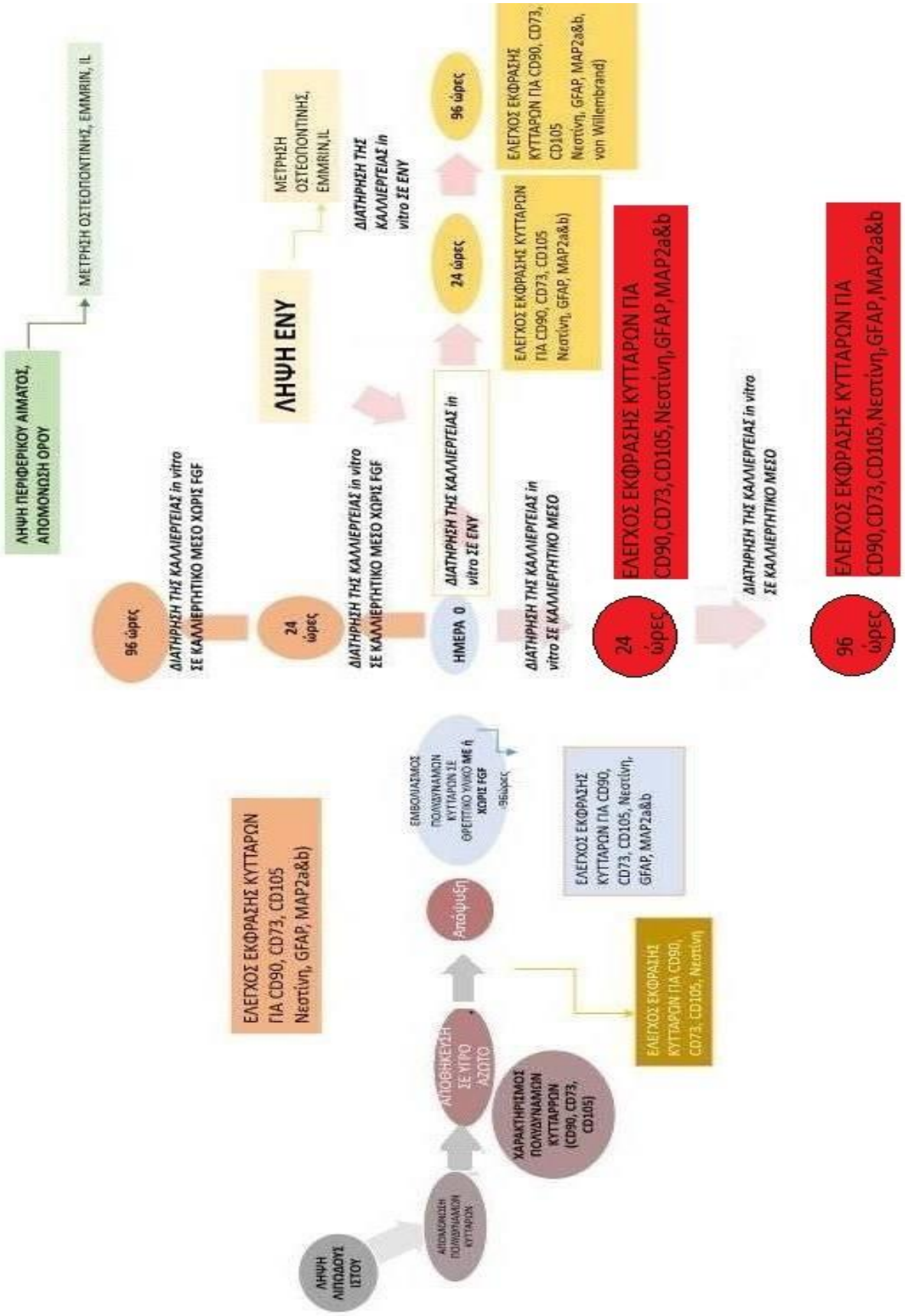
Η πειραματική διαδικασία αποτελείται από δύο φάσεις:

Στη πρώτη φάση έγινε η μελέτη της επίδρασης του εγκεφαλονωτιαίου υγρού (ΕΝΥ) σε καλλιέργειες βλαστικών κυττάρων. Συγκριτικά χρησιμοποιήθηκε ΕΝΥ από ασθενείς με κρανιοεγκεφαλική κάκωση (ΚΕΚ), ΕΝΥ από υγιείς μάρτυρες και ΕΝΥ από ασθενείς με νευροεκφυλιστικές παθήσεις.

Η δεύτερη φάση περιελέμβανε την μέτρηση των επιπέδων τιμών δύο πρωτεϊνικών μορίων του κυτταρικού εξωσκελετού, της πρωτείνης Emmprin (EMP) και της πρωτείνης Osteopontin (OPN).

Επίσης πραγματοποιήθηκε η μέτρηση παραγόμενων φλεγμονωδών κυτοκινών. Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκαν δείγματα πλάσματος αίματος από την περιφερική κυκλοφορία και δείγματα εγκεφαλονωτιαίου υγρού (ΕΝΥ).

Η ροή της πειραματικής διαδικασίας περιγράφεται στο **Διάγραμμα 1**



Διάγραμμα 1: ΡοήΠειραματικήςΔιαδικασίας

ΥΛΙΚΑ-ΜΕΘΟΔΟΙ

Ασθενείς

Η μελέτη αυτή εγκρίθηκε από το Επιστημονκό Συμβούλιο του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών και η διεξαγωγή της έλαβε έγκριση από το Επιστημονικό Συμβούλιο του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου «ΑΤΤΙΚΟΝ».

Συνολικά ένας αριθμός 94 νευροχειρουργικών, νευρολογικών ασθενών και ατόμων ελεύθερων νευρολογικής νόσου (ομάδα ελέγχου), συμμετείχαν στα διάφορα στάδια της μελέτης και στα επιμέρους πειράματα.

Οι ασθενείς με χρόνιες και οξείες τραυματικές βλάβες του εγκεφάλου (κρανιοεγκεφαλική κάκωση-ΚΕΚ) ήπιας, μέτριας και βαριάς σοβαρότητας, εισήχθησαν στο νοσοκομείο για νευροχειρουργική αντιμετώπιση.Η διάγνωση της ΚΕΚ βασίστηκε στον κλινικό έλεγχο και την απεικονιστική διερεύνηση.Η ταξινόμηση έγινε σύμφωνα με την Κλίμακα Γλασκώβης (Glasgow Coma Score-GCS) κατά την εισαγωγή των τραυματιών στο νοσοκομείο.Ο δείκτης πρόγνωσης της Κλίμακας Γλασκώβης (Glasgow Outcome Score-GOS) εφαρμόστηκε για την αντικειμενική αξιολόγηση της έκβασης των ασθενών κατά τους πρώτους 3 μήνες μετά το τραυματισμό.

Εκτός των δείγμάτων που προέρχονταν από ασθενείς με οξεία κρανιοεγκεφαλική κάκωση, χρησιμοποιήθηκαν για σύγκριση δείγματα από ασθενείς με χρόνιο υποσκληρίδιο αιμάτωμα συνέπεια κρανιοεγκεφαλικής κάκωσης και από ασθενείς με διάγνωση υδροκεφαλία φυσιολογικής πίεσης (Normal Pressure Hydrocepalus –NPH).

Αναλυτικά τα στοιχεία του φύλου, η ηλικία των ασθενών, εάν υποβλήθηκαν ή όχι σε χειρουργική επέμβαση, η ταξινόμηση τους σύμφωνα με την κλίμακα Γλασκώβης πριν το χειρουργείο, πιθανή αναβάθμιση τους σε μεγαλύτερη κατηγορία μετά το χειρουργείο, καθώς και ο χρόνος κατά τον οποίο έγινε η λήψη του ΕΝΥ περιγράφονται στον **Πίνακα 1**.

Δείγματα εγκεφαλονωτιαίου υγρού (ΕΝΥ) και περιφερικού αίματος ελήφθησαν επίσης στα διάφορα στάδια της πειραματικής μελέτης και από νευρολογικούς ασθενείς με νευροεκφυλιστικά σύνδρομα όπως διάφορες μορφές άνοιας,νόσο Parkinson και ισοδύναμα παρκισσονικά σύνδρομα καθώς και ορισμένοι με πολλαπλή σκλήρυνση (ΠΣ, multiplesclerosis-MS)

Η ομάδα ελέγχου περιελάμβανε ενήλικες χωρίς ατομικό ιστορικό ΚΕΚ, χωρίς νευροεκφυλιστική ή εν γένει νευρολογική πάθηση. Αυτοί προσήλθαν στο Νοσοκομείο με συμπτώματα νευρολογικής συνδρομής,που τελικά από τον εργαστηριακό και απεικονιστικό έλεγχο δεν διαπιστώθη παθολογία. Η συλλογή του ΕΝΥ και των δειγμάτων του περιφερικού αίματος αποκτήθηκαν κατά τη διάρκεια της αξιολόγησης, στα πλαίσια του διαγνωστικού ελέγχου των εξεταζόμενων ατόμων.

Όλοι οι ασθενείς έλαβαν θεραπευτική αγωγή, βάση των κατευθυντήριων οδηγιών ιατρικής περίθαλψης για την αντιμετώπιση των ΚΕΚ (Brain Trauma Foundation et al, 2016) και βάση των χειρουργικών ενδείξεων ορισμένοι υποβλήθηκαν στις συνιστώμενες νευροχειρουργικές επεμβάσεις.

Δήλωση συναίνεσης ελήφθη από όλους τους ασθενείς ή από συγγενικό πρόσωπο πρώτου βαθμού εάν η κλινική κατάσταση δεν καθιστούσε εφικτή την έγγραφη συγκατάθεση του πάσχοντα.

Οι τύποι ενδοκράνιας βλάβης περιελάμβαναν το Οξύ Υποσκληρίδιο Αιμάτωμα (ΟΥΑ),το Οξύ Επισκληρίδιο Αιμάτωμα (ΟΕΑ), την Τραυματική Υπαραχνοειδή Αιμορραγία (ΤΥΑ), την Διάχυτη Νευραξονική Βλάβη ή Διάχυτη Νευραξονότμηση (ΔΝΑ), την Τραυματική Ενδοκοιλιακή Αιμορραγία (ΤΕΑ) και την Ενδοπαρεγχυματική ή Ενδοεγκεφαλική Αιμορραγία εμφανιζόμενη ως μονήρεις Ενδοεγκεφαλικές Θλάσεις (ΕΘ) ή Πολλαπλές Ενδοεγκεφαλικές Θλάσεις (ΠΕΘ) ή ως οργανωμένο Ενδοεγκεφαλικό Αιμάτωμα (ΕΕΑ).

Οι ασθενείς ομαδοποιήθηκαν συγχρόνως και σύμφωνα με την κλινική σοβαρότητα της ΚΕΚ σε μια κατηγορία που περιλάμβανε τις μη κρίσιμες για την ζωή εγκεφαλικές βλάβες,(ήπιας και μέτριας βαρύτητας ΚΕΚ, αδιασωλήνωτοι μη κωματώδεις ασθενείς με αρχικό GCS≥9) και σε μια κατηγορία με σοβαρές και κρίσιμες για την επιβίωση κακώσεις (διασωληνωμένοι, κωματώδεις ασθενείς νοσηλευόμενοι στη ΜΕΘ με GCS≤8)

Πίνακας 1. Ταξινόμηση αριθμού νευροχειρουργικών ασθενών σε ομάδες

Παθολογία	Ταξινόμηση σύμφωνα με την κλίμακα Γλασκώβης	Αριθμός Ασθενών	Φύλο		Ηλικία	Χειρουργήθηκαν	Αριθμός Ασθενών με αναβάθμιση του GSC μετά το χειρουργείο	Χρόνος λήψης ΕΝΥ			Μέθοδος Λήψης ΕΝΥ
			♂	♀				<7ημ.ΜΕΤΑ ΕΙΣΑΓΩΓΗ	<<7ημ. ΜΕΤΑ ΧΕΙΡ.	>7ημΜΕΤΑ ΧΕΙΡ.	
Οξεία ΚΕΚ		28	21	7	60,36±3,95	15	9	11	7	13	
	Ελαφριάς Μορφής (GCS 13-14)	7	6	1	63,28±6,42	3	0	5	3	0	ΟΝΠ
	Μέτριας Βαρύτητας (GCS 9-13)	4	2	2	62±5,11	3	0	1	3	1	ΟΝΠ
	Μεγάλης Βαρύτητας (GCS 3-8)	17	13	4	58,76±5,95	10	8	5	1	12	ΟΝΠ, ICP,EVD
Χρόνια ΚΕΚ	Χρόνιο Υποσκληρίδιο Αιμάτωμα	6	3	3	77,67±4,89	6	-	0	5	1	ΟΝΠ
Υδροκεφαλία		14	10	4	72,61±3,69	5	-	9	5	0	VP shunt
ν. Πάρκινσον		6	3	3							ΟΝΠ
Πολλαπλή Σκλήρυνση		25	13	12							ΟΝΠ
Ομάδα Ελέγχου		13	4	9	48,84±3,86	0	-	13	0	0	ΟΝΠ
ΣΥΝΟΛΙΚΑ		61	38	23	62,29±2,48	26	8	33	17	14	

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ

Συλλογή δειγμάτων ΕΝΥ και περιφερικού αίματος

Τα δείγματα ΕΝΥ (εγκεφαλονωτιαίου υγρού) συλλέχθηκαν κατά τη διάρκεια διαγνωστικών και θεραπευτικών ιατρικών πράξεων, όπως :

1) την εισαγωγή καθετήρα μέτρησης ενδοκράνιας πίεσης (IntracranialPressure- ICP), 2) την τοποθέτηση εξωτερικής κοιλιοστομίας(extraventriculardrainage-EVD) για τον έλεγχο της αυξημένης ενδοκράνιας πίεσης στους κωματώδεις ασθενείς στην ΜΕΘ), 3) την εισαγωγή κεντρικού κοιλιακού καθετήρα κατά την τοποθέτηση συστήματος βαλβίδος κοιλιοπεριτοναϊκής παροχέτευσης ΕΝΥ (ventriculoperitonealshunt- VPshunt) για τη θεραπεία ασθενών με υδροκεφαλία και τέλος 4) κατά τη διαδικασία της οσφυονωτιαίας παρακέντησης (ΟΝΠ- lumbarpuncture , LP) τόσο σε νευρολογικούς και νευροχειρουργικούς ασθενείς όσο και στους μάρτυρες της ομάδας ελέγχου κατά την διάρκεια της διαγνωστικής προσέγγισης.

Τα δείγματα αυτά του ΕΝΥ συλλέχθηκαν σε σωλήνες πολυπροπυλενίου. Η ανάλυση του ΕΝΥ για την μέτρηση των φυσιολογικών συστατικών του (αλβουμίνη, πρωτεΐνες, γλυκόζη) και των διαφόρων παθολογικών παραγόντων και δεικτών φλεγμονής (γαλακτική αφυδρογονάση, κύτταρα, αιμοπετάλια, πρωτεϊνικά μόρια) διεξήχθη με συνήθεις κλινικές δοκιμές έμεσα μετά την λήψη των δειγμάτων. Τα προφίλ των βιολογικών δεικτών Osteopontine(OPN), EMMPRIN (EMP) και των ιντερλευκινών (IL) 6 και 8 (IL6, IL8), πραγματοποιήθηκαν σε δείγματα ΕΝΥ (20-30 mL) που συλλέχθηκαν σε σωλήνες πολυπροπυλενίου και αποθηκεύθηκαν στους -80 ° C, αφού πρώτα φυγοκεντρήθηκαν (2.000 στροφές για 10 min) προς απομάκρυνση κυτταρικών υπολλειμμάτων και αδιάλυτου υλικού.

Τα δείγματα του περιφερικού αίματος ελήφθησαν κατά την εισαγωγή στο νοσοκομείο, ή μετά από 24 έως 48 ώρες. Σε ορισμένες περιπτώσεις βαριά τραυματισμένων, διασωληνωμένων ασθενών, ο χρόνος που μεσολάβησε από τον τραυματισμό έως την λήψη του πρώτου δείγματος, διέφερε αναλόγως των χειρουργικών ενδείξεων, των ιατρικών χειρισμών, των πράξεων αναζωογόννησης, των θεραπευτικών αναγκών και των νοσηλευτικών συνθηκών.
Στους ασθενείς που ο χρόνος λήψης δειγμάτων ήταν μεταβλητός λόγω διαγνωστικών και θεραπευτικών περιορισμών, διερευνήθηκε αν μπορούν να αξιολογηθούν οι παρατηρήσεις που αφορούν την διαδικασία της νευρικής εκφύλισης με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με τις πιο οξείες μεταβολές (όπως φαίνεται και στον Πίνακα 1).

Προσδιορισμός συγκέντρωσης των πρωτεινών Οστεοποντίνης (OPN) και EMMRIN

Η μέτρηση της συγκέντρωσης των δύο αυτών παραγόντων στο ΕΝΥ πραγματοποιήθηκε με τα διαθέσιμα στο εμπόριο αντιδραστήρια για sandwich ELISA.Η μέθοδος πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία δωματίου σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

Το ΕΝΥ φυγοκεντρήθηκε και στη συνέχεια το υπερκείμενο χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό και τη φωτομετρική ανάλυση των πρωτεϊνών.

Η πρωτεΐνη OPN προσδιορίστηκε με τη χρήση ανιχνεύσεως Human Platinum ELISA assay (eBioscience, USA) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Εν συντομία, τα δείγματα του ΕΝΥ και του ορού αίματος αραιώθηκαν στο Ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού του κατασκευαστή (1:25 και 1:20, αντίστοιχα) και επωάστηκαν σε θερμοκρασία δωματίου (2 ώρες) σε προ-επικαλυμμένα με μικροπλακίδια ανθρώπινου αντι-OPN μονοκλωνικού αντισώματος. Μετά από ενδιάμεσα στάδια πλυσίματος με τα συνιστώμενα ρυθμιστικά διαλύματα της δοκιμασίας, οι πλάκες κατεργάστηκαν με Biotin-OPN Conjugate (1 ώρα) και Streptavidin-HRP (30 λεπτά). Η αντίδραση διακόπηκε με διάλυμα παύσης και μετρήθηκε η οπτική με φασματοφωτόμετρο. Οι οπτικές πυκνότητες (OD) μετρήθηκαν στα 450 nm (μήκος κύματος αναφοράς στα 550 nm) και οι συγκεντρώσεις OPN υπολογίστηκαν σύμφωνα με πρότυπες καμπύλες που δημιουργήθηκαν με σειριακές αραιώσεις ανασυνδυασμένου ανθρώπινου OPN που παρείχε ο κατασκευαστής. Το όριο ανίχνευσης της δοκιμασίας ήταν 0,26 ng / ml
Η πρωτεΐνη EMMPPIN προσδιορίστηκε με προσδιορισμό Quantikine ELISA (R & D Systems, USA) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Τα δείγματα ΕΝΥ και του ορού αίματος αραιώθηκαν σε διαλύτη δοκιμασίας (1: 5 και 1:20, αντίστοιχα) και επωάστηκαν (2 ώρες) σε επικαλυμμένα με μικροπλακίδια ανθρώπινου μονοκλωνικού αντισώματος EMMPRIN. Ακολούθησαν επωάσεις με EMMPRIN Conjugate (2 ώρες) και με διάλυμα υποστρώματος (2 ώρες), με ενδιάμεσες εκπλύσεις, σε κάθε στάδιο έκπλυσης, με τα συνιστώμενα ρυθμιστικά διαλύματα της ανάλυσης. Η αντίδραση διακόπηκε με διάλυμα παύσης και μετρήθηκε η οπτική απορρόφηση με φασματοφωτόμετρο. Οι συγκεντρώσεις EMMPRIN αξιολογήθηκαν με βάση τις μετρήσεις οπτικών πυκνοτήτων OD (450 nm-550 nm) και τις πρότυπες καμπύλες της ανασυνδυασμένης ανθρώπινης EMMPRIN που παρέχεται από τον κατασκευαστή. Η ανίχνευση της ανίχνευσης ήταν 2,94 μg / ml.

Προσδιορισμός συγκέντρωσης κυτταροκινών

Για τον προσδιορισμό των διαλυτών μορίων κυτταροκινών, τα δείγματα φλεβικού αίματος συλλέχθηκαν σε σωληνάρια κατάλληλα για πήγμα, αφέθηκαν να σχηματίσουν θρόμβο και κατόπιν φυγοκεντρήθηκαν για 10 λεπτά στις 1000 στροφές. Ο ορός διαιρέθηκε (aliquoted) και αποθηκεύτηκε στους -80°C μέχρι να γίνει η μέτρηση. Οι κυταροκίνες προσδιορίστηκαν με τη χρήση ανοσοσφαιριδίων τα οποία μετρήθηκαν με κυτταρομετρία ροής. Για την ανίχνευση χρησιμοποιήθηκαν τα αντίστοιχα σφαιρίδια της εταιρείας BenderMedSystems (FlowCytomix™ Comboplex)
Οι κυταροκίνες προσδιορίστηκαν με τη χρήση ανοσοσφαιριδίων τα οποία μετρήθηκαν με κυτταρομετρία ροής. Οι κυταροκίνες που διερευνήθηκαν ήταν οι IL-1β, IL-2, IL-6, IL-8 και IL-10. Για την ανίχνευση χρησιμοποιήθηκαν τα αντίστοιχα σφαιρίδια της εταιρείας Bender Med Systems (FlowCytomix™ Comboplex). Συνοπτικά το πρωτόκολλο βασίστηκε στη μεθοδολογία της sandwich ELISA με τη χρήση δύο πληθυσμών σφαιριδίων διαφορετικού μεγέθους που περιέχουν υποπληθυσμούς οι οποίοι διαφέρουν ως προς την ένταση της φλουορεσκείνης ανιχνεύοντας με τον τρόπο αυτό ταυτοχρόνως τις διαφορετικές κυταροκίνες. Η ανίχνευση έγινε σε κυτταρομετρητή ροής COULTEREPICSXL-MCD. Για τον υπολογισμό των συγκεντρώσεων των κυτταροκινών στο ΕΝΥ χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό πρόγραμμα FlowCytomixPro σε pg/ml.

Λήψη λιπώδους ιστου και Απομόνωση πολυδύναμων βλαστικών κυττάρων(ADSC)

Στη βιβλιογραφία ο τρόπος της απομόνωσης, η συγκομιδή, η δοκιμή, η καλλιέργεια των βλαστικών

κυττάρων ποικίλλουν σημαντικά. Τα πολυδύναμα κύτταρα που χρησιμοποιήθηκαν στη παρούσα μελέτη ήταν προσφορά της εταιρείας TheracellLaboratoriesInc.-Μικρή ποσότητα ανθρώπινου λιπώδους ιστού εκ του κοιλιακού τοιχώματος συλλέχθηκε, υπό τοπική αναισθησία. Το δείγμα τοποθετήθηκε υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε φιαλίδιο που περιείχε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού άλατος (PBS) και εντός κατάλληλου κυτίου μόνωσης και μεταφοράς, μεταφέρθηκε στο εργαστήριο εντός 45min.
Η επεξεργασία των ιστών και η απομόνωση των βλαστικών κυττάρων πραγματοποιήθηκε στα εργαστήρια της εταιρείαςTheracell, υπό προτυπωμένες πιστοποιημένες συνθήκες (GoodManufacturingPractice GMP).Ειδικότερα, ο λιπώδης ιστός υπέστη επεξεργασία στους 37 ° C για 1 ώρα με κατάλληλη συγκέντρωση κολλαγενάσης. Με την ολοκλήρωση της διαδικασίας , διεξήχθησαν πλύσεις κυττάρων ακολουθούμενες απόφυγοκέντρηση. Το κυτταρικό ίζημα επαναιωρήθηκε σε κατάλληλο μέσο καλλιέργειας κυττάρων και επωάστηκε στους 37 ° C / 5% CO_2, σε φλάσκεςόγκου 25 cm^2. Τα κύτταρα διαμοιράσθηκαν όταν κάλυψαν το 80% της επιφάνειας της φιάλης.Τέσσερις εβδομάδες μετά τη συλλογή δείγματος, συλλέχθηκαν 10 χ 10^6 μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα και τοποθετήθηκαν σε κρυοσυντήρηση με υγρό άζωτο σε συγκέντρωση 1 x 10^6 / φιαλίδιο.
Τα κύτταρα αυτά χαρακτηρισθηκαν με τα αντισώματα **CD90, CD73 και CD105**πριν την κατάψυξή τους σε υγρό άζωτο

Μεταφορά κυττάρων- Καλλιέργεια Πολυδύναμων κυττάρων-Επίδραση ΕΝΥ

Τα πολυδύναμα κύτταρα μεταφέρθηκαν σε ξηρό πάγο στο Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής της Α' Προπαιδευτικής Χειρουργικής Κλινικής ΕΚΠΑ.Για την μελέτη της επίδρασης του ΕΝΥ ασθενών με ποικίλης βαρύτητας κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις στα ADSC βλαστοκύτταρα και την ανάδειξη πιθανής νευροτροφοβλαστικής δραστηριότητας δημιουργήθηκε ένα in vitro σύστημα συγκαλλιέργειας, βασισμένο σε προηγούμενο πρωτόκολλο (DerventziA etal. 2014). Ειδικότερα τα πολυδύναμα κύτταρα τοποθετήθηκαν σε συνθήκες invitro καλλιέργειας σε επωαστήρα ελεγχόμενης ατμόσφαιρας (5%CO_2) και θερμοκρασίας (37ºC) μέσα σε φλάσκες κυτταροκαλλιέργειας με καλλιεργητικό μέσο DMEM/F12 + GlutaMaxTM με 1% Πενικιλίνη/Στρεπτομυκίνη (P/S), 10% Εμβρυικό Βόειο Ορό (FetalBovineSerum-FBS) και 5ng/mLbasicFibroblastGrowthFactor (bFGF).Η ανανέωση του καλλιεργητικού μέσου επανελήφθη κάθε 72 ώρες ώστε να διευκολυνθεί ο πολλαπλασιασμός των προσκολλημένων κυττάρων. Όταν ο πληθυσμός των κυττάρων κάλυψε το 80% της επιφάνειας της φλάσκας κυτταροκαλλιέργειας, τα κύτταρα αποκολλήθηκαν από την καλλιεργητική επιφάνεια με την χρήση 0.25% Θρυψίνης/ 0.02%EDTA και μοιράστηκαν με αναλογία 1:2 σε νέες φλάσκες.Η διαδικασία αυτή θεωρείται ως καλλιεργητική φάση 1 ("passage")και είναι δυνατή η επανάληψη της διαδικασίας για επιπλέον 3-10 «passages».
Στη καλλιεργητική φάση 2, έγινε καταμέτρηση των βιώσιμων κυττάρων μετά από χρώση αντιπροσωπευτικού δείγματος κυττάρων με μπλε του τρυπανίου σε αιματοκυτταρόμετρο τύπου neubauer. Ο πληθυσμός των πολυδύναμων κυττάρων διαμοιράστηκε με συγκέντρωση 2,5× 10^4 κύτταρα ανά mL σε καλλιεργητικά τριβλία πολλαπλών φρεατίων (48-well culture dish). Τα κύτταρα παρέμειναν σε καλλιεργητικό DMEM/F12 + GlutaMax^{TM} με 1% P/S, 10% FBS με ή χωρίς 5ng/mL bFGF για 24 ώρες. Κατόπιν, αποσύρθηκε το υπερκείμενο υγρό και προστέθηκε αντίστοιχη ποσότητα ΕΝΥ (σημείο αναφοράς έναρξης συγκαλλιέργειας (0 ώρες). Διατέθηκαν 2 φρεάτια καλλιέργειας για κάθε δείγμα ΕΝΥ (σημεία ελέγχου 24 και 96 ωρών συγκαλλιέργειας).

Η παρακολούθηση της κυτταρικής μορφολογίας όλων των καλλιεργειών τόσο πριν όσο και μετά την προσθήκη του ΕΝΥ έγινε με τη χρήση ανάστροφου μικροσκοπίου DM-ILLeica.
Στις 24 και 96 ώρες συγκαλλιέργειας συνελέγη το υπερκείμενο μέσο, το οποίο και καταψύχθηκε άμεσα

στους -80ºCγια να μελετηθεί το προφίλ εκλυόμενων αντιγόνων με μεθόδους ELISA. Επίσης, στις αντίστοιχες χρονικές στιγμές ακολούθησε η συλλογή των κυττάρων και η επεξεργασία τους για την μελέτη των κυτταρικών χαρακτηριστικών τους με την μέθοδο της Κυτταρομετρίας Ροής.
Επίσης, στις αντίστοιχες χρονικές στιγμές πραγματοποιήθηκε και η συλλογή των κυττάρων, τα οποία αποκολλήθηκαν από τα τριβλία καλλιέργειας με τη χρήση 0,25% Θρυψίνης/EDTA. Μετά την προσθήκη ρυθμιστικού διαλύματος 1xPBS που περιείχε 2%FBS τα κύτταρα φυγοκεντρήθηκαν για 7 λεπτά στα 1000rpm και στη συνέχεια επαναιωρήθηκαν σε 1 xPBS. Για τον ποσοστιαίο προσδιορισμό των κυτταρικών πληθυσμών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της κυτταρομετρίας ροής.Ενδιαμέσως, στις 48 ώρες συνελέγη το υπερκείμενο της κυτταροκαλλιέργειας στα εναπομείναντα φρεάτια κυτταροκαλλιέργειας και αντικαταστάθηκε με ίσης ποσότητας νέο ΕΝΥ.
Η ποσοστιαία εκτίμηση των υποπληθυσμών πραγματοποιήθηκε πριν την αντικατάσταση του καλλιεργητικού μέσου με ΕΝΥ (Ημέρα 0), 24 και 96 ώρες μετά την καλλιέργεια των προερχόμενων από τον λιπώδη ιστό πολυδύναμων κυττάρων με ΕΝΥ (Η ροή της πειραματικής διαδικασίας περιγράφεται στο *Διάγραμμα 1).*

Ανάπτυξη και Καλλιέργεια των ADSC Βλαστοκυττάρων σε εναλλακτικά καλλιεργητικά μέσα

Πληθυσμός ADSC Βλαστοκύτταρων καλλιεργητικής φάσης («passage») 3-5, που έχει καλύψει το >80% της καλλιεργητικής επιφάνειας, αποκολλήθηκαν από την καλλιεργητική επιφάνεια με την χρήση 0.25% Θρυψίνης/EDTA και μεταφέρθηκαν σε καλλιεργητικά τριβλία 60mm (5×10^5 κύτταρα ανά mL) παρουσία καλλιεργητικού μέσου NeurobasalMedium και των νευροτροφικών παραγόντων humanEpithelialGrowthFactor (hEGF), bFGF και B27 (τροποποίηση πρωτόκολλου YangE, etal. 2015). Το μέσο ανανεωνόταν κάθε 48ώρο ωσότου να εμφανισθούν επιπλέουσες «νευρόσφαιρες», ήτοι συσσωματώματα βλαστοκυττάρων που παύουν να εξαρτώνται από την προσκόλληση τους στην καλλιεργητική επιφάνεια για την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό τους και παρουσιάζουν ειδικούς χαρακτήρες αρχέγονων νευρικών βλαστικών κυττάρων (νευροτροφοβλαστών).
Κατόπιν, οι νευρόσφαιρες αυτές μεταφέρθηκαν σε επιστρωμένα με poly-d-lysine καλλιεργητικά τριβλία μέσα σε καλλιεργητικό μέσο NeurobasalMedium με την προσθήκη B27 και 1% FBS. Το μέσο ανανεωνόταν ανά 3-4 μέρες και η καλλιέργεια συντηρήθηκε για 2-3 εβδομάδες, κατά την διάρκεια των οποίων οι νευροτροφοβλάστες προσκολλήθηκαν στην καλλιεργητική επιφάνεια και σταδιακά ανέπτυξαν ορισμένες«απολήξεις»που προσομοίαζαν με τις νευρικές απολήξεις που χαρακτηριστικά απαντώνται στα νευρικά κύτταρα.

Μελέτη κυτταρικών πληθυσμών με Κυτταρομετρία Ροής

Τμήμα κυτταρικού εναιωρήματος επωάσθηκε με 10μl 7-Αμινο-Ακτινομυκίνης D (7-AAD) (BDBioscienceUSACatNo 559925) για 15 λεπτά στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου.Η βιωσιμότητα των κυττάρων ελέγχθηκε με 7-Αμινο-Ακτινομυκίνη. Η 7-Αμινο-Ακτινομυκίνη είναι μια φθορίζουσα χρωστική που προσδένεται στο δίκλωνο DNA ενδιάμεσα από βάσεις κυτοσίνης και γουανίνης και χρησιμοποιείται για να προσδιορίσει αν τα κύτταρα που εξετάζονται είναι ζωντανά (μηδενική χρώση), αποπτωτικά (αχνή χρώση) ή νεκρωτικά (έντονη χρώση). Το πλεονέκτημα που εμφανίζει η χρωστική αυτή είναι ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί παράλληλα με αντισώματα σημασμένα με Φυκοερυθρίνη (PE) ή Φλουοροσκεΐνη (FITC) σε ανάλυση δυο χρωμάτων με ελάχιστη αλληλοεπικάλυψη.
Στη συνέχεια και μετά από πλύσιμο των κυττάρων με ρυθμιστικό διάλυμα 1X PBS τοκυτταρικό εναιώρημαμοιράσθηκε σε ειδικά σωληνάρια κυτταρομετρίας ώστε να γίνουν οι ανάλογες χρώσεις για την ταυτοποίηση των διαφόρων κυτταρικών υποπληθυσμών.

Διερευνήθηκε η επίδραση των ΕΝΥ των ασθενών με ΚΕΚ και νευροεκφυλιστικές νόσους στην νευρογενετική ικανότητα των ADSC βλαστοκυττάρων και των νευροτροφοβλαστών. Για τον σκοπό αυτό, προσδιορίστηκαν στους κυτταρικούς πληθυσμούς των ADSC βλαστοκυττάρων και των εν δυνάμει νευροτροφοβλαστών (που συλλέχθησαν κατά την συγκαλλιέργεια τους με τα ΕΝΥ των ασθενών και των δειγμάτων «μαρτύρων»), ειδικοί κυτταρικοί δείκτες που σχετίζονται με την νευρογένεση με την μέθοδο της Κυτταρομετρίας Ροής και την χρήση κατάλληλα σημασμένων αντισωμάτων.

Μεταξύ των κυτταρικών δεικτών που μελετήθηκαν περιλαμβάνονται δείκτες που χαρακτηρίζουν τα πολυδύναμα ADSC βλαστοκύτταρα (CD90, CD105, CD73 και SOX2), τους νευροτροφοβλάστες (Nestin) και τα νευρικά και αστρογλοιακά κύτταρα (MAP2a&b και GFAP).Για την διερεύνηση της έκφρασης των μορίων CD90, CD73 και CD105 η επεξεργασία του δείγματος περιλάμβανε ανάμειξη των κυτταρων με 1μlαντισώματος έναντι του CD90 σημασμένου με φυκοερυθρίνη ή του CD73 ή τουCD105 σημασμένων με φλουορεσκείνη και επώαση για 45 λεπτά με ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι. Μετά από έκπλυση με ρυθμιστικό διάλυμα 1xPBS το δείγμα μετρήθηκε άμεσα στο κυτταρομετρητή ροής COULTEREPICSXL-MCD.

Ο αυτοφθορισμός των κυττάρων του δείγματος ελέγχθηκε με την διενέργεια όλης της διαδικασίας χωρίς την προσθήκη αντισώματος και την ανάλυση του στον κυτταρομετρητή ροής. Η ανάλυση των δειγμάτων παρείχε την ποσοστιαία μέτρηση της έκφραση των μορίων CD90, CD73 και CD105 καθώς και την τιμή της μέσης έντασης φθορισμού.

Παράλληλα το υπόλοιπο τμήμα του κυτταρικού εναιωρήματος μονιμοποιήθηκε με τη χρήση 1% παραφορμαλδεϋδης και 0,1% σαπονίνης για 15 λεπτά στους 4 βαθμούς Κελσίου και στη συνέχεια μοιράσθηκε ώστε να υποβληθεί σε έλεγχο για την έκφραση των πρωτεϊνών νεστίνης, MAP-2, GFAP καθώς και του παράγοντα vonWillembrand.

Τα αποτελέσματα μέτρησης των δεικτών νευρογένεσης στα βλαστοκύτταρα και τους νευροτροφοβλάστες συσχετισθηκαν με τα δεδομένα της ELISA στα δείγματα ΕΝΥ ούτως ώστε να αναγνωριστούν οι αλληλεπιδράσεις.

Στατιστική Ανάλυση

Για τη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το πακέτο SPSS. Όλες οι συνεχείς μεταβλητές αναφέρονται ως μέσες τιμές με το τυπικό σφάλμα του μέσου. Λόγω του μεγέθους του δείγματος χρησιμοποιήθηκαν οι μη παραμετρικές μέθοδοι : ο έλεγχος κατά Mann-Whitney για ποσοτικές μεταβλητές για τις συγκρίσεις ανά δύο μεταξύ των διαφορετικών ομάδων ασθενών και ο έλεγχος κατά Spearman για τη γραμμική συσχέτιση δύο ποσοτικών μεταβλητών. Για την εξέταση ύπαρξης διαφορών μεταξύ δυο διαδοχικών μετρήσεων χρησιμοποιήθηκε το WilcoxonSignRankTest. Στατιστικώς σημαντική διαφορά ορίστηκε η $p \leq 0,05$.

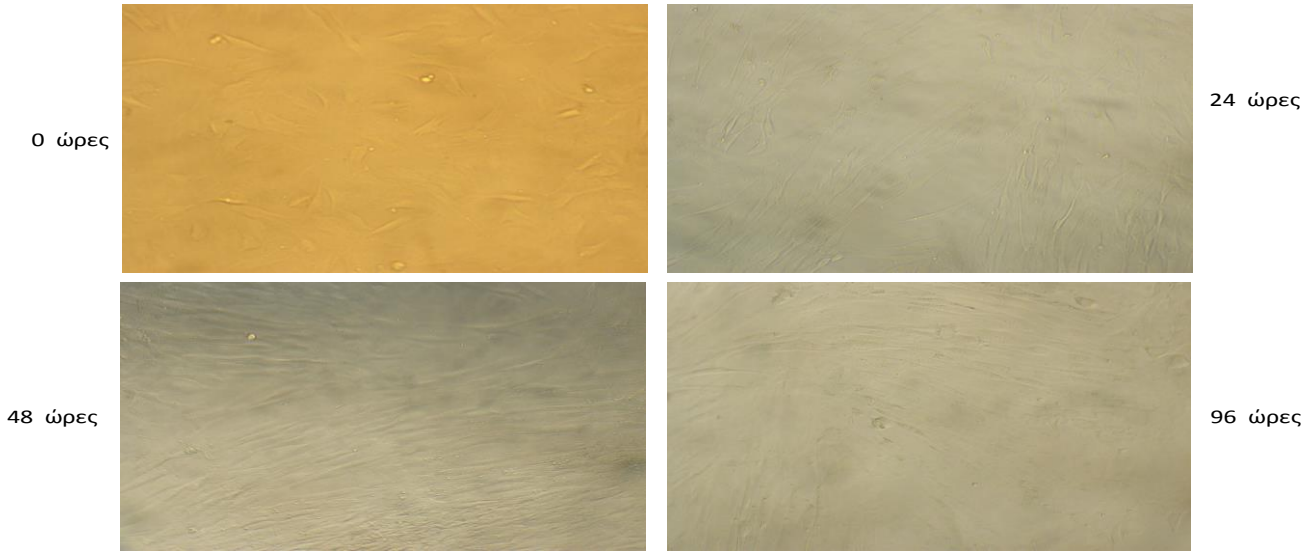
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Invitro καλλιέργεια εκ λιπώδους ιστού προερχόμενων πολυδύναμων κυττάρων (ADSC)

Μορφολογία

Τα μη διαφοροποιημένα πολυδύναμα κύτταρα σε invitro συνθήκες εμφανιζόταν ως μεγάλα επίπεδα επιμήκη κύτταρα με ατρακτοειδές σχήμα. Η εμφάνιση τους ήταν παρόμοια καθ΄ όλη τη διάρκεια του πειράματος (**Εικόνα 1**)

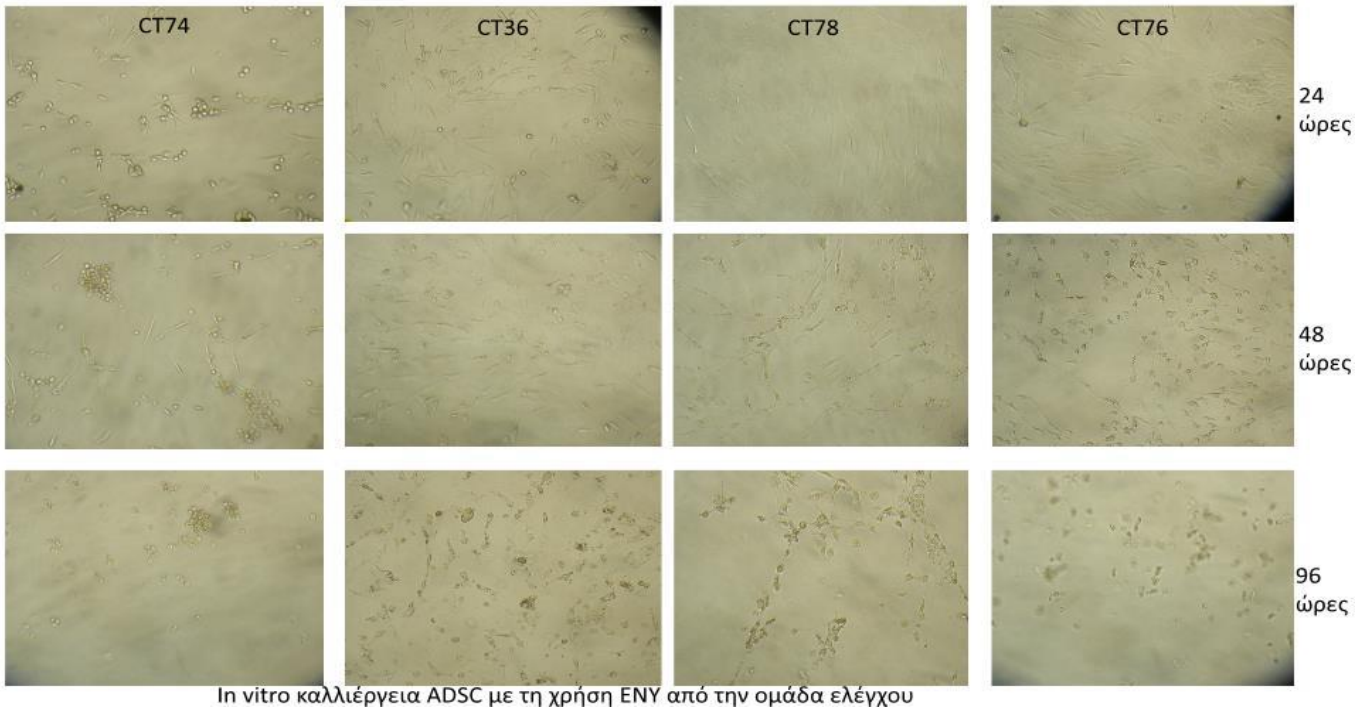
Εικόνα 1 : *In vitro καλλιέργεια ADSC*



Η επίδραση του ΕΝΥ στη μορφολογία των εκ λιπώδους ιστού προερχόμενων πολυδύναμων κυττάρων σε invitro συνθήκες.

Η καλλιέργεια των πολυδύναμων κυττάρων υπό την παρουσία ΕΝΥ επηρέασε τη μορφολογία των κυττάρων μετά τις πρώτες 24ώρες ενώ ο κυτταρικός πληθυσμός ήταν μειωμένος μετά από 96 ώρες έκθεσης στο ΕΝΥ. Μετά την προσθήκη ΕΝΥ από άτομα της ομάδας ελέγχου η καλλιέργεια χαρακτηρίζονταν από κύτταρα μειωμένου μεγέθους σώματος σε σχέση με τα αρχικά. Προοδευτικά κάποια επιμήκη κύτταρα εμφάνισαν προεκβολές ενώ άλλα πήραν σφαιρικό σχήμα. Στις 96 ώρες κυριαρχούσαν τα σφαιρικής μορφολογίας κύτταρα τα περισσότερα από τα οποία σχημάτιζαν συσσωματώματα (**Εικόνα 2**).

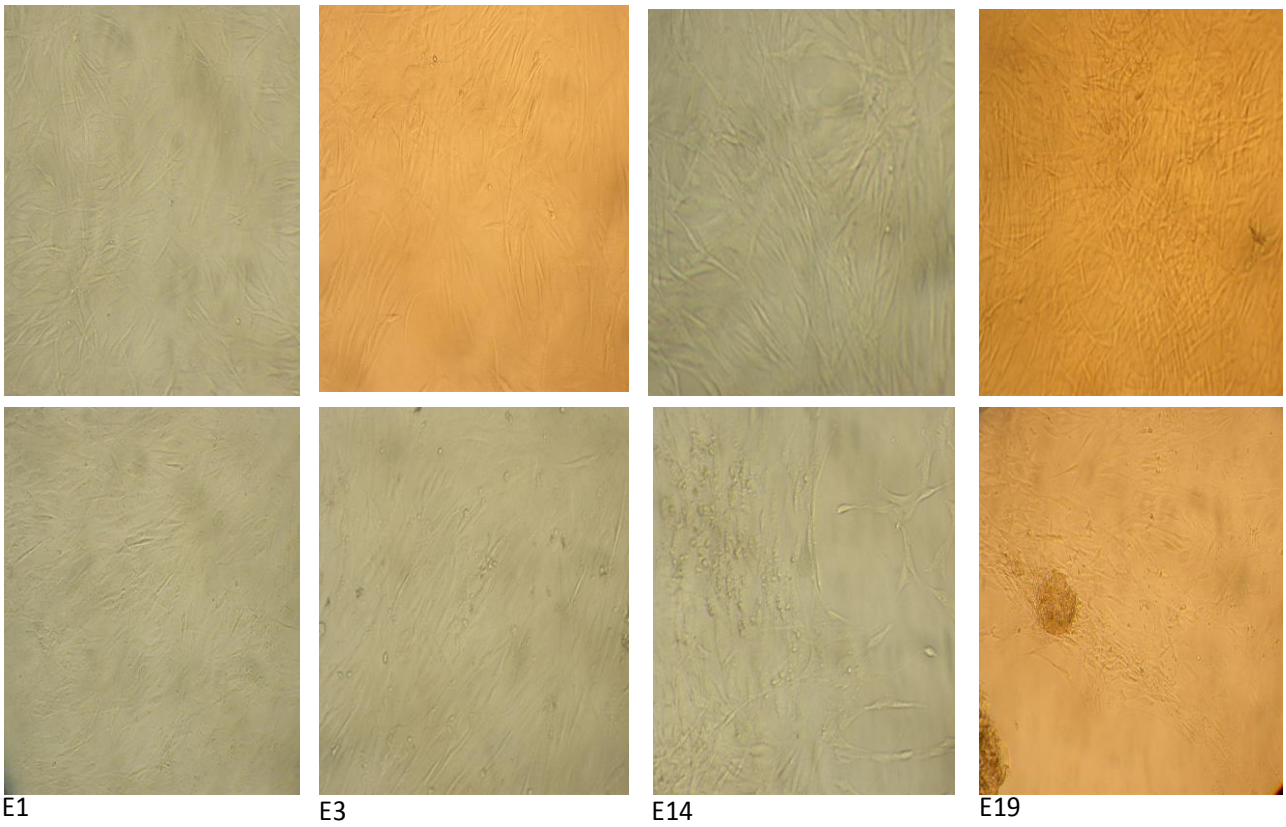
Εικόνα 2: *In vitro καλλιέργεια ADSC με τη χρήση ΕΝΥ από την ομάδα ελέγχου*



In vitro καλλιέργεια ADSC με τη χρήση ΕΝΥ από την ομάδα ελέγχου

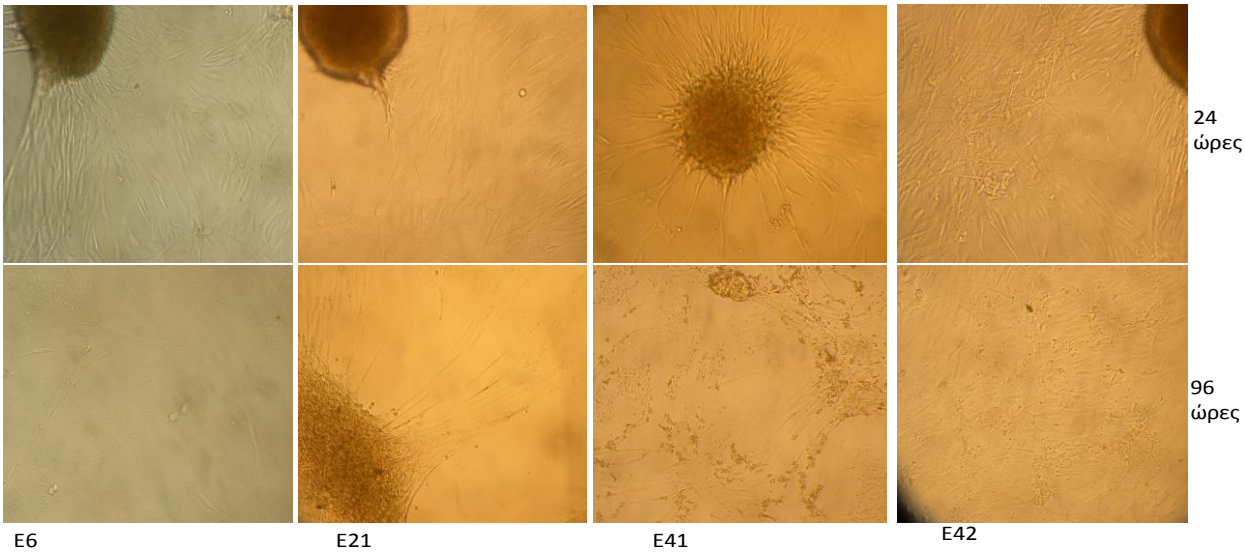
Υπό την παρουσία **ΕΝΥ από ασθενείς με χρόνιο υποσκληρίδιο αιμάτωμα** συνεπεία ΚΕΚ, η αλλαγή της μορφολογίας των κυττάρων ήταν περισσότερο εμφανής στις 96 ώρες (Εικόνα 3). Από πυκνά συσσωματώματα κυττάρων φαίνονταν σαν απορρέαν αρκετά κύτταρα με πιο λεπτό επίμηκες σώμα με διπολικές ή πολιπολικές προεκτάσεις που συχνά έτεμναν άλλα παρόμοιας μορφολογίας κύτταρα. Περιορισμένος ήταν ο αριθμός των σφαιρικής μορφολογίας κυττάρων.

Εικόνα 3: *In vitro καλλιέργεια ADSC με τη χρήση ΕΝΥ από ασθενείς με Χρόνιο Υποσκληρίδιο Αιμάτωμα*



Υπό την επίδραση **ΕΝΥ από ασθενείς με οξεία ΚΕΚ ελαφριάς μορφής** οι μορφολογικές αυτές τροποποιήσεις των κυττάρων ήταν εμφανείς ήδη μετά από 24 ώρες έκθεσης των πολυδύναμων κυττάρων στο ΕΝΥ. Μετά από 96 τα κύτταρα με λεπτό επίμηκες σώμα που παρουσίαζαν διατέμνοντες προεκβολές με άλλα κύτταρα ίδιας μορφολογίας δίνοντας την εικόνα δικτύου ήταν πολυπληθέστερα (**Εικόνα 4**).

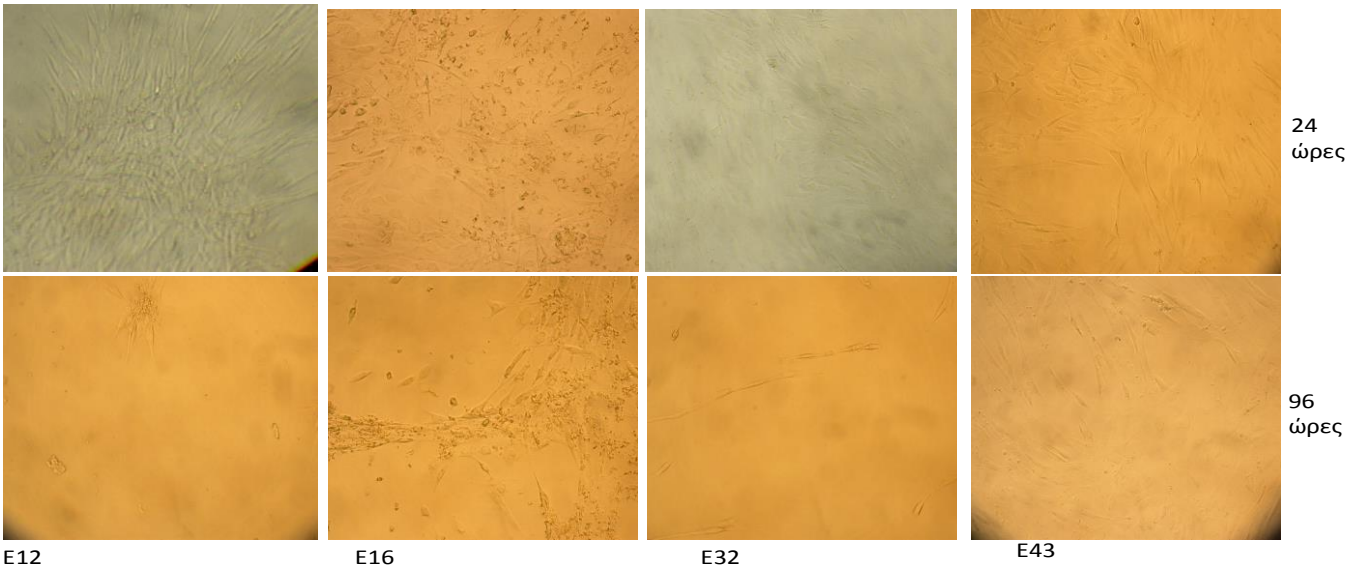
Εικόνα 4:*In vitro καλλιέργεια ADSC με τη χρήση ΕΝΥ από ασθενείς με οξεία ΚΕΚ ελαφριάς μορφής*



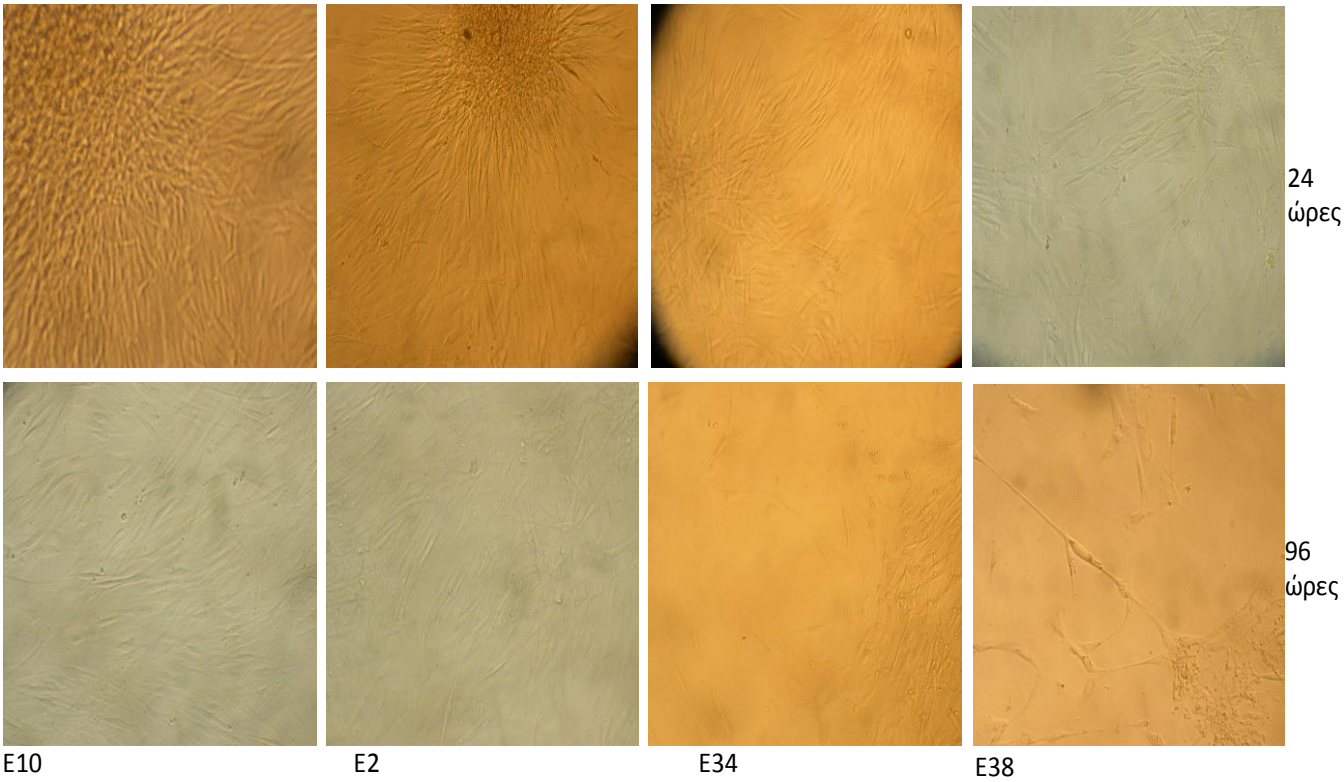
Παρόμοιους μορφολογικούς χαρακτήρες είχαν και τα κύτταρα που καλλιεργήθηκαν με **ΕΝΥ από**

ασθενείς με οξεία ΚΕΚ μεσαίας και μεγάλη βαρύτητας (**Εικόνες 5** και **6**).
Σε όλες τις περιπτώσεις καλλιέργειας των πολυδύναμων κυττάρων με ΕΝΥ από ασθενείς με οξεία ΚΕΚ ο αριθμός των σφαιρικής μορφολογίας κυττάρων ήταν μικρός στις 24 ώρες και περιορισμένος μετά από 96 ώρες συγκριτικά με τον πληθυσμό των επιμήκη κυττάρων. Η καλλιέργεια των πολυδύναμων κυττάρων υπό την παρουσία ΕΝΥ από ασθενείς με υδροκεφαλία είχε σαν αποτέλεσμα την δημιουργία μεγάλων κυτταρικών συσσωματωμάτων και πυκνών δικτύων. Μετά από 96 ώρες η μορφολογία των κυττάρων ήταν ποικίλη. Εκτός από τα επιμήκη με λεπτό σώμα κύτταρα με προεκβολές και τα σφαιρικού σχήματος υπήρχαν και κύτταρα με πεπλατυσμένο σώμα (**Εικόνα 7**).

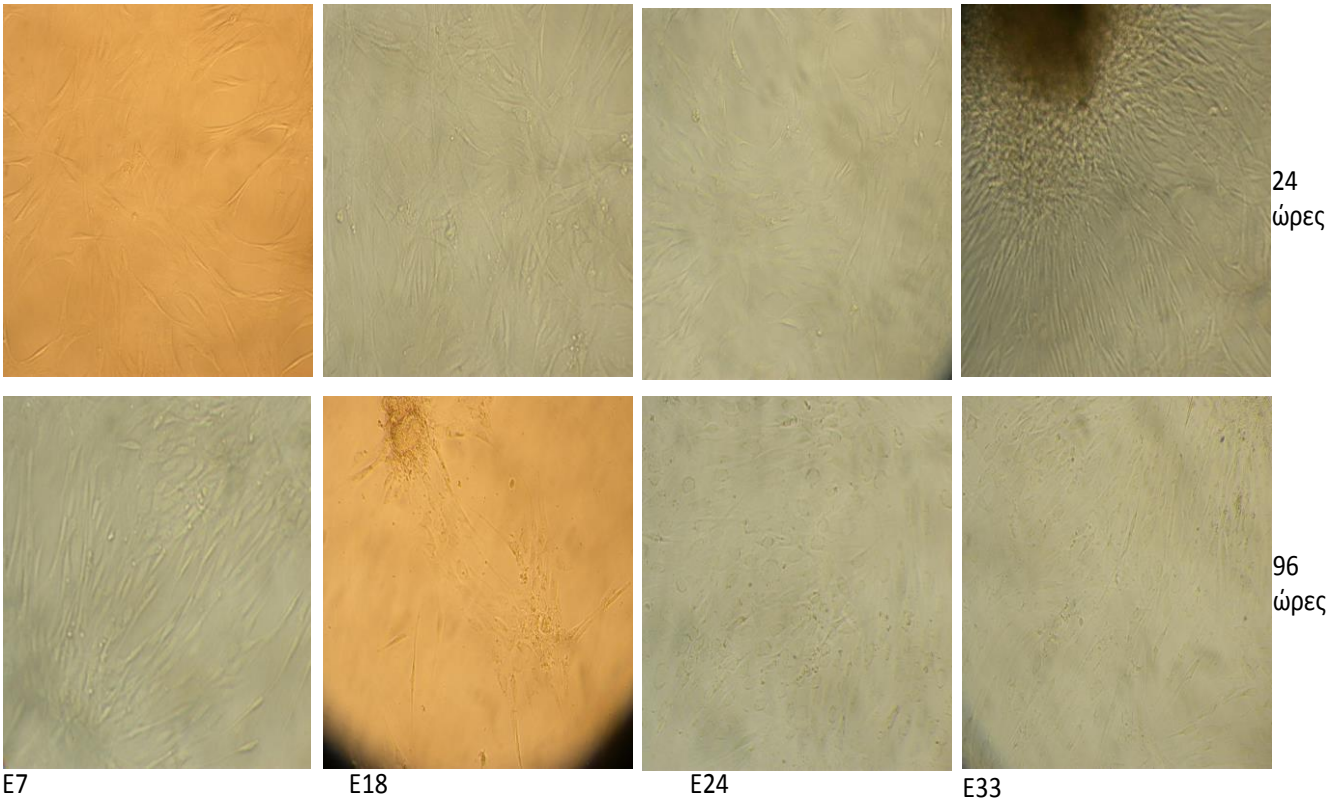
Εικόνα 5: In vitro καλλιέργεια ADSC με τη χρήση ΕΝΥ από ασθενείς με οξεία ΚΕΚ μέτριας βαρύτητας



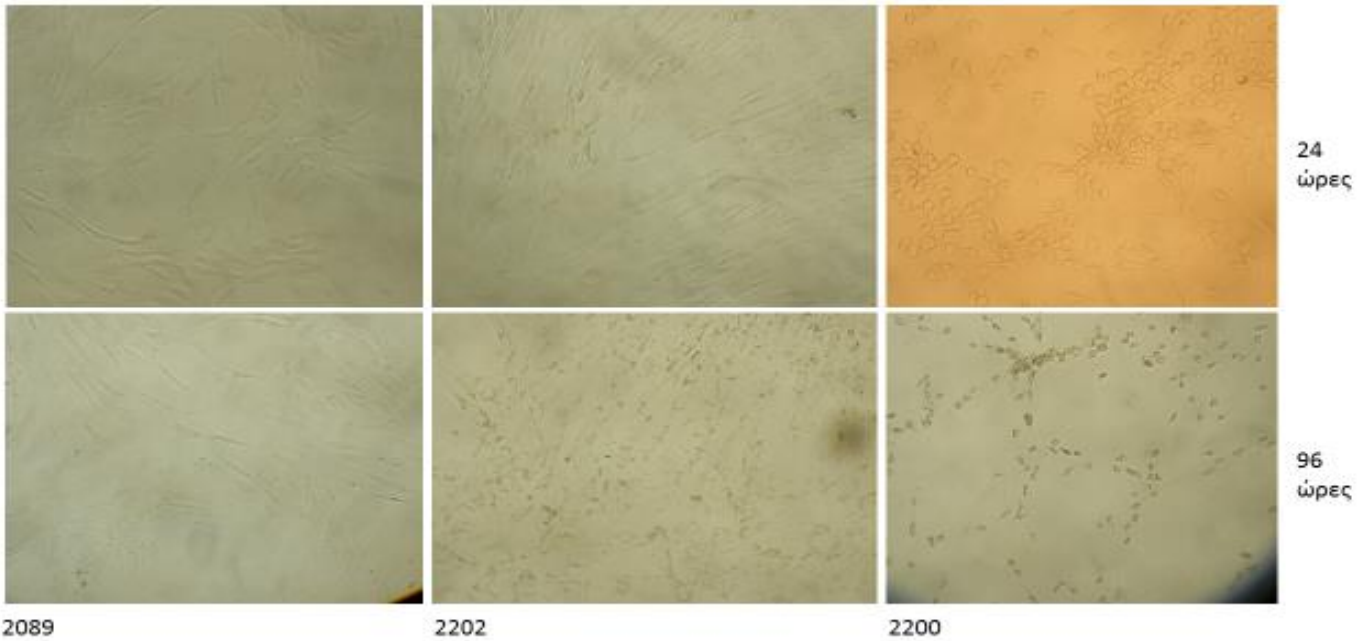
Εικόνα 6: In vitro καλλιέργεια ADSC με τη χρήση ΕΝΥ από ασθενείς με οξεία ΚΕΚ βαριάς μορφής



Εικόνα 7: In vitro καλλιέργεια ADSC με τη χρήση ΕΝΥ από ασθενείς με υδροκεφαλία

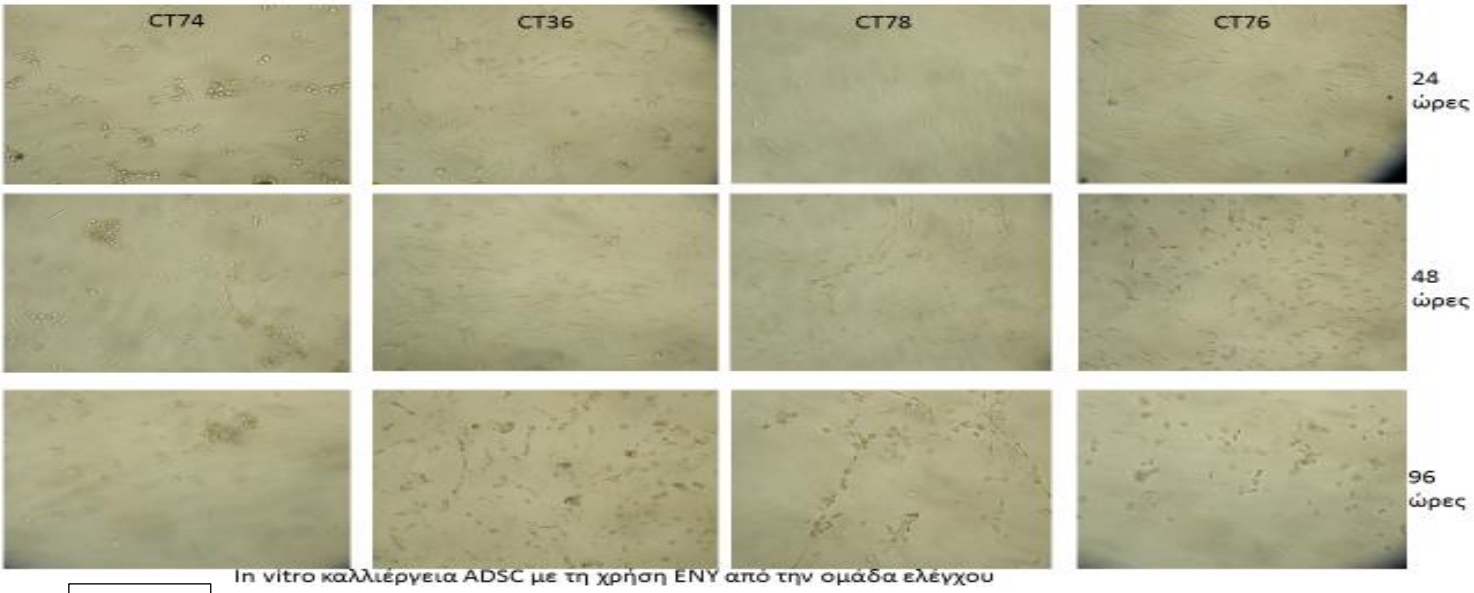


Η διατήρηση των πολυδύναμων κυττάρων σε invitro συνθήκες υπό την επίδραση **ΕΝΥ από ασθενείς με άνοια** επίσης τροποποίησε σημαντικά τη μορφολογία των κυττάρων. Μετά τις πρώτες 24 ώρες τα κύτταρα έγιναν πιο επιμήκη δημιουργώντας προσεκβολές που διασταυρώνονταν αφήνοντας μεγάλα διάκενα. Ιδιαίτερη εντυπωσιακή ήταν η τάση στρογγυλοποίησης των κυττάρων ιδίως υπό την επίδραση ΕΝΥ από ασθενείς με άνοια. Στις 96 ώρες μεγάλο ποσοστό κυττάρων ήταν στρογγυλά και δημιουργούσαν συσσωματώματα ενώ υπήρχαν και κύτταρα επιμήκη με λεπτές προσεκβολές (**Εικόνα 8**)



Εικόνα 8 In vitro καλλιέργεια ADSC με τη χρήση ΕΝΥ από ασθενείς με και Άνοια

Μετά την προσθήκη **ΕΝΥ από άτομα της ομάδας ελέγχου** η καλλιέργεια χαρακτηρίζονταν από κύτταρα μειωμένου μεγέθους σώματος σε σχέση με τα αρχικά. Προοδευτικά κάποια επιμήκη κύτταρα εμφάνισαν προεκβολές ενώ άλλα πήραν σφαιρικό σχήμα. Στις 96 ώρες κυριαρχούσαν τα σφαιρικής μορφολογίας κύτταρα τα περισσότερα από τα οποία σχημάτιζαν συσσωματώματα (**Εικόνα 9**).



Εικόνα 9

Βιωσιμότητα των πολυδύναμων κυττάρων

Τα ποσοστά απόπτωσης και νέκρωσης των πολυδύναμων κυττάρων καθόλη τη διάρκεια της invitro καλλιέργειας είτε με τη χρήση θρεπτικού μέσου με ή χωρίς FGF, είτε μετά την αντικατάσταση του θρεπτικού υλικού από ΕΝΥ ασθενών από τις διαφορετικές κατηγορίες που συμπεριελήφθησαν στη παρούσα μελέτη παρέμειναν σε ποσοστά μικρότερα του 1% .

Χαρακτηρισμός των κυττάρων που απομονώθηκαν από τον λιπώδη ιστό με Κυτταρομετρία ροής.

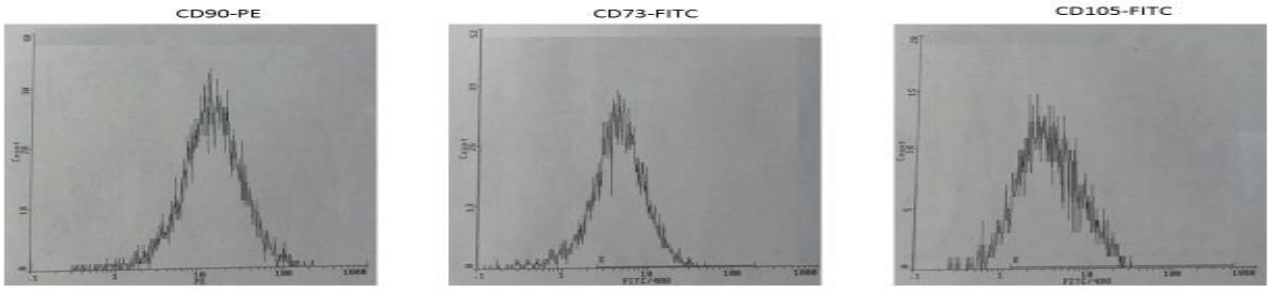
Τα κύτταρα που απομονώθηκαν από τον λιπώδη ιστό ελέγχθηκαν για την έκφραση των δεικτών CD105, CD73 και CD90 που σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία χαρακτηρίζουν τα πολυδύναμα κύτταρα.

Ο έλεγχος επαναλήφθηκε επίσης στις ακόλουθες χρονικές στιγμές:

- πριν από την εν παραλλήλων αντικατάσταση του μέσου με ΕΝΥ από τις διαφορετικές ομάδες ασθενών σε άλλα φρεάτια (Η0) καθώς και
- 24 ώρες και
- 96 ώρες

κατά αντιστοιχία των μετρήσεων για την έκφραση των δεικτών αυτών στα φρεάτια όπου το συμβατικό μέσο κυτταροκαλλιέργειας είχε αντικατασταθεί από το ΕΝΥ των διαφορετικών ασθενών. Σε όλες τις παραπάνω χρονικές στιγμές τα κύτταρα διατήρησαν την έκφραση των δεικτών CD90, CD73 και CD105 σε υψηλά ποσοστά όπως φαίνεται και στο **Γράφημα 1**, χωρίς στατιστικώς σημαντικές διαφορές επιβεβαιώνοντας το φαίνοτυπο MSC.

Γράφημα 1: α) Έκφραση των δεικτών CD90, CD73 και CD105 από τα πολυδύναμα κύτταρα που απομονώθηκαν από λιπώδη ιστό την Ημέρα 0. β)Αναλυτικά οι μέσες τιμές έκφρασης των τριών δεικτών την Ημέρα 0. 24 ώρες και 96 ώρες μετά την έναρξη της καλλιέργειας



Χρονική Στιγμή	CD90+ (%)	CD73+ (%)	CD105+ (%)
H0	95,42±1,82	85,66±6,98	64,33±9,5
24 ΩΡΕΣ	94,7±1,1	79,35±0,65	69,66±2,4
96 ΩΡΕΣ	86,9±6,9	66,9±19,39	64,33±4,7

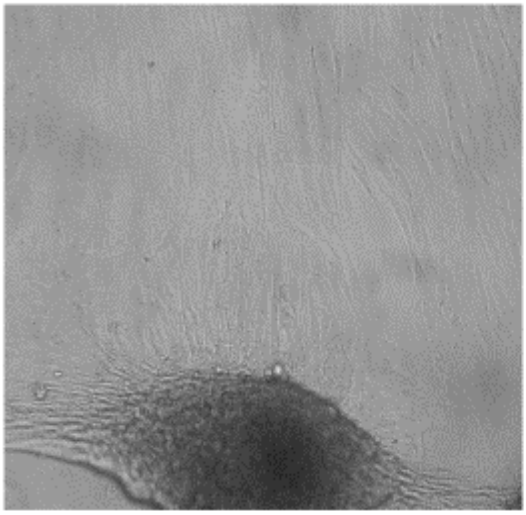
Επίσης στις ίδιες χρονικές με τη χρήση κυτταρομετρίας ροής, διερευνήθηκε στα κύτταρα αυτά η έκφραση των πρωτεϊνών Νεστίνης και MAPa&b ως μορίων που εμπλέκονται στη νευρική διαφοροποίηση. Τα κύτταρα στην αρχή της πειραματικής διαδικασίας H0 ήταν 9,75±0,85 Νεστίνη θετικά και 37,85±3,26 MAPa&b θετικά.

Λόγω της αυξημένης θετικότητας των κυττάρων στην έκφραση της πρωτεΐνης MAPa&b την H0 διερευνήθηκε περαιτέρω η επίδραση της σύστασης του καλλιεργητικού μέσου στην έκφραση των πρωτεϊνικών μορίων της Νεστίνης και MAPa&b. Οι παραλλαγές που διερευνήθηκαν και τα αποτελέσματα που αυτές επέφεραν αναγράφονται στον πίνακα που ακολουθεί ενώ η μορφολογία των κυττάρων φαίνεται στο Σχήμα 3

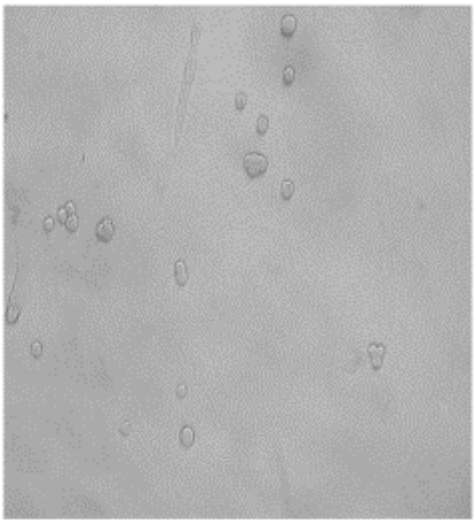
Πίνακας 2: Επίδραση των εναλλακτικών καλλιεργητικών μέσων στη ποσοστιαία έκφραση των πρωτεινών Νεστίνης και MAPa&b.

Καλλιεργητικό μέσο	Νεστίνη+(%)	MAPa&b+(%)
DMEM/F12 + GlutaMax™ ➢ **με 10% Εμβρυικό Βόειο Ορό (FetalBovineSerum-FBS)** ➢ **χωρίς FGF**	25±2	38,5±11,5
DMEM/F12 + GlutaMax™ ➢ **χωρίς 10% Εμβρυικό Βόειο Ορό (FetalBovineSerum-FBS)** ➢ **χωρίς FGF**	60	45
Neurobasal A/B27	**24**	**80**

Εικόνα 10: Μορφολογία των ADSC με εναλλακτικά καλλιεργητικά μέσα



- DMEM/F12 + GlutaMaxTM
- με 10% Εμβρυικό Βόειο Ορό (Fetal Bovine Serum-FBS)
- χωρίς FGF



Neurobasal/B27

2. Χαρακτηρισμός του προφίλ των δειγμάτων ΕΝΥ και αίματος

Της διεξαγωγής των πειραματικών πρωτοκόλλων καλλιέργειας των ADSC βλαστοκυττάρων παρουσία ΕΝΥ προηγήθηκε ο διεξοδικός χαρακτηρισμός του προφίλ των δειγμάτων ΕΝΥ ούτως ώστε να αναγνωριστούν οι παράγοντες επίδρασης και να διευκολυνθεί η ερμηνεία των αλληλεπιδράσεων μεταξύ του ΕΝΥ και των ADSC βλαστοκυττάρων. Ως εκ τούτου, μελετήθηκαν τα επίπεδα έκφρασης πρωτεϊνών με διττό ρόλο στην ρύθμιση των μονοπατιών νευροεκφύλισης και νευροπροστασίας, ήτοι των δεικτών OPN και EMMPRIN, όπως επίσης και ενός πάνελ κυτοκινών kaixhmeiokin;vnme προ-φλεγμονώδη και αντι-φλεγμονώδη δράση (IL1b, IL2, IL6, IL8 και IL10). Οι μεταβολές έκφρασης των αυτών των δεικτών αξιολογήθηκαν στα δείγματα ΕΝΥ και περιφερικού αίματος κάθε ασθενούς και οι μετρήσεις συσχετίστηκαν με τα κλινικοπαθολογικά δεδομένα των ασθενών, περιλαμβανομένης της προεγχειρητικής κλινικής βαρύτητας της νόσου καθώς και της μετεγχειρητικής έκβασης των ασθενών, όπως αυτές ορίζονται από την κλίμακα Γλασκώβης.

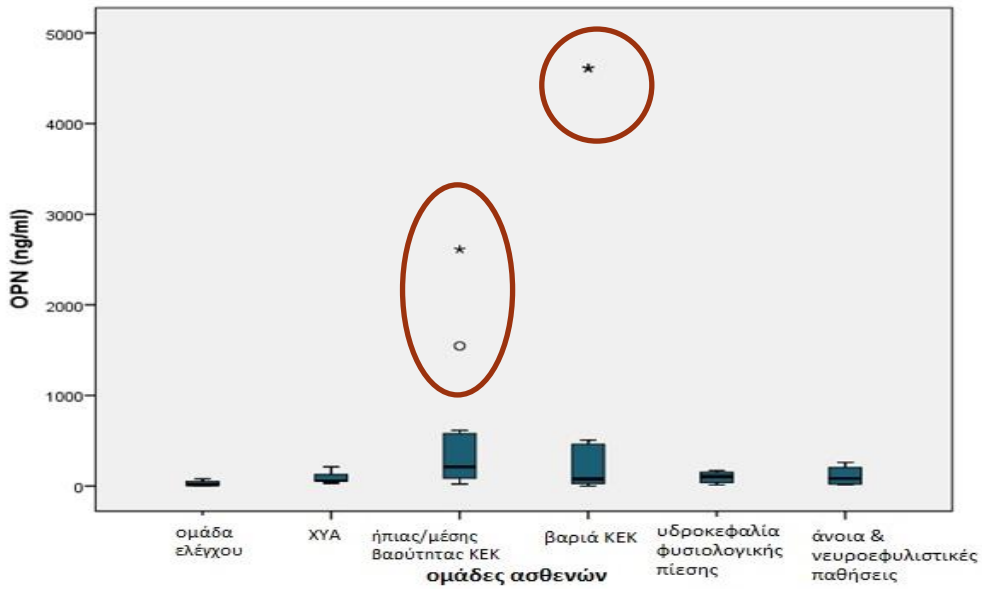
Μελέτη των δεικτών OPN και EMMPRIN στο ΕΝΥ

- **ΟΣΤΕΟΠΟΝΤΙΝΗ (OPN)**

Επίπεδα Οστεοποντίνης στο ΕΝΥ Ασθενών με ΚΕΚ

Οι μικρότερες συγκεντρώσεις OPN ανιχνεύθηκαν στο ΕΝΥ της ομάδας ελέγχου (27,5 ng/ml, **ΣΧΗΜΑ 1).**
Η αύξηση της OPN που παρατηρήθηκε κατά την μελέτη ασθενών με Χρόνιο Υποσκληρίδιο Αιμάτωμα (ΧΥΑ) συνεπεία κρανιοεγκεφαλικής κάκωσης (81,2 ng/ml) ήταν ανάλογη με αυτή που συμβαίνει στις χρόνιες νευροφλεγμονώδεις καταστάσεις και διέφερε σημαντικά από την ομάδα ελέγχου (p=0,019). (**ΣΧΗΜΑ 2**).
Εντούτοις, στις ομάδες ασθενών με οξεία εγκατάσταση κρανιοεγκεφαλικού τραυματισμού, *η αύξηση του OPN ήταν σημαντικά πιο εκτεταμένη και συσχετιζόταν με την κλινική σοβαρότητα*. Οι μετρήσεις στην ομάδα με ήπιας βαρύτητας οξεία ΚΕΚ αποκάλυψαν έντονη αύξηση των επιπέδων OPN (642,7 ng/ml) που διέφερε σημαντικά τόσο από την αύξηση σε ασθενείς με ΧΥΑ (p = 0,02) όσο και από τους μάρτυρες (p = 0,000 -**ΣΧΗΜΑ 3**). Χαρακτηριστικά αυξημένες και με μεγάλο εύρος ήταν τιμές της OPN στους ασθενείς με βαριάς μορφής ΚΕΚ (1485,7 ng/ml), διαχωρίζοντας τους από τις ομάδες ασθενών με ΧΥΑ (p = 0.032) και μέτριας βαρύτητας ΚΕΚ (p = 0.025) καθώς και από τους NPH υδροκέφαλους (p = 0,010), των συνδρόμων άνοιας (p = 0,037), από την πολλαπλή σκλήρυνση (p = 0,037) και από την ομάδα ελέγχου (p = 0,000 - **ΣΧΗΜΑ 4**). Ενδιαφέρουσα παρατήρηση αποτελεί το γεγονός της αύξησης των επιπέδων της OPN στους ασθενείς με μέτριας βαρύτητας ΚΕΚ (124,7ng/ml), που ήταν μεν σημαντικά μεγαλύτερη από τα άτομα ελέγχου (p = 0,031), ωστόσο ήταν λιγότερο εκτεταμένη από ό, τι παρατηρήθηκε σε εκείνους με ήπιας βαρύτητας ΚΕΚ (p = 0,028).

ΣΧΗΜΑ 1- επίπεδα OPN στο ΕΝΥ των ομάδων μελέτης



- **Χρόνια Υποσκληρίδια Αιματώματα**
- **Υδροκεφαλία Φυσιολογικής Πίεσης**
- **Νευροεκφυλιστικά σύνδρομα**

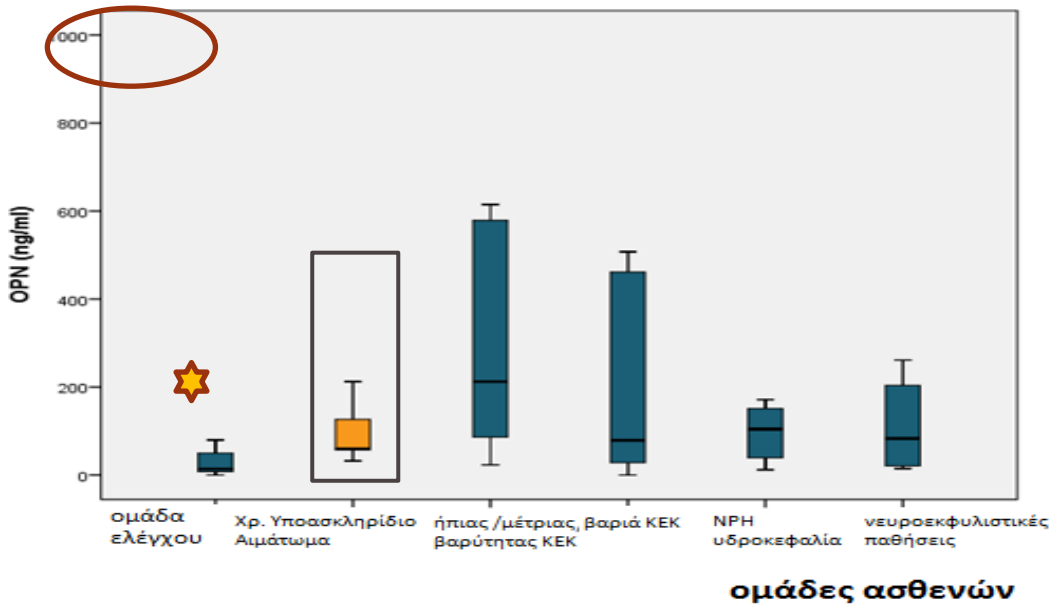
χαρακτηρίστηκαν από σημαντική

αύξηση των επιπέδων της OPN στο ΕΝΥ

- **Μεγάλο εύρος τιμών OPN στο ΕΝΥ στις ομάδες με ΚΕΚ**
  - **Ειδικότερα σ**την ομάδα με την βαριά κρανιοεγκεφαλική κάκωση

- ***Η παρουσία της OPN στο ΕΝΥ των ασθενών με ΚΕΚ συσχετίζεται μετην κλινική βαρύτητα***

ΣΧΗΜΑ 2:επίπεδα OPN στο ΕΝΥ σταΧρόνια Υποσκληρίδια Αιματώματα

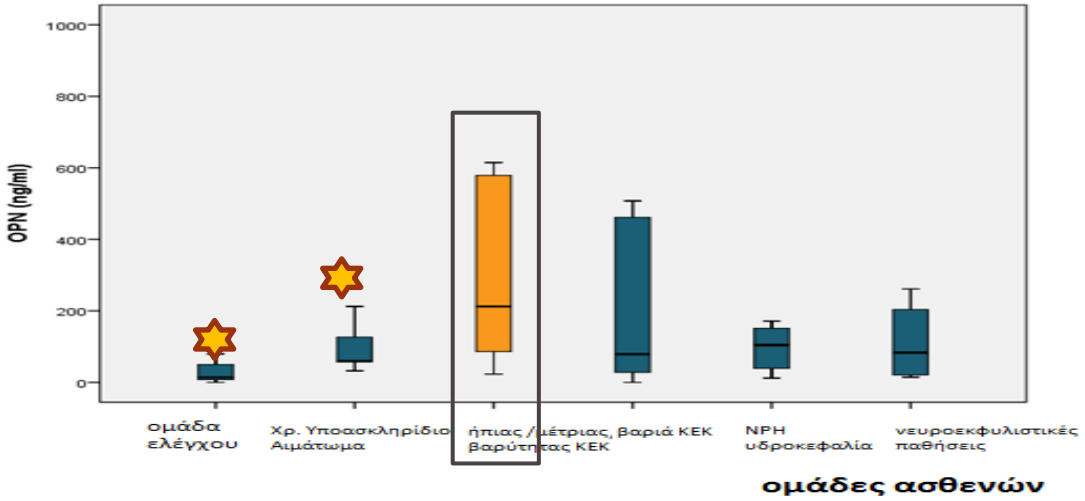


Γράφημα εστιασμένο σε μικρότερο εύρος συγκεντρώσεων του OPN (κύκλος σε γράφημα) για σκοπούς περιγραφής

- **Σημαντική αύξηση των επιπέδων της OPN στα Χρόνια Υποσκληρίδια Αιματώματα**

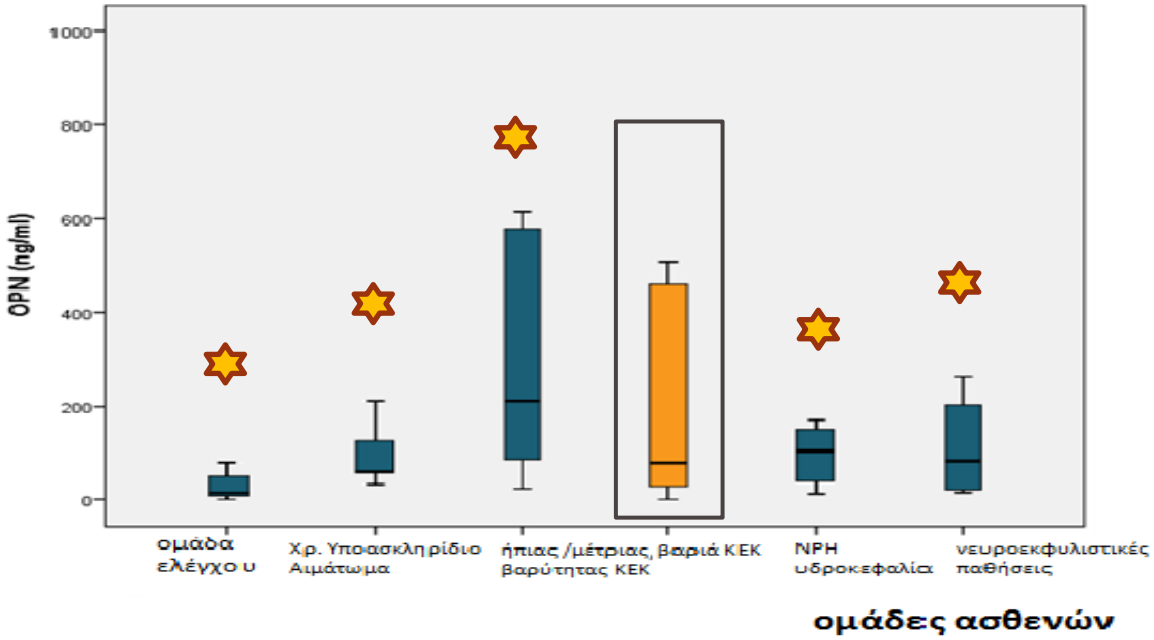
σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (p=0.019)

ΣΧΗΜΑ 3: επίπεδα OPN στο ΕΝΥ ασθενών με ήπιας και μέτριας βαρύτητας οξεία ΚΕΚ



- σημαντική **αύξηση της OPN στο ΕΝΥ** στις ομάδες **ήπιας και μέτριας βαρύτητας ΚΕΚ**
  συγκριτικά με
- **τους ασθενείς με ΧΥΑ (p=0,02)**
- την ομάδα ελέγχου **(p=0.000)**

ΣΧΗΜΑ 4: επίπεδα OPN στο ΕΝΥ ασθενών με βαριά οξεία ΚΕΚ



- *Δραματική **αύξηση των επιπέδων**OPN σε **ασθενείς με βαριάς μορφής ΚΕΚ***

  συγκρινόμενη με

  - την ομάδα ελέγχου **(p=0.000)**

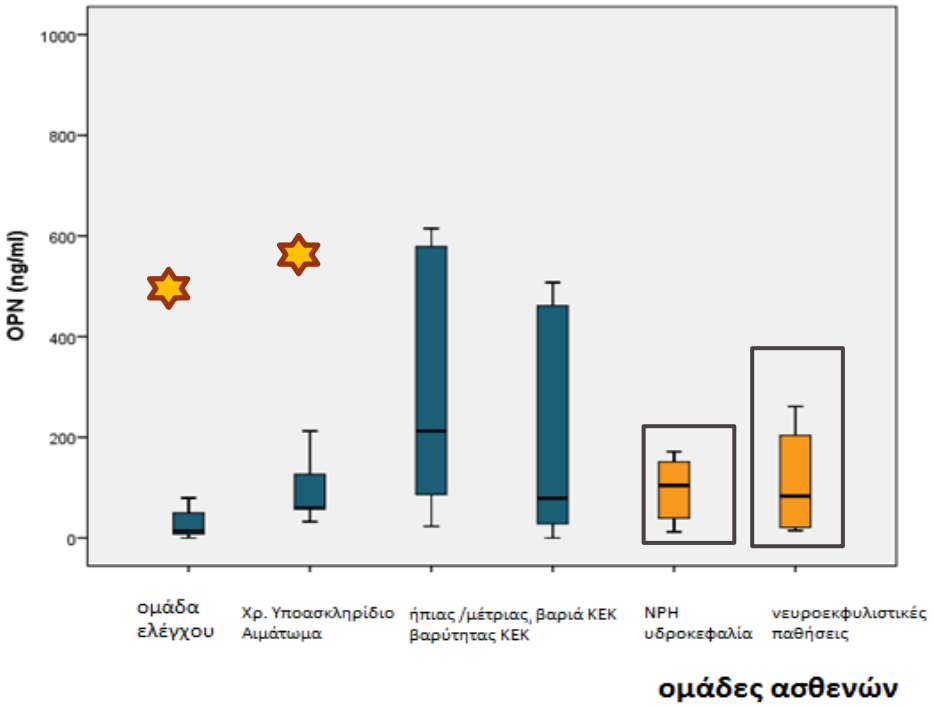
  καθώς και τις ομάδες ασθενών με

  - μέτριας βαρύτητας ΚΕΚ (p = 0.025)
  - Χρόνιο Υποσκληρίδιο Αιμάτωμα (p = 0.032)
  - Σύνδρομα άνοιας (p = 0.037)

Επίπεδα Οστεοποντίνης στο ΕΝΥ Ασθενών με νευροεκφυλιστικές νόσους

Οι νευροεκφυλιστικές παθήσεις χαρακτηρίστηκαν από σημαντική αύξηση της OPN. Στα περιστατικά με υδροκεφαλία φυσιολογικής πίεσης και ανοικά σύνδρομα, οι συγκεντρώσεις OPN (110,5ng/ml και 81,1ng/ml, αντίστοιχα) ήταν σημαντικά μεγαλύτερες από αυτές των μαρτύρων (p=0,001 και p = 0,013 αντίστοιχα) (**ΣΧΗΜΑ 5).** Στην αυτοάνοση πολλαπλή σκλήρυνση, η αύξηση της OPN ήταν μεγαλύτερη (259,6 ng/ml, p=0,000, σε σύγκριση με τους μάρτυρες). Περαιτέρω έλεγχος του προφίλ των δειγμάτων έδειξε ότι το εύρος τιμών της OPN ήταν σημαντικά εκτεταμένο στους ασθενείς που παρουσίασαν Κλινικά Μεμονωμένο Επεισόδιο Πολλαπλής Σκληρυνσης (ClinicallyIsolatedSyndrome, CIS-307,6ng / ml) από ότι στους ασθενείς με Επανειλημμένα Επεισόδια Υποτροπής (RemittingRelapsingEpisodesMS-RRMS-201,2ng / ml), ενώ και οι δύο ομάδες διέφεραν σημαντικά από τους μάρτυρες (p = 0,001 και p = 0,002 για το CIS και το RRMS αντίστοιχα).

ΣΧΗΜΑ 5: επίπεδα OPN στο ΕΝΥ στανευροεκφυλιστικά σύνδρομα

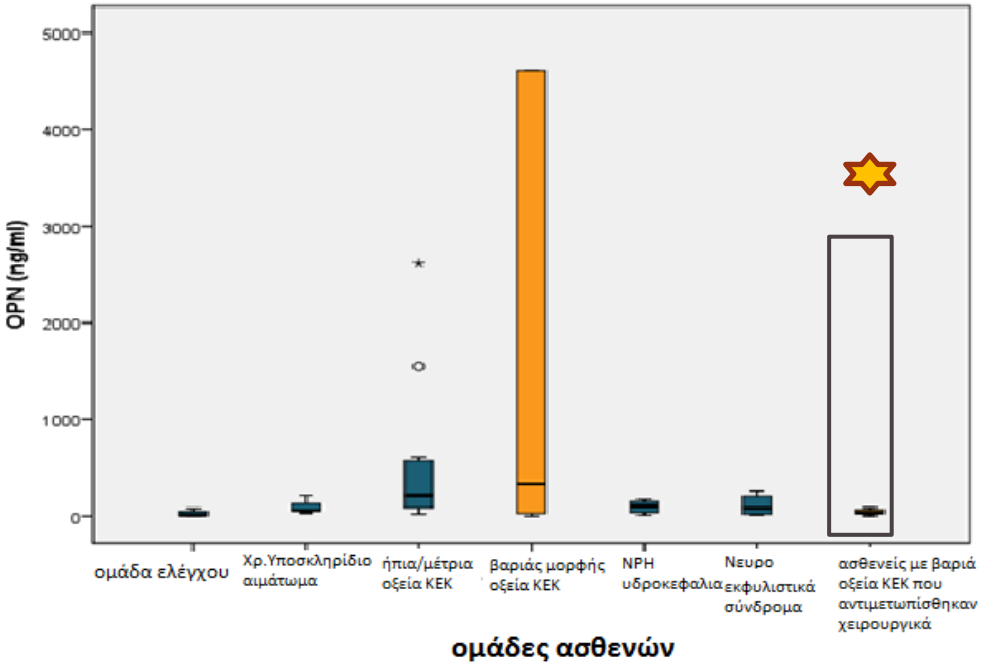


- Στους **ΝΡΗ υδροκέφαλους** και τις **νευροεκφυλιστικές παθήσεις** παρατηρήθηκε **σημαντική αύξηση των επιπέδων της OPN**
- σε σύγκριση με την **Ομάδα ελέγχου** **(p=0.001 &p=0.013, αντιστοίχως)**

Αξιολόγηση κλινικής και προγνωστικής σημασίας της OPN στο ΕΝΥ ασθενών με βαριά οξεία ΚΕΚ

Η κλινική σημασία των προφίλ της OPN αξιολογήθηκε επίσης σε σχέση με την θεραπευτική αντιμετώπιση και την πρόγνωση των ασθενών με ΚΕΚ. Όπως παρατηρήθηκε, οι νευροχειρουργικές παρεμβάσεις εξασθένησαν αποτελεσματικά την εξέλιξη της επαγόμενης από το τραύμα φλεγμονής και σημαντικά μειωμένα επίπεδα OPN στο ΕΝΥ ανευρέθηκαν στους χειρουργημένους ασθενείς σε σχέση με τους ασθενείς που δεν είχαν ένδειξη για χειρουργική αντιμετώπιση (305,7 ng/ml έναντι 1285,5 ng/ml, p = 0,030) (**ΣΧΗΜΑ 6**). Άλλωστε, σημαντική παρατήρηση συνιστά και **η** *συσχέτιση της OPN με το ρυθμό ανάκαμψης και αποκατάστασης στις ομάδες ασθενών με βαριά και μέτριας μορφής ΚΕΚ.*Η OPN παρατηρήθηκε δραστικά μειωμένη στους κλινικά και νευρολογικά πλήρως αναρρωμένους ασθενείς (GOS = 4/5 · 49,5ng/ml) σε σύγκριση με τους αυτούς με ανεπαρκή αποκατάσταση συνεπεία της οξείας ΚΕΚ (1421,4ng/ml · p = 0,006-**ΣΧΗΜΑ 7**).

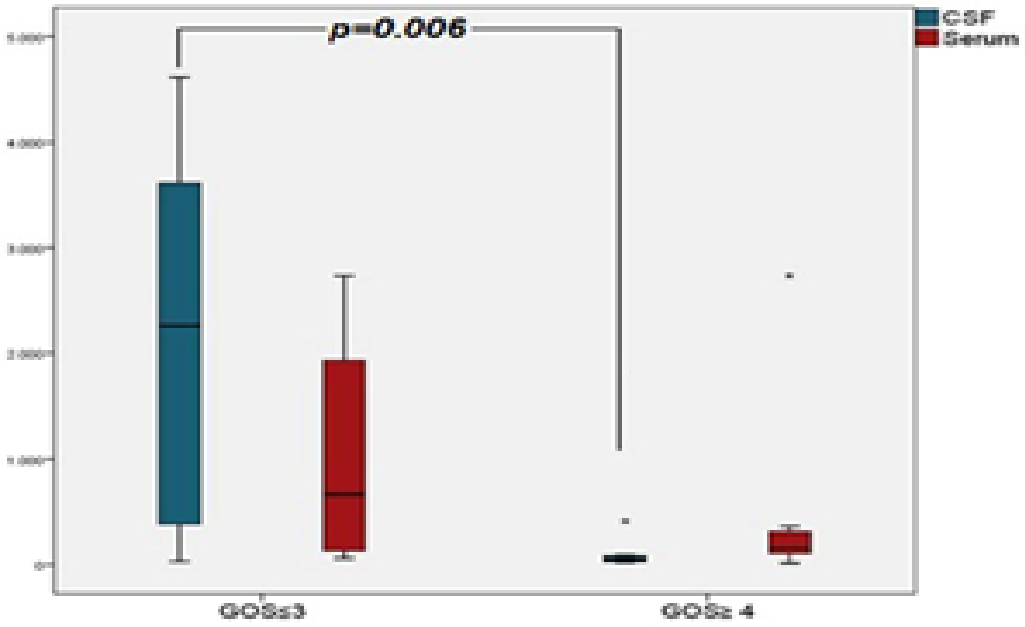
ΣΧΗΜΑ 6: κλινική σημασία της OPN στο ΕΝΥ στους ασθενείς με βαριά οξεία ΚΕΚ



Η OPN **μειώθηκε δραστικά στο ΕΝΥ των ασθενών με βαριά ΚΕΚ που αντιμετωπίσθηκαν χειρουργικά**

- σε σύγκριση με τους ασθενείς που δεν είχαν ένδειξη για χειρουργική αντιμετώπιση **(p=0.030)**

ΣΧΗΜΑ 7: προγνωστική σημασία της OPN στο ΕΝΥ στους ασθενείς με βαριά οξεία ΚΕΚ



- **Τα επίπεδα της OPN στο ΕΝΥ βρέθηκαν δραστικά μειωμένα στους πλήρως αναρρωμένους ασθενείς με βαριά ΚΕΚ (μετεγχειρητικό GOS≥14)**

- σε σύγκριση με εκείνους που δεν είχαν καλή έκβαση (p=0.006)

ΣΥΝΟΨΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ OPN ΣΤΟ ΕΝΥ

- Αύξηση σε νευροεκφυλιστικές παθήσειςκαι Χρόνια Υποσκληρίδια Αιματώματα
- Πολύ μεγαλύτερη αύξηση στην Οξεία Κρανιοεγκεφαλική Κάκωση
- Τα υψηλότερα επίπεδα στους ασθενείς αναλόγως της βαρύτητας της ΚΕΚ
- Δραστική μείωση σε ασθενείς με βαριά ΚΕΚ που είχαν χειρουργική ένδειξη και εμφάνισαν καλή έκβαση

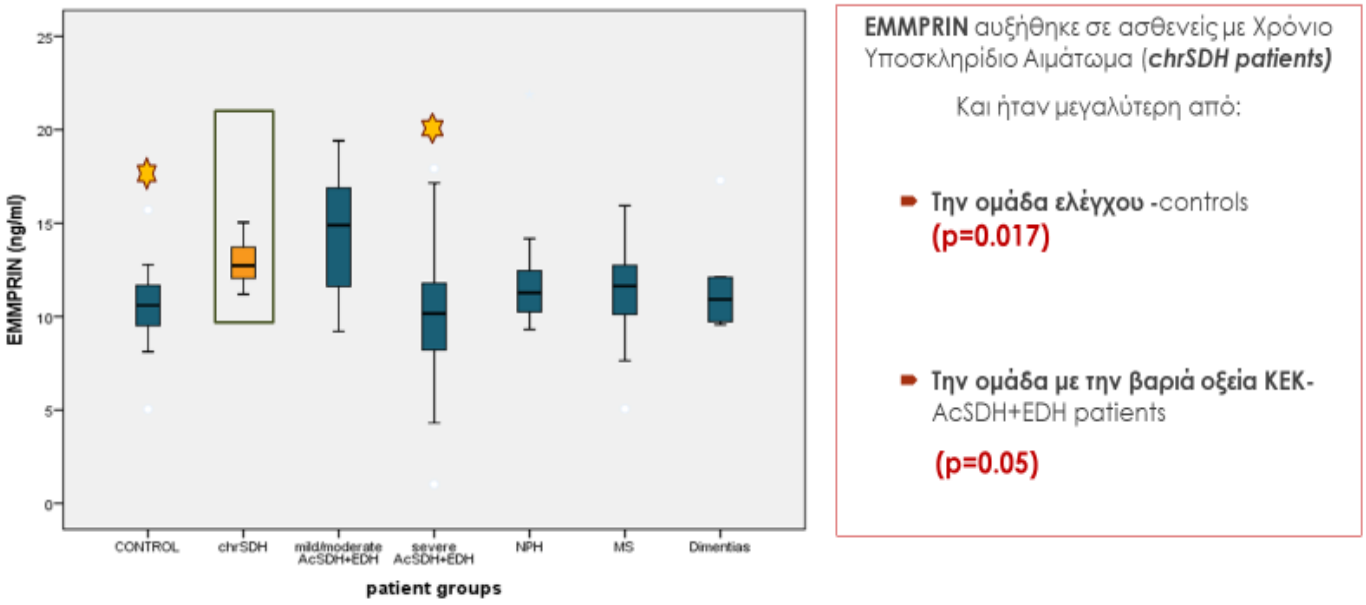
- *Τα στοιχεία δείχνουν τον δυνητικό ρόλο που μπορεί να παίξει η OPN ως δείκτης κλινικής βαρύτητας και έκβασης των ασθενών με βαριά κρανιοεγκεφαλική κάκωση και ως προγνωστικόςδείκτηςαξιολόγησης για την διαχείριση του βαριά νευροχειρουργικού ασθενούς με ΚΕΚ*

- **EMMPRIN**

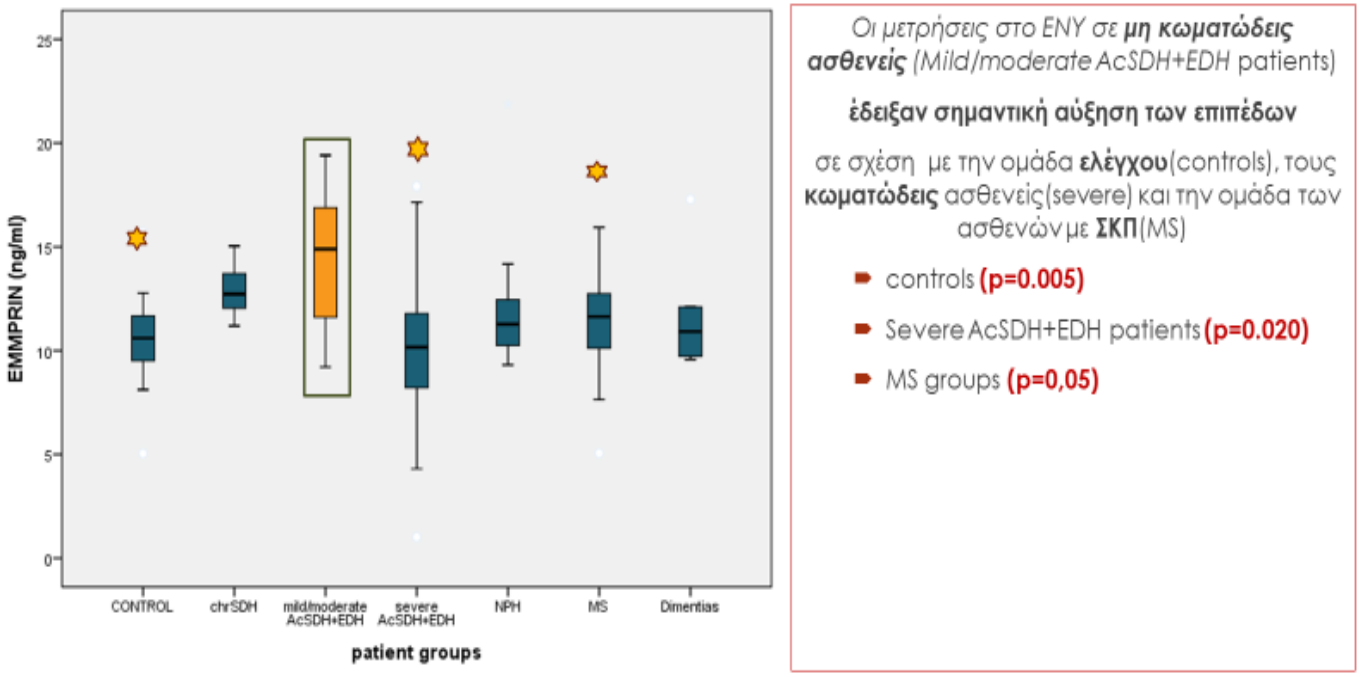
Επίπεδα EMMPRIN στο ΕΝΥ ασθενών με ΚΕΚ

Η αύξηση της EMMPRIN ήταν επίσης σημαντική στο ΕΝΥ της ομάδας ασθενών με ΧΥΑ (12,9 ng/ml) σε σύγκριση με τις ομάδες ασθενών με βαριά ΚΕΚ (p=0,05) και ελέγχου (p = 0,017) **(ΣΧΗΜΑ 8).** Στις ομάδες με οξεία ΚΕΚ, τα επίπεδα της EMMPRIN στο ΕΝΥ έδειξαν μια αντίστροφη συσχέτιση με την κλινική σοβαρότητα (**ΣΧΗΜΑ 9).** Η μεγαλύτερη αύξηση παρατηρήθηκε σε ασθενείς με ήπιας βαρύτητας ΚΕΚ (14,2 ng/ml) με σημαντικά υψηλότερες τιμές σε σχέση με τους μάρτυρες (p = 0,005), τις νευροεκφυλιστικές παθήσεις (p = 0,011 και p = 0,05 για τις ομάδες των συνδρόμων άνοιας και της Πολλαπλής Σκλήρυνσης, αντίστοιχα), καθώς επίσης και σε σχέση με τους ασθενείς της ομάδας με μέτρια βαρύτητας ΚΕΚ (10,4 ng/ml, p = 0,001).

ΣΧΗΜΑ 8: επίπεδα EMMPRIN στο ΕΝΥ στα Χρόνια Υποσκληρίδια Αιματώματα



ΣΧΗΜΑ 9: επίπεδα EMMPRIN στο ΕΝΥ ασθενών με ήπιας και μέτριας βαρύτητας οξεία ΚΕΚ



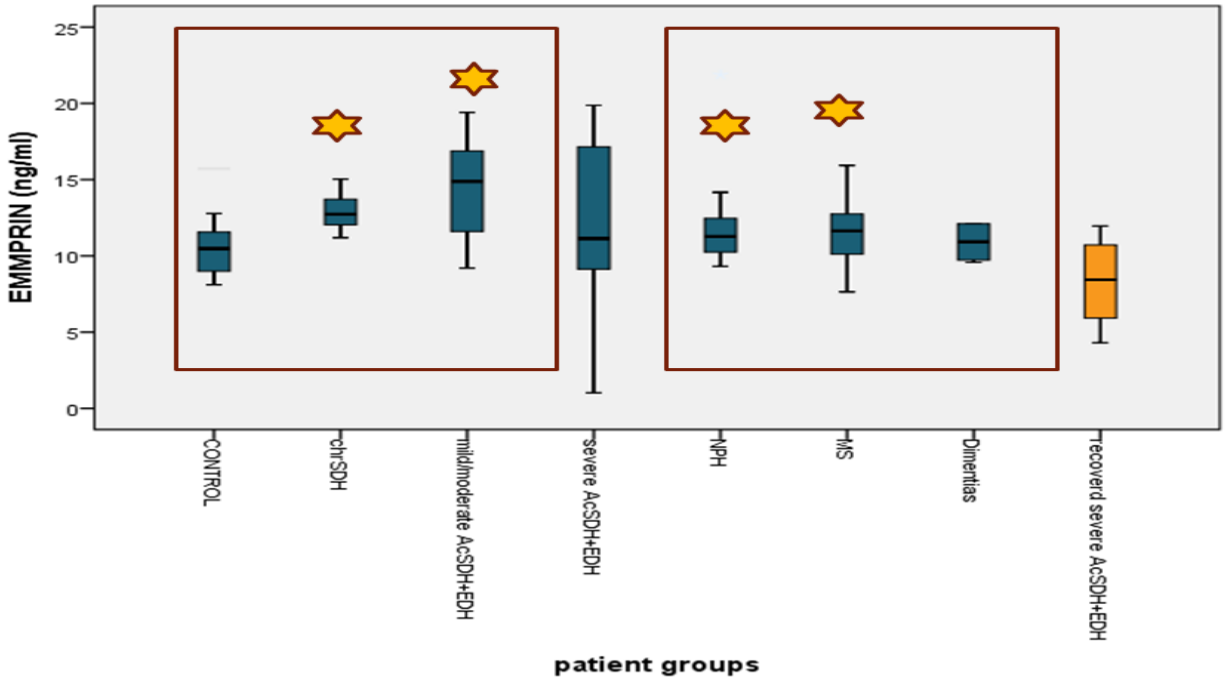
Επίπεδα EMMPRIN στο ΕΝΥ ασθενών με νευροεκφυλιστικές νόσους

Σχετικά αυξημένη βρέθηκε ηEMMPRINκαι στο ΕΝΥ ασθενών με Πολλαπλή Σκλήρυνση (11,4 ng/ml), NPH (12,5 ng/ml) και σύνδρομα άνοιας (10,6 ng/ml) σε σύγκριση με τους μάρτυρες (10,5 ng/ml)**.** Ωστόσο, το προφίλ της EMMPRIN μεταξύ των δειγμάτων διαφορετικών νευρολογικών ασθενειών δεν αποκλίνουν σημαντικά μεταξύ τους, ενώ τα επίπεδα EMMPRIN σε ομάδες Πολλαπλής Σκλήρυνσης δεν έδειξαν κανένα συσχετισμό με το στάδιο προόδου της νόσου (11,4 ng/ml και 11,4 ng/ml για CIS και RRMS).

Αξιολόγηση κλινικής και προγνωστικής σημασίας της OPN στο ΕΝΥ ασθενών με βαριά οξεία ΚΕΚ

Ιδιαίτερης σημασίας είναι η παρατήρηση ότι στους ασθενείς με βαριάς μορφής ΚΕΚ τα επίπεδα EMMPRIN στο ΕΝΥ (11,2 ng/ml) συσχετίστηκαν με το ρυθμό ανάκαμψης και ανάρρωσης των ασθενών με βαριά ΚΕΚ. Αν και δεν καταγράφηκε επαγόμενη από τη νευροχειρουργική επέμβαση ανακούφιση του φλεγμονώδους φορτίου στην μελέτη της OPN στο αίμα, παρατηρήθηκε ότι τα επίπεδα της EMMPRIN στους ασθενείς που εμφάνισαν πλήρη νευρολογική αποκατάσταση (GOS≥14) ήταν σημαντικά μειωμένα (8,3 ng/ml) σε σύγκριση με τους ασθενείς χωρίς σημαντική βελτίωση (p = 0,053). Άλλωστε, η μείωση αυτή ήταν σημαντική και σε σχέση με τους ασθενείς με ήπιας βαρύτητας ΚΕΚ (p = 0,002), ΧΥΑ (p = 0,002) και νευροεκφυλιστικές παθήσεις (p = 0,030 και p = 0,017 για τις ομάδες NPH και ΠΣ, αντίστοιχα –**ΣΧΗΜΑ 10**).

ΣΧΗΜΑ 10: προγνωστική σημασία της EMMPRIN στο ΕΝΥ στους ασθενείς με βαριά οξεία ΚΕΚ



Τα επίπεδα της EMMPRIN στο ΕΝΥ *συσχετίστηκαν με την πρόγνωση των ασθενών με βαριά οξεία ΚΕΚ:*

- ➢ ήταν σημαντικά μειωμένα στους ασθενείς που παρουσίασαν πλήρη αποκατάσταση

σε σύγκριση με τους
- ασθενείς χωρίς βελτίωση (p = 0,053)

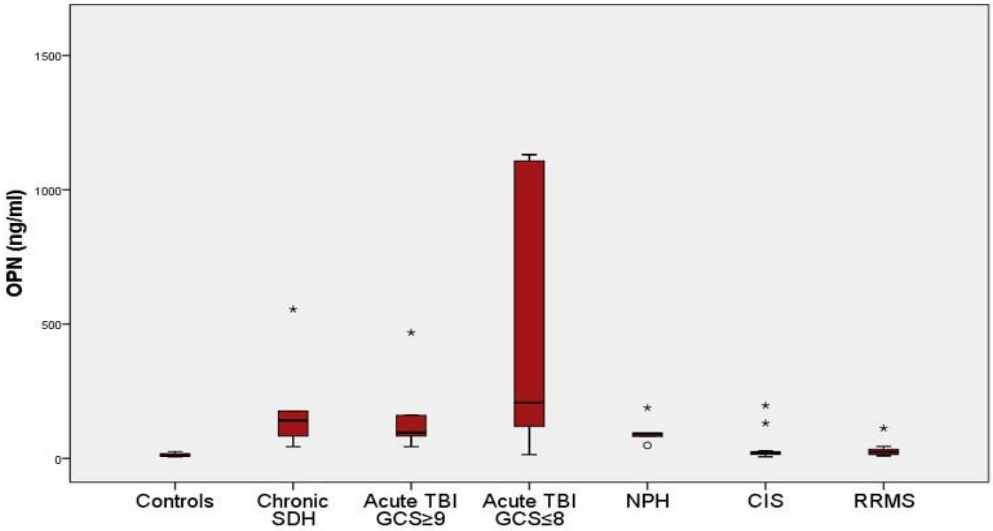
καθώς και τους ασθενείς με
- ήπιας βαρύτητας ΚΕΚ (p = 0,002),
- ΧΥΑ (p = 0,002)

Μελέτη των δεικτών OPN και EMMPRIN στο περιφερικό αίμα

- **Οστεοποντίνη**

Τα επίπεδα OPN στο αίμα ήταν χαμηλά στα άτομα ελέγχου (12,4ng/ml). Αυξημένη βρέθηκε η OPN στο αίμα ασθενών με χρόνιες και αυτοάνοσες νευροεκφυλιστικές ασθένειες. Η αύξηση της OPN στους ασθενείς με MS (35.7ng/ml) ήταν σημαντική σε σύγκριση με τους μάρτυρες (p = 0.013) και συσχετίζεται με την εξέλιξη της νόσου (40.3ng/ml και 30.7ng/ml στις ομάδες CIS και RRMS αντίστοιχα). Στους ΝΡΗ υδροκέφαλους, η αύξηση ήταν πιο σημαντική (100,8ng/ml) σε σύγκριση με τους μάρτυρες (p = 0,002) και τους ασθενείς με MS (p = 0,004).
Στους ασθενείς με ΧΥΑ, η αύξηση της ΟΠΝ ήταν πιο έντονη (189,9 ng/ml) και ήταν σημαντικά υψηλότερη και από την ομάδα ελέγχου (p = 0,002) και από την ομάδα των ασθενών με MS (p = 0,004). Στους ασθενείς με βαριά ΚΕΚ υπήρξαν υπερβολικά αξημένα επίπεδα OPN στην συστηματική κυκλοφορία που συσχετίζεται με τη σοβαρότητα της εγκεφαλικής βλάβης.
Οι συγκεντρώσεις OPN στο αίμα ασθενών με ήπιας βαρύτητας ΚΕΚ (395,9 ng/ml) ήταν σαφώς μεγαλύτερες από την ομάδα ελέγχου (p = 0,000) και την ομάδα με MS (p = 0,000). Η OPN βρέθηκε επίσης αυξημένη σε ασθενείς με μέτριας βαρύτητας ΚΕΚ (561.0ng/ml) με επίπεδα σημαντικά υψηλότερα από εκείνα της ομάδας με MS (p = 0.006). Παρόλα αυτά, παρατηρήθηκε πολύ μεγαλύτερη αύξηση σε ασθενείς με βαριά ΚΕΚ ΤΒΙ (811,4ng/ml) και, παρά το ευρύ φάσμα των τιμών που ανιχνεύθηκαν, οι τιμές της OPN στο αίμα υπερβαίνουν σημαντικά αυτών της ήπιας ΚΕΚ (p = 0,027) όσο και της MS (p = 0.000) και της ομάδας ελέγχου (p = 0.000).
Οι θεραπευτικές παρεμβάσεις και ο ρυθμός ανάκαμψης και αποκατάστασης των ασθενών μετά την ΚΕΚ δεν απεικονίζονται με σαφήνεια στις τιμές της OPN στην συστηματική κυκλοφορία, αν και τα επίπεδα της στο αίμα ήταν σταθερά υψηλότερα σε εκείνους που είχαν πτωχή αποκατάσταση σε σύγκριση με εκείνους που είχαν πλήρη αποκατάσταση (843.9ng / ml έναντι 618.1ng / ml αντίστοιχα).
Οι τιμές της OPN του κυκλοφορούντος αίματος έδειξαν θετική συσχέτιση με τις αντίστοιχες μετρήσεις στο ΕΝΥ (r = 0,375, p = 0,001).

ΣΧΗΜΑ 11: επίπεδα OPN στο αίμα των μελετώμενων ομάδων ασθενών



Αυξημένα επίπεδα OPN στο αίμα στους ασθενείς με

- **Υδροκεφαλία Φυσιολογικής Πίεσης**
  - σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (p = 0,002) και την Πολλαπλή Σκλήρυνση (p = 0,004)
- **Νευροεκφυλιστικά σύνδρομα**
  - σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (p = 0,013)
- **Χρόνια Υποσκληρίδια Αιματώματα**
  - σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (p = 0,002)
- **μέτριας βαρύτητας οξεία ΚΕΚ**
  - σε σύγκριση με την Πολλαπλή Σκλήρυνση (p = 0,006)
- **Βαριά οξεία ΚΕΚ**
  - σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (p = 0,000)
  - σε σύγκριση με την ήπιας βαρύτητας ΚΕΚ (p = 0,027)
  - σε σύγκριση με την Πολλαπλή Σκλήρυνση (p = 0,000)

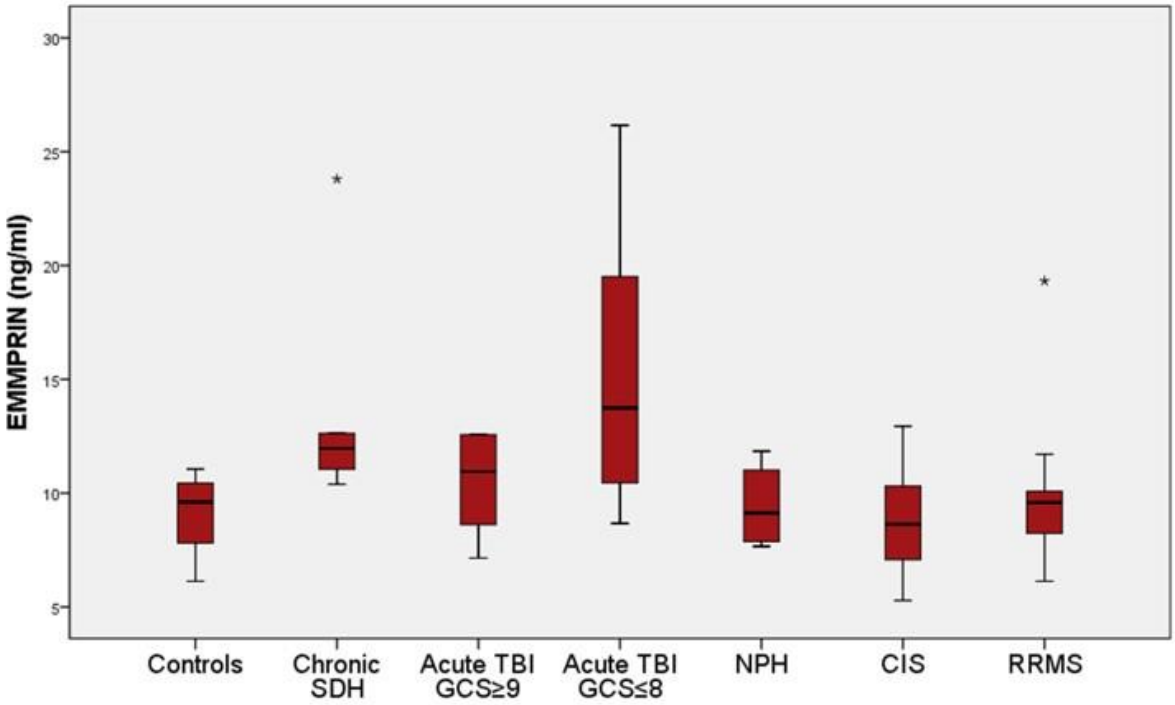
- **EMMPRIN**

Μετρήσεις EMMPRIN στο περιφερικό αίμα

Στις περισσότερες από τις ομάδες ασθενών που μελετήθηκαν, τα επίπεδα της EMMPRIN στο αίμα ήταν συγκρίσιμα ή χαμηλότερα από τα επίπεδα της στο ΕΝΥ (**ΣΧΗΜΑ 12**).

Σε χαμηλά επίπεδα παρέμεινε η EMMPRIN στο αίμα των ατόμων της ομάδας ελέγχου (9,6 ng/ml). Οι νευρολογικές και αυτοάνοσες νευροεκφυλιστικές ασθένειες χαρακτηρίστηκαν επίσης από χαμηλές συγκεντρώσεις EMMPRIN στο αίμα. Στην ομάδα υδροκέφαλων NPH, τα επίπεδα της EMMPRIN στο αίμα ήταν σχετικά μειωμένα (9,4ng/ml) σε σύγκριση με το ΕΝΥ. Επίσης, στο αίμα ασθενών με σκλήρυνση κατά πλάκας (MS) η EMMPRIN βρέθηκε σε σημαντικά μειωμένα επίπεδα (9,3ng/ml) σε σχέση με την ομάδα των ΧΥΑ (p = 0,003), καθώς και τις ομάδες με ήπια και βαριά ΚΕΚ (p = 0,004 και p = 0,000 αντίστοιχα). Αυτή η μείωση της EMMPRIN ήταν πιο εμφανής στον αίμα της περιφερικής κυκλοφορίας των ασθενών με CIS (8,8ng / ml έναντι 9,8ng / ml σε RRMS).
Οι τιμές της EMMPRIN στο αίμα ασθενών με ΧΥΑ βρέθηκαν αυξημένες (14,0 ng/ml) σε επίπεδα σημαντικά υψηλότερα σε σχέση με τα άτομα ελέγχου (p = 0,019) όπως επίσης και τις ομάδες των νευροφλεγμονώδών παθήσεων (p = 0,007 και p = 0,003 για τους ασθενείς με NPH και MS αντίστοιχα). Στις ομάδες ασθενών με οξεία ΚΕΚ, τα προφίλ της EMMPRIN στο αίμα διέφεραν αναλόγως με την κλινική βαρύτητα. Τα επίπεδα EMMPRIN σε ασθενείς με ήπια ΚΕΚ παρέμειναν αυξημένα στον ορό (12,9 ng / ml) σε σύγκριση με τους μάρτυρες (p = 0,043) και τις ομάδες ασθενών με MS (p = 0,004). Σε ασθενείς με βαριά ΚΕΚ, οι συγκεντρώσεις στο αίμα (19,2 ng / ml) ξεπέρασαν τις παρατηρηθείσες στο ΕΝΥ και τα επίπεδα τους ήταν σημαντικά υψηλότερα από αυτά της ομάδας ελέγχου (p = 0,002) και MS (p = 0,000). Σύμφωνα με τα προφίλ του ΕΝΥ, η EMMPRIN στο αίμα ήταν μειωμένη στους ασθενείς με μέτριας βαρύτητας ΚΕΚ (8,6 ng/ml) σε σύγκριση με τις ομάδες ήπιας (p = 0,030) και βαριάς ΚΕΚ (p = 0,001).

ΣΧΗΜΑ 12: επίπεδα EMMPRIN στο αίμα των μελετώμενων ομάδων



Αυξημένα επίπεδα EMMPRIN στο αίμα των ασθενών με

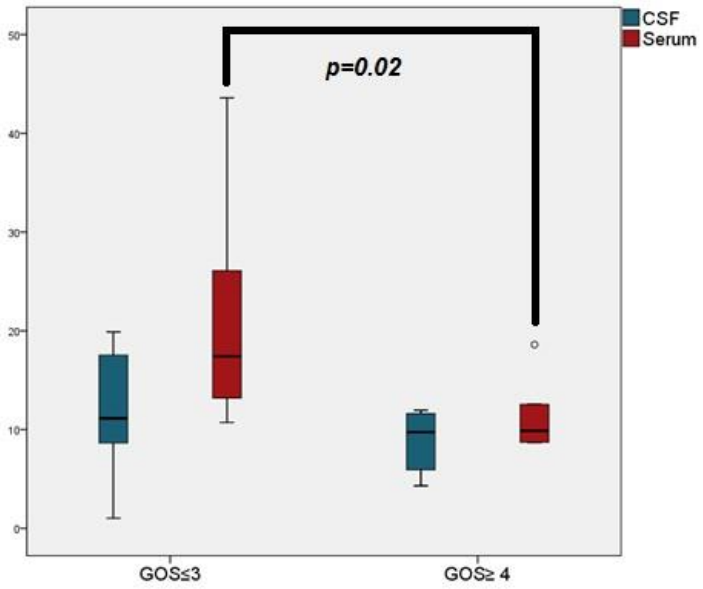
- **Χρόνια Υποσκληρίδια Αιματώματα**
  - σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (p = 0,019) και τους ασθενείς με NPH (p = 0,007) και Πολλαπλή Σκλήρυνση (p = 0,003)

- **μέτριας βαρύτητας οξεία ΚΕΚ**
  - σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (p = 0,043) και την Πολλαπλή Σκλήρυνση (p = 0,004)

- **Βαριά οξεία ΚΕΚ**
  - σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (p = 0,045)
  - σε σύγκριση με την Πολλαπλή Σκλήρυνση (p = 0,001)

Η νευροχειρουργική επέμβαση δεν απεικονίστηκε στα επίπεδα EMMPRIN στο αίμα. Σε σχέση με την μετεγχειρητική πρόοδο όμως, η EMMPRIN παρέμεινε σημαντικά αυξημένη στο αίμα των ασθενών με μέτρια και βαριά ΚΕΚ που δεν ανέκαμψαν πλήρως (17,7ng/ml) έναντι εκείνων με επιτυχή ανάρρωση και αποκατάσταση (11,8ng/ml, p=0.02) (**ΣΧΗΜΑ 13**).

ΣΧΗΜΑ 13: προγνωστική σημασία της EMMPRIN στο αίμα στους ασθενείς με βαριά οξεία ΚΕΚ



Σημαντικά μειωμένα επίπεδα της EMMPRIN στο αίμα των ασθενών με βαριά οξεια ΚΕΚ με πλήρη νευρολογική αποκατάσταση (**GOS≥14)**

- σε σύγκριση με εκείνους που δεν είχαν καλή έκβαση (p=0.053)

Γ. Προφίλ των ρυθμιστών φλεγμονής σε ασθενείς με ΚΕΚ

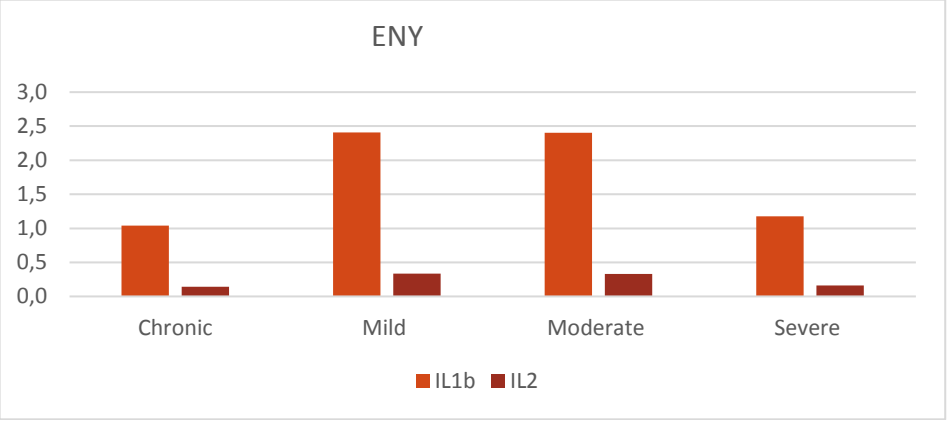
Μετρήσεις επιπέδων Ιντερλευκινών στο ΕΝΥ

Τα προφίλ έκφρασης μιας ομάδας φλεγμονωδών κυτοκινών που εμπλέκονται στην φλεγμονώδη απόκριση μετά την ΚΕΚ, συμπεριλαμβανομένων των IL1b, IL2, IL6, IL8 και IL10, προσδιορίστηκαν στους ασθενείς μας με ΚΕΚ.

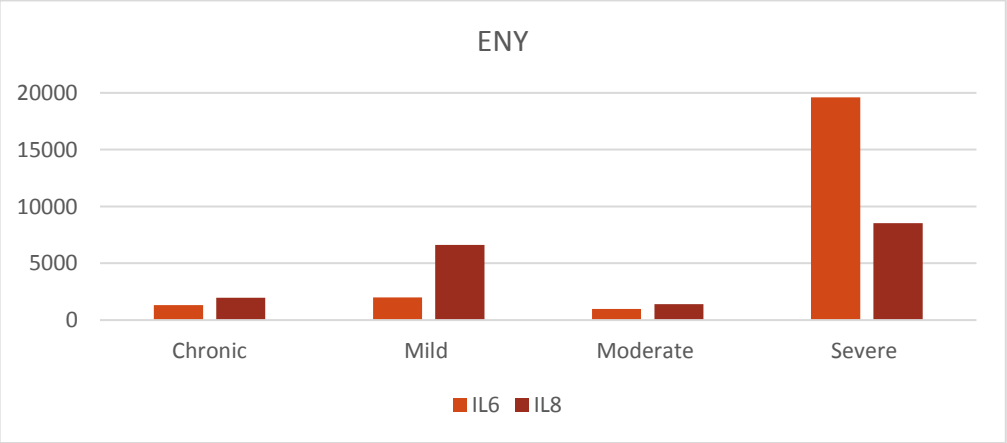
Η IL10 ήταν μη ανιχνεύσιμη στο ΕΝΥ των ομάδων ελέγχου και ΚΕΚ, ενώ τα επίπεδα άλλων μεσολαβητών φλεγμονής παρέμειναν κάτω από το κατώτερο όριο ανίχνευσης σε υγιή άτομα και σε πολλά δείγματα ΚΕΚ. Συγκριτική ανάλυση των προφίλ φλεγμονής σε ΕΝΥ που σχετίζονται με τα ΧΥΑ έδειξαν αύξηση της έκφρασης της IL2 ενώ στα λιγότερο σοβαρά οξεία τραύματα φάνηκε αύξηση της IL1b (**ΣΧΗΜΑ 14**). Η οξεία βαριά ΚΕΚ χαρακτηρίστηκε από έντονη αύξηση των IL6 και IL8 (**ΣΧΗΜΑ 15**).

Οι αποκλίσεις στα επίπεδα της IL6 ήταν σημαντικές μεταξύ των διαφόρων ομάδων ασθενών. Η IL6 ήταν μη ανιχνεύσιμη στα δείγματα ΕΝΥ των ομάδων ελέγχου και εντός φυσιολογικού εύρους (<10pg / ml) στην πλειονότητα των μη κρίσιμων τραυμάτων (GCS> 9). Αντίθετα, οι εκτεταμένες κρανιοεγκεφαλικές βλάβες με διάσπαση του αιματοεγκεφαλικού φραγμού και με επακόλουθο εγκεφαλικό οίδημα χαρακτηρίστηκαν από σημαντικά αυξημένες συγκεντρώσεις IL6 (p = 0,013 και p = 0,006, αντίστοιχα). Επίσης, οι συγκεντρώσεις IL6 ανευρέθηκαν εντός φυσιολογικών ορίων σε επιζώντες ασθενείς με οξεία ΚΕΚ καλής με καλή πρόγνωση (GOS 4 / 5) ενώ η υπερβολική αύξηση της συγκέντρωσης IL6 (> 500mg / ml –βλ. «inflammation”), η οποία σηματοδοτεί συστημική φλεγμονή, σχετίζονταν με κακή πρόγνωση (p = 0,013).

ΣΧΗΜΑ 14: προφίλ των ιντερλευκίνες IL1b και IL2 στο ΕΝΥ ασθενών με βαριά οξεία ΚΕΚ

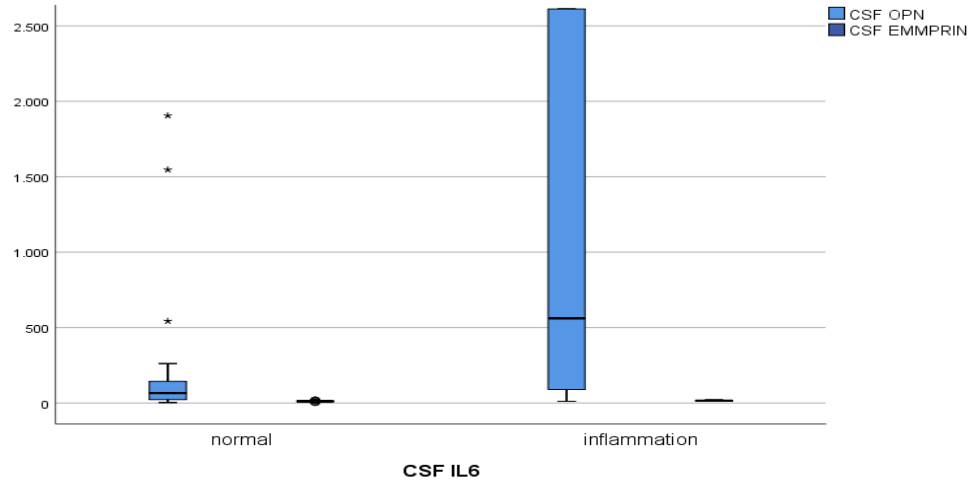


ΣΧΗΜΑ 15: προφίλ ιντερλευκινώνIL6 και IL8 στο ΕΝΥ ασθενών με βαριά οξεία ΚΕΚ



Τα δείγματα ΕΝΥ, στα οποία παρατηρήθηκαν υψηλές συγκεντρώσεις IL6, χαρακτηρίστηκαν επίσης από αυξημένες συγκεντρώσεις OPN και EMMPRIN. Στην πραγματικότητα, η υψηλή IL6 συσχετίστηκε έντονα με σημαντικά αυξημένα επίπεδα OPN (p = 0.003) και EMMPRIN (p = 0.003) στο ΕΝΥ των ασθενών με οξεία κρανιοεγκεφαλική κάκωση (**ΣΧΗΜΑ 16**).

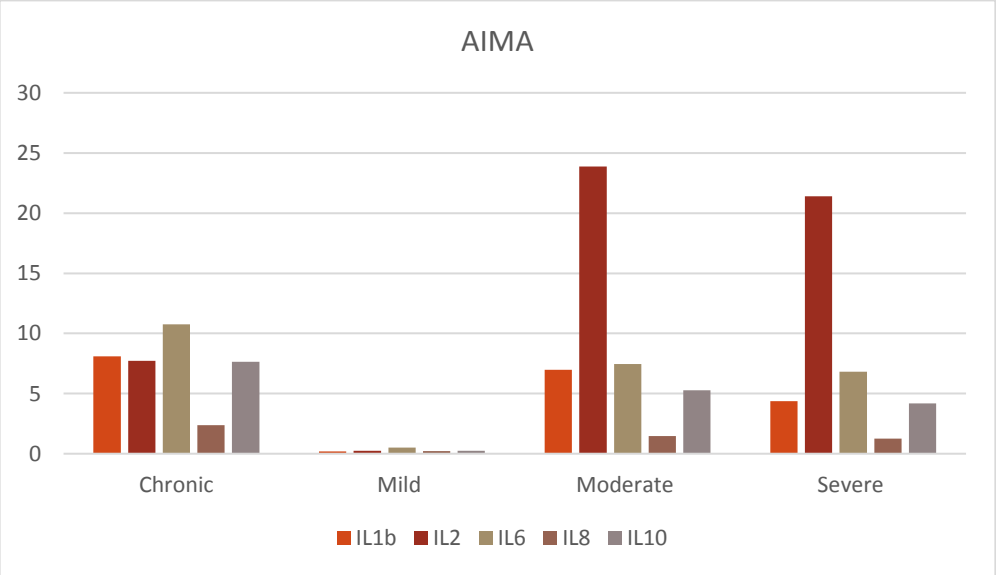
ΣΧΗΜΑ 16: συσχέτιση της αύξησης της OPN με τον δείκτη συστημικής φλεγμονής IL6 στο ΕΝΥ



Μετρήσεις επιπέδων Ιντερλευκινών στο Αίμα

Το προφίλ έκφρασης των παραγόντων της συστηματικής φλεγμονής στο αίμα απέκλιναν σημαντικά από τα αντίστοιχα στο ΕΝΥ, ιδιαίτερα τα επίπεδα των IL6, IL8 και IL1b. Στη συστηματική κυκλοφορία, το φορτίο φλεγμονής εμφανίστηκε βαρύτερο σε ασθενείς με ΧΥΑ, δεδομένου ότι παρατηρήθηκε ο μεγαλύτερος ρυθμός έκφρασης των IL1b, IL6 και IL8 στους ασθενείς αυτούς (***ΣΧΗΜΑ 17*).**

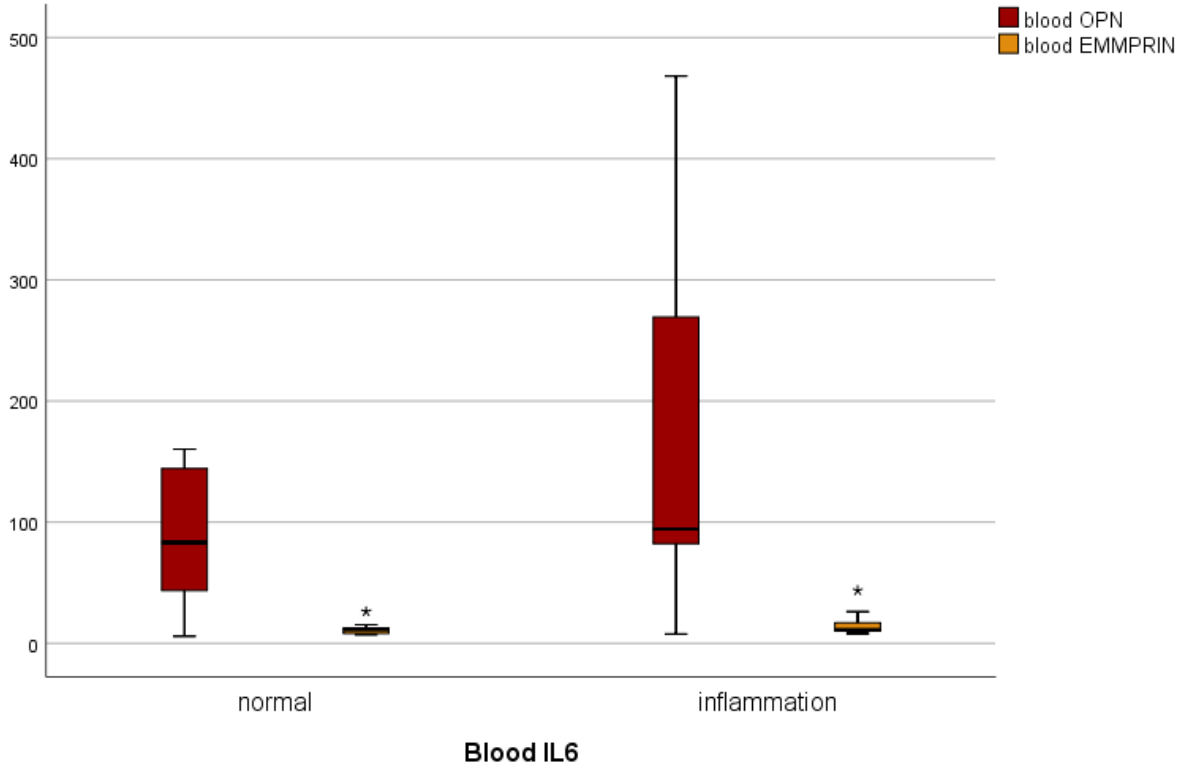
ΣΧΗΜΑ 17: προφίλ ιντερλευκινών στο αίμα ασθενών με βαριά οξεία ΚΕΚ



Η αύξηση του ρυθμού έκφρασης της IL10, που ανιχνεύτηκε στο αίμα όλων των ομάδων των ασθενών με ΚΕΚ, ήταν επίσης πιο έντονη στους ασθενείς με ΧΥΑ. Αντίστροφα, στις οξείες περιπτώσεις ΚΕΚ παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της IL2 στην περιφερική κυκλοφορία, ιδιαίτερα εμφανής στις ομάδες μεγαλύτερης κλινικής βαρύτητας. Αξιοσημείωτο είναι ότι ένα ξεχωριστό προφίλ μειωμένης φλεγμονής διέκρινε την ελαφρά οξεία εγκεφαλική κάκωση. Όσο δε αφορά την κλινική σημασία των προφίλ των ιντερλευκικών σχετικά με την κλινική βαρύτητα και πρόγνωση της οξείας ΚΕΚ, παρατηρήθηκε ότι οι αναλογίες ΕΝΥ / αίματος διέφεραν αναλόγως της κλινικής σοβαρότητας και πρόγνωσης της ΚΕΚ.

Ο δείκτης των τιμών της IL6 στο ΕΝΥ και το αίμα (τιμή ΕΝΥ/τιμή αίματος) σε ασθενείς με ΚΕΚ που εμφάνισαν κακή πρόγνωση ήταν σημαντικά υψηλότερος (47,7 φορές) σε σύγκριση με των ασθενών με καλή πρόγνωση. (p = 0,050). Επιπλέον, αισθητά διέφερε και ο δείκτης ΕΝΥ/αίμα της IL1b μεταξύ των ασθενών με κακή και καλή πρόγνωση (20 φορές υψηλότερες στην ομάδα με GOS: 1, p = 0,054). Επίσης, στα δείγματα αίματος των ασθενών με οξεία κρανιοεγκεφαλική κάκωση που εμφάνιζαν υψηλές συγκεντρώσειςIL6 και, συνεπώςυψηλό φορτίο φλεγμονής, ήταν σημαντικά αυξημένα τα επίπεδα της OPN (**ΣΧΗΜΑ 18)**.

ΣΧΗΜΑ 18: συσχέτιση της αύξησης της OPN με τον δείκτη συστημικής φλεγμονής IL6 στο αίμα



3. Μεταβολές του πρωτεϊνικού φαινοτύπου των εκ του λιπώδους ιστού προερχόμενων πολυδύναμων κυττάρων από την καλλιέργεια τους σε ΕΝΥ

- ***ΕΝΥ Ασθενών με Οξεία ΚΕΚ***
  - ***Ήπιας Βαρύτητας***

Η καλλιέργεια των κυττάρων με ΕΝΥ από ασθενείς με οξεία ΚΕΚ Ήπιας Βαρύτητας μετέβαλε δραστικά όλους του εξεταζόμενους στη παρούσα μελέτη δείκτες εκτός από τα επίπεδα του CD90 τα οποία παρέμειναν σταθερά σε υψηλά επίπεδα τόσο στις 24 ώρες όσο και στις 96 ώρες επίδρασης invitro. Ειδικότερα οι δείκτες CD73 και CD105 μειώθηκαν στατιστικώς σημαντικά συγκριτικά με την Ημέρα 0 τόσο στις 24 ώρες όσο και 96 ώρες (p=0,014; P; Πίνακας 3). Αναφορικά με την έκφραση των πρωτεϊνών Νεστίνης και MAP2a&b αυτή ανέβηκε στατιστικώς σημαντικά στις 24 ώρες (p=0,041 και p=0,007 αντίστοιχα). Τόσο τα επίπεδα της πρωτεΐνης Νεστίνης όσο και του MAP2a&b διατηρήθηκαν αυξημένα και μετά από 96 ώρες επίδρασης invitro (p=0,032 και p=0,026).

Πίνακας 3 Επίδραση του ΕΝΥ από ασθενείς με *Οξεία ΚΕΚ Ήπιας Βαρύτητας* στην έκφραση των πρωτεϊνικών μορίων CD90, CD73, CD105, Νεστίνη και MAP2a&b πολυδύναμων κυττάρων μετά από 24 και 96 ώρες invitro καλλιέργειας.

Ασθενείς με Οξεία ΚΕΚ Ήπιας Βαρύτητας	CD90+ (%) 24ωρες	CD73+ (%) 24 ώρες	CD105+ (%) 24 ώρες	Νεστίνη + (%) 24 ώρες	MAP2a&b + (%) 24 ώρες	CD90+ (%) 96ωρες	CD73+ (%) 96 ώρες	CD105+(%) 96 ώρες	Νεστίνη + (%) 96 ώρες	MAP2a&b + (%) 96 ώρες
Μέσος Όρος	90,5750	49,0125	17,4375	55,5000	80,7500	83,4000	23,2325	16,8125	18,5625	52,2500
Αριθμός Δειγμάτων	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Τυπική Απόκλιση	5,60733	15,17935	8,39829	22,91600	6,56288	11,75804	13,43332	6,89688	9,20961	10,09597
Τυπικό Σφάλμα	1,98249	5,36671	2,96924	8,10203	2,32033	4,15709	4,74940	2,43842	3,25609	3,56946
Asymp. Sig. (2-tailed)	,074	,014	,014	,041	,007	,066	,014	,014	,032	,026

  - ***Μέτριας Βαρύτητας***

Στα κύτταρα μετά την επίδραση με ΕΝΥ από ασθενείς με οξεία ΚΕΚ Μέτριας Βαρύτητας ανιχνεύθηκαν μειωμένοι οι υποπληθυσμοί των CD73 και CD105 θετικών κυττάρων (p=0,017; Πίνακας) στις 24 ώρες σε ποσοστά αντίστοιχα με αυτά που ανιχνεύθηκαν μετά την επίδραση ΕΝΥ από ασθενείς με οξεία ΚΕΚ Ήπιας Βαρύτητας. Οι πληθυσμοί αυτοί εξακολούθησαν να μειώνονται και στις 96 ώρες συγκριτικά με την Ημέρα 0 (p=0,017 και p=0,02 αντίστοιχα; Πίνακας 4). Ο υποπληθυσμός των CD90 θετικών κυττάρων μειώθηκε στατιστικώς σημαντικά μόνο μετά την συνεχή επίδραση με το ΕΝΥ των ασθενών για 96 ώρες (p=0,03). Σε αντίθεση όμως με την επίδραση ΕΝΥ από ασθενείς με Οξεία ΚΕΚ Ήπιας Βαρύτητας, η επίδραση ΕΝΥ από ασθενείς με Οξεία ΚΕΚ Μέτριας Βαρύτητας ενώ προκάλεσε αρχικά επαγωγή της έκφρασης των πρωτεϊνών Νεστίνης και MAP2a&b (24 ώρες, p=0,05 και p=0,008), αυτή δεν διατηρήθηκε αν και αυξημένη συγκριτικά με την Ημέρα 0, σε στατιστικώς σημαντικά επίπεδα επαγωγής στις 96 ώρες (p=0,256 και p=0,450 αντίστοιχα; Πίνακας4).

Πίνακας 4 .Επίδραση του ΕΝΥ από ασθενείς με *Οξεία ΚΕΚ Μέτριας Βαρύτητας* στην έκφραση των πρωτεϊνικών μορίων CD90, CD73, CD105, Νεστίνη και MAP2a&b πολυδύναμων κυττάρων μετά από 24 και 96 ώρες invitro καλλιέργειας.

Ασθενείς με Οξεία ΚΕΚ Μέτριας Βαρύτητας	CD90+ (%) 24ωρες	CD73+ (%) 24 ώρες	CD105+ (%) 24 ώρες	Νεστίνη + (%) 24 ώρες	MAP2a&b + (%) 24 ώρες	CD90+ (%) 96ωρες	CD73+ (%) 96 ώρες	CD105+(%) 96 ώρες	Νεστίνη + (%) 96 ώρες	MAP2a&b + (%) 96 ώρες
Μέσος Όρος	87,2286	44,4429	15,4286	51,2857	73,4286	73,0900	32,7143	10,6667	24,7143	40,5714
Αριθμός Δειγμάτων	7	7	7	7	7	7	7	6	7	7
Τυπική Απόκλιση	9,40881	12,97599	9,64118	25,40154	9,16255	28,58171	17,27237	4,08248	17,40416	16,48087
Τυπικό Σφάλμα	3,55620	4,90446	3,64402	9,60088	3,46312	10,80287	6,52834	1,66667	6,57815	6,22918
Asymp. Sig. (2-tailed)	,131	,017	,017	,05	,008	,030	,017	,020	,256	,450

- **Μεγάλης Βαρύτητας**

Η επίδραση ΕΝΥ από ασθενείς με Οξεία ΚΕΚ Μεγάλης Βαρύτητας είχε επίσης ως αποτέλεσμα την μείωση των δεικτών CD73 και CD105 τόσο στις 24 ώρες (p=0,01 και p= 0,022 αντίστοιχα) όσο και στις 96 ώρες όπου και οι τιμές ήταν ακόμη περισσότερο μειωμένες (p=0,01 και p=0,011, Πίνακας 5). Ο δείκτης CD90 παρουσίασε την ίδια συμπεριφορά με την επίδραση ΕΝΥ από ασθενείς με Οξεία ΚΕΚ Μεγάλης Βαρύτητας όπως αυτή που καταγράφηκε μετά από καλλιέργεια των κυττάρων σε ΕΝΥ από ασθενείς με Οξεία ΚΕΚ Ήπιας και Μεσαίας Βαρύτητας αφού υποπληθυσμός των CD90 θετικών κυττάρων βρέθηκε στατιστικώς σημαντικά μειωμένος στις 96 ώρες (p=0,016). Αντίθετα η επαγωγή της έκφρασης των πρωτεϊνών Νεστίνη και MAP2a&b που ανιχνεύθηκε στις 24 ώρες (p=0,007 και p=0,004; Πίνακας 5) αν και μειώθηκε αριθμητικά διατηρήθηκε στατιστικώς σημαντικά αυξημένη στις 96 ώρες invitro καλλιέργειας των κυττάρων αυτών σε ΕΝΥ από ασθενείς Μεγάλης Βαρύτητας (p=0,04 και p=0,026 αντίστοιχα; Πίνακας 5).

Πίνακας 5.Επίδραση του ΕΝΥ από ασθενείς με *Οξεία ΚΕΚ Μεγάλης Βαρύτητας* στην έκφραση των πρωτεϊνικών μορίων CD90, CD73, CD105, Νεστίνη και MAP2a&b πολυδύναμων κυττάρων μετά από 24 και 96 ώρες invitro καλλιέργειας.

Ασθενείς με Οξεία ΚΕΚ Μεγάλης Βαρύτητας	CD90+ (%) 24ωρες	CD73+ (%) 24 ώρες	CD105+ (%) 24 ώρες	Νεστίνη + (%) 24 ώρες	MAP2a&b + (%) 24 ώρες	CD90+ (%) 96ωρες	CD73+ (%) 96 ώρες	CD105+(%) 96 ώρες	Νεστίνη + (%) 96 ώρες	MAP2a&b + (%) 96 ώρες
Μέσος Όρος	91,9182	42,3364	16,5000	44,4545	78,3182	72,8864	23,8100	15,3000	23,3500	54,7273
Αριθμός Δειγμάτων	11	11	10	11	11	11	11	10	10	11
Τυπική Απόκλιση	4,21398	14,08689	13,97021	21,77780	10,58365	19,33445	9,52784	10,08078	16,61333	12,61817
Τυπικό Σφάλμα	1,27056	4,24736	4,41777	6,56625	3,19109	5,82956	2,87275	3,18782	5,25360	3,80452
Asymp. Sig. (2-tailed)	,102	,010	,022	,007	,004	,016	,010	,011	,040	,026

Καμία στατιστικά σημαντική διαφορά δεν εντοπίσθηκε ούτε στις ποσοστιαίες μεταβολές των θετικών στους δείκτες CD90, CD73, CD105 κυτταρικών υποπληθυσμών ούτε στην έκφραση των εξεταζόμενων πρωτεϊνικών μορίων μεταξύ των ασθενών που μετά τη χειρουργική επέμβαση είχαν μεγαλύτερο GlasgowScore σε σύγκριση με αυτούς που παρέμειναν στην ίδια κατηγορία βαρύτητας είτε στις 24 ώρες, είτε στις 96 ώρες (Πίνακας 6).

Πίνακας 6.Μεταβολές στην έκφραση των πρωτεϊνικών μορίων CD90, CD73, CD105, Νεστίνη και MAP2a&b πολυδύναμων κυττάρων μετά από 24 και 96 ώρες invitro καλλιέργειας σε ασθενείς με Οξεία ΚΕΚ Μεσαίας και Μεγάλης Βαρύτητας ανάλογα με τη κατηγοριοποίηση τους με τη κλίμακα Γλασκώβης μετά τη χειρουργική παρέμβαση

Ασθενείς με Οξεία ΚΕΚ Μέτριας και Μεγάλης Βαρύτητας		CD90+ (%) 24ωρες	CD73+ (%) 24 ώρες	CD105+ (%) 24 ώρες	Νεστίνη + (%) 24 ώρες	MAP2a&b + (%) 24 ώρες	CD90+ (%) 96ωρες	CD73+ (%) 96 ώρες	CD105+(%) 96 ώρες	Νεστίνη + (%) 96 ώρες	MAP2a&b (%) 96 ώρες
Χωρίς Αναβάθμιση Glasgow Score	Μέσος Όρος	91,9250	39,7125	18,0000	40,1250	77,5625	67,6063	24,3388	17,9286	21,7857	52,7500
	Αριθμός Δειγμάτων	8	8	7	8	8	8	8	7	7	8
	Τυπική Απόκλιση	4,36537	10,93859	16,58312	24,29249	11,89669	20,20071	10,09792	11,19683	18,85439	12,72512
	Τυπικό Σφάλμα	1,54339	3,86737	6,26783	8,58869	4,20612	7,14203	3,57015	4,23200	7,12629	4,49901
Αναβάθμιση Glasgow Score	Μέσος Όρος	90,3000	46,0857	14,4286	53,0000	77,8571	83,2429	28,8857	10,0714	22,5714	48,1429
	Αριθμός Δειγμάτων	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
	Τυπική Απόκλιση	7,94313	17,10784	8,10056	10,51982	6,36209	12,86635	15,25292	3,56404	12,05345	18,64071
	Τυπικό Σφάλμα	3,00222	6,46615	3,06172	3,97612	2,40464	4,86302	5,76506	1,34708	4,55578	7,04553
	Asymp. Sig. (2-tailed)	,908	,487	,949	,418	,862	,132	,643	,062	,564	,643

- ***ΕΝΥ Ασθενών* με Χρόνια ΚΕΚ**

Η καλλιέργεια σε invitro συνθήκες των πολυδύναμων κυττάρων υπό την επίδραση ΕΝΥ από την ομάδα ασθενών με χρόνια ΚΕΚ για 24 ώρες δεν επέφερε στατιστικώς σημαντικές αλλαγές στην έκφραση του δείκτη CD90 αφού η μείωση του ήταν μικρή συγκριτικά με την τιμή στην αρχή της καλλιέργειας (Ημέρα 0). Αντίθετα μετέβαλλε τις τιμές των CD73 και CD105 οι οποίες μειώθηκαν σημαντικά (p=0,02και p=0,02; Πίνακας 7).Παράλληλα ενώ η ποσοστιαία έκφραση των Νεστίνη θετικών κυττάρων δεν μεταβλήθηκε σημαντικά παρατηρήθηκε σημαντική άνοδο στην έκφραση της πρωτεΐνηςMAP2a&b (p=0,01).

Παραμονή των κυττάρων στο ΕΝΥ για 96 ώρες είχε ως αποτέλεσμα τη περαιτέρω μείωση της έκφρασης των δεικτών CD73 και CD105 συγκριτικά με την Ημέρα Ο (p=0,02και p=0,02; Πίνακας7) αλλά και την απώλεια της αυξημένης έκφρασης της πρωτεΐνης MAP2a&b που παρατηρήθηκε αρχικά στις 24 ώρες (p=0,028). Τα επίπεδα της πρωτεΐνης MAP2a&b μειώθηκαν σε αυτά που μετρήθηκαν κατά την Ημέρα 0.

Πίνακας 7.Επίδραση του ΕΝΥ από ασθενείς με Χρόνια ΚΕΚ στην έκφραση των πρωτεϊνικών μορίων CD90, CD73, CD105, Νεστίνη και MAP2a&b πολυδύναμων κυττάρων μετά από 24 και 96 ώρες invitro καλλιέργειας.

Ασθενείς με Χρόνια ΚΕΚ	CD90+ (%) 24ωρες	CD73+ (%) 24 ώρες	CD105+ (%) 24 ώρες	Νεστίνη + (%) 24 ώρες	MAP2a&b +(%) 24 ώρες	CD90+ (%) 96ωρες	CD73+ (%) 96 ώρες	CD105+(%) 96 ώρες	Νεστίνη + (%) 96 ώρες	MAP2a&b + (%) 96 ώρες
Μέσος Όρος	90,1500	41,8333	13,6667	24,5000	75,8333	80,7667	22,9917	13,5000	16,8333	39,1667
Αριθμός Δειγμάτων	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Τυπική Απόκλιση	8,46304	12,79604	5,12510	21,07842	9,51665	8,63566	17,42786	4,32435	16,72623	14,91867
Τυπικό Σφάλμα	3,45502	5,22396	2,09231	8,60523	3,88516	3,52549	7,11490	1,76541	6,82845	6,09052
Asymp. Sig. (2-tailed)	,201	,020	,020	,336	,010	,071	,020	,020	,593	,392

- ***ΕΝΥ Ασθενών με Υδροκεφαλία***

Δραστική μεταβολή της έκφρασης των δεικτών παρατηρήθηκε στα κύτταρα μετά από 24ώρες επίδρασης με ΕΝΥ από ασθενείς με υδροκεφαλία. Οι δείκτες CD90, CD73 και CD105 μειώθηκαν στατιστικώς σημαντικά (p=0,036, p=0,013 και p=0,009 αντίστοιχα) ενώ η έκφραση των πρωτεϊνών Νεστίνη και MAPa&b επάγεται σημαντικά (p=0,013 και p=0,006). Όμως η αυξημένη έκφραση των δύο αυτών πρωτεϊνών δεν διατηρήθηκε μετά την παραμονή των κυττάρων στο ΕΝΥ για 96 ώρες αφού τα επίπεδα έκφρασης επέστρεψαν σε αυτά της Ημέρας 0. Αντίθετα τα ποσοστά των κυττάρων που ήταν θετικά για τους δείκτες CD90, CD73 και CD105 παρουσίασαν περαιτέρω μείωση (Πίνακας 8.)

Πίνακας 8.Επίδραση του ΕΝΥ από ασθενείς με Υδροκεφαλία στην έκφραση των πρωτεϊνικών μορίων CD90, CD73, CD105, Νεστίνη και MAP2a&b πολυδύναμων κυττάρων μετά από 24 και 96 ώρες invitroκαλλιέργειας.

Ασθενείς με Υδροκεφαλία	CD90+ (%) 24ωρες	CD73+ (%) 24 ώρες	CD105+ (%) 24 ώρες	Νεστίνη + (%) 24 ώρες	MAP2a&b + (%) 24 ώρες	CD90+ (%) 96 ώρες	CD73+ (%) 96 ώρες	CD105+(%) 96 ώρες	Νεστίνη + (%) 96 ώρες	MAP2a&b + (%) 96 ώρες
Μέσος Όρος	88,8308	43,6308	17,4615	53,8462	68,5385	73,8054	28,3692	13,9615	16,5385	40,0000
Αριθμός Δειγμάτων	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
Τυπική Απόκλιση	7,00421	15,00524	10,07154	20,24782	12,32623	11,60833	11,77224	5,25381	8,40253	16,09348
Τυπικό Σφάλμα	1,94262	4,16171	2,79334	5,61574	3,41868	3,21957	3,26503	1,45715	2,33044	4,46353
Asymp. Sig. (2-tailed)	,036	,013	,009	,013	,006	,009	,009	,009	,173	,364

- ***ΕΝΥ Ασθενών με Νευροεκφύλιση***

Συγκριτικά με το αρχικό προφίλ των κυττάρων την Ημέρα Ο, οι τιμές των δεικτών CD90, CD73 και CD105 μειώνονται στατιστικώς σημαντικά μετά την καλλιέργεια των κυττάρων σε αυτό για 24 ώρες (p=0,037, p=0,025 και p=0,025 αντίστοιχα; Πίνακας). Αντίθετα οι θετικότητα των κυττάρων αναφορικά με την έκφραση τους για τις πρωτεΐνες Νεστίνη και MAP2a&b αυξάνεται σε στατιστικώς σημαντικά επίπεδα (p=0,14 και p=0,14 αντίστοιχα; Πίνακας 9).Παρόλο που η συνεχιζόμενη καλλιέργεια των κυττάρων σε ΕΝΥ ασθενών με συμπτώματα άνοιας για άλλες 72 ώρες προκαλεί περαιτέρω μείωση των CD90, CD73 και CD105 θετικών κυτταρικών υποπληθυσμών, η προηγουμένως καταγραφείσα επαγωγή της έκφρασης των πρωτεϊνών Νεστίνη και MAP2a&b δεν ανιχνεύεται αφού τα επίπεδα των θετικών στις πρωτείνες αυτές κυτταρικών υποπληθυσμών επανέρχονται στα αρχικά επίπεδα(p=0,142 και p=0,902 αντίστοιχα; Πίνακας 9.)

Πίνακας 9. Επίδραση του ΕΝΥ από ασθενείς με Άνοια στην έκφραση των πρωτεϊνικών μορίων CD90, CD73, CD105, Νεστίνη και MAP2a&b πολυδύναμων κυττάρων μετά από 24 και 96 ώρες invitro καλλιέργειας.

Ασθενείς με Άνοια	CD90+ (%) 24ωρες	CD73+ (%) 24 ώρες	CD105+ (%) 24 ώρες	Νεστίνη + (%) 24 ώρες	MAP2a&b + (%) 24 ώρες	CD90+ (%) 96ωρες	CD73+ (%) 96 ώρες	CD105+(%) 96 ώρες	Νεστίνη + (%) 96 ώρες	MAP2a&b + (%) 96 ώρες
Μέσος Όρος	83,0000	31,6000	15,2000	54,6000	60,2000	75,2000	41,4000	13,9000	24,0000	40,0000
Αριθμός Δειγμάτων	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Τυπική Απόκλιση	10,29563	24,20331	9,52365	21,41962	11,92476	17,81011	17,77076	10,56172	16,95582	10,04988
Τυπικό Σφάλμα	4,60435	10,82405	4,25911	9,57914	5,33292	7,96492	7,94733	4,72335	7,58288	4,49444
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037	,025	,025	,014	,014	,036	,024	,025	,142	,902

- ***ΕΝΥ Ατόμων της Ομάδας Ελέγχου***

Διατήρηση των πολυδύναμων κυττάρων σε ΕΝΥ από άτομα της ομάδα ελέγχου για 24 ώρες είχε ως αποτέλεσμα τη σημαντική μείωση του ποσοστού των CD73 και CD90 θετικών κυττάρων (p=0,05 και p=0,05; Πίνακας 10) ενώ αντίθετα η θετικότητα των κυττάρων ως προς το δείκτη CD90 παρέμεινε σε παρόμοια επίπεδα με τα αρχικά καλύπτοντας ποσοστό 88±4,16 του πληθυσμού (p=0,108; Πίνακας 10). Αναφορικά με την πρωτεΐνη Νεστίνη αυτή παρουσιάστηκε αυξημένη συγκριτικά με την Ημέρα 0 (p=0,34; Πίνακας 10) ενώ αντίθετα τα επίπεδα έκφρασης της πρωτεΐνης MAP2a&b δεν μεταβλήθηκαν (p=0,48; Πίνακας 10). Οι τιμές των δεικτών CD90,CD73 και CD105 παρέμειναν σε χαμηλότερα επίπεδα και μετά από συνολική παραμονή 96 ωρών των κυττάρων στο ΕΝΥ από τα άτομα της συγκεκριμένης ομάδας (p=0,11, p=0,009 και p=0,009 αντίστοιχα; Πίνακας 10). Ο πληθυσμός των Νεστίνη θετικών κυττάρων εξακολούθησε να είναι αυξημένος συγκριτικά με την Ημέρα 0 (p=0,006) ενώ δεν παρατηρήθηκε επαγωγή στην έκφραση της πρωτεΐνης MAP2a&b (p=0,126; Πίνακας 10)

Πίνακας 10.Επίδραση του ΕΝΥ από ασθενείς από την Ομάδα Ελέγχου στην έκφραση των πρωτεϊνικών μορίων CD90, CD73, CD105, Νεστίνη και MAP2a&b πολυδύναμων κυττάρων μετά από 24 και 96 ώρες

invitro καλλιέργειας.

Ομάδα Ελέγχου	CD90+ (%) 24ωρες	CD73+ (%) 24 ώρες	CD105+ (%) 24 ώρες	Νεστίνη + (%) 24 ώρες	MAP2a&b + (%) 24 ώρες	CD90+ (%) 96 ώρες	CD73+ (%) 96 ώρες	CD105+(%) 96 ώρες	Νεστίνη + (%) 96 ώρες	MAP2a&b + (%) 96 ώρες
Μέσος Όρος	88,0000	25,8000	30,5333	52,0000	47,1000	71,5000	38,0583	16,5000	33,0500	50,1250
Αριθμός Δειγμάτων	3	3	3	3	3	12	12	12	12	8
Τυπική Απόκλιση	7,21110	26,18626	14,02331	9,64365	20,99595	9,78403	15,39111	10,29121	16,94276	13,48478
Τυπικό Σφάλμα	4,16333	15,11864	8,09636	5,56776	12,12202	2,82441	4,44303	2,97082	4,89095	4,76759
Asymp. Sig. (2-tailed)	,108	,050	,050	,034	,480	,011	,009	,009	,006	,126

Συγκριτικά η επίδραση του ΕΝΥ από τις διάφορες Ομάδες στην έκφραση των Πρωτεϊνικών Μορίων

Μεταξύ των διαφόρων ομάδων η σχετική μεταβολή των κυτταρικών υποπληθυσμών που ήταν θετικοί στα πρωτεϊνικά μόρια που αναλύθηκαν στη παρούσα μελέτη ως προς την Η0 και περιγράφονται στο Σχήμα 4 .

Στις 24 ώρες ΕΝΥ από την Ομάδα Ελέγχου είχε ως αποτέλεσμα την μικρότερη μείωση του ποσοστού των CD73 θετικών κυττάρων η οποία ήταν στατιστικώς σημαντική συγκριτικά με αυτή που παρατηρήθηκε μετά των καλλιέργεια των κυττάρων με ΕΝΥ από ασθενείς με Χρόνια ΚΕΚ (p=0,05). Αναφορικά με την έκφραση της πρωτεΐνης Νεστίνης αυτή παρουσίασε τη μικρότερη σχετική επαγωγή με την καλλιέργεια των κυττάρων με ΕΝΥ από την ομάδα των ασθενών με Χρόνια ΚΕΚ. Η διαφορά αυτή έφθασε σε στατιστικώς σημαντικό επίπεδο συγκρινόμενη με τα σχετικά επίπεδα επαγωγής της πρωτεΐνης από τις ομάδες με ΚΕΚ Ήπιας Βαρύτητας (p=0,033), Υδροκεφαλίας (p=0,018) και ανοϊκής συνδρομής (p=0,028).

Η επαγωγή της πρωτεΐνης MAP2a&b ήταν πιο χαμηλά όταν τα κύτταρα δέχθηκαν την επίδραση ΕΝΥ από ασθενείς από την Ομάδα Ελέγχου (1,24 φορές) και ήταν στατιστικώς σημαντικότερη συγκριτικά με αυτή από ΕΝΥ ασθενών με Χρόνια ΚΕΚ (p=0,028) και Οξεία ΚΕΚ (Ήπιας Βαρύτητας: p=0,014, Μεσαίας Βαρύτητας: p=0,03 και Μεγάλης Βαρύτητας p=0,016). Επίσης στατιστικώς σημαντική ήταν και η πτώση της επαγωγής της ίδιας πρωτεΐνης μετά από invitro διατήρηση των κυττάρων για 96 ώρες από ΕΝΥ από ασθενείς με οξεία ΚΕΚ Μεγάλης Βαρύτητας και Υδροκεφαλίας (p=0,045)

Στις 96 ώρες, η επίδραση ΕΝΥ από ασθενείς με Οξεία ΚΕΚ Ήπιας Βαρύτητας επέφερε τη μικρότερη ελάττωση του υποπληθυσμού των CD90 θετικών κυττάρων η οποία ήταν στατιστικώς σημαντικά μικρότερη τόσο συγκριτικά με αυτή του ΕΝΥ από την Ομάδα Ελέγχου (p=0,04) όσο και από των

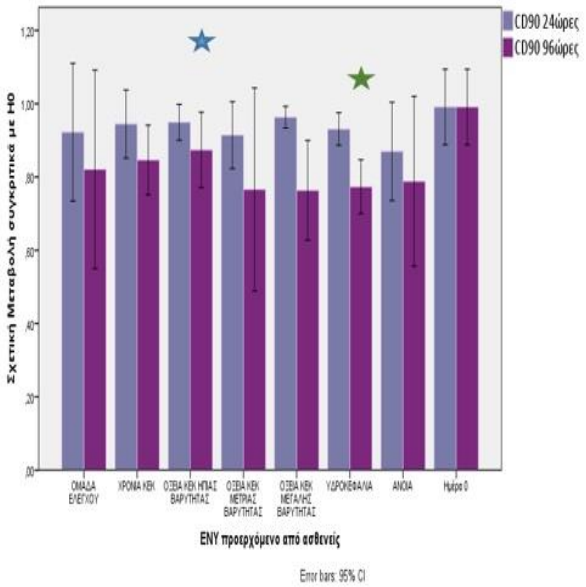
ασθενών με Υδροκεφαλία (p=0,05).

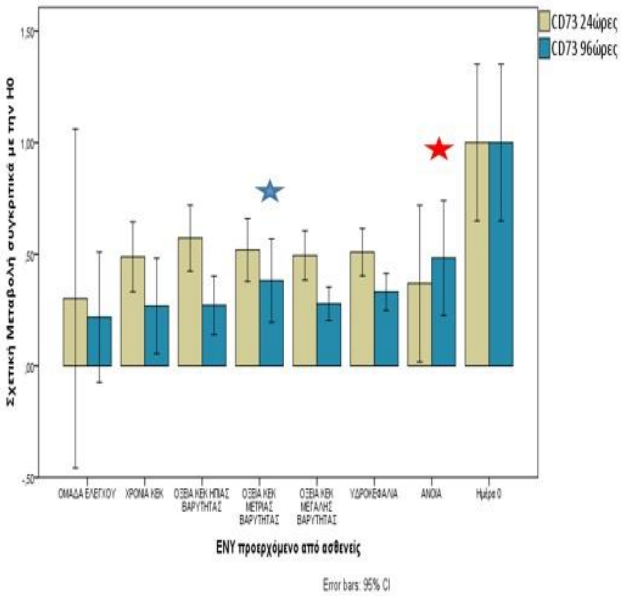
Για τον υποπληθυσμό των CD73 θετικών κυττάρων η μικρότερη πτώση παρατηρήθηκε μετά από επίδραση με ΕΝΥ από ασθενείς με Άνοια και από άτομα της Ομάδας Ελέγχου οι οποίες διέφεραν στατιστικώς σημαντικά συγκρινόμενες με αυτές που καταγράφηκαν μετά από επίδραση με ΕΝΥ από άτομα των Ομάδων με Οξεία ΚΕΚ Μεγάλης και Ήπιας Βαρύτητας αντίστοιχα (p=0,047 και p=0,045).

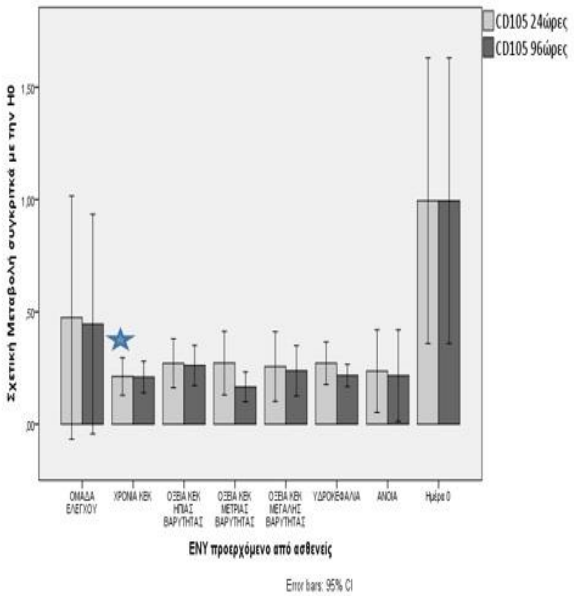
Επίσης στις 96 ώρες η επαγωγή στην έκφραση της πρωτεΐνης Νεστίνης που παρατηρήθηκε στις 24 ώρες μετά από την επίδραση ΕΝΥ από ασθενείς της Ομάδας Ελέγχου, διατηρήθηκε αυξημένη συγκριτικά με την επίδραση που είχε το ΕΝΥ από τις ομάδες ασθενών με Χρόνια ΚΕΚ(p=0,039), Ήπιας Βαρύτητας και Υδροκεφαλία (p=0,044 και p=0,027αντίστοιχα).

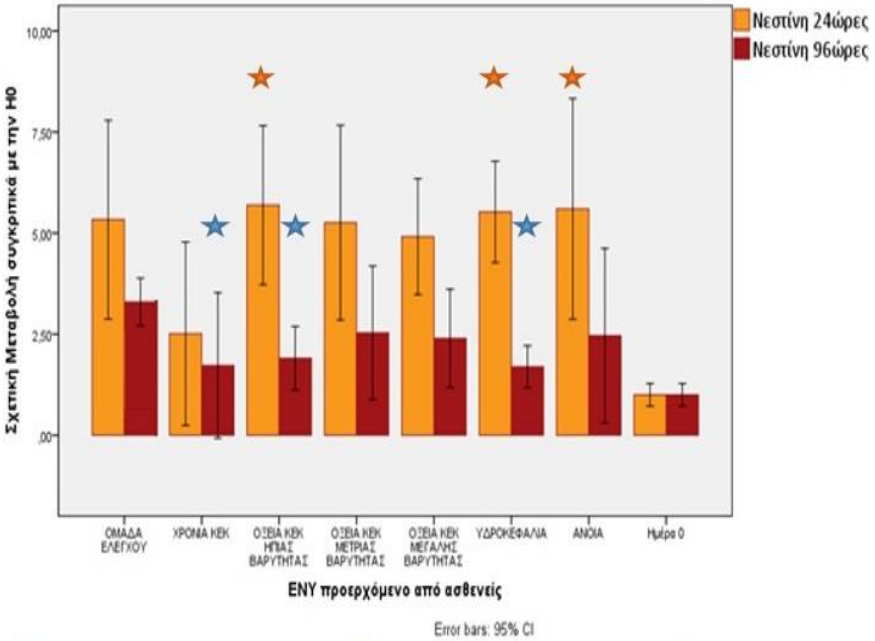
Για την πρωτεΐνη MAP2a&b η επαγωγή διατηρήθηκε περισσότερο μετά την διατήρηση των κυττάρων invitro με ΕΝΥ από ασθενείς με ΚΕΚ Μεγάλης Βαρύτητας. Η σχετική επαγωγή ήταν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερη συγκριτικά με αυτή που προερχόταν από το ΕΝΥ των Ομάδων με Υδροκεφαλία και Άνοια (p=0,042 και p=0,05 αντίστοιχα)

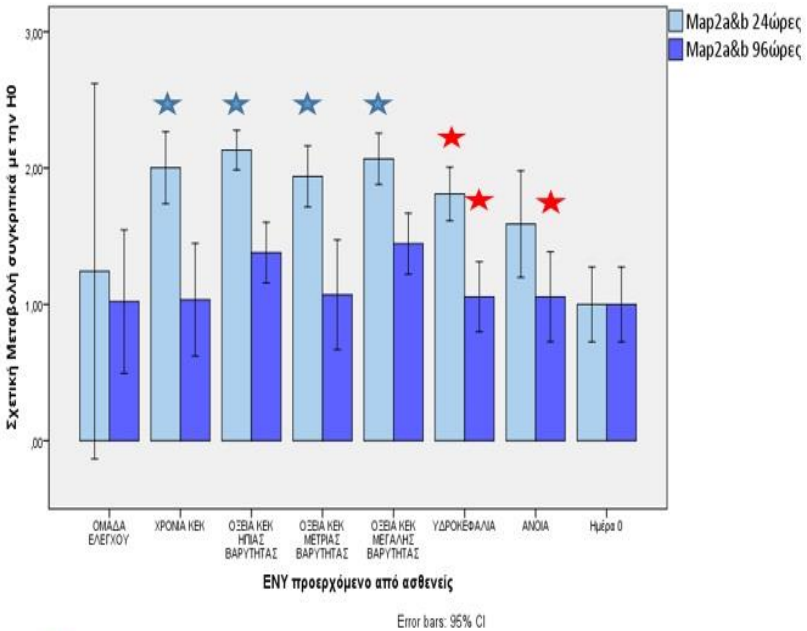
Σχήμα 4 Συγκριτικά η επίδραση του ΕΝΥ από τις διάφορες Ομάδες στην έκφραση των Πρωτεϊνικών Μορίων











★ p≤0,005 Συγκριτικά με Ομάδα Ελέγχου

★ p≤0,005 Συγκριτικά με Χρόνια ΚΕΚ

★ p≤0,005 Συγκριτικά με Οξεία ΚΕΚ Ήπιας Βαρύτητας

★ p≤0,005 Συγκριτικά με Οξεία ΚΕΚ Μεγάλης Βαρύτητας

Σχετική μεταβολή των κυτταρικών υποπληθυσμών κατά τη διάρκεια της invitro διατήρησης των εκ λιπώδους ιστού προερχόμενων κυττάρων.

Η εφαρμογή του ελέγχου Wilcoxon Signed Ranks για τον έλεγχο σημαντικότητας των μεταβολών των διαφορετικών θετικών υποπληθυσμών μεταξύ των 24 και 96 ωρών για κάθε ομάδα έδειξε ότι η παρατεταμένη επίδραση ΕΝΥ που προερχόταν από ασθενείς της Ομάδας Ελέγχου δεν προκάλεσε στατιστικώς σημαντικές μεταβολές στο προφίλ έκφρασης των εξεταζόμενων πρωτεϊνικών μορίων στα πολυδύναμα κύτταρα σε αντίθεση με την παρατεταμένη επίδραση του ΕΝΥ από ασθενείς των άλλων κατηγοριών που επέφερε στατιστικώς σημαντική μείωση της έκφρασης της πρωτεΐνης MAPa&b (Πίνακας 11). Με εξαίρεση την επίδραση ΕΝΥ από ασθενείς με Χρόνια ΚΕΚ, η καλλιέργεια των κυττάρων με ΕΝΥ από ασθενείς με Οξεία ΚΕΚ, Υδροκεφαλία ή Άνοια είχε επιπλέον ως αποτέλεσμα και τη στατιστικώς σημαντική πτώση στην έκφραση της πρωτεΐνης Νεστίνης μεταξύ των δύο χρονικών στιγμών(**Πίνακας 11**). Παράλληλα σημειώθηκαν πτωτικές μεταβολές στην έκφραση των δεικτών CD90 και CD73 όμως που ήταν στατιστικώς σημαντικές μετά την επίδραση ΕΝΥ είτε από ασθενείς με Οξεία ΚΕΚ μεγάλης βαρύτητας είτε με Υδροκεφαλία.

Πίνακας 11. Σχετική μεταβολή των κυτταρικών υποπληθυσμών που ήταν CD 90, CD73, CD105, Νεστίνη, MAPa&b θετικοί ως προς την H0

ΕΝΥ προερχόμενο από ασθενείς		CD90		CD73		CD105		Νεστίνη		Map2a&b	
	ΩΡΕΣ	**24**	**96**	**24**	**96**	**24**	**96**	**24**	**96**	**24**	**96**
ΟΜΑΔΑ ΕΛΕΓΧΟΥ	Μέσος Όρος	0,9222	0,7493	0,3012	0,4443	0,4746	0,2565	5,3333	3,3897	1,2437	1,3236
	Αριθμός Δειγμάτων	3	12	3	12	3	12	3	12	3	8
	Τυπική Απόκλιση	0,07557	0,10254	0,3057	0,17968	0,21799	0,15998	0,98909	1,73772	0,55442	0,35608
	Τυπικό Σφάλμα	0,04363	0,0296	0,1765	0,05187	0,12586	0,04618	0,57105	0,50164	0,3201	0,12589
	Asymp. Sig. (2-tailed) Wilcoxon Signed Ranks Test	*,109*		*1,000*		*1,000*		*,109*		*,593*	
ΧΡΟΝΙΑ ΚΕΚ	Μέσος Όρος	0,9448	0,8464	0,4884	0,2684	0,2124	0,2099	2,5128	1,7265	2,0025	1,0342
	Αριθμός Δειγμάτων	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Τυπική Απόκλιση	0,08869	0,0905	0,14938	0,20345	0,07967	0,06722	2,16189	1,71551	0,2513	0,39394
	Τυπικό Σφάλμα	0,03621	0,03695	0,06098	0,08306	0,03252	0,02744	0,88259	0,70035	0,10259	0,16083
	Asymp. Sig. (2-tailed) Wilcoxon Signed Ranks Test	*,116*		*,116*		*,893*		*,916*		***,028***	
ΟΞΕΙΑ ΚΕΚ ΗΠΙΑΣ ΒΑΡΥΤΗΤΑΣ	Μέσος Όρος	0,9492	0,874	0,5722	0,2712	0,2711	0,2613	5,6923	1,9038	2,1323	1,3797
	Αριθμός Δειγμάτων	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Τυπική Απόκλιση	0,05876	0,12322	0,1772	0,15682	0,13055	0,10721	2,35036	0,94458	0,1733	0,2666
	Τυπικό Σφάλμα	0,02078	0,04357	0,06265	0,05544	0,04616	0,0379	0,83098	0,33396	0,06127	0,09426
	Asymp. Sig. (2-tailed) Wilcoxon Signed Ranks Test	*,069*		***,017***		*1,000*		***,017***		***,012***	
ΟΞΕΙΑ ΚΕΚ ΜΕΤΡΙΑΣ ΒΑΡΥΤΗΤΑΣ	Μέσος Όρος	0,9142	0,766	0,5188	0,3819	0,2398	0,1658	5,2601	2,5348	1,939	1,0713
	Αριθμός Δειγμάτων	7	7	7	7	7	6	7	7	7	7
	Τυπική Απόκλιση	0,0986	0,29954	0,15148	0,20164	0,14987	0,06346	2,60529	1,78504	0,24195	0,4352
	Τυπικό Σφάλμα	0,03727	0,11321	0,05725	0,07621	0,05665	0,02591	0,98471	0,67468	0,09145	0,16449
	Asymp. Sig. (2-tailed) Wilcoxon Signed Ranks Test	*,735*		*,091*		*,173*		***,028***		***,018***	
ΟΞΕΙΑ ΚΕΚ ΜΕΓΑΛΗΣ ΒΑΡΥΤΗΤΑΣ	Μέσος Όρος	0,9633	0,7638	0,4942	0,278	0,2565	0,2378	4,5594	2,3949	2,0681	1,4451
	Αριθμός Δειγμάτων	11	11	11	11	10	10	11	10	11	11
	Τυπική Απόκλιση	0,04416	0,20262	0,16445	0,11123	0,21716	0,1567	2,23362	1,70393	0,27947	0,3332
	Τυπικό Σφάλμα	0,01332	0,06109	0,04958	0,03354	0,06867	0,04955	0,67346	0,53883	0,08426	0,10046
	Asymp. Sig. (2-tailed) Wilcoxon Signed Ranks Test	***,026***		***,010***		*,342*		***,007***		***,003***	
ΥΔΡΟΚΕΦΑΛΙΑ	Μέσος Όρος	0,9309	0,7735	0,5093	0,3312	0,2714	0,217	5,5227	1,6963	1,8098	1,0562
	Αριθμός Δειγμάτων	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
	Τυπική Απόκλιση	0,0734	0,12166	0,17517	0,13743	0,15656	0,08167	2,0767	0,8618	0,32549	0,42497
	Τυπικό Σφάλμα	0,02036	0,03374	0,04858	0,03812	0,04342	0,02265	0,57597	0,23902	0,09027	0,11786
	Asymp. Sig. (2-tailed) Wilcoxon Signed Ranks Test	***,006***		***,028***		*,350*		***,001***		***,004***	
ΑΝΟΙΑ	Μέσος Όρος	0,8698	0,7881	0,3689	0,4833	0,2363	0,2161	5,6	2,4615	1,5896	1,0562
	Αριθμός Δειγμάτων	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Τυπική Απόκλιση	0,1079	0,18665	0,28255	0,20746	0,14804	0,16418	2,19688	1,73906	0,31489	0,26538
	Τυπικό Σφάλμα	0,04825	0,08347	0,12636	0,09278	0,06621	0,07342	0,98248	0,77773	0,14082	0,11868
	Asymp. Sig. (2-tailed) Wilcoxon Signed Ranks Test	*,138*		*,343*		*,686*		***,042***		***,043***	
Ημέρα 0	Μέσος Όρος	1,0001	0,9911	1,0001	1,0001	0,9949	0,9949	1	1	1,0001	1,0001
	Αριθμός Δειγμάτων	4	3	3	3	3	3	4	4	4	4
	Τυπική Απόκλιση	0,03835	0,04148	0,14122	0,14122	0,2559	0,2559	0,17516	0,17516	0,17261	0,17261
	Τυπικό Σφάλμα	0,01917	0,02395	0,08153	0,08153	0,14774	0,14774	0,08758	0,08758	0,08631	0,08631

Επίδραση της παρουσίας αίματος στο ΕΝΥ των ασθενών στο πρωτεϊνικό φαινότυπο των εκ του λιπώδους ιστού προερχόμενων πολυδύναμων κυττάρων από την καλλιέργεια τους σε ΕΝΥ

Η παρουσία αίματος στο ΕΝΥ που χρησιμοποιήθηκε για την διατήρηση των πολυδύναμων κυττάρων invitro επηρέασε στατιστικώς σημαντικά μόνο την έκφραση του δείκτη CD105 (13,7614 ±1,09517 χωρίς την παρουσία αίματος συγκριτικά με 19,2500±2,57472 παρουσία αίματος ;p=0,022)

Επίδραση της ηλικίας των ασθενών στις μεταβολές του πρωτεϊνικού φαινοτύπου των εκ του λιπώδους ιστού προερχόμενων πολυδύναμων κυττάρων από την καλλιέργεια τους σε ΕΝΥ

Σε όλες της ομάδες που αναλύθηκαν στη παρούσα μελέτη η ηλικία του ασθενούς από τον οποίο προήλθε το ΕΝΥ που χρησιμοποιήθηκε στην invitro διατήρηση των πολυδύναμων κυττάρων δεν επηρέασε στατιστικώς σημαντικά τις μεταβολές των πρωτεινικών μορίων που εξετάσθηκαν.

Επίδραση της συγκέντρωσης της Οστεοποντίνης και EMMPRIN στην μεταβολή της έκφρασης των πρωτεϊνικών μορίων CD90, CD73, CD105, Νεστίνη και MAP2a&b .

Η διερεύνηση πιθανής συσχέτισης της συγκέντρωσης των εξεταζόμενων στη παρούσα μελέτη πρωτεϊνικών μορίων με τις συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών Οστεοποντίνης και EMMPRIN στο ΕΝΥ έδειξε ότι ανεξαρτήτως της ομάδας ασθενών από το οποίο προερχόταν το ΕΝΥ, η συγκέντρωση της Οστεοποντίνης στο ΕΝΥ επηρέαζε με τρόπο ανάλογο τη θετικότητα των κυττάρων στο δείκτη CD105 στις 24 ώρες (R=0,322; p=0,008) και με τρόπο αντιστρόφως ανάλογο τη θετικότητα των κυττάρων στο δείκτη CD90 στις 96 ώρες (R=-0,314; p=0,006).

Ειδικότερα στη χρήση ΕΝΥ από τους ασθενείς με Οξεία ΚΕΚ Μεγάλης Βαρύτητας, η συγκέντρωση της Οστεοποντίνης στο ΕΝΥ συσχετίστηκε με τρόπο ανάλογο με τη μείωση της θετικότητας των κυττάρων στο δείκτη CD105 (R=0,697; p=0,025) και αντιστρόφως ανάλογο με την επαγωγή της πρωτεΐνης MAP2a&b στις 24 ώρες (R=-0,772; p=0,005). Αντίστοιχα την ίδια χρονική στιγμή, η συγκέντρωση της πρωτεΐνης EMMPRIN επηρέαζε με τρόπο αντιστρόφως ανάλογο την θετικότητα των κυττάρων ως προς το δείκτη CD105 (R=-0,684 p=0.029). Στις 96 ώρες στους ίδια ομάδα ΕΝΥ, η συγκέντρωση της Οστεοποντίνης σε αυτό βρέθηκε ότι συσχετίζεται με τρόπο αντιστρόφως ανάλογο με την έκφραση του δείκτη CD90 στα κύτταρα (R=-0,714 p=0,014).

Στη καλλιέργεια των κυττάρων με ΕΝΥ από ασθενείς με Οξεία ΚΕΚ Ήπιας Βαρύτητας βρέθηκε στατιστικά σημαντική η συσχέτιση της έκφρασης του δείκτη CD73 στα κύτταρα στις 96 ώρες και της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης EMMPRIN στο ΕΝΥ που χρησιμοποιήθηκε για την invitro διατήρηση των κυττάρων αυτό το χρονικό διάστημα(r=0,744 p=0,034).

Επίδραση της συγκέντρωσης της κυταροκινών στην μεταβολή της έκφρασης

των πρωτεϊνικών μορίων CD90, CD73, CD105, Νεστίνη και MAP2a&b.

Η διερεύνηση πιθανής συσχέτισης της συγκέντρωσης των εξεταζόμενων στη παρούσα μελέτη πρωτεϊνικών μορίων με τις συγκεντρώσεις των κυταροκινών IL1b, IL2, IL6, IL8 και IL10 στο ΕΝΥ έδειξε ότι ανεξαρτήτως της ομάδας ασθενών από το οποίο προερχόταν το ΕΝΥ, η συγκέντρωση της IL1b στο ΕΝΥ επηρέαζε με τρόπο αντιστρόφως ανάλογο την επαγωγή της πρωτεΐνης MAP2a&b στις 24 ώρες (R=-0,301; p=0,037) ενώ στις 96 ώρες στατιστικά σημαντική ήταν η συσχέτιση της υπάρχουσας στο ΕΝΥ συγκέντρωσης της IL6 με τη μείωση της έκφρασης του δείκτη CD90 στα κύτταρα (R=-0,405; p=0,002).

Η συγκέντρωση της IL6 στο ΕΝΥ από ασθενείς με Οξεία ΚΕΚ Μεγάλης Βαρύτητας που χρησιμοποιήθηκε στη διατήρηση των κυττάρων invitro βρέθηκε να επηρεάζει με τρόπο αντιστρόφως ανάλογο την επαγωγή της έκφρασης της πρωτεΐνης Νεστίνης στα κύτταρα αυτά στις 24 ώρες (R=-0,757; p=0,007).

Αντιστοίχως η συγκέντρωση της IL8 στο ΕΝΥ από ασθενείς με Υδροκεφαλία που χρησιμοποιήθηκε για την κυτταροκαλλιέργεια βρέθηκε να επηρεάζει με τρόπο αντιστρόφως ανάλογο την επαγωγή της έκφρασης της πρωτεΐνης Νεστίνης στα κύτταρα αυτά στις 24 ώρες (R=-0,687; p=0,009).

Στις 96 ώρες η συγκέντρωση της IL6 στο ΕΝΥ από την ομάδα των ασθενών με Χρόνια ΚΕΚ βρέθηκε ότι επηρέαζε θετικά την επαγωγή της έκφρασης της πρωτεΐνης Νεστίνης στα κύτταρα στα οποία το ΕΝΥ αυτό χρησιμοποιήθηκε ως καλλιεργητικό μέσο (R=-0,981; p=0,001), ενώ στο ΕΝΥ από τους ασθενείς με Οξεία ΚΕΚ Μικρής Βαρύτητας η συγκέντρωση της IL2 βρέθηκε να συσχετίζεται με τρόπο ανάλογο με την έκφραση του δείκτη CD73 στα κύτταρα (R=0,764; p=0,027).

Επίσης η συγκέντρωση της IL2 βρέθηκε να συσχετίζεται με τρόπο αντιστρόφως ανάλογο με την έκφραση του δείκτη CD90 στα κύτταρα (R=-0,814; p=0,002) στην ομάδα των ΕΝΥ από ασθενείς με Οξεία ΚΕΚ Μεγάλης Βαρύτητας ενώ η συγκέντρωση της IL2 αντίστοιχα επηρέασε την επαγωγή της πρωτεΐνης Νεστίνης στα κύτταρα κατά την διάρκεια της invitro διατήρησης τους με ΕΝΥ που προερχόταν από ασθενείς με υδροκεφαλία (R=0,697; p=0,008).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι κακώσεις του εγκεφάλου και του νωτιαίου μυελού μπορεί να έχουν καταστρεπτικά αποτελέσματα τόσο σε αισθητικοκινητικές όσο και σε γνωσιακές λειτουργίες.Η θεραπεία με βλαστοκύτταρα αποτελεί ελπίδα για τη θεραπεία των νευροεκφυλιστικών νόσων αφού τα βλαστικά κύτταρα in vitro εμφανίζουν ιδιότητες που ενδέχεται να είναι χρήσιμες στην μείωση και έλεγχο των επιπτώσεων της νευροαξονικής εκφύλισης. Οι πολλαπλοί αυτοί μηχανισμοί περιλαμβάνουν την την προώθηση της νευρογένεσης, επαγωγή της αγγειογένεσης, την πρόληψη της απόπτωσης και την ανοσορύθμιση.

Πολλέα από τις πειραματικές μελέτες για νευρωνικές κυτταρικές θεραπείες οι οποίες εφαρμόζονται κυρίως σε ινδικά χοιρίδια, έχουν χρησιμοποιηθεί τόσο εμβρυϊκά (ESCs) όσο και νευρικά βλαστοκύτταρα (NSCs). Οι κανόνες της βιοηθικής δεν επιτρέπουν τη κλινική εφαρμογή των ESCs και των NSC.Για το λόγο αυτό τα προερχόμενα από τον λιπώδη ιστό βλαστικά κύτταρα (adiposederivedstemcells-ADSCs), είναι μια πηγή μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων πολλά υποσχόμενη αφού έχουν τόσο ιδιότητες αυτοανανέωσης αλλά είναι και δυνητικά πολυδύναμα για διαφοροποίηση αφού μπορούν να στραφούν προς διάφορους τύπους κυττάρων όπως λιποκύτταρα, οστεοβλάστες , χονδροκύτταρα , μυοκύτταρα ,νευροκύτταρα .Σε σύγκριση με άλλα είδη βλαστοκυττάρων, τα ADSCs έχουν δύο κύρια πλεονεκτήματα. Αφενός, η ευκολία συλλογής τους με υποδόρια λιποαναρρόφηση σε μεγάλους αριθμούς και αφετέρου η προέλευσή τους από αυτόλογο λίπος, δεν θέτει ζητήματα βιοηθικής και δεοντολογίας, όπως συμβαίνει με τα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα . Αυτά τα δύο χαρακτηριστικά καθιστούν τα ADSCs μια πιο αποδεκτή λύση τόσο για τη μεταμόσχευση ιστών και οργάνων στην αναγεννητική ιατρική όσο και για τις κλινικές μελέτες [1].

Ο λιπώδης ιστός ανήκει στο μεσοδερμικό στρώμα στην εμβρυϊκή περίοδο και αποτελείται από λιποκύτταρα και *στρωματικό αγγειακό κλάσμα* (stromal vascular fraction-SVF),το οποίο είναι ένα σύνολο ετερογενών κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων προλιποκυττάρων, ινοβλαστών, κυττάρων λείων μυϊκών μυών, ενδοθηλιακών κυττάρων, μακροφάγων, λεμφοκυττάρων και βλαστικών κυττάρων ADSCs [2, 3] . Στα θηλαστικά, ο λιπώδης ιστός υπάρχει σε δύο κύριους τύπους: Λευκός λιπώδης ιστός (white adipose tissue-WAT) και φαιός λιπώδης ιστός (brown adipose tissue -BAT), η ονομασία του οποίου προκύπτει από το καφέ χρώμα λόγω του αυξημένου αριθμού μιτοχονδρίων και την αυξημένη αιμάτωση της περιοχής. Ο λευκός λιπώδης ιστός αποθηκεύει ενέργεια κυρίως με τη μορφή τριακυλγλυκερινών ενώ ο φαιός που εντοπίζεται κυρίως στο λαιμό και στην άνω θωρακική περιοχή έχει ως κύριο ρόλο του την θερμορύθμιση, μέσω της παραγωγής θερμότητας του σώματος. Εντοπίζεται στους ανθρώπους στις περιοχές του αυχένα, του μέσου του μεσοθωράκιου, στην υπερκλείδιο και μεσοπλάτια χώρα. Το λευκό λίπος βρίσκεται σε όλους τους υποδόριους και σπλαχνικούς λιπώδεις ιστούς, με σημαντικά αυξημένο ρυθμό ανάπτυξης στους πρώτους σε σχέση με τους δεύτερους. Πρόσφατα,παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στον πολλαπλασιασμό και το δυναμικό λιπογένεσης μεταξύ των δύο πληθυσμών των βλαστοκυττάρων που απομονώθηκαν από κοιλιακό υποδόριο και από σπλαχνικό έσω λιπώδη ιστό, αφού ο πρώτος είχε σημαντικά υψηλότερο ρυθμό ανάπτυξης και λιπογόνο δυναμικό σε σχέση με τον δεύτερο [4]. Η θέση συγκομιδής του λίπους επηρεάζει την απόδοση των βλαστοκυττάρων [5, 6]. Με βάση τα δεδομένα αυτά επιλέξαμε για την διενέργεια της πειραματικής μας μελέτης την απομόνωση λιπώδους ιστού από το υποδόριο στρώμα της πρόσθιας κοιλιακής χώρας, από ασθενείς που υποβλήθηκαν σε θεραπευτική τοποθέτηση κοιλιοπεριτοναϊκής παροχέτευσης εγκεφαλονωτιαίου υγρού για την θεραπεία υδροκεφαλίας.

Διάφορα πειραματικά πρωτόκολλα έχουν περιγραφεί σχετικά με τον τρόπο απομόνωσης, τη συγκομιδή, αλλά και τη καλλιέργεια των βλαστικών όπως ποικίλλουν σημαντικά και οι τρόποι χαρακτηρισμού αυτών ως αρχέγονων νευροτροφοβλαστικών κυττάρων.

Τα λαμβανόμενα ADSCs μπορούν να διαχωριστούν από το στρωματικό αγγειακό κλάσμα (SVF) και ο συνδυασμός των σταδίων έκπλυσης, in vitro επέκτασης και της σειριακής διέλευσης επιτρέπει τον καθαρισμό αυτού του υποσυνόλου με την απομάκρυνση μη προσκολλημένων ερυθροκυττάρων και αιματοποιητικών κυττάρων. Το λαμβανόμενο υποσύνολο προσκολλημένων ατρακτοειδούς σχήματος κυττάρων ονομάζεται βάσει των οδηγιών της International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS)), ως «προερχόμενα από λιπώδη ιστό βλαστικά κύτταρα» (adipose-derivedstemcells- ADSCs) [6].

Πειραματικές μελέτες δηλώνουν ότι ο τρόπος απομόνωσης και καλλιέργειας των πολυδύναμων κυττάρων που προέρχεται από λιπώδη ιστό μπορεί να μεταβάλλει σημαντικά το φαινότυπο τους και την έκφραση των αντιγόνων τους [7]. Ο χαρακτηρισμός τους ως πολυδύναμα συνεπάγεται να παραμένει ομοιογενές το κυτταρικό προφίλ μετά από τέσσερεις φάσεις invitro αναδιπλασιασμού και να διατηρούνται σταθερά σε υψηλά επίπεδα οι στρωματικοί δείκτες. Οι δείκτες CD13, CD29, CD44, CD73, CD90 να είναι σταθερά παρόντες σε > 90% και ο CD105 να εκφράζεται από το 68-70% του πληθυσμού ADSCs. Για το λόγο αυτό καθόλη τη διάρκεια της παρούσης πειραματικής διαδικασίας τα κύτταρα που απομονώθηκαν επιλέχθηκαν να χαρακτηρισθούν με τρεις δείκτες ταυτόχρονα (CD90, CD105, CD73) που αποτελούν το ελάχιστο κριτήριο που ορίζεται από τη Διεθνή Εταιρεία Κυτταρικής Θεραπείας (The International Society for Cellular Therapy) για την εξασφάλιση της ταυτότητας τους, ενώ στη συνέχεια η έκφραση των ίδιων αυτών δεικτών καταγράφηκε κατά τη invitro καλλιεργειας τους με ΕΝΥ από διαφορετικές ομάδες ασθενών. Τα κύτταρα που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη διατήρησαν τα επίπεδα έκφρασης των δεικτών CD90, CD105 και CD73 σε υψηλά επίπεδα με μικρές διακυμάνσεις στατιστικώς μη σημαντικές κατά τη διατήρηση τους σε in vitro συνθήκες υποδηλώνοντας την ύπαρξη ενός ομοιογενή πληθυσμού που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διερεύνηση της επίδρασης του ΕΝΥ.

Το πρωτόκολλο απομόνωσης και κρυοσύντηρησης που χρησιμοποιήθηκε στη παρούσα πειραματική διαδικασία επέτρεψε στα ADSCs που απομονώθηκαν να διατηρήσουν την ικανότητα πολλαπλασιασμού τους αλλά και διαφοροποίησης τους μετά από κρυοσυντήρηση σε υγρό άζωτο για αρκετούς μήνες. Ενώ μετά την αρχική επίστρωση των ανθρώπινων ADSCs, η πρωτογενής καλλιέργεια φαινόταν να είναι μονοστρωματική με επίπεδα κύτταρα, καθώς τα κύτταρα πολλαπλασιάζονταν, προσέγγιζαν και συνέρρεαν τροποποίησαν τη μορφολογία τους λαμβάνοντας την αναμενόμενη ατρακτοειδή μορφολογία ινοβλαστικού τύπου.Τα απομονωμένα ADSCs συνήθως πολλαπλασιάζονται σε συμβατικές συνθήκες καλλιέργειας. Μια τυπική κατάσταση καλλιέργειας είναι το τροποποιημένο μέσο DMEM (Dulbecco's modified Eagle medium) με 10% βόειο εμβρυικό ορό (FBS) και 1% αντιβιοτικά στους 37 °C και 5% CO2 σε καλλιεργητικά τριβλία μονοστοιβάδας [8]. Ανάλογες συνθήκες καλλιέργειας χρησιμοποιήθηκαν και στην δική μας πειραματική μελέτη. Ωστόσο, έχει δειχθεί, το FBS που προέρχεται από ζώα μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο απόρριψης μοσχεύματος ή τη πιθανότητα μόλυνσης ότι τα κύτταρα που έχουν καλλιεργηθεί σε αυτό μεταφερθούν στο ανθρώπινο σώμα [8]. Συνεπώς, για μια πιθανή κλινική εφαρμογή, η χρήση καλλιεργητικών μέσων χωρίς ζωικά αντιδραστήρια είναι αναγκαία. Για το λόγο αυτό θεωρούμε ότι η χρήση αυτόλογου ΕΝΥ θα μπορούσε να αποτελέσει μια αποτελεσματική εναλλακτική λύση. Ως εκ τούτου η παρούσα πειραμτική μελέτη επικεντρώθηκε στην καταγραφή των επιδράσεων του ΕΝΥ στον πολλαπλασιασμό και τη νευρική διαφοροποίηση των ανθρώπινων ADSCs in vitro. Ένας άλλος λόγος για τον οποίο θεωρήθηκε ότι το ΕΝΥ μπορεί να αποτελέσει άριστο καλλιεργητικό μέσο, είναι επειδή αποτελεί βασικό συστατικό του ΚΝΣ και έχει πολλές λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένης της προστασίας του εγκεφάλου και του νωτιαίου μυελού από το τραύμα. Επίσης, ευοδώνει τη χημική σταθερότητα με την αφαίρεση των μεταβολικών παραπροϊόντων, συμβάλλει στη διανομή των πρωτεϊνών και των αυξητικών παραγόντων και επιδρά στην καθοδήγηση της μετανάστευσης και της ανάπτυξης των νευρώνων [9, 10].

Η επίδραση του ΕΝΥ στο κλινικό θεραπευτικό δυναμικό των ανθρώπινων εξωγενών MSCs και NSPCs δεν είναι πολύ γνωστή.Στη μελέτη των Mingxin Zhu, Yun Fengetal [11] διαπιστώθηκε ότι το ανθρώπινο μη καρκινικό ΕΝΥ αύξησε τον πολλαπλασιασμό, μείωσε την απόπτωση και διέγειρε την ταχύτητα μετανάστευσης. Στη παρούσα μελέτη τα ποσοστά απόπτωσης και νέκρωσης των πολυδύναμων κυττάρων καθόλη τη διάρκεια της invitro καλλιέργειας μετά την αντικατάσταση του θρεπτικού υλικού από ΕΝΥ ασθενών από τις διαφορετικές κατηγορίες που συμπεριελήφθησαν στη παρούσα μελέτη παρέμειναν σε ποσοστά μικρότερα του 1% .

Περαιτέρω, στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε επίσης η συμπεριφορά των βλαστικών κυττάρων παρουσία ΕΝΥ τόσο από ασθενείς με σοβαρή τραυματική εγκεφαλική βλάβη όσο και από νευροεκφυλιστικές νόσους. Για τον σκοπό αυτό, καταγράφηκαν οι μορφολογικές αλλαγές των κυττάρων και προσδιορίστηκαν οι ειδικοί κυτταρικοί δείκτες που σχετίζονται με την νευρογένεση με την μέθοδο της Κυτταρομετρίας Ροής και την χρήση κατάλληλα σημασμένων αντισωμάτων στους κυτταρικούς πληθυσμούς των ADSC βλαστοκυττάρων και των εν δυνάμει νευροτροφοβλαστών (που συλλέχθησαν κατά την συγκαλλιέργεια τους με τα ΕΝΥ των ασθενών και των δειγμάτων «μαρτύρων»). Ειδικότερα μελετήθηκε η έκφραση της πρωτείνης νεστίνης και του MAP-2 (a+b). Η πρωτείνη νεστίνη (nestin–ακρωνύμιο του neuroectodermal stem cell marker) εμφανίζεται στα διάμεσα ινίδια κατά την ανάπτυξη του κεντρικού νευρικού συστήματος και θεωρείται δείκτης βλαστικών προγονικών νευρικών κυττάρων. Η έκφραση της μειώνεται όταν τα αρχέγονα κύτταρα του ΚΝΣ διαφοροποιούνται σε νευρώνες ή σε γλοιακά κύτταρα ενώ διατηρείται αυξημένη σε βλαστοκύτταρα / προγονικά νευρικά κύτταρα τόσο in vitro όσο και in vivo όπως και στα κύτταρα όγκων του ΚΝΣ όπου ο βαθμός έκφρασης της σχετίζεται με την κακοήθεια του όγκου του ΚΝΣ . Η νεστίνη γενικά αναγνωρίζεται ως πρωτεΐνη δείκτης μη διαφοροποιημένων κυττάρων του ΚΝΣ στο στάδιο [12].

Η πρωτεΐνη MAP-2 (2a+2b)(Microtubule-associatedProtein-2) ανήκει στην οικογένεια πρωτεΐνών που συσχετίζονται με τους μικροσωληνίσκους. Εμπλέκεται στη συναρμολόγηση τους, ευοδώνοντας την σταθεροποίηση της ανάπτυξής τους και την σύνδεση τους με τα ενδιάμεσα ινίδια. Ως ειδικά νευρωνικά πρωτεΐνικά μόρια του κυτταρικού σκελετού, παίζουν κομβικό ρόλο στην διαδικασία της νευρογένεσης. Η δράση τους αυτή συντελεί στον καθορισμό και τη σταθεροποίηση του σχήματος των δενδριτών κατά την νευρωνική ανάπτυξη [13].

Μορφολογικά στο μοντέλο που αναπτύχθηκε κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης ήδη μετά από μια περίοδο επώασης 24 ωρών με εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ΕΝΥ), τα ανθρώπινα ADSCs σχημάτιζαν σφαίρες με επιπλέοντα κύταρρα, ενώ στη συνέχεια η εμφάνιση κυτταροπλασματικής συστολής και η παρουσία διακλαδισμένων μορφών κυττάρων αποτέλεσαν εμφανή στοιχεία διαφοροποίησης σε φαινότυπο κυττάρων νευρικού τύπου. Το φαινόμενο αυτό ήταν περισσότερο εμφανές στις 24 ώρες μετά την invitro καλλιέργεια ADSC με τη χρήση ΕΝΥ από την ομάδα ελέγχου ενώ η πυκνότητα τους στο χρόνο μεταβάλλονταν ανάλογα με τη προέλευση του ΕΝΥ Παρόμοιες μεταβολές στην κυτταρική μορφολογία έχουν περιγραφεί μετά την in vitro καλλιέργεια ανθρώπινων βλαστοκυττάρων που προέρχονταν από λιπώδη κύτταρα μετά από χορήγηση οιστρογόνων για την ενίσχυση της νευρογενής τους διαφοροποίησης39 Ανάλογες μορφολογικές αλλαγές παρατηρήθηκαν επίσης μετά την επαγωγή των ADSCs με Radix Angelicae Sinensis, ένα βότανο από χρησιμοποιείται από την εναλλακτική ιατρική στη Κινα ως νευροπροστατευτικό. Μετά 24 ώρες καλλιέργειας ορισμένα κύτταρα εμφάνισαν νευρωνικές μορφολογίες και σχημάτισαν διαφόρων ειδών κυτταροπλασματικές απολήξεις, ενώ μετά από επαγωγή 48 ωρών, ένας μικρός αριθμός από τα κύτταρα που παρουσίασαν χαρακτηριστικά «νευρικών» κυττάρων άρχισαν να τέμνονται μεταξύ τους σχηματίζοντας δίκτυα [14].

Σχηματισμός «νευροσφαιρών» όπως αναμενόταν σύμφωνα με δημοσιευμένα αποτελέσματα, παρατηρήθηκε επίσης κατά τη διάρκεια της παρούσης μελέτης με τη χρήση Neurobasal / B27.

Το B27αντιπροσωπεύει ένα από τα πρώτα εμπορικά διαθέσιμα συμπλήρωματα ελεύθερο ορού για καλλιέργεια νευρικών κυττάρων,που αρχικά χρησιμοποιήθηκε για τη μακροπρόθεσμη καλλιέργεια ιπποκαμπικών και φλοιικών νευρώνων αρουραίων προσφέροντας την δυνατότητα διατήρησης των πληθυσμών νευρώνων για μεγαλύτερες χρονικές περιόδους in vitro. Επιπλέον, το μέσο Neurobasal θεωρείται σε πολλές μελέτες βασικό μέσο για τη μακροχρόνια συντήρηση και ωρίμανση καθαρού πληθυσμού προγεννητικών και εμβρυονικών νευρωνικών κυττάρων χωρίς την ανάγκη ύπαρξης υποστηρικτικού στρώματος αστροκυττάρων.
Διάφοροι αυξητικοί παράγοντες και παράγοντες ανάπτυξης έχουν αναγνωριστεί ότι επηρεάζουν την κυτταρική μετάπτωση [15] και την διαφοροποίηση των βλαστοκυττάρων [16]. Έχει αναφερθεί ότι τα ADSCs μπορούν να διαφοροποιηθούν σε κύτταρα που μοιάζουν με νευρώνα με τη χρήση καλλιεργητικού μέσου όπου η συγκέντωση εμβρυϊκού βόειου ορού είναι χαμηλή και ότι τα διαφοροποιημένα κύτταρα εμφανίζουν περίπλοκες μορφολογίες τύπου νευρώνων συμπεριλαμβανομένων κυττάρων θετικών σε νεστίνη [17]. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν κατά τη διάρκεια της παρούσης μελέτης όταν τα κύτταρα καλλιεργήθηκαν με εναλλακτικά μέσα, καθώς η απουσία εμβρυικού βόειου ορού και FGF αύξησε τα ποσοστά θετικότητας των δεικτών νεστίνης και MAPa&b. Επίσης έχει αναφερθεί ότι σε ανθρώπινα ADSCs, που αναπτύχθηκαν παρουσία συμπληρωμάτων bFGF και φοσκολίνης οι τιμές διαφόρων δεικτών συμπεριλαμβανομένων των νευρωνικών δεικτών MAP2 και NeuN, ήταν πολύ υψηλές [18]. Το εύρημα αυτό μπορεί να αποτελεί πιθανή αιτία για το αυξημένο ποσοστό θετικότητας των βλαστοκυττάρων στη πρωτεινή MAP2 a&b, όπως αυτό διαπιστώθηκε με την κυτταρομετρία ροής πριν από την έναρξη της συγκαλλιέργειας των απομονωμένων βλαστοκυττάρων με ΕΝΥ από τις διάφορες ομάδες ασθενών,εφόσον στα αρχικά στάδια της κυτταροκαλλιέργειας χρησιμοποιήθηκε ο παράγοντας bFGF στο καλλιεργητικό μέσο.
Στη συνέχειατης μελέτης, τα αποτελέσματα έδειξαν τροποποίηση των μελετούμενων πρωτεινικών δεικτών ανάλογα με τη προέλευση του ΕΝΥ που χρησιμοποιήθηκε κατά τη συγκαλλιέργεια. Η επαγωγή της πρωτείνης MAP2 a&b στα βλαστοκύτταρα ήταν ιδιαίτερα σημαντική κατά την συγκαλλιέργεια τους με ΕΝΥ από όλες τις μελετώμενες ομάδες ασθενών ενώ, αντίθετα, αυτή η μεταβολή ήταν περιορισμένη μετά τη συγκαλλιέργεια τους με ΕΝΥ από την ομάδα ελέγχου. Παρόλα αυτά όμως, ο έλεγχος σημαντικότητας των μεταβολών των διαφορετικών θετικών υποπληθυσμών μεταξύ των 24 και 96 ωρών για κάθε ομάδα έδειξε ότι ενώ η παρατεταμένη επίδραση ΕΝΥ που προερχόταν από ασθενείς της Ομάδας Ελέγχου δεν προκάλεσε στατιστικώς σημαντικές μεταβολές στο προφίλ έκφρασης των εξεταζόμενων πρωτεϊνικών μορίων στα πολυδύναμα κύτταρα, η επίδραση του ΕΝΥ από ασθενείς των άλλων κατηγοριών επέφερε σημαντική μείωση της έκφρασης της πρωτεΐνης MAP2a&b μετά από 96 ώρες συγκαλλιέργειας. Είναι γνωστό ότι η εξέλιξη της αντίδρασης στη νευρική βλάβη περιλαμβάνει δυναμική αλληλεπίδραση μεταξύ συμβάντων που προάγουν την αναγέννηση και εούλωση της ιστικής βλάβης και εκείνων που αναστέλλουν τις διαδικασίες αυτές και επιτείνουν την βλάβη. Στον εγκέφαλο η βλάβη προκαλεί αρχικά κυτταρική νέκρωση και αλλοιώσεις στον υποκείμενο ιστό, και ακολουθουν γεγονότα όπως η ρήξη του αιματο-εγκεφαλικού φραγμού, φλεγμονή, οίδημα, ισχαιμία, αύξηση των ελεύθερων ριζών και αλλοίωση της κυτταρική επικοινωνίας και της γονιδιακής έκφρασης [19] Ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός δημιουργείται από ενδοθηλιακά κύτταρα που περιβάλλονται απο αστροκυτταρικές διεργασίες με σκοπό τη προστασία του από βιοχημικές διακυμάνσεις στην περιφέρεια. Η παραβίαση του ΑΕΦ επιτρέπει τη διείσδυση μακροφάγων, ινοβλαστών και άλλων κυτταρικών τύπων και φλεγμονωδών μορίων στο σημείο της βλάβης. Αυτό ενεργοποιεί τα αστροκύτταρα, συμβάλλοντας στο ανασταλτικό περιβάλλον της αντιδραστικής ουλής, που φυσικά και χημικά εμποδίζει την αναγέννηση του νευρικού συστήματος.

Η ρήξη του αιματοεγκεφαλικού φραγμού είναι ένα χαρακτηριστικό γνώρισμα του τραυματισμού και παθογένειας του ΚΝΣ και εκθέτει τον παρακείμενο νευρικό ιστό σε επιβλαβή συστατικά για

μεταφέρονται με το αίμα ενώ μπορεί επίσης να διευκολύνει και τηνπροσέγγιση των κατάλληλων νευροπροστατευτικών και επανορθωτικών μορίων στη περιοχή.
Ως εκ τούτου, προκειμένου να εκτιμηθούν οι επιδράσεις του ΕΝΥ των ασθενών στα ADSCs στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε το πρωτεινικό προφίλ των υπό μελέτη δειγμάτων ΕΝΥ.
Εξετάστηκε το προφίλ των νέων δεικτών νευροφλεγμονής OPN, EMMPRIN καθώς και ένα πάνελ εφαρμοσμένων προ- και αντι-φλεγμονωδών δεικτών (IL1B, IL2, IL6, IL8 και IL10). Η παρουσία των δεικτών φλεγμονής μελετήθηκε τόσο στο ΕΝΥ όσο και στο αίμα, έτσι ώστε να απεικονισθεί τόσο η πρώιμη απελευθέρωση των προκαλούμενων από τραυματισμό εκκινητών φλεγμονής στην ενδοκράνια και εξωκράνια ροή του ΕΝΥ, όσο και η επακόλουθη διάχυση τους στην κυκλοφορία του περιφερικού αίματος. Η μελέτητων ομάδων ασθενών με ΚΕΚ με διαφορετική κλινική βαρύτητα επέτρεψε τη διερεύνηση των συσχετισμών των μεσολαβητών φλεγμονής με την κλινική βαρύτητα και έκβαση της οξείας και χρόνιας τραυματικής εγκεφαλικής βλάβης. Ο ρόλος των δεικτών νευροφλεγμονής OPN και EMMPRIN στην χρόνια και αυτοάνοση νευροεκφύλιση αξιολογήθηκε σε ομάδες ασθενών με υδροκεφαλία φυσιολογικής πίεσης, νευροεκφυλιστικά σύνδρομα όπως ν. Πάρκινσον και άλλες ανοϊκές καταστάσεις καθώς και αυτοάνοση πολλαπλή σκλήρυνση.

Μελέτη των προφίλ φλεγμονής στα δείγματα εγκεφαλονωτιαίου υγρού και συστηματικής κυκλοφορίας

- **OSTEOPONTIN (OPN)**

Η οστεοποντίνη, γνωστή ως βιοδείκτης της επαγόμενης από τα Τ-κύτταρα αυτοανοσίας έχει διερευνηθεί και έχει βρεθεί αυξημένη σε μια ποικιλία νευρολογικών παθήσεων και μη νευρολογικών καταστάσεων. Προηγούμενες μελέτες σε σειρές επιλεγμένων ασθενών με διαφορετικό στάδιο πολλαπλής σκλήρυνσης συνδέουν την αυξημένη OPN με την παρουσία και τη σοβαρότητα μιας υποτροπής αλλά όχι την κλινική εξέλιξη της νόσου [20].

Στην μελέτη μας, όσον αφορά τις αυτοάνοσες νευροεκφυλιστικές ασθένειες, αυτές χαρακτηρίσθηκαν από αυξημένα επίπεδα OPN στο ΕΝΥ των ασθενών μας με Σκλήρυνση κατά Πλάκας (ΣΚΠ). Τα στοιχεία μας επιβεβαιώνουν προηγούμενες αναφορές που καταδεικνύουν υψηλότερα επίπεδα OPN κυκλοφορίας σε ΣΚΠ**.** [21] Ωστόσο, οι διαφορές που παρατηρήθηκαν τόσο στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό όσο και στην αιματογενή κυκλοφορία μεταξύ των διαφόρων κλινικών μορφών των ασθενών με ΣΚ στη μελέτη μας ήταν περιορισμένες και δεν παρουσίαζαν σημαντικές συσχετίσεις με τη δραστηριότητα της νόσου. Η περιορισμένη κλινική σημασία των διαφορών στις μετρήσεις της OPN μεταξύ των ασθενών με ΣΚΠ και των υποτροπιάζοντων ασθενών με σκλήρυνση κατά πλάκας έχει αναφερθεί προηγουμένως σε μελέτη που υποδεικνύει τον χρόνο της δειγματοληψίας ΕΝΥ κατά τη διάρκεια της φάσης υποτροπής ή ύφεσης της νόσου ως αιτιώδη παράγοντα [20]. Η περιορισμένη ισχύς της συσχέτισης που παρατηρείται μεταξύ των ομάδων των ασθενών μας με ΣΚΠ, αφενός μπορεί να οφείλεται στην ετερογένεια του κλινικού προφίλ των ασθενών που περιλαμβάνονται στην μελέτη, κάτι που συμφωνεί με προηγούμενες μελέτες σχετικά με τον ρόλο των επιπέδων της OPN στο αίμα ως βιοδείκτη της νόσου σε ασθενείς με ΣΚΠ σε πληθυσμούς ασθενών με διαφορετική κλινική εικόνα [21]

Διαφορετικά πρότυπα αύξησης της OPN παρατηρήθηκαν επίσης στις νευρολογικές παθήσεις που αξιολογήθηκαν στη μελέτη μας. Η αύξηση της OPN στην κυκλοφορία του εγκεφαλονωτιαίου υγρού

των ασθενών με ΝΡΗ στην μελέτη μαςείναι πιθανώς επακόλουθο της παρατηρούμενης χρόνιας νευροεκφύλισης, στοιχεία που υποστηρίζουν τον προφλεγμονώδη ρόλο που προτείνεται για την OPN στη χρόνια φλεγμονή του κεντρικού νευρικού συστήματος σε νευροεκφυλιστικές παθήσεις [22]

Η παρατήρηση ότι η OPN παρέμεινε αξιοσημείωτα αυξημένη στη συστηματική κυκλοφορία των ασθενών με ΝΡΗ αλλά όχι σε ασθενείς με ΣΚΠ, είναι επίσης ενδεικτικό των διαφορετικών αιτιολογικών παραγόντων και νευροβιοχημικών οδών που οδηγούν στην εκδήλωση αυτών των ασθενειών.

Οι συγκεκριμένοι ρόλοι της OPN σε οξείες και χρόνιες καταστάσεις νευροφλεγμονής [23] αντανακλώνται επίσης στις διαφορές που παρατηρήθηκαν στην μελέτη μας μεταξύ της ανάπτυξης Χρόνιου Υποσκληριδίου Αιματώματος (ΧΥΑ) και της οξείας παθολογίας συνεπεία ΚΕΚ. Το προφίλ της OPN στο ΕΝΥ στα ΧΥΑ είναι πιθανόν ενδεικτικό χρόνιας νευροφλεγμονής. Η αύξηση OPN στο ΕΝΥ των ασθενών αυτών ήταν ανάλογη με την ανιχνευόμενη σε άλλες νευροεκφυλιστικές καταστάσεις, ενώ ήταν λιγότερο εκτεταμένη από ότι στις ομάδες μας με ΣΚΠ.

Επίσης, αποδεικτικά στοιχεία συσχετισμού αύξησης της επαγωγής της OPN στο τραύμα, ήταν η ανεύρεση αυξημένων τιμών που βρέθηκαν στα προφίλ της συστηματικής κυκλοφορίας του αίματος των ασθενών μας με ΧΥΑ, αναδεικνύοντας το επιπρόσθετο φορτίο OPN που απελευθερώνεται στα Χρόνια Υποσκληρίδια Αιματώματα, σε σύγκριση με άλλες μορφές νευροεκφυλιστικών παθήσεων όπως σύνδρομα άνοιας και αυτοάνοσες ασθένειες.

Οι παρατηρήσεις μας σχετικά με την αυξημένη OPN ορού στα ΧΥΑ συμπληρώνουν προηγούμενες αναφορές από ζωϊκά μοντέλα που δείχνουν ότι το τοπικό οίδημα στον εγκέφαλο που προκαλείται από τραυματική βλάβη που οφείλεται σε τραύματα χαμηλής έντασης μπορεί να προκαλέσει μια χρόνια φλεγμονώδη διαδικασία που παραμένει ανιχνεύσιμη στην συστηματική κυκλοφορία [24]

Ωστόσο, η πιο δραματική αύξηση της OPN παρατηρήθηκε στις ομάδες ασθενών με οξεία ΚΕΚ. Στις μετρήσεις στο ΕΝΥ, η OPN αυξήθηκε υπερβολικά στην ομάδα ασθενών με βαριά ΚΕΚ. Η αύξηση του ρυθμού επαγωγής της OPN έχει ανιχνευθεί στο κεντρικό νευρικό σύστημα ως απόκριση σε διάφορους τύπους νευρωνικών βλαβών, συμπεριλαμβανομένης της ισχαιμίας και του εστιακού τραύματος του εγκεφάλου. Η επαγωγή της OPN μετά από τραυματική εγκεφαλική βλάβη έχει μέχρι τώρα αποδειχθεί κυρίως σε πειραματικά μοντέλα. Μελέτες σχετικά με πρόκληση φλοιώδους εγκεφαλικής βλάβης και υποαραχνοειδούς αιμορραγίας αναφέρουν σημαντική αύξηση της πρωτεΐνης και του mRNA της OPN που μπορεί να ανιχνευθεί κατά μήκος ολόκληρης της διαδρομής της τραυματισμένης περιοχής ευθύς αμέσως μετά τον τραυματισμό [25]

Η ταχεία επαγωγή της OPN αμέσως μετά από ΚΕΚ, φαίνεται να είναι ζωτικής σημασίας για την διαδικασία αποκατάστασης των συνάψεων στα πρώιμα στάδια, την μετέπειτα επιδιόρθωση στη φάση της ανάκαμψης καθώς και ως απάντηση σε αντιφλεγμονωδεις θεραπείες [26].

Ανάλογα συμπεράσματα εξήχθησαν και από τις δικές μας μετρήσεις δείχνοντας σημαντική μείωση των επιπέδων της OPN στο ΕΝΥ των ασθενών με ΚΕΚ που υπεβλήθησαν σε νευροχειρουργική επέμβαση εκκένωσης του αιματώματος με αποτέλεσμα την δραστική μείωση του υψηλού φορτίου φλεγμονής που προκλήθηκε από το τραύμα.

Ωστόσο, παρά τις χειρουργικές παρεμβάσεις, στη μελέτη μας, η δραστική μείωση του OPN αποκαλύφθηκε ως το διακριτικό χαρακτηριστικό όλων των επιζώντων ασθενών με ΚΕΚ. Επίσης τα επίπεδα της OPN στο ΕΝΥ φάνηκαν να συσχετίζονται ισχυρά με την αποκατάσταση μετά την ΚΕΚ.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι ουσιαστικά η πολύ μεγάλη αύξηση των τιμών της OPN χαρακτηρίζει την οξεία κρανιοεγκεφαλική κάκωση και είναι στενά σχετιζόμενη με την βαρύτητα του τραύματος και την κλινική εξέλιξη της κατάστασης ενώ η ομαλοποίηση των επιπέδων OPN του ΕΝΥ συσχετίστηκε με τη θεραπεία και τη βελτιωμένη πρόγνωση των ασθενών. Αυτά τα στοιχεία υποστηρίζουν την κλινική σημασία της μέτρησης της OPN στο ΕΝΥ ως προγνωστικού δείκτη και ως πιθανού θεραπευτικού στόχου στην κλινική αντιμετώπιση κρανιοεγκεφαλικών κακώσεων.

Η αύξηση των επιπέδων OPN που ανιχνεύθηκαν στην εγκεφαλονωτιαία κυκλοφορία των ασθενών μας με ΚΕΚ, φαίνεται να αντικατοπτρίζεται και στη συστηματική κυκλοφορία των ασθενών. Το ΕΝΥ μεταφέρει βιοδείκτες που απελευθερώνονται από τα νευρικά κύτταρα που έχουν υποστεί βλάβη, είτε μέσω προσωρινής ρήξης του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (ΑΕΦ) (που σχετίζεται με μέτρια και βαριά ΚΕΚ) είτε χωρίς να έχει επέλθει σημαντική αλλοιώση της διαπερατότητας του ΑΕΦ (συχνά σε ήπια ΚΕΚ) στη συστηματική κυκλοφορία μέσω του λεμφικού συστηματος του εγκεφάλου (brain glymphatic system) [27].

Σύμφωνα με αυτό το μοντέλο ερμηνείας, η παρατηρούμενη στη μελέτη μας αύξηση των τιμών της OPN στο αίμα ασθενών με ΚΕΚ, είναι εμφανής ακόμη και σε ήπιους τραυματισμούς. Η αύξηση αυτή επιτείνεται αναλόγως της σοβαρότητας της ΚΕΚ και πιθανόν απεικονίζει τη μαζική απελευθέρωση της OPN από τις τραυματισμένες περιοχές του εγκεφάλου στην περιφερική κυκλοφορία του αίματος.

Αυτές οι παρατηρήσεις υποδεικνύουν ένα ρόλο της OPN ως προγνωστικού βιοδείκτη στο αίμα στον εγκεφαλικό τραυματισμό στον άνθρωπο, ένα ζήτημα που διερευνήθηκε μέχρι τώρα μόνο σε πειραματικά μοντέλα. Πρόσφατα, μια μελέτη για την νεογνική υποξική-ισχαιμική εγκεφαλοπάθεια (HIE) σε ποντίκια κατέδειξε σημαντική διέγερση των επιπέδων OPN στο πλάσμα αίματος, που παράγονται κυρίως από ενεργοποιημένα μικρογλοιακά κύτταρα και μακροφάγα στην τραυματισμένη περιοχή που συσχετίζεται με την σοβαρότητα της εγκεφαλικής βλάβης [28].

Επίσης, όπως αναφέρθηκε σε μελέτη του φλεγμονώδους προφίλ στον ορό αίματος σε ποντίκια που εκτέθηκαν σε μία μεμονωμένες τραυματικές ρήξεις χαμηλής έντασης, σημαντικές αυξήσεις στα επίπεδα OPN ορού ανιχνεύθηκαν ταχέως μετά τον τραυματισμό και παρέμειναν επί μακρόν αυξημένα μετά τη βλάβη [24].

Η σημαντική αύξηση της OPN στον ορό που παρατηρήθηκε στους ασθενείς μας με ΚΕΚ και η ισχυρή συσχέτισή με τη σοβαρότητα του τραύματος υποδεικνύουν την κλινική σημασία της στην σταδιοποίηση ασθενών με ΚΕΚ.

Η δυνητική χρησιμότητά της ως προγνωστικού δείκτη υποστηρίζεται από την παρατήρηση ότι οι ασθενείς με δυσμενή πρόγνωση μετά από ΚΕΚ εμφάνιζαν χαρακτηριστικά και σταθερά υψηλότερα επίπεδα OPN στο αιμα.
Ωστόσο, αναγνωρίζοντας ότι η ταυτοποίηση των βιοδεικτών στην κυκλοφορία του αίματος απαιτεί αυστηρά κριτήρια επιλογής, η κλινική χρησιμότητα της παρακολούθησης της OPN στο αίμα θα πρέπει να τεκμηριωθεί σε λιγότερο ετερογενείς πληθυσμιακές ομάδες ασθενών.
Η σημασία της αύξησης του OPN τόσο στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό όσο και στην περιφερική κυκλοφορία του αίματος σε σχέση με την κλινική σοβαρότητα και την έκβαση των ασθενών με ΚΕΚ στη μελέτη μας εγείρει το ζήτημα του ρόλου της OPN στην πρόοδο της εγκεφαλικής βλάβης.

Ο διπλός ρόλος της οστεοποντίνης στην οξεία νευροφλεγμονή έχει προταθεί σε προηγούμενες

μελέτες με βάση στοιχεία από εγκεφαλικές βλάβες και προκλητές αιμορραγίες σε μοντέλα ζώων που καταδεικνύουν τις προστατευτικές λειτουργίες της OPN ενάντια στη διάσπαση του αιματοεγκεφαλικού φραγμού προάγοντας την επιβίωση των νευρωνικών κυττάρων και μεσολαβώντας στην απομάκρυνση των επιβλαβών προϊόντων της νέκρωσης και υποβοηθώντας την μετανάστευση των νεοπαραχθέντων κυττάρων στις κατεστραμμένες ιστικές περιοχές [23].

Υπάρχουν αυξανόμενα στοιχεία που υποδεικνύουν έναν σημαντικό νευροπροστατευτικό ρόλο για την OPN στην αποκατάσταση μετά από τραυματισμό της λειτουργικής συναπτικής πλαστικότητας με τη μεσολάβηση στην αναγέννητική διαδικασία του νευράξονα και την ευόδωση της συναπτικής αποκατάστασης [26]. Όπως παρουσιάζεται σε ένα μοντέλο επαγόμενων εγκεφαλικών εμφράκτων σε OPN-null ποντίκια, η OPN που παράγεται από μακροφάγα επάγει την πόλωση των αστροκυττάρων και την επέκταση της διεργασίας προς την ισχαιμική βλάβη και έχει κεντρικό ρόλο στην ανάπτυξη των δευτερογενών επιδιορθωτικών μηχανισμών και την λειτουργική αποκατάσταση της ρήξης του αιματοεγκεφαλικού φραγμού [29].

Επίσης, η χορήγηση της OPN σε invitro μοντέλο ελέγχου του προκαλούμενου εγκεφαλικού τραυματισμού βρέθηκε ότι υποστηρίζει την ανάπτυξη νευριτών από νευρώνες του ιπποκάμπου χωρίς την επαγωγή της ενεργοποίησης αστροκυττάρων [25]. Η νευροπροστατευτική δράση και η ευόδωση του επιδιορθωτικού μηχανισμού που θεωρείται πως προκαλεί η OPN , προάγουν την υπόθεση ότι η OPN μπορεί να συμβάλει στην εξασθένηση της παθολογίας που προκύπτει από εγκεφαλικό επεισόδιο, ισχαιμία και τραυματική εγκεφαλική βλάβη [22].

Η εντυπωσιακά ραγδαία μείωση της OPN που παρατηρήθηκε στην μελέτη μας τόσο στο ΕΝΥ όσο και στο αίμα ασθενών με ΚΕΚ που είχαν ένδειξη και υποβλήθηκαν σε χειρουργική εξαίρεση του αιματώματος, υποστηρίζει αυτήν την υπόθεση.
Είναι εύλογο ότι τα προφίλ της αύξησης και υψηλής συγκέντρωσης τιμών της OPN που παρατηρήθηκε στο ΕΝΥ και το αίμα ασθενών με οξεία ΚΕΚ, σχετίζονται τόσο με την βαρύτητα του τραύματος όσο και με τις προ-φλεγμονώδεις εκείνες δράσεις της πρωτεΐνης που είναι ενδεικτικές της ενεργού συμμετοχής της στην επιδιόρθωση του εγκεφαλικού τραυματισμού, μια υπόθεση που υποστηρίζεται περαιτέρω λόγω της επακόλουθης πτώσης της στους ασθενείς που επιβίωσαν μετά από ΚΕΚ.
‘Αλλωστε, η συγκέντρωση των πειραματικών αποδεικτικών στοιχείων για το νευροπροστατευτικό ρόλο της OPN σε περιπτώσεις τραυματικής βλάβης και σε ισχαιμία του εγκεφάλου έχει ανοίξει το δρόμο για την εξερεύνηση της δυνατότητας χρήσης της ως θεραπευτικού στόχου [30, 31]. Η χρήση του ανασυνδυασμένου OPN (rOPN), ενός υποσχόμενου προστατευτικού παράγοντα κατά της διάσπασης του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, διερευνήθηκε σε διάφορα πειραματικά μοντέλα.
Η ρινική χορήγηση, μια μη επεμβατική μεθόδος χορήγησης φαρμάκων που δεν μπορούν να περάσουν από τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, σε πειραματικά ζωικά μοντέλα που υποβλήθηκαν σε προκλητό εγκεφαλικό επεισόδιο και εγκεφαλική βλάβη, βελτίωσε το νευρολογικό τους αποτέλεσμα μειώνοντας τον θάνατο νευρωνικών κυττάρων προλαμβάνοντας την οίδημα του εγκεφάλου [32, 33]. Σε μοντέλα πρόωρου εγκεφαλικού τραύματος, ωστόσο, αυτά τα νευροπροστατευτικά αποτελέσματα της OPN αποδείχθηκαν ότι άμεσα εξαρτώνται από την ηλικία [34].

- **EMMPRIN**

Τα στοιχεία από τη μελέτη μας δείχνουν επίσης ότι η παρακολούθηση της έκφρασης στην εγκεφαλονωτιαίο υγρό και στην συστηματική κυκλοφορία της EMMPRIN μπορεί να μην είναι αναμφισβήτητα ενδεικτική για την πρόοδο της πολλαπλής σκλήρυνσης (ΣΚΠ).

Η δυνητική χρησιμότητα της EMP ως βιοδείκτη ορού για την παρακολούθηση της δραστηριότητας της νόσου έχει επισημανθεί στην πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση και στην συστηματική σκλήρυνση [35, 36], ενώ μελέτες σε μοντέλα ινδικών χοιριδίων υποδεικνύουν την EMMPRIN ως ρυθμιστικό στοιχείο και θεωρητικό θεραπευτικό στόχο στην παθολογία της ΣΚΠ [37, 38]. Ωστόσο, αυτό το πολλά υποσχόμενο δυναμικό έχει μελετηθεί εκτενέστερα σε μια πρόσφατη μελέτη σε ασθενείς με πρωτεύουσα και προοδευτική ΣΚΠ και υποδεικνύει ότι την διάρηξη του ΑΕΦ στην δευτερογενώς προοδευτική ΣΚΠ ως τον αιτιολογικό παράγοντα απελευθέρωσης EMMPRIN στο ΕΝΥ του ασθενούς [39]
Πράγματι, τα ερευνητικά στοιχεία που αποκτήθηκαν κυρίως σε μοντέλα εγκεφαλικών τραυματισμών ζώων υποστηρίζουν τον κεντρικό ρόλο της EMMPRIN στη διευκόλυνση των καταστροφικών φλεγμονωδών οδών που ενεργοποιούνται από τη διάσπαση του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (ΑΕΦ) στην τραυματική εγκεφαλική βλάβη. Όπως παρουσιάζεται σε ένα ζωϊκό μοντέλο τραυματισμού εγκεφάλου, η αύξηση του ρυθμού παραγωγής της EMMPRIN λαμβάνει χώρα άμεσα (σε 6-48 ώρες) μετά την επαγωγή της ΚΕΚ και στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στα αστροκύτταρα της περιοχής του εγκεφάλου που έχει τραυματιστεί και συνδέεται με την έκφραση της MMP-9 (μεταλλοπρωτεάση-9) [40].Η αυξημένη έκφραση της EMMPRIN που ανιχνεύθηκε 2-7 ημέρες μετά την ισχαιμία σε πειραματικά μοντέλα εγκεφαλικής ισχαιμίας και συνδέθηκε στενά με την έκφραση της MMP9 [41,42].

Οι πλειοτροπικές λειτουργίες της EMMPRIN στην ισχαιμία και το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο έχουν επίσης επισημανθεί σε μελέτες που αποκαλύπτουν ένα ρόλο για την EMMPRIN σε αλληλεπίδραση με το εξωκυτταρικό μόριο πρόσδεσης της , την κυκλοφιλίνη Α (Cyclophilin A -CypA) στις βιοχημικές οδούς επιβίωσης των νευρωνικών κυττάρων [43]. Πιο πρόσφατα, σε ένα πειραματικό ζωϊκό μοντέλο με υποαραχνοειδή αιμορραγία αποδείχθηκε ότι η επαγωγή των EMMPRIN και CyPA είναι ένα πρώιμο συμβάν στην εγκεφαλική βλάβη που λειτουργεί ως ενδιάμεσος υποκινητής για την έναρξη της διαδικασίας απόπτωσης εγκεφαλικών μικροαγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων και νευρώνων και έτσι προάγει το οίδημα εγκεφάλου που προκύπτει από την ΚΕΚ.

Σε συμφωνία με τα πειραματικά δεδομένα, τα αποτελέσματά μας απεικονίζουν τον αντίκτυπο της EMMPRIN στην πρώιμη φάση της αλληλουχίας γεγονότων μετά από εγκεφαλική βλάβη ποικίλης βαρύτητας. Η EMMPRIN βρέθηκε αυξημένη στο ΕΝΥ, πιθανότατα λόγω της διάσπασης του ΑΕΦ και των συνοδών μεταβολικών προϊόντων της πρωτογενούς εγκεφαλικής βλάβης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Η αύξηση της EMMPRIN εντοπίστηκε ακόμη και σε ήπιας μορφής ΚΕΚ, ενώ οι συγκεντρώσεις ήταν πολύ υψηλές στην στη συστηματική κυκλοφορία στην βαριά ΚΕΚ.

Η αύξηση της EMMPRIN στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό και στη κυκλοφορία του περιφερικού αίματος στα δείγματα ασθενών με οξύ κρανιοεγκεφαλικό τραυματισμό σχετίζονται με την σοβαρότητα της εγκεφαλικής βλάβης.
Επιπλέον, τα επίπεδα της EMMPRIN στο ΕΝΥ βρέθηκαν δραστικά μειωμένα στους ασθενείς που εμφάνισαν πλήρη αποκατάσταση και έτσι ήταν προγνωστικά για την επιβίωση των ασθενών με ΚΕΚ.

- **Δείκτες φλεγμονής**

Προκειμένου να αποκτήσουμε μια πιο ολοκληρωμένη εικόνα του φλεγμονώδους φορτίου που υπάρχει στο ΕΝΥ και στην κυκλοφορία του περιφερικού αίματος των ασθενών μας με ΚΕΚ, αναλύθηκαν επίσης τα προφίλ των συχνά χρησιμοποιούμενων στη διάγνωση της νόσου δεικτών φλεγμονής.

Τα δεδομένα που προέκυψαν σχετίζονταν με τραυματική εγκεφαλική βλάβη με μελέτη στο ΕΝΥ των επιπέδων των ανοσορυθμιστικών πρωτεϊνών οξείας φάσης (IL6, IL1b) και της ενεργοποιημένης πρωτεΐνης μεταναστατευτικών Τ-κυττάρων (IL8).Τα προφίλ φλεγμονωδών κυτοκινών διέφεραν σε σχέση με την πρόγνωση ασθενών με ΚΕΚ.

Ανάλυση των δυναμικών δικτύων φλεγμονής στο ΕΝΥ ασθενών με ΚΕΚ, αποκάλυψαν ότι οι φλεγμονώδεις φαινότυποι αποκλίνουν μεταξύ επιζώντων και μη επιζώντων λόγω της διαφοροποιημένης ενεργοποίησης φλεγμονωδών οδών "μεταγωγής" [43, 44].

Πειραματικά μοντέλα που βασίζονται σε δεδομένα σειρών ασθενών με ΚΕΚ υπογραμμίζουν τον κομβικό ρόλο της κυτοκίνης IL-6 και της χημειοκίνης IL-8 ως σε αυτές τις διαδικασίες εγκατάστασης της φλεγμονής [45]

Η IL6 ουσιαστικά ρυθμίζεται και βρίσκεται αυξημένη στο ΚΝΣ μετά από τραυματισμό ενώ οι συσχετίσεις μεταξύ των επιπέδων IL-6 στο ΕΝΥ και στον ορό καθορίζουν την έκβαση της ΚΕΚ [46]. Ωστόσο, τα επίπεδα της IL-6 στο ΕΝΥ συσχετίστηκαν σε πρόσφατες μελέτες με αυξημένο φλεγμονώδες φορτίο και με πτωχή λειτουργική αποκατάσταση σε ασθενείς με βαριά ΚΕΚ [44,45].

Σε συμφωνία με αυτές τις μελέτες (Kumar 2015, 2016), τα επίπεδα της IL6 στο ΕΝΥ καθώς και η αναλογία μεταξύ ΕΝΥ και αίματος (ΕΝΥ/αίμα) ήταν υψηλότερα στους ασθενείς που είχαν πτωχή πρόγνωση στη μελέτη μας, ενώ στους ίδιους ασθενείς ήταν αντίστοιχα αυξημένα και τα επίπεδα των τιμών στο ΕΝΥ καθώς και ο δείκτης ΕΝΥ/αίματόσο για την IL1b όσο και για την IL8.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σχετικά με το μοντέλο απομόνωσης καλλιέργειας και συγκαλλιέργειας ADSC κυττάρων που χρησιμοποιήθηκε τα κύτταρα που απομονώθηκαν

- **διατήρησαν τα επίπεδα έκφρασης των δεικτών CD90, CD105 και CD73 σε υψηλά επίπεδα με μικρές διακυμάνσεις στατιστικώς μη σημαντικές κατά τη διατήρηση τους σε invitro συνθήκες υποδηλώνοντας την ύπαρξη ενός ομοιογενή πληθυσμού**
- **πολλαπλασιάστηκαν, προσέγγιζαν και συνέρρεαν τροποποιώντας τη μορφολογία τους και λαμβάνοντας ατρακτοειδή μορφολογία ινοβλαστικού τύπου.**
- **είχαν ποσοστά απόπτωσης και νέκρωσης καθόλη τη διάρκεια της in vitro καλλιέργειας τους που παρέμειναν μικρότερα του 1%**
- **η ηλικία του ασθενούς από τον οποίο προήλθε το ΕΝΥ που χρησιμοποιήθηκε στην invitro διατήρηση των πολυδύναμων κυττάρων δεν επηρέασε στατιστικώς σημαντικά τις μεταβολές των πρωτεινικών μορίων που εξετάσθηκαν.**
- **παρουσίασαν απόπτωση και νέκρωση σε ποσοστά μικρότερα του 1% και μετά την αντικατάσταση του θρεπτικού υλικού από ΕΝΥ ανεξάρτητα από τη προέλευση του (κατηγορίας νοσήματος ή βαρύτητα)**
- **μετέβαλλαν την έκφραση των πρωτεινικών τους δεικτών λόγω της παρουσίας ή απουσίας αυξητικών παραγόντων στο μέσο κυτταροκαλλιέργειας**

και

- **τροποποίησαν τη μορφολογία τους όσο και την έκφραση των πρωτεινικών δεικτών σε συγκαλλιέργεια με ΕΝΥ ανάλογα με τη πρόελευση του ΕΝΥ**

ΟΜΩΣ :

- ***σύμφωνα με τα αποτελέσματα που καταγράφηκαν στη παρούσα μελέτη, μετά από 96 ώρες καλλιέργεια τους με την επίδραση ΕΝΥ δεν συντηρείται ένα νευροτροφοβλαστικό προφίλ, πιθανώς λόγω των παραγόντων νευροφλεγμονής που κυκλοφορούν εντός του ΕΝΥ, οι οποίοι αυξάνονται αναλόγως της βαρύτητας της κάκωσης καθιστώντας το περιβάλλον ασταθές χωρίς νευροπροστατευτικούς χαρακτήρες για τα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα.***

Κατά την παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκαν για πρώτη φορά μετρήσεις Osteopontinστο ΕΝΥ ασθενών με κρανιοεγκεφαλική κάκωση, καθώς και πρώτη φορά έγιναν μετρήσεις EMMPRINσε ανθρώπους με ΚΕΚ. Επίσης για πρώτη φορά, έγιναν μετρήσεις τόσο στο ΕΝΥ όσο και στο πλάσμα σε πολλές διαφορετικές ομάδες νευροχειρουργικών αλλά και νευρολογικών ασθενών και έγινε σύγκριση αποτελεσμάτων τόσο μεταξύ οξείας ΚΕΚ –ήπιας, μέτριας και βαριάς μορφής, αλλά και χρόνιας τραυματικής υποσκληρίδιας αιμορραγίας συνεπεία παλαίας ΚΕΚ, όπως επίσης και μεταξύδιαφόρων νευροεκφυλιστικών παθήσεων.

- Οι διαφορές μεταξύ των ομάδωνσυνδέθηκαν με όψιμες ανοσοεκκριτικές επιδράσεις κυρίως σε ασθενείς με χρόνια ΚΕΚ, ενδεχομένως αντικατοπτρίζοντας τη συνεχή νευροφλεγμονή, ενώ το φλεγμονώδες φορτίο σε ήπιας μορφής ΚΕΚ ήταν περιορισμένο.Τα δεδομένα μας, παρέχουν μια αποτύπωση της κατάστασης τόσο στην «εγγύτερη» του τραύματος του εγκεφάλου περιοχή , όσο και της συστηματικής διάδοσης των δεικτών φλεγμονής που προκαλούνται από την πρώϊμη νευρωνική καταστροφή.

Τα δεδομένα μας, λοπόν, καταδεικνύουν τους διπλούς προφλεγμονώδεις και νευροπροστατευτικούς ρόλους της Osteopontin και της EMMPRIN σε οξεία τραυματική εγκεφαλική βλάβη και στην χρόνια νευροφλεγμονή καθώς επίσης και σε νευροεκφυλιστικές παθήσεις.

- Σημειώνεται ότι η εφαρμογή πιο αυστηρών κριτηρίων επιλογής των ασθενών σε μεγαλύτερες σειρές μελέτης και η χρήση πιο αυστηρών κριτηρίων ένταξης στη μελέτη να μπορεί στο μέλλον να διαλευκάνει αυτές τις πολυπλοκότητες και να τεκμηριώσει την κλινική χρησιμότητα των σχετικών αναλύσεων αίματος.

Αναφορικά με το προφίλ των βιοδεικτών EMMPPIN και OPN παρατηρήθηκε:

1) έντονα θετική συσχέτιση μεταξύ των προφίλ των δεικτών φλεγμονής EMMPPIN και OPN στο ΕΝΥ και το περιφερικό αίμα

Επιπλέον, αναδείχθηκε ότι η OPN συσχετίζεται:

2) με την έκβαση και τον ρυθμό κλινικής αποκατάστασης μετά από εγχείρηση σε ασθενείς με βαριά ΚΕΚ, που είχαν χειρουργική ένδειξη για κρανιοτομή προς αφαίρεση τραυματικού οξέως επισκληριδίου ή οξέως υποσκληριδίου ή ενδοεγκεφαλικού αιματώματος, ή προς αποσυμπίεση λόγω εμφάνισης εγκεφαλικού οιδήματος .

    - παρατηρήθηκε ότι οι τιμές συγκεντρώσεων της OPN διατηρήθηκαν ιδιαίτερα υψηλές σε εκείνους τους ασθενείς με κρανιοεγκεφαλική κάκωση που παρουσίασαν πτωχή πρόγνωση σε βαριά ΚΕΚ και δεν είχαν χειρουργική ένδειξη.

3) με το προφίλ του δείκτη φλεγμονής IL6 στο ΕΝΥ και το αίμα

    - Η ιδιαίτερα αυξημένη τιμή IL6 που παρατηρείται στις ομάδες με ΚΕΚ σχετίζεται με την πτωχή πρόγνωση και κακή κλινική έκβαση.
    - Αξιοσημείωτη στη μελέτη μας ήταν η παρατήρηση πως η άνοδος της IL6 στο ΕΝΥ συνδεόνταν και με αύξηση της OPN, ιδιαίτερα σε ασθενείς με βαριά ΚΕΚ και πτωχή πρόγνωση. Η χαρακτηριστική αιχμή αύξησης των τιμών της IL-6 στο ΕΝΥ, παρατηρήθηκε στους ασθενείς των ομάδων με οξεία ΚΕΚ και ήταν εντονότερη σε σχέση με την βαρύτητα της κάκωσης , συνδεόμενη με την πρόγνωση του ασθενούς.

Συνοπτικά, τα αποτελέσματα μας αναδεικνύουν

- ***την παρακολούθηση της OPN στο ΕΝΥ ως δείκτη Σταδιοποίησης και Πρόγνωσης των ΚΕΚ και, συνεπώς, αξιολόγησης της θεραπευτικής στόχευσης***

Επίσης καταδεικνύουν ότι :

- ***τα αρχέγονα βλαστικά κύτταρα διατηρούν το αναγεννητικό τους δυναμικό παρουσία του ΕΝΥ από ασθενείς με ΚΕΚ.***

Ως εκ τούτου, επιτακτική γίνεται η ανάγκη επαναπροσδιορισμού των κριτηρίων εφαρμογής τους για θεραπευτική χρήση, λόγω του κινδύνου ανεξέλεγκτου πολλαπλασιασμού τους.

Επίσης, στην παρούσα μελέτη καταδείχθηκε :

- ***η αδυναμία έκφρασης ειδικών νευρικών χαρακτηριστικών στα βλαστοκύτταρα που παρέμειναν σε ΕΝΥ προερχόμενο από τα πρώϊμα στάδια της τραυματικής εγκεφαλικής βλάβης, φαινόμενο που συσχετίστηκε με την βαρύτητα του ΚΕΚ και τις εν εξελίξει διαδικασίες νευροφλεγμονής.***

Κατά συνέπεια, καθίσταται αβέβαιη η άμεση θεραπευτική χρήση των βλαστοκυττάρων εντός του ΕΝΥ στα πρώιμα στάδια της τραυματικής εγκεφαλικής βλάβης με σκοπό την αποκατάσταση και τον περιορισμό επέκτασης της νευρωνικής καταστροφής.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ ΕΙΔΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ

1. Xie X, Tang Z, Chen J, Yang J, Zeng W, Liu N, Liu YJ.Neurogenesis of adipose-derived stem cells in hydrogel. HuazhongUniv Sci Technolog Med Sci. 2011 Apr; 31(2):174
2. P. C. Baer and H. Geiger, “Adipose-derived mesenchymal stromal/stem cells: tissue localization, characterization, and heterogeneity,” Stem Cells International, vol. 2012, Article ID 812693, 11 pages, 2012
3. W. P. Cawthorn, E. L. Scheller, and O. A. MacDougald, “Adipose tissue stem cells: the great WAT hope,” Trends in Endocrinology and Metabolism, vol. 23, no. 6, pp. 270–277, 2012.
4. S. Baglioni, G. Cantini, G. Poli et al., “Functional differences in visceral and subcutaneous fat pads originate from differences in the adipose stem cell,” PLoS ONE, vol. 7, no. 5, Article ID e36569, 2012.
5. P. Bourin, B. A. Bunnell, L. Casteilla et al., “Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT),” Cytotherapy, vol. 15, no. 6, pp. 641–648, 2013
6. M.Maumus, J.-A. Peyrafitte, R. D'Angelo et al., “Native human adipose stromal cells: localization, morphology and phenotype,” International Journal of Obesity, vol. 35, no. 9, pp. 1141–1153, 2011., P. Bourin, B. A. Bunnell, L. Casteilla et al., “Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT),” Cytotherapy, vol. 15, no. 6, pp. 641–648, 2013
7. J. B. Mitchell, K. McIntosh, S. Zvonic et al., “Immunophenotype of human adipose-derived cells: temporal changes in stromal-associated and stem cell-associated markers,” STEM CELLS, vol. 24, no. 2, pp. 376–385, 2006
8. H. Mizuno, “Adipose-derived stem cells for tissue repair and regeneration: ten years of research and a literature review,” Journal of Nippon Medical School, vol. 76, no. 2, pp. 56–66, 2009
9. Lehtinen MK. and Walsh CA. (2011). Neurogenesis at the brain-cerebrospinal fluid interface. Annu Rev Cell Dev Biol 27:653–679
10. Zappaterra MW. and Lehtinen MK. (2012). The cerebrospinal fluid: regulator of neurogenesis, behavior, and beyond. Cell Mol Life Sci 69:2863–2878
11. Mingxin Zhu[,1,,2] Yun Feng[,1,,3] Sean Dangelmajer[,1] Hugo Guerrero-Cázares[,1] Kaisorn L. Chaichana[,1] Christopher L. Smith[,1] Andre Levchenko[,4] Ting Lei[,2] and Alfredo Quiñones-HinojosaStem Cells Dev. Human Cerebrospinal Fluid Regulates Proliferation and Migration of Stem Cells Through Insulin-Like Growth Factor-1. 2015 Jan 15; 24(2): 160–171.Published online 2014 Sep 29. doi: 10.1089/scd.2014.0076PMCID: PMC429121
12. Sayuri Suzuki, Jun Namiki, Shinsuke Shibata, Yumi Mastuzaki, and Hideyuki Okano. The Neural Stem/Progenitor Cell Marker Nestin Is Expressed in Proliferative Endothelial Cells, but Not in Mature Vasculature. J Histochem Cytochem. 2010 Aug; 58(8): 721–730.PMCID: PMC2907277 PMID: 20421592
13. Fatemeh Sadat Mostafavi, Shahnaz Razavi, Mohammad Mardani, Ebrahim Esfandiari, Hamid Zarkesh Esfahani, andMohammad KazemiI Comparative Study of Microtubule-associated Protein-2 and Glial Fibrillary Acidic Proteins during Neural Induction of Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells and Adipose-Derived Stem Cells Int J Prev Med. 2014 May; 5(5): 584–595.PMCID: PMC4050679 ,PMID: 24932390
14. Wang Q, Zhou L, Guo Y, Liu G, Cheng J, Yu H. Differentiation of human adipose-derived stem cells into neuron-like cells by Radix AngelicaeSinensis. Neural Regeneration Research. 2013;8(35):3353-3358. doi:10.3969/j.issn.1673-5374.2013.35.010.
15. Z.Wang, B. Calpe, J. Zerdani et al., “High-throughput investigation of endothelial-to-mesenchymal transformation (EndMT) with combinatorial cellular microarrays,” Biotechnology and Bioengineering, 2015.
16. A. Dolatshahi-Pirouz, M. Nikkhah, A. K. Gaharwar et al., “A combinatorial cell-laden gel microarray for inducing osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells,” Scientific Reports, vol. 4, article 3896, 2014.
17. Yang LY1, Liu XM, Sun B, Hui GZ, Fei J, Guo LH.ChinMedJ (Engl). 2004 Mar;117(3):425-9.Adipose tissue-derived stromal cells express neuronal phenotypes.
18. Sujeong Jang, Hyong-Ho Cho, Yong-Bum ChoEmail author, Jong-Seong Park and Han-Seong JeongFunctional neural differentiation of human adipose tissue-derived stem cells using bFGF and forskolin Email BMC Cell Biology201011:25 https://doi.org/10.1186/1471-2121-11-25
19. Gaetz M. The neurophysiology of brain injury.. Clin. Νευροφυσιόλη. 2004, 115 (1): 4-18
20. Szalardy L, Zadori D, Simu M, Bencsik K, Vecsei L, Klivenyi P (2013) Evaluating biomarkers of neuronal degeneration and neuroinflammation in CSF of patients with multiple sclerosis-osteopontin as a potential marker of clinical severity. J Neurol Sci 331(1-2):38-42. doi: 10.1016/j.jns.2013.04.024
21. Kivisäkk P, Healy BC, Francois K, Gandhi R, Gholipour T, Egorova S, Sevdalinova V, Quintana F, Chitnis T, Weiner HL, Khoury SJ (2014) Evaluation of circulating osteopontin levels in an unselected cohort of patients with multiple sclerosis: relevance for biomarker development. Mult Scler 20(4):438-44. doi: 10.1177/1352458513503052

22. Rentsendorj A, Sheyn J, Fuchs DT, Daley D, Salumbides BC, Schubloom HE, Hart NJ, Li S, Hayden EY, Teplow DB, Black KL, Koronyo Y, Koronyo-Hamaoui M. (2018) A novel role for osteopontin in macrophage-mediated amyloid-β clearance in Alzheimer's models. Brain Behav Immun 67:163-180. doi: 10.1016/j.bbi.2017.08.019
23. Shin T (2012) Osteopontin as a two-sided mediator in acute neuroinflammation in rat models. Acta Histochem 114(8):749-54. doi: 10.1016/j.acthis.2012.08.004
24. Ahmed F, Plantman S2, Cernak I3, Agoston DV (2015) The temporal pattern of changes in serum biomarker levels reveals complex and dynamically changing pathologies after exposure to a single low-intensity blast in mice. Front Neurol 6:114. doi: 10.3389/fneur.2015.00114. eCollection 2015.
25. Plantman S (2012) Osteopontin is upregulated after mechanical brain injury and stimulates neurite growth from hippocampal neurons through β1 integrin and CD44. Neuroreport 23(11):647-52. doi: 10.1097/WNR.0b013e328355380e
26. Chan JL, Reeves TM, Phillips LL (2014) Osteopontin expression in acute immune response mediates hippocampal synaptogenesis and adaptive outcome following cortical brain injury. Exp Neurol 261:757-71. doi: 10.1016/j.expneurol.2014.08.015
27. Nedergaard M. (2013) Neuroscience. Garbage truck of the brain. Science 340:1529–30. doi:10.1126/science.1240514
28. Li Y, Dammer EB, Zhang-Brotzge X, Chen S, Duong DM, Seyfried NT, Kuan CY, Sun YY. (2017) Osteopontin Is a Blood Biomarker for Microglial Activation and Brain Injury in Experimental Hypoxic-Ischemic Encephalopathy. eNeuro 4(1). pii: ENEURO.0253-16.2016. doi: 10.1523/ENEURO.0253-16.2016. eCollection 2017 Jan-Feb
29. Gliem M, Krammes K, Liaw L, van Rooijen N, Hartung HP, Jander S (2015) Macrophage-derived osteopontin induces reactive astrocyte polarization and promotes re-establishment of the blood brain barrier after ischemic stroke. Glia 63(12):2198-207. doi: 10.1002/glia.22885
30. Suzuki H 2011 Suzuki H, Hasegawa Y, Kanamaru K, Zhang JH. (2011) Effect of recombinant osteopontin on cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage in rats. Acta Neurochir Suppl 110(Pt 2):29-32. doi: 10.1007/978-3-7091-0356-2_6
31. Zhu W, Khachi S, Hao Q, Shen F, Young WL, Yang GY, Chen Y (2008) Upregulation of EMMPRIN after permanent focal cerebral ischemia. Neurochem Int 52(6):1086-91. doi: 10.1016/j.neuint.2007.11.005.
32. Zhu Q, Luo X, Liu Y, Zhang J, Luo H, Huang Q, Cheng Y, Xie Z (2016) Osteopontin as a potential therapeutic target for ischemic stroke. Curr Drug Deliv
33. Topkoru BC, Altay O, Duris K, Krafft PR, Yan J, Zhang JH (2013) Nasal administration of recombinant osteopontin attenuates early brain injury after subarachnoid hemorrhage. Stroke 44(11):3189-94. doi: 10.1161/STROKEAHA.113.001574.
34. Albertsson AM, Zhang X, Leavenworth J, Bi D, Nair S, Qiao L, Hagberg H, Mallard C, Cantor H, Wang X. The effect of osteopontin and osteopontin-derived peptides on preterm brain injury.J Neuroinflammation. 2014 Dec 3;11:197. doi: 10.1186/s12974-014-0197-0.
35. Iłżecka J (2011) EMMPRIN levels in serum of patients with amyotrophic lateral sclerosis. Acta Neurol Scand 124(6):424-8. doi: 10.1111/j.1600-0404.2011.01519.x.
36. Yanaba K, Asano Y, Tada Y, Sugaya M, Kadono T, Hamaguchi Y, Sato S (2012) Increased serum soluble CD147 levels in patients with systemic sclerosis: association with scleroderma renal crisis. Clin Rheumatol 31(5):835-9. doi: 10.1007/s10067-012-1949-9
37. Agrawal SM, Silva C, Tourtellotte WW, Yong VW (2011) EMMPRIN: a novel regulator of leukocyte transmigration into the CNS in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. J Neurosci 31:669–77.
38. Agrawal SM, Williamson J, Sharma R, Kebir H, Patel K, Prat A, Yong VW (2013) Extracellular matrix metalloproteinase inducer shows active perivascular cuffs in multiple sclerosis. Brain 136:1760–77 Brain 136(Pt 6):1760-77. doi: 10.1093/brain/awt093
39. Kaushik DK, Hahn JN, Yong VW (2015) EMMPRIN, an upstream regulator of MMPs, in CNS biology. Matrix Biol 44-46:138-46. doi: 10.1016/j.matbio.2015.01.018
40. Wei R, Wong JPC, Kwok HF (2017) Osteopontin -- a promising biomarker for cancer therapy. J Cancer 8(12):2173-2183. doi: 10.7150/jca.20480. eCollection 2017.
41. Zhu W, Khachi S, Hao Q, Shen F, Young WL, Yang GY, Chen Y (2008) Upregulation of EMMPRIN after permanent focal cerebral ischemia. Neurochem Int 52(6):1086-91. doi: 10.1016/j.neuint.2007.11.005
42. Burggraf D, Liebetrau M, Martens HK, Wunderlich N, Jäger G, Dichgans M, Hamann GF (2005) Matrix metalloproteinase induction by EMMPRIN in experimental focal cerebral ischemia. Eur J Neurosci 22(1):273-7
43. Boulos S, Meloni BP, Arthur PG, Majda B, Bojarski C, Knuckey NW. (2007) Evidence that intracellular cyclophilin A and cyclophilin A/CD147 receptor-mediated ERK1/2 signalling can protect neurons against in vitro oxidative and ischemic injury. Neurobiol Dis 25:54–64
44. Abboud A, Mi Q, Puccio A, Okonkwo D, Buliga M, Constantine G, Vodovotz Y. Inflammation Following Traumatic Brain Injury in Humans: Insights from Data-Driven and Mechanistic Models into Survival and Death. Front Pharmacol. 2016 Sep 27;7:342. eCollection 2016

45. Kumar RG, Rubin JE, Berger RP, Kochanek PM, Wagner AK. Principal components derived from CSF inflammatory profiles predict outcome in survivors after severe traumatic brain injury. Brain Behav Immun. 2016 Mar;53:183-193. doi: 10.1016/j.bbi.2015.12.008. Epub 2015 Dec 17
46. Kumar RG, Diamond ML, Boles JA, Berger RP, Tisherman SA, Kochanek PM, Wagner AK. Acute CSF interleukin-6 trajectories after TBI: associations with neuroinflammation, polytrauma, and outcome. Brain Behav Immun. 2015 Mar;45:253-62. doi: 10.1016/j.bbi.2014.12.021. Epub 2014 Dec 31.PMID: 25555531