

Doktori (PhD) – értekezés tézisei

**Súlyos koponya-agysérülés kóreredetének és
kimenetelének klinikai és kísérletes vizsgálata**

dr. Czeiter Endre

PTE-ÁOK Idegsebészeti Klinika

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Komoly Sámuel DSc

Klinikai idegtudományok (B – 1/2005) Doktori Program

Programvezető: Prof. Dr. Komoly Sámuel DSc

Témavezető: Dr. Büki András PhD egyetemi docens

PTE-ÁOK Idegsebészeti Klinika



**Pécsi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar
Idegsebészeti Klinika
Pécs; 2010.**

Tartalomjegyzék

I. Bevezetés	3
1. Jelentőség, epidemiológiai adatok	3
2. A diffúz axonális károsodás	4
3. Kimenetel becslés (és nehézségei) súlyos koponyasérülések esetén	5
II. Célkitűzések	8
1. Koponyasérüléshez társuló diffúz axonális károsodás kísérletes vizsgálata..	8
2. A Pécsi Súlyos Koponyasérült Adatbázis létrehozása és feldolgozása.....	8
III. Anyagok és módszerek	8
1. Koponyasérüléshez társuló diffúz axonális károsodás kísérletes vizsgálata..	8
2. A Pécsi Súlyos Koponyasérült Adatbázis létrehozása és feldolgozása.....	10
IV. Eredmények és megbeszélés	11
1. A diffúz axonális károsodás mértéke és az azt kiváltó energia összefüggésének vizsgálata	11
2. Koponyasérüléshez társuló gerincvelői diffúz axonális károsodás	13
3. A szelektív calpain-inhibitor MDL-28 170 hatásának elemzése: az axonális membrán-permeabilitási zavar gátlásának vizsgálata.....	15
4. Prognosztikai faktorok azonosítása súlyos koponyasérültek ellátása során.	15
5. Elsődleges CT-képek elemzése	17
V. Elért új eredmények összefoglalása	18
1. Koponyasérüléshez társuló diffúz axonális károsodás kísérletes vizsgálata	18
2. A Pécsi Súlyos Koponyasérült Adatbázis létrehozása és feldolgozása.....	18
VII. Publikációs lista	19
1. Az értekezés alapjául szolgáló közlemények.....	19
2. Egyéb közlemények.....	19

I. Bevezetés

1. Jelentőség, epidemiológiai adatok

Nehéz lenne túlhangsúlyozni a koponyasérülések epidemiológiai jelentőségét, különösen ha tekintetbe vesszük azt a hatalmas – és a motorizáció elterjedésével egyre növekvő mértékű – mind emberi mind anyagi tehertételt, melyet globalizálódó társadalmunkban okoz. Noha a probléma jelenléte és nagysága az ezen szakterülettel foglalkozó orvosok/kutatók számára régóta ismert volt, a múlt század utolsó két évtizedéig nem készültek igazán mértékadó, populáció szintű epidemiológiai elemzések. Mivel eme kórkép napjainkig sem került a jelentőségének megfelelő helyre az orvostudományban, sokszor említik „silent epidemic” vagyis „csendes járvány”-ként.

A fenti ellentmondásos hozzáállás azért is kifogásolható, mert napjainkra az Egészségügyi Világszervezet (World Health Organization; WHO) kimutatásai alapján egyértelműen a baleseti agysérülések képezik a vezető halálokat a 40 év alatti korosztályban a fejlett ipari országokban, illetve prognózisuk szerint néhány évtizeden belül a koponyasérülések és következményeik jelentik majd a harmadik leggyakoribb halálokat világszerte. Figyelemre méltó adat, hogy a WHO mintegy 10 millió olyan koponya-agysérülést valószínűsít évente, amely kórházi ellátást igényel. Ugyancsak a koponyasérülések kiemelt jelentőségét támasztja alá az a több mint 170 ezer sérült adatait feldolgozó tanulmány, amelyben szignifikáns 1,5-szeres mortalitást találtak a koponyasérülést (is) elszenvedett sérülteknél a csupán extracranialis sérülésekkel rendelkezőkhöz képest.

2006-ban Langlois és munkatársai az USA-beli Centers for Disease Control and Prevention (CDC) megbízásából publikáltak egy átfogó epidemiológiai tanulmányt a témában, mely az 1995 és 2001 közötti betegforgalmi adatokon alapult. Főbb megállapításaik a következők voltak:

- Legkevesebb 1,4 millió traumás agysérülés valószínűsíthető évente az USA-ban. Ebből 50 000 halálos kimenetelű 235 000 igényel kórházi ellátást, 1,1 millió esetben történik sürgősségi betegellátás.
- Mintegy 475 000 koponyasérülés következik be évente a 14 év alatti korosztályban.
- A legtöbb kórházi felvétel és haláleset – koponyasérülés kapcsán – a 75 év felettiiek körében mutatható ki.
- A koponyasérülések majdnem minden korcsoportban gyakoribbak a férfiak körében, mint a nőknél.
- A relatíve súlyosabb – vagyis legalább kórházi felvételt igénylő – koponyasérülések oka legtöbbször közlekedési baleset.
- A koponya-agysérülés leggyakoribb oka az elesés (28%), különösen gyakori a 4 év alatti gyermekek és a 75 év felettiiek körében.

Nagy-Britanniában a múlt század utolsó évtizedében a „National Health Service (NHS)” megbízásából vizsgálták az egyes orvosi beavatkozások költséghatékonyságát. Felállítottak egy sorrendet, oly módon, hogy minden beavatkozás költségét elosztották - az adott eljárás után, és neki köszönhetően – az egyes egyének által még „jó életminőségben” megélt évek számával. Eredményeik szerint a koponya-agysérülések idegsebészeti kezelése az egyik legköltséghatékonyságosabb orvosi beavatkozás, eredményessége e téren felveszi a versenyt olyan tevékenységekkel, mint a házi orvos tanácsára történő leszokás a dohányzásról, vagy a szérum koleszterin szint mérése. Ez a mutató kb. tízszerese pl. az emlőrák szűrésének és kb. ötszázszorosa az intracranialis tumorok idegsebészeti eltávolításának.

Magyarországon napjainkig csupán néhány epidemiológiai elemzés készült a koponyasérülésekkel kapcsolatban. Rendkívül megnehezítette az elemzők munkáját, hogy hazánkban a kórházak kötelező adatszolgáltatási gyakorlatában a koponyasérülés ugyan külön kategória, azonban a sérült állapotának súlyosságát dokumentálni mind a mai napig nem

kötelező. Ennek eredményeképpen az így keletkező adatokból lehetetlen következtetéseket levonni pl. a súlyos koponyasérültek ellátásának színvonaláról. Ennek tükrében nem meglepő, hogy az első hazai elemzések a témában intézményi retrospektív kérdőíves felmérések alapján készültek 1997-ben és 2001-ben.

A 2001-es adatokra vonatkozó retrospektív kérdőíves tanulmánnyal párhuzamosan útjára indult egy esetlapokon alapuló három hónapos prospektív vizsgálat is, 2002 október elejétől 2002 decemberéig, mely a maga nemében napjainkig egyedülálló a súlyos koponyasérülések epidemiológiájának kutatásában Magyarországon. Összesen 266 beteg esetlapjai kerültek feldolgozásra. Ebből a számból kiindulva – a részt vevő intézmények koponyasérült ellátási részarányát, és az évszakonkénti ingadozásokat is tekintetbe véve – mintegy 1400 súlyos koponyasérültet feltételeztek évente hazánkban. (Továbbá, mivel mérvadó nemzetközi szakirodalmi adatok alapján a koponyasérültek aránya enyhe:közepesen súlyos: súlyos = 22:1,5:1 arányban oszolhat meg, ez alapján egy év alatt országosan mintegy 35 000 koponyasérülés feltételezhető.) A sérültek 67%-a volt férfi, 33%-a volt nő, 78%-át 60 év alattinak, 36%-át 40 éves kor alattinak találták. A nemzetközi adatokhoz hasonlóan 50% volt azoknak az aránya, akik más súlyos sérülést is szenvedtek, és 18%-os volt az izolált koponya-agysérülést szenvedők aránya. A súlyos koponyasérültek halálozását 55%-nak találták, de a felvételtkor közepesen súlyosnak és enyhének ítélt – majd az első 24 órában súlyossá váló (az összes sérült 20%-a) – koponyasérültek is 33%-os halálozást mutattak. Ezeket az első látásra talán megdöbbentő halálozási mutatókat némiképp árnyalja, hogy az összes bevont beteg mintegy 22%-a az élettel összeegyeztethetetlen elsődleges agysérülést szenvedett, és ennél fogva eleve moribund állapotban került kórházi felvételre. Noha - részint a vizsgálat három hónapos hosszának betudhatóan - mindössze a túlélő betegek 18%-áról tudtak kimeneteli adatokat gyűjteni, kiemelendő, hogy a túlélő betegek 40%-a perzisztáló vegetatív állapotban maradt, vagy súlyos maradványtüneteket mutatott, illetve a sérülteknek csupán 6%-a távozott az otthonába. A nemzetközi összehasonlításban kiemelkedően magas mortalitás mögött a szerzők egyrészt szervezési problémákat tártak fel mind a prehospitalis (a súlyos koponya-agy sérültek mintegy fele a sérülés után 1-2 órával került a végleges ellátóhelyre, azonban több mint 33%-uk 4 órán túl, és 20%-uk 16 óra után jutott el a definitív ellátást nyújtó kórházba) mind a hospitalis (a sérültek 37 %-a több mint 4 órával a sérülés után kerül az első CT vizsgálatra, 30 %-uknál csak 16 órán túl kerül sor az első CT vizsgálatra) ellátás során. Másrészt a mortalitáshoz nagyfokban hozzájárulhat a súlyos koponyasérülések ellátására vonatkozó nemzetközileg elfogadott irányelvek figyelmen kívül hagyása – döbbenetes adat, hogy (az esetlapok tanúsága szerint) a súlyos koponyasérültek mintegy 10%-ánál sem invazív sem non-invazív vérnyomásmérés nem történt.

2. A diffúz axonális károsodás

Baleseti agysérülések kapcsán pathoanatómiailag az elváltozások két széleskörű csoportja jöhet létre, úgymint fokális és diffúz kórképek. Az utóbbi csoportból alapvetően öt entitást különböztethetünk meg: a *diffúz axonális károsodást* (diffuse axonal injury; DAI), *diffúz neuron károsodást*, a *hypoxiás agykárosodást*, az *agyduzzadást*, és a rendkívül rapid lefolyású, emiatt csekély klinikai jelentőségű *diffúz vasculáris sérülést*. A kutatások jelen állása szerint is a diffúz elváltozások közül a DAI tartható a legjelentősebbnek.

Keletkezését tekintve a DAI kialakul minden olyan esetben, ahol a fejet hirtelen akcelerációt és decelerációt létrehozó erőbehatások érik. A klinikumban rendszerint úgy találkozunk a DAI-val, mint rossz prognózisú, általában súlyos tudatzavarral, ahol a legmodernebb képalkotó eljárásokkal is kizárható bármilyen térfoglaló folyamat s gyakran az intracranialis nyomásértékek sem emelkedettek.

Pathomechanizmusát tekintve a XX. század közepén évtizedeken át tartotta magát az a klasszikus nézet, hogy a DAI nem más, mint egy – a trauma pillanatában bekövetkező, pusztán mechanikus hatásra létrejövő – axonszakadás. Eszerint a baleset során fellépő erőhatásokra az axon elszakad, proximális szegmentuma visszahúzódik, ennek hatására

pusztán mechanikai okokkal magyarázhatóan egy axoplazma-labdácska („axonal retraction ball”) képződik, míg a distalis szakasz Waller szerint degenerálódik. Patológiailag ezen „retractiós ballon” kimutatása jelentette a DAI biztos diagnózisát.

Az első komoly kétely akkor merült fel e szemlélettel kapcsolatban, amikor Povlishock és munkatársai az 1980-as években macska motoros idegrendszerén ún. anterográd tracereket – vagyis olyan anyagokat melyek az anterográd axoplazmatikus transzporttal szállítódnak – alkalmazva bebizonyították, hogy röviddel a koponyatrauma után ezek a tracerek egyes axonokban fokális felhalmozódást mutatnak, majd a folyamat végeredményeként 3 és 12 óra közti posttraumás idő elteltével ezeken a helyeken a károsodott axonok elszakadnak. Mivel az ily módon pusztuló axonok egyebekben a DAI addig ismert patológiai képét mutatták, végérvényesen bebizonyosodott, hogy a trauma hatására elpusztuló axonoknak legalábbis tetemes része nem a trauma pillanatában szakad el, hanem egy hosszabb-rövidebb folyamat eredményeképpen. Napjainkra számos kísérlet - egy sor állatmodellen - bizonyítani látszik eme tézis igazságát, illetőleg humán szövetmintákon végzett immunhisztokémiai vizsgálatok szerint emberben is hasonló folyamatok zajlanak.

A jelenleg legszélesebb körben elterjedt, leginkább elfogadott mechanizmus az alábbi: A trauma során az axont nyíróerők érik, melyek a károsodott axonszakaszon rapidan egy axolemmális permeabilitási zavart eredményeznek. Eme „mechanoporáció” néven emlegetett elváltozás hatására a membrán átteresztővé válik bizonyos anyagok számára (pl.: tormagyökér-peroxidáz). Az említett permeabilitási zavar teszi lehetővé többek közt, hogy az extracelluláris és axolemmális terek közt fennálló kalcium koncentrációgrádiens kiegyenlítődjön, vagyis excesszív mennyiségű kalcium áramoljék a citoplazmába. Ez a későbbiek szempontjából kulcsfontosságú lépés. A folyamat sejtszinten/axonszinten négy fő pontban összefoglalható elváltozásokhoz vezet: *Neurofilamentumok kompakciója, mikrotubulusok számának csökkenése, mitochondriumok károsodása, axoplazmatikus transzportzavar*, mely a fentiek következményének is tekinthető.

Rágcsálókban a fenti elváltozásokat legmegbízhatóbban az ún. impakt akcelerációs (IA) vagy súly-ejtési modellekben tudjuk előidézni, melyek lényege, hogy az agytörzsben az axonkárosodást az alátámasztott fej tetejére ejtett súly hatására a craniocervicalis átmenetben létrejövő hirtelen flexio (a fehérállományi pályák megnyúlása) hozza létre. Annak ellenére, hogy a sérülés mechanizmusa alapján logikus volna, hogy a gerincvelőben is létrejöjjenek károsodott axonok, ilyen jellegű vizsgálatok alig történtek. Lighthall közvetlen agykérgi sértést kiváltó (controlled cortical impact; CCI) modellben, Hamberger pedig rotációs gyorsulási modellben írt le elszórta károsodott axonokat az agytörzs és a gerincvelő átmeneti szakaszán (cranio-cervicalis átmenet; CCJ). Emberben csak anekdotikus közlésként említi Shannon, hogy „megrázott gyermek szindrómában”, azaz „shaken baby syndrome” esetén a nyaki gerincvelőben károsodott axonokat látott.

A jelenség szisztematikus vizsgálatára mindeddig annak ellenére nem került sor, hogy az axonkárosodás esetleges kimutatása támpontot adhatna a humán esetek igazságügyi orvosszakértői boncolásának kiterjesztéséhez (gerincvelői szegmentumok részletes elemzése) illetve az axonszakaszok vongalódását követő axonkárosodás vizsgálata a spondyloitikus myelopathia illetve a centrális gerincvelő sérülés kórereditére vonatkozóan is újabb adatokkal szolgálhatna.

3. Kimenettel becslés (és nehézségei) súlyos koponyasérülések esetén

a, Felvételi paraméterek (illetve a kórházi felvétel utáni első 24 óra paraméterei) alapján

Napjainkban a nemzetközi szakirodalomban ezen a területen messze a legelismeretebb egy az IMPACT (International Mission for Prognosis And Clinical Trials) adatbázisra épülő Maas és munkatársai nevével fémjelzett – online prognózis kalkulátorral is rendelkező – kimenetelt becslő rendszer. Három – egymásra épülő – modellt fejlesztettek ki, amelyek a 6 hónapos mortalitást, illetve maradandó károsodást előrejelzik közepes vagy súlyos koponyasérültek esetében. A cél egy olyan prognózis modell kiépítése volt, amely a sérült

kórházi felvételekor rendelkezésre álló kórjelzőkre támaszkodva megbízható előrejelzést adhat. Fontos volt, hogy a prognózis modell csupa olyan felvételi adaton alapuljon, melyek lehetővé teszik a modell alkalmazását a beavatkozásokat megelőzően, hiszen így jelentős mértékben hozzájárulhat a korai klinikai döntés meghozatalához és elősegíti a különböző betegcsoportok maradandó sérüléseinek az összevetését is.

Az IMPACT adatbázist tulajdonképp 8 különböző randomizált kontrollált vizsgálatban (randomized controlled trial, RCT) és 3 leíró epidemiológiai tanulmányban részt vevő betegek adatainak összevonásával alakították ki. Végül 8509 14 évnél idősebb olyan sérült került a tanulmányba, akik 1984-1997 között szenvedték el súlyos illetve közepesen súlyos koponya-agysérülésüket ($GCS \leq 12$).

A kimenetel megítéléséhez a sérülés után 6 hónappal felvett Glasgow kimenetel skála (Glasgow Outcome Scale; GOS) értéket használták. A nemzetközi szakirodalomban leírt, és széleskörűen elfogadott GOS a sérülés következményeinek alapján 5 csoportot határoz meg: 1 → halál, 2 → vegetatív státusz, 3 → súlyos maradandó károsodás, 4 → közepsúlyos maradandó károsodás, 5 → jó felgyógyulás. Az értékelésnél a GOS 1. (halálozás) - GOS 2-5. (túlélés) előrejelzés és a kedvezőtlen GOS 1-3. és kedvező GOS 4-5. kimenetel közötti viszonyt vették figyelembe.

Három – egymásra épülő – prognózis modellt állapítottak meg:

- az **alapsmodell** (core) a következő paraméterekkel:
 - kor
 - GCS-motorikus válasz
 - pupilla reakció
- **kiterjesztett modell** (core+CT):
 - alapsmodell+
 - másodlagos károsodások: hypoxia, hypotensio
 - CT jellemzők (Marshall CT beosztás)
 - traumás subarachnoideális vérzés (tSAV) jelenléte/hiánya
 - traumás epiduralis vérzés (EDV) jelenléte/hiánya
- **laboratóriumi modell**: kiterjesztett modell+labor paraméterek (vércukor, Hgb)

b, Kimenetel becslés az elsődleges CT képeken látható elváltozások alapján

Jóllehet a fentiekben részletezett felvételi adatokon alapuló prognózis becslő rendszerek tartalmazzák az elsődleges CT képekre vonatkozó adatokat is, van létjogosultsága a csupán eme tényezőre alapozott prognózisbecslő eljárásoknak is, hiszen a klinikai gyakorlatban a felvételi CT nagyfokban meghatározza a terápiás döntést egy adott sérült esetén. A CT felvételeken látható elváltozásoknak sokáig nem tulajdonítottak megfelelő jelentőséget. Például bazális cisternák hiánya esetén a betegeket évtizedekig úgy kezelték, mintha CT felvételük negatív lenne, holott kimenetelük végül általában katasztrofális volt.

Marshall és munkatársai 1991-ben dolgoztak ki, egy hosszú ideig prognosztikai szempontból egyedülálló, nemzetközileg széles körben elfogadott és alkalmazott beosztást, mely a sérültek CT felvételein látható elváltozások típusán és súlyosságán alapult. A diffúz sérülés négy fő kategóriáját különítették el, elsődlegesen a makroszkóposan látható pathológia, a cisterna kompresszió, illetve a középvonal eltolódás mértéke alapján. Emellett további két kategóriát állapítottak meg a 25 cm³-t meghaladó, magas vagy kevert denzitású lézió eltávolítása alapján (1. táblázat). Több felmérésben vizsgálták a Marshall-féle beosztás prediktív értékét. Nemzetközi ajánlások szerint a beosztás a kimenetel egyik legerősebb előrejelzője.

2005-ben Maas és munkatársai publikáltak egy nagyobb lélegzetű vizsgálatot, mely a CT felvételeken látható elváltozások immáron elsődlegesen prognosztikai szempontból történő feldolgozását célozta meg. Célul tűzték ki, hogy a CT felvételeken látható elváltozások hatását vizsgálják a kimenetelre, hogy összefüggéseket találjanak a különböző

elváltozások közt, valamint az egyes elváltozások és egyéb kimenetelt befolyásoló faktorok közt.

Kategória	Definíció
Diffúz sérülés I. /Nincs látható eltérés/	Nincs látható eltérés a CT felvételen
Diffúz sérülés II.	Cisternák megtartottak 0-5mm középvonal eltolódással és/vagy: lézióra utaló denzitás jelen lehet, de nincs magas- vagy kevert denzitású lézió mely 25cm ³ -t meghaladná, esetleges csont fragmentumokkal vagy idegentestekkel együtt
Diffúz sérülés III. /Duzzadás/	Cisternák komprimáltak vagy hiányoznak 0-5mm középvonal eltolódással, 25cm ³ -t meghaladó magas- vagy kevert denzitású lézió nélkül
Diffúz sérülés IV. /Eltolódás/	Középvonal eltolódás > 5mm, 25cm ³ -t meghaladó magas- vagy kevert denzitású lézió nélkül
Eltávolított tömeges lézió	Bármely sebészileg eltávolított lézió
Nem eltávolított tömeges lézió	Magas- vagy kevert denzitású lézió mely 25cm ³ -t meghaladja, sebészileg nincs eltávolítva

1. táblázat A Marshall féle beosztás

A CT felvételeken látható elváltozások közül, a már vizsgált eltérések mellett egyéb kritériumokat is vizsgáltak és pontosítottak, pontosítva és átalakítva az eddigi beosztások által fontosnak tartott tényezőket. A középvonal eltolódás mértékét milliméteres kategóriákba sorolták, a kimenetelt további alcsoportokra osztották. Megvizsgálták az egyes elváltozások, majd a Marshall-féle klasszifikáció prognosztikai szerepét. A Marshall-féle beosztás elemeit átcsoportosították, kisebb csoportokat alkottak, emellett újabb elemekkel bővítették ki a kategóriákat.

Javította a becslőértéket a tSAV valamint a kamrába törő vérzés meglétének vizsgálata, illetve az eddig vizsgált változók közöttük a bazális cisternák állapotának, és a tömeges lézióknak a további alkategóriákra osztása (2. táblázat). A klinikai alkalmazhatóság megkönnyítése és egyértelművé tétele érdekében egy pontrendszert kapcsoltak az egyes kritériumokhoz, melynek segítségével számszerűsíthetővé vált a sérülés mértéke.

➤ Bazális cisternák	
• Normál tágasságú	0
• Szűkítettek	1
• Eltűntek	2
➤ Középvonal eltolódás	
• Nincs, vagy eltolódás ≤ 5mm	0
• Eltolódás > 5mm	1
➤ Epiduralis vérzés	
• Van	0
• Nincs	1
➤ Kamrába törő vérzés vagy tSAV	
• Nincs	0
• Van	1
* Az így kapott összeghez 1 pont hozzáadandó (az érték 1-6 közötti lesz)	

2. táblázat A Rotterdam-skála elemei

A klasszifikációt kiegészítve egyéb elemekkel, valamint individuális faktorokkal (kor, pupillák állapota) jobb becslését kapták a kimenetelnek.

c, Kimenetel becslés a központi idegrendszer szöveti károsodásának specifikus biomarkerei alapján:

Súlyos koponyasérülések prognosztikájában a harmadik lehetőség, az idegrendszeri károsodást specifikusan jelző biomarkerek beazonosítása, majd a későbbiek során diagnosztikus célú felhasználása. Ezen sokat kutatott területen, noha napjainkig számos ígéretesnek tűnő biomarkert sikerült beazonosítani: S-100 β protein, neuron specifikus enoláz (NSE), glial fibrillary acidic protein (GFAP), myelin bázikus protein (MBP), c-Tau protein, spektrin lebontási termékek stb., az igazi áttörés még várat magára.

II. Célkitűzések

1. Koponyasérüléshez társuló diffúz axonális károsodás kísérletes vizsgálata

- A diffúz axonális károsodás mértéke és az azt kiváltó energia összefüggésének leírása
- Az akcelerációs - decelerációs mechanizmussal kialakuló koponyasérüléshez társuló, távoli (gerincvelői) DAI jelenségének igazolása
- A gerincvelői DAI és az azt kiváltó, a koponyára ható mechanikai energia összefüggésének vizsgálata
- A szelektív calpain-inhibitor MDL-28 170 hatásának elemzése: az axonális membrán-permeabilitási zavar gátlásának vizsgálata

2. A Pécsi Súlyos Koponyasérült Adatbázis létrehozása és feldolgozása

- Prognosztikai faktorok azonosítása súlyos koponyasérültek ellátása során
- Elsődleges CT vizsgálatokon látható elváltozások halálozást befolyásoló szerepének meghatározása, ezzel egyidejűleg a Marshall-féle beosztás; Rotterdam score alkalmazhatóságának és prediktív erejének vizsgálata a hazai betegpopulációban.

III. Anyagok és módszerek

1. Koponyasérüléshez társuló diffúz axonális károsodás kísérletes vizsgálata

a, Koponyasérülés előidézése

Az értekezés alapjául szolgáló kísérletekhez 300-400 g Wistar (Charles River, Budapest) patkányokat használtunk. Műtét előtt a patkányokat egy plexiből készült dobozban 4% isoflurán (Forane, Abott, Magyarország), 70% N₂O és 30% O₂ keverék segítségével elaltattuk majd 0 méretű Miller laryngoscope lapoc és méretre vágott szilikon tubus alkalmazásával orotrachealisan intubáltuk. A műtét ideje alatt az állatokat folyamatos altatásban tartottuk (1,5-2% isoflurán, 70% N₂O és 30% O₂ keveréke) Ohmeda Tec 4 Anesthetic Vaporizer-hez (Ohmeda Inc., Madison, WI) csatlakoztatott altatógép segítségével (Inspira ASV, Harvard Apparatus, USA). Az állatok szövettani feldolgozása előtt a peritoneum üregébe juttatott nátrium-pentobarbitál-túladagolással értünk el szívmegállást („túlaltatás”), majd fixálószeret tartalmazó oldattal transzkardiálisan perfundáltuk.

A Marmarou és Foda által leírt impakt akcelerációs (IA) koponya trauma modell diffúzan elszórt, a koponya sérülés hatására károsodott axonok kialakulását idézi elő elsősorban a hosszúpályák agytörzsi szakaszán (tractus corticospinalis (TCSp) medulláris szakasza, a decussatio pyramidorum, lemniscus medialis (LM) és a fasciculus longitudinalis medialis (FLM) nyúltvelői szakasza), anélkül, hogy társuló fokális sérülés kialakulna. A

műtét során a patkány fejét sztereotaxiás készülékben rögzítettük, majd borotválás és fertőtlenítés után a fejbőrön hosszanti metszést ejtettünk, hogy a Lambda és a Bregma varratok közötti koponyafelszint szabadabbá tegyük. E két varrat közé a középvonalban egy rozsdamentes acélból készült fémkorongot (átmérő: 10 mm, vastagság: 5 mm) rögzítettünk cianoakrilát segítségével. Ezt követően a standard fej- és testtartó szivacsra helyeztük az állatot, ahol szíjjakkal rögzítettük, majd az említett fémkorongra 450 g tömegű súlyt ejtettünk különböző magasságból a Marmarou-féle IA készülék plexi-csővéen át. A koponyasérülés létrehozása után a fémkorongot eltávolítottuk, majd megvártuk, míg a spontán légzés vissza nem tért. Ha a spontán légzés 20 másodperc múlva sem tért vissza, akkor az állatot ismét intubáltuk és 100% O₂-nel lélegeztettük felébredésükig. Koponyacsont-törés esetén az állatot a további kísérletekből kizártuk.

b, Kísérleti elrendezés

A diffúz axonális károsodás mértéke és az azt kiváltó energia összefüggésének leírását célzó kísérleteink esetében három súlyossági fokozatot alkalmaztunk, úgymint 0,5 m, 1 m és 1,5 m magasság a Marmarou-féle modellben. Minden súlyossági kategóriában alapvetően három különböző túlélési idővel számoltunk: 0,5 h, 1 h, 2 h. A legsúlyosabb sérülés kategóriájában külön vizsgáltuk a 6 h-s túlélést is. Kontrollként 2 sérülést nem szenvedett állat szolgált. Minden csoportban 6 állatot vizsgáltunk.

A gerincvelőben történő diffúz axonális károsodást vizsgáló kísérleteink esetében két különböző trauma súlyossági fokot alkalmaztunk, 1 m és 2 m magasság a Marmarou-féle modellben. Ez esetben is mindkét súlyossági kategória esetén három különböző túlélési időt vizsgáltunk: 2 h, 6 h, 24 h. Minden csoportban 5 állatot vizsgáltunk (csoportonként 1 állat sérülés nélküli kontrollt jelentett).

A szelektív calpain-inhibitor MDL-28 170 hatásának elemzését célzó kísérleteinknél 4 állat részesült MDL-28 170 kezelésben, 4 állat vivőanyagot és traumát kapott, 3 állat szolgált sérülésmentes kezeletlen kontroll gyanánt. Minden trauma egységesen 2 m magasból történt a Marmarou-féle modellben. A túlélési idő szintén egységesen 2 óra volt.

c, Immunhisztokémia – diffúz axonális károsodás kimutatására

A beta-amyloid precursor protein (APP) az úgynevezett gyors anterográd axoplazmatikus transzport segítségével mozog, ennek következtében felhalmozódik az axonkárosodás által érintett szakaszokon. Napjainkban az anti-APP immunhisztokémia a DAI egyik legszélesebb körben alkalmazott kimutatási módja. Elsődleges antitest gyanánt nyúlban termeltetett anti-APP-t, → másodlagos antitestként biotinilált anti-nyúl antitestet alkalmaztunk. A munka egy nemzetközileg leírt és elismert protokoll alapján zajlott.

d, Hisztokémia – tormagyökér peroxidáz kimutatása – MDL-28 170 hatását vizsgáló kísérletünknél

A tormagyökér peroxidázt (HRP; Sigma Aldrich Hungary) egy órával a koponyasérülés előidézését megelőzően, már altatott és stereotaxiás készülékben rögzített koponyájú állatban az oldalkamrába injektáltuk (Stoelting stereotaxiás készülék, Paxinos-Watson stereotaxiás patkány- agy- atlasz, koordináták: a Bregma craniometriás pont mögött 1 mm, lateralisán 1,5 mm és az agyfelszíntől 3,5 mm mélyen).

Az MDL-28 170-et – mely az Aventis Pharmaceuticals ajándékaaként állt rendelkezésünkre – egyszeri, fark-vénába adott 30 mg/kg bólus-adagban alkalmaztuk.

A feltételezett axolemma károsodás miatt HRP-t felhalmozó axonszakaszok kimutatására a fent leírtak szerinti transzkardiális perfúzióhoz 2% paraformaldehid és 2,5% glutáraldehid 0,1 M Millionig-pufferben képzett oldatát használtuk. Az agytörzs előkészítését követően 50 µm-es vibratom metszeteket készítettünk, és a szövetekben kötött peroxidázt a cobalt glucose oxidase módszerrel tettük láthatóvá.

e, Digitális képanalízis

A tárgylemezre húzott metszetek víztelenítése és lefedése után azokat egy SPOT-RT 2.2.1 (SPOT Diagnostic Instruments Inc.) digitális kamerával felszerelt Nikon Eclipse 600 fotómikroszkóppal elemeztük, digitális felvételeket rögzítettünk. Az eredmények kvantitatív feldolgozása minden kísérlet során vak módszerrel történt, a vizsgált minták eredetét illetően tájékozatlan közreműködő bevonásával. A vizsgálatokat NIH IMAGE J, valamint IMAGE-PRO PLUS 5.0.1 képelemző programok alkalmazásával végeztük.

A koponyasérülés kiváltotta diffúz axonális károsodás illetve a gerincvelői axonkárosodás elemzésekor a medulláris pyramis területén két, egyenként $40\,000\ \mu\text{m}^2$ -es rácsot vetítettünk a NIKON 600-as mikroszkóp és SPOT-RT 2.2.1 digitális kamera segítségével $50\times$ -es nagyításon felvett képre, (NIH IMAGE J) s az összes típusos immunpozitív axon-profilok leszámoltuk, míg az FLM területén egy $25\times$ -ös nagyításon felvett képre vetülő $160\,000\ \mu\text{m}^2$ -es rácsban végeztünk hasonló számolást. Ugyanezt végeztük el a CCJ szegmentum területén is. A gerincvelő cervico-thoracalis (C-Th) átmenetének területén állatonként hat, rendszerezetten gyűjtött metszetben a $2\ \mu\text{m}$ -nél nagyobb átmérőjű axon-profilokat számoltuk meg egy $160\,000\ \mu\text{m}^2$ -es rácsban, melyet úgy vetítettünk a digitális fényképre, hogy a legtöbb károsodott axont foglalja magában. Az eddig leírt esetekben ezt követően meghatároztuk az $1\ \text{mm}^2$ -re eső immunpozitív axonok számát – az úgynevezett axondenzitást. A gerincvelő thoraco-lumbalis (Th-L) szakaszán hasonló módon jártunk el, itt azonban nem a fent leírt denzitás-meghatározási módszert követtük, hanem – az immunreaktív axonok alacsony száma miatt – az egy adott látótérben detektált összes jelölt axon számát határoztuk meg.

Az MDL-28 170-re vonatkozó kísérletek esetében a permeabilitási vizsgálatoknál meghatároztuk a kijelölt rácsba eső HRP-jelölt axonok átlagos hosszát, vastagságát minden egyes kísérleti állat esetében.

f, Statisztikai analízis

Statisztikai vizsgálatainkat SPSS 11.5 szoftver alkalmazásával végeztük. A szignifikáns különbség határértékét minden esetben $p < 0,05$ -ben határoztuk meg. A diffúz axonális károsodás mértékét és az azt kiváltó energia összefüggésének leírását célzó kísérleteinknél az axolemma károsodás következtében HRP-t felvevő axonok hosszának és vastagságának elemzése során Student-t tesztet használtunk. Míg a gerincvelői diffúz axonális károsodás vizsgálatánál a károsodott axonok denzitás (mm^2 -re vonatkoztatott jelölt axonszám) értékeinek kvantitatív összehasonlítására Scheffe-féle posthoc többváltozós analízissel kiegészített ANOVA segítségével került sor. A trauma súlyossággal és a túlélési idővel való összefüggés vizsgálatok regressziós analízist is végeztünk.

2. A Pécsi Súlyos Koponyasérült Adatbázis létrehozása és feldolgozása

a, Prognosztikai faktorok azonosítása súlyos koponyasérültek ellátása során

A PTE ÁOK, majd KK Regionális Kutatásetikai Bizottság által engedélyeztetten a Pécsi Súlyos Koponyasérült adatbázis 2002 júniusában indult útjára azzal a céllal, hogy a klinikai epidemiológiai kutatásokhoz illetve a betegek követéséhez használható információs bázist teremtsen és az ellátás-, az alkalmazott protokollok auditálását szolgálja. 2008 decemberének végéig 305 súlyos koponyasérült adatai kerültek a rendszerbe, közülük 71 volt nő és 234 férfi. Koponyasérülés az anamnézisben illetve az úgynevezett nem sebészi reszuszcitáció utáni $\text{GCS} \leq 8$ képezte a bekerülés fő kritériumait. (Ez egyébként megegyezik a súlyos koponyasérülés napjainkban világszerte elfogadott definíciójával.)

Az adatbázisban rögzített adatainkat három fő csoportba sorolhatjuk:

- A kórházi felvételkor már – vagy rövid idővel utána – rendelkezésre álló adatok: életkor, nem, felvételi GCS, sérülés típusa (elesés, közlekedési baleset, egyéb), alkoholos befolyásoltság, polytraumatizáció, első mért intracranialis nyomás

(intracranial pressure; ICP) érték, első mért artériás középnyomás (mean arterial blood pressure; MABP) érték, első mért pCO₂ és pO₂ értékek, coagulopathia, a felvétel időpontja (hétköznap – hétvége, munkaidő – ügyelet).

- Elsődleges ellátással kapcsolatos paraméterek: kamradrain alkalmazása, operáció típusa, operáció időpontja (hétköznap – hétvége, munkaidő – ügyelet).
- Hosszútávú kezelés adatai illetve monitorozott paraméterek: intenzív osztályon töltött napok száma, bakteriális szövődmény fellépése (pozitív liquorlelet vagy haemokultúra), monitorozott adatokból származtatott paraméterek: órák száma, amikor ICP>20 Hgmm; órák száma, amikor MABP<90 Hgmm; órák száma, amikor pCO₂<30 vagy >45 Hgmm; órák száma, amikor pO₂<60 Hgmm.

Statisztikai analíziseinket SPSS 11.5 szoftver segítségével végeztük. A legfőbb alkalmazott módszer az egy- illetve többparaméteres logisztikus regresszió volt.

b, Elsődleges CT-képek elemzése

A felvételnél készülő elsődleges CT vizsgálatok elemzése során 99 súlyos koponyasérült (nem sebészi reszuszcitáció utáni GCS≤8) CT vizsgálatait és túlélési adatait vetettük egybe. Negyvenhat esetben hagyományos CT felvételek kiértékelésére volt lehetőség, ötvenhárom esetben digitális képek számítógépes analízise történt DicomWorks 1.3.5 szoftverrel. Minden esetben a kórházba kerülés utáni – súlyos koponyasérültek esetén rutinszerűen készülő – legelső CT vizsgálat felvételeit tanulmányoztuk, hogy ily módon elkerüljük a másodlagosan kialakuló és az esetleges sebészi tevékenység következtében létrejövő elváltozások zavaró hatását. A Marshall-féle beosztás valamint a Rotterdam score megállapításán túl számos további, – klinikai tapasztalatok szerint a koponyaűri nyomásfokozódás indirekt jeleként értelmezhető – elváltozást elemeztünk. Ilyenek voltak többek között: contusiós vérzés; oedema részleges/generalizált; epiduralis vérzés; impressziós törés; intracerebralis vérzés; kamrába törő vérzés; petechiás vérzés; subarachnoidealis vérzés; subduralis vérzés; cisterna kompressziója/hiánya; középvonaltól eltolódás; plexus choroideusok és corpus pineale szimmetriája. Dicommal elemezhető eseteinknél emellett vizsgálatra került a contusiós vérzés térfogata (cm³); epiduralis vérzés térfogata (cm³); intracerebralis vérzés térfogata (cm³); subduralis vérzés térfogata (cm³); vérzések össz-térfogata (cm³).

Adataink statisztikai feldolgozásához ugyancsak egy- illetve többparaméteres logisztikus regressziót alkalmaztunk SPSS 11.5 szoftver segítségével.

IV. Eredmények és megbeszélés

1. A diffúz axonális károsodás mértéke és az azt kiváltó energia összefüggésének vizsgálata

Fénymikroszkópos vizsgálattal minden egyes túlélési és súlyossági csoportban jól láthatók a piramispályában (tractus corticospinalis; TCSp) elszórtan a körülírt immunpozitivitások. Az immunfestés az APP-IR axonok korábbi vizsgálatokban megismert megjelenését eredményezte: duzzadt, axonballon-szerű alakzatokban jelent meg az immunpozitivitást jelző DAB-csapadék. Patomorphológiailag semmiféle különbség nem volt tapasztalható az egyes túlélési idők, illetőleg a különböző súlyosságú trauma hatására létrejövő elváltozások között. Ránézésre is feltűnő volt azonban, hogy az egyébként hasonló megjelenésű IR-okból relatíve kevesebb látható enyhébb trauma, vagy rövidebb túlélési idő esetén ugyanakkora területen.

Statisztikai analízisünket tekintve, először kiszámítottuk az egyes traumásúlyossági és túlélési időcsoportok axondenitálásának átlagait (3. táblázat). Jól látható, hogy minél súlyosabb traumát szenvedett egy állat, illetve minél tovább élt túl, átlagosan annál több axon mutatott APP-jelölődést.

Következő lépésként két-két állatcsoport adatait összevetve független kétmintás t-próbákat végeztünk. Megállapítottuk, hogy minden egyes trauma súlyossági fokozat axondenzitás értékei közt statisztikailag is szignifikáns különbség mutatkozik. Az egyes túlélési idő csoportok esetében azonban, noha jól látható a határozott tendencia, miszerint az APP-vel jelölődő axonok száma egyre növekszik a trauma után eltelt idővel, statisztikailag szignifikáns eltérés csupán a 6 órát túlélt állatok adatait vizsgálva mutatkozik, melyek szignifikánsan magasabbak mind a 0,5, mind az 1 órát túléltekénél.

		A trauma súlyossága		
		0,5 m	1 m	1,5 m
Túlélési idő	0,5 h	58,21±9,16	125,17±15,22	247,17±31,56
	1 h	126,05±40,66	216,33±20,96	272,08±74,68
	2 h	171,37±57,88	328,83±52,10	399,17±139,92
	6 h	-	-	540,88±90,15

3. táblázat: Az egyes állatcsoportok axondenzitásának átlagértékei (átlag±szórás, mean±SD)

Összefoglalva, statisztikai eredményeink egyértelműen alátámasztják, hogy annál drámaibb axonpusztulást detektálhatunk minél súlyosabb az azt előidéző trauma, és minél hosszabb idő telt el.

Fénymikroszkópos eredményeink azt mutatják, hogy enyhe koponyatrauma esetén is ugyanolyan morfológiájú axonális károsodás zajlik le az agyban, mint súlyos trauma esetén. Különbség csupán a károsodott axonok számában mutatkozik. Külön jelentőséget tulajdoníthatunk annak a megfigyelésnek, hogy sem a közepes súlyosságú, sem az enyhe koponyatrauma esetén nem tapasztaltunk neurológiai eltérést, sem a súlyos sérülésnél, észlelhető poszttraumás epilepsziás görcsök sem a légzés leállása nem volt tapasztalható. A 0,5 m-es magasságból kiváltott trauma olyan enyhe behatást jelent kísérleti modellünkben, mellyel kapcsolatos megfigyelések alapot adhatnak arra az első hallásra talán meghökkentő és tényekkel nehezen alátámasztható feltételezésre, hogy akár hétköznapi életünk minor fejtraumái is okozhatnak morfológiailag kimutatható axonális károsodást. Ez a provokatív feltételezés a jövőben még egy sor morfológiai és funkcionális kutatást igényel különféle fajokban, de helyességét már több korszerű képalkotó vizsgálaton alapuló tanulmány is alátámasztja.

Vizsgálatainkkal sikerült a Marmarou modell olyan, jól reprodukálható, relatíve szűk szórással alkalmazható, módosítását elkészíteni, mely alkalmas a „minor koponyatraumák” során vélhetően fellépő diffúz axonális károsodás vizsgálatára, s így a minor koponyatraumák kiváló kísérletes modelljéül szolgálhat.

Statisztikai következtetéseinket tekintve egyértelműen igazoltuk, hogy – jóllehet már nagyon enyhe trauma is károsít axonokat – a diffúz axonális károsodás kialakulása függ a kiváltó trauma súlyosságától, vagyis súlyosabb trauma nem okoz minőségileg más elváltozást, viszont a pusztuló axonok száma meredeken nő.

Eredményeink ismételten igazolják, hogy a diffúz axonális károsodás progresszív folyamat: minél több idő telik el a traumát követően, annál több axon válik APP-immunpozitív, vagyis mutatja a DAI egyértelmű jelét.

Ugyanebből következik viszont, hogy a röviddel a trauma után csak nagyon enyhe elváltozásokat mutató, ám később egyértelműen, súlyosan sérülő axonok tetemes része nem jelölődik APP-ellenanyaggal a korai szakaszban. Ily módon, aki közvetlenül a trauma után alkalmaz APP jelölést, súlyosan alábecsülheti a ténylegesen kialakuló kórkép súlyosságát. Emiatt a közeljövőben szükségesnek tartjuk, hogy történjenek hasonló vizsgálatok az APP

akkumulációt megelőző citoskeletális elváltozás markereivel is. Mivel ezen markerek irodalmi adatok szerint jóval korábban jelzik a károsodott axonokat, alkalmazásuk részint bepillantást nyújthatna az axonokban közvetlenül a trauma után zajló folyamatokba, másrészt pedig új, megbízhatóbb eljárást jelenthetne a DAI mértékének megítélésére röviddel a trauma után.

2. Koponyasérüléshez társuló gerincvelői diffúz axonális károsodás

A diffúz axonális károsodásra vonatkozó korábbi vizsgálatok felvetették annak lehetőségét, hogy a klinikai tünetek (átmeneti légzésleállás, görcsroham, agytörzsi reflexek átmeneti kiesése) nélküli, enyhe koponyasérülés esetén is jöhetnek létre immunhisztokémiai vizsgálatokkal detektálható, károsodott axonok. Előzetes kísérletes vizsgálatainkban erre a kérdésre kerestük a választ, amikor összesen 36 állatot tettünk ki IA koponyasérülésnek. Az állatok 1-1 harmadában a szokványos 2 m helyett 50, 100, 150 cm-ről alkalmaztuk a 450 g tömegű súlyt a fentiekben leírt kísérleti beállításban. Az állatok arányos csoportjának agyát 30, 60, 120 perc után dolgoztuk fel a már leírt módon, meghatározva az APP-IR axonok denzitását a TCSp-ban.

A fénymikroszkópos elemzés során már harminc perc elteltével a TCSp területén a típusos APP-IR axon-szegmenseket láttuk, a károsodott, jelölt axonok száma és a rajtuk látható alaktani jegyek az eltelt idővel arányosan a sérülés progresszióját mutatták, ugyanakkor kvalitatív vizsgálataink során – összhangban korábbi kísérleteinkben tett megfigyeléseinkkel – nem találtunk érdemi morfológiai különbséget az eltérő nagyságú mechanikai hatás következtében APP-IR-t mutató axonszakaszok között.

Az adatok elemzése azt mutatta, hogy a diffúz axonális sérülést kiváltó tárgy tömegével arányosan nőtt az axonkárosodás mértéke: az APP-IR axonok száma $42,2 \pm 5,4$ (átlag \pm SD/mm²) 0,5 m, $194 \pm 26,6$ 1 m és $430,8 \pm 64,2$ 1,5 m magasság esetén; hasonlóan, közel szignifikáns összefüggés mutatkozott az axonkárosodás mértéke és a kiváltó noxa közt eltelt idő vonatkozásában: az APP-IR axon-szegmensek átlagos denzitása $170,6 \pm 42,5$ (átlag \pm SD/mm²) 30-, $210 \pm 57,6$ 60-, és $280,7 \pm 79$ 120 perccel a trauma után.. Az összefüggést a regressziós analízis még inkább alátámasztotta: az APP-IR axonok átlagos denzitása és a túlélési idő közti összefüggés esetében a p érték 0,017-nk adódott, míg a sérülés súlyosságánál p 0,001 volt, miközben az r értéke 0,52.

A gyorsulásos-lassulásos koponyasérülés kiváltotta gerincvelői DAI kvalitatív fénymikroszkópos elemzése során a DAI a már ismert agytörzsi pálya-szakaszokon (TCSp, FLM, LM) IR axon-szakaszok kialakulásában jelentkezett, az APP jelölés elsősorban duzzadt, immunjelölt-, időnként feltöredezett, elszakadt szegmenseken, az RMO-14 jel pedig lobulált, vacuolizált, és szintén gyakran elszakadt szegmenseken volt megfigyelhető.

A craniospinális átmenet területén a TCSp tartalmazta elsősorban az IR-axonokat, míg a C-Th és a Th-L szakaszon döntően a hátsó kötélt és ritkán az elülső columna. Az axonok e szakaszokon döntően a citoskeletális károsodás markerével jelölődtek, mely morfológiailag az agytörzsből leírt RMO-14-IR-al teljesen megegyezően jelentkezett, ugyanakkor, a jóval kisebb számban detektált APP-IR axonszakaszok a gerincvelőben meglepő módon elsősorban az RMO-14-IR társaikra hasonló lobulált, vacuolizált megjelenést mutattak.

A kétoldalas ANOVA elemzés (Scheffe-féle post-hoc elemzéssel kiegészítve) azt mutatta, hogy a károsodott –IR- axonok denzitása mind a sérüléstől eltelt idővel, mind pedig a kiváltó noxiával (súly/ejtési magasság) arányosan nőtt. Egy-, illetve két méterről ejtve a 450 g súlyt, illetve 2-, 6-, 24 óra túléléssel a TCSp-ben és az FLM-ben a p értékek az alábbiak szerint alakultak: a TCSp: $2,2 \times 10^{-17}$ APP-vel és $7,1 \times 10^{-12}$ RMO-14-el, az FLM: $1,4 \times 10^{-6}$ APP-vel és $2,7 \times 10^{-17}$ RMO-14-el. Kettő- és hat órás túlélés közt ismét szignifikáns változás állt be: $p=1,5 \times 10^{-4}$ a TCSp-ben APP-IR-al, ugyanakkor nem volt szignifikáns változás a 6 és 24 órás túlélési idő közt.

A közepesen súlyos/súlyos traumát elszenvedett (2 m ejtési magasság) csoportban az RMO-14-IR sérült axonok denzitása minden esetben szignifikánsan nagyobb volt, mint az APP-IR axonoké, különösen az FLM-ben ($p=1,08 \times 10^{-9}$) Az alacsonyabbnak adódó denzitási értékektől eltekintve hasonló megfigyeléseket tettünk a cervico-thoracalis régióra vonatkozóan is. E területen a károsodott, IR axonok denzitása maximumát hat órával a trauma után érte el, ($p=0,006$ 2 és 6 óra közt APP esetében), ráadásul itt az axon-károsodás mértéke és a kiváltó noxa közti kapcsolat még nyilvánvalóbb volt: $p=7,1 \times 10^{-10}$ 1 m és 2 m ejtési magasság közt APP, és $p=3,15 \times 10^{-10}$ RMO-14 esetében. Az RMO-14-IR axonok denzitása a vizsgált szakaszon is szignifikánsan magasabb volt, mint az APP-IR axonoké ($p=7,5 \times 10^{-6}$).

A Th-L átmenetben enyhe sérülés (1 m) esetén gyakorlatilag nem találtunk immunreaktív axon szakaszt, ugyanakkor súlyosabb sérülés (2 m) esetén az RMO-14 IR axon-szegmensek abszolút száma szignifikánsan magasabbnak bizonyult az APP-IR-nál ($p=1,32 \times 10^{-6}$), s mindkét immunfestés esetében a legtöbb károsodott axont 6 órával a sérülés után tudtuk megszámlálni.

Az enyhe koponyasérüléssel kapcsolatos legfrissebb klinikai vizsgálatok modern képalkotó eljárások alkalmazásával mind több példát hoznak fel arra, hogy az akut szakban klinikai tüneteket nem okozó, később ugyanakkor akár tartós egészségkárosodásra és életminőség romlásra vezető „minor koponyasérülés” esetén az agyállományban szerkezeti eltérések detektálhatók: diffusion tensor imaging (DTI) során frakcionált anizotrópia vizsgálattal illetve susceptibility weighted imaging-el (SWI) DAI közvetett illetve közvetlen jelei fedezhetők fel az agyállományban.

E klinikai jelenséget modellezik a fent részletezett állatkísérletes vizsgálataink eredményei is, melyekben az IA koponyasérülést kiváltó súly és magasság csökkentésével minden nemű klinikai tünet (légzésleállás, epilepsziás roszullét) nélkül is előidézünk – méghozzá az alkalmazott sérülés intenzitásával és az attól eltelt idővel arányos – diffúz axonális károsodást.

E megfigyelés különösen felértékeli a diffúz axonkárosodást izoláltan előidéző IA-koponyasérülési modellben tett kísérletes terápiás észleléseinket: nem zárható ki, hogy az enyhe koponyasérültek MRI-vel és esetleg biomarker-vizsgálatokkal azonosított rizikócsoportjaiban az általunk állatkísérletekben pozitív eredménnyel kipróbált terápiás modalitások a későbbiekben klinikai kipróbálásra is kerülhetnek.

Külön jelentőséggel bír a gerincvelőben koponyasérülés kísérőjelenségeként észlelt DAI. Miközben az IA modellben a sérülést előidéző, agytörzsi vongalódásra vezető gyors cranio-cervicalis flexió következtében logikusan feltételezhető, hogy a gerincvelő felső szakaszán károsodott axonszakaszokat találunk, hasonló jelenség a cervico-thoracalis átmenetben meglepő, a thoraco-lumbalis területen pedig teljességgel váratlan.

Az észlelt axonkárosodás magyarázata vélhetően részben abban rejlik, hogy a gerincvelő a ligamentum denticulatumoknál illetve a kilépő gyökök területén rögzített helyzetben van, tehát a cranio-cervicalis átmenetben bekövetkező extrém flexió hatására teljes hossza – a kiváltó noxától való távolsággal fordított arányban - vongalódik. Ugyancsak szerepet játszhatnak a gerincvelői DAI kiváltásában azok a „lökéshullámok”, melyek a fejtetőre eső tárgy illetve a fenti vongalódás következtében generálódnak.

Az igazságügyi orvos szakértői gyakorlatban a megrázott csecsemő szindróma („shaken baby syndrome”) esetében eddig érdemben nem vizsgálat spinális DAI elemzése szükségességének alátámasztásán túl vizsgálataink a centrális gerincvelő szindróma és a spondylos myelopathia kialakulásának keletkezésével kapcsolatban is figyelem felhívó adatokat szolgáltatnak.

Bár évek óta tudjuk, hogy a hosszú ideig vasculáris eredetűnek feltételezett, haemorrhagiás nekrozissal magyarázott, idős spondylos betegek arca esésekor hyperextensio mechanizmussal létrejövő centrális gerincvelő lézió hátterében nem haematomyelia, hanem elsősorban axonális lézió áll, olyan modellt, mely a fenti jelenséget akár részben magyarázná, nem írtak le. Eredményeink ismeretében joggal vetődik fel, hogy az

időskori, gerincvelőt komprimáló spondyloticus peremeknek megfelelően a gerincvelő megtörhet és flexió-, főként pedig extenzió-disztrakció hatására vongálódhat. Ez a jelenség acutan is létrejöhet, nagy kiterjedésű, diffúz axonkárosodást eredményezve (centrális gerincvelő szindróma) de krónikusan fennállva is fokozatos, kiterjedt axonkárosodást eredményezhet (spondyloticus myelopathia).

3. A szelektív calpain-inhibitor MDL-28 170 hatásának elemzése: az axonális membrán-permeabilitási zavar gátlásának vizsgálata

Az 1 ml vivőanyagban feloldott 30 mg/kg MDL-28 170-el illetve önmagában a vivőanyaggal 30 perccel a diffúz koponyasérülés kiváltását megelőzően farok vénán át bolus injekcióban kezelt patkányok (4-4 állat) agytörzsi metszeteinek hisztokémiai feldolgozása után végeztünk fénymikroszkópos megfigyeléseket.

Vizsgálataink során megállapítottuk, hogy fiziológias körülmények között az axon ép membrán-rendszerén át nem jutó tormagyökér-peroxidáz molekulák a sérülést követően mind a TCSp mind pedig a FLM területén számos axonba bekerültek.

A kvalitatív vizsgálattal valószínűsíthető volt, hogy a gyógyszeresen kezelt állatok esetében jóval rövidebb axonszakaszok jelölődtek a TCSp területén, mint a vivőanyaggal kezelt állatok esetében. Bár a jelölt axonok alaki megjelenésében számottevő egyéb különbség nem volt, a vivőanyaggal kezelt állatok gyakrabban tűntek hólyagosnak „vacuolizáltak”, ami a proteolyticus folyamatok előrehaladott voltára utal. Az is nyilvánvaló volt, hogy az FLM területén vastagabb axonszakaszok jelölődtek, mint a TCSp-ben.

A digitális adatelemzés és statisztikai feldolgozás igazolta, hogy a tormagyökér-peroxidázt halmozó jelölt axonszakaszok hossza szignifikánsan rövidebb a gyógyszeresen kezelt állatokban a TCSp-ban ($48,1 \pm 3,4 \mu\text{m}$ illetve $84,2 \pm 5,2 \mu\text{m}$ [$t=2,57$, $df=6$, $p<0,04$]), ugyanakkor érdemi változást az FLM területén nem mutat ($120,1 \pm 10,1 \mu\text{m}$ illetve $120,4 \pm 6,2 \mu\text{m}$). Bár a vivőanyaggal kezelt állatokban mind a TCSp-ban, mind pedig a FLM-ban vastagabbnak adódott a tormagyökér-peroxidáz jelölt rostok átmérője, mint a gyógyszert is kapott patkányok esetében, e különbség nem érte el a statisztikailag szignifikáns mértéket ($2,5 \pm 0,1 \mu\text{m}$ a TCSp és $4,9 \pm 0,3 \mu\text{m}$ az FLM területén MDL-28 170 kezelés esetén, illetve $2,9 \pm 0,2 \mu\text{m}$ a TCSp és $5,8 \pm 0,3 \mu\text{m}$ az FLM területén vivőanyag kezelt állatokban).

E vizsgálat eredménye arra utal, hogy a sérülés során a DAI-t kiváltó gyorsulás-lassulás hatására vongálódást és nyírást elszenvedő axonok membránjának sérülése (ún. „mechanoporáció”) következtében a tormagyökér peroxidáz beáramlott az axonokba, jól jelezve azokat a területeket, ahol a permeabilitási zavar következtében calpain aktiválódás feltételei fennállhattak. A trauma előtt adott calpain inhibitor az axolemmális permeabilitási zavar másodlagos (elgondolásunk szerint döntően calpain-mediált spectrin proteolysissel magyarázható) generalizálódását, azaz a permeabilitási zavar által érintett axonszakasz hossz-növekedését gátolta. Azt, hogy ez a gátló hatás az FLM területén miért nem volt mérhető, nem tudjuk egyértelműen megmagyarázni; feltételezésünk szerint a vastag axonokon kialakult pórusok mérete alapján már eleve olyan mennyiségű HRP áramlott az axon-cylinderbe, mely meggátolta az érdemi változás detektálását illetve az sem zárható ki, hogy a vastagabb axonokban az FLM területén lassabban generalizálódott a permeabilitási zavart is fokozó calpain mediált fehérjebontás.

4. Prognosztikai faktorok azonosítása súlyos koponyasérültek ellátása során

A Pécsi Súlyos Koponyasérült adatbázisba 2002 júliusától 2008 decemberének végéig 305 súlyos koponyasérült adatai kerültek. Életkoruk átlaga $52,32 \pm 19,96$ évnek adódott. Közülük 71 volt nő és 234 férfi.

Betegeink elsődleges kórházi mortalitása rendkívül magas, 44,26%-os volt. Ugyanezen 305 beteget utánkövetve a hat hónapos halálozás 69,18%-nak adódott.

A sérülések okainak megoszlása: leggyakoribb az esés/elesés 51,48% második leggyakoribb a közúti baleset 27,54%, 3,93% bántalmazás, 3,6% főbe lövés, 13,44% egyéb.

Mivel a napjainkban érvényben lévő összes nemzetközileg elismert súlyos koponyasérült ellátási protokoll irányelvként előírja (GCS \leq 8 esetén) a kamradrain alkalmazását, (az intracranialis nyomás mérésére illetve szükség esetén liquorlebocsátásra) a kamradrain behelyezését tekintettük a nemzetközi standardokat követő „ICP-vezérelt” terápia indikátorának egy adott beteg esetén.

Egyváltozós logisztikus regresszió analízissel meghatároztuk paramétereink elsődleges kórházi halálózásra mutatott esélyhányadosait. A felvételtől paraméterek közül kiemelendő az életkor (1,04), a felvételi GCS (0,85), az első mért ICP (1,04), az első mért MABP (0,98) illetve a coagulopathia (4,32) szignifikáns kimenetelt előre jelző szerepe. Az életkor szerepe kapcsán megjegyzendő, hogy az 1,04-es szignifikáns esélyhányados más szavakkal úgy magyarázható, hogy egy év növekmény az életkorban (szignifikánsan) 4%-al növeli a halálózás valószínűségét, amennyiben az összes többi paraméter azonos. A tény, hogy a magasabb felvételi GCS szignifikánsan javítja a prognózist, arra utal, hogy noha a prehospitális ellátásban napjainkban már rutinszerűen alkalmazott szedáció és intubáció valamelyest csökkentette a hatékonyságát, a felvételi GCS még mindig alkalmas és hasznos paraméter egy adott koponyasérült állapotának és kilátásainak megbecslésére a kórházi felvételtől.

Az elsődleges ellátással kapcsolatos paraméterek vizsgálata kapcsán a kamradrain alkalmazásának 0,33-as szignifikáns esélyhányadosa mutatja azt a nagymértékű védő hatást, amit a nemzetközi ajánlások betartása gyakorol a súlyos koponyasérültek terápiájára. Meg kell azonban jegyeznünk, hogy ez a nagyon erőteljes protektív hatás nem csupán a nemzetközi irányelvek követéséből vagy azok figyelmen kívül hagyásából származik, hiszen a kamradraint nem kaptak közt jóval nagyobb számban lehettek olyan eleve moribund állapotban felvett betegek, akik az élettel össze nem egyeztethető primer agyszöveti károsodást szenvedtek.

A hosszútávú kezelés adatait illetve monitorozott paramétereket vizsgálva az ITO-n töltött napok (0,92), a bakteriális komplikáció (0,16), illetve a 20 Hgmm-nél magasabb intrakraniális nyomásértéken töltött órák száma (1,01) valamint a 60 Hgmm alatti cerebrális perfúziós nyomáson töltött órák száma (1,02) mutatott szignifikáns összefüggést a halálos kimenetellel. Külön magyarázatra szorulhat az ITO-n töltött napok és a bakteriális komplikációk látszólagos védő hatása. Itt természetesen ezek az esélyhányadosok arra utalnak, hogy adott beteg minél hosszabb időt tölt az ITO-n, annál valószínűbb, hogy túlél. A bakteriális fertőzéssel kapcsolatosan hasonló a helyzet, hiszen egy ilyen szövődmény kialakulása időbe telik, és a beteg - paradox módon – szerencsés, mert „még életben van” mire megfertőződik, vagyis nagyobb valószínűséggel hosszabb távon túlél.

Többváltozós vizsgálatainkból kiemelendő, hogy az egyes esélyhányadosok hasonló tendenciákat mutatnak, mint az egyváltozós analízisnél, illetve itt is megnyilvánul – többek közt – az életkor és a coagulopathia életkilátásokat szignifikánsan nagyfokban rontó szerepe.

Összegzésképpen elmondhatjuk, hogy a Pécsi Súlyos Koponyasérült adatbázis elemzésével igazoltuk, hogy a magyarországi súlyos koponyasérültek életkori sajátosságaikban, a két nem közti megoszlásukat tekintve, illetve a trauma kiváltó tényezői szempontjából semmilyen lényeges eltérést nem mutatnak a fejlett országokban készült epidemiológiai elemzések adataitól.

Eredményeink bizonyítják, hogy a súlyos koponyasérültek nemzetközi irányelveken nyugvó terápiás ellátása – pl. kamradrain rutinszerű alkalmazása GCS 8 vagy az alatti beteg esetén – szignifikánsan javítja a túlélési mutatókat, és ezáltal (a másodlagos károsodásokat kivéve, vagy hatásaikat tompítva) megteremt egy esetlegesen funkcionálisan is jó kimenetel esélyét.

Statisztikai analízisünk összegzése – összhangban a nemzetközi szakirodalomban fellelhető ismeretekkel – szerint a kimenetelt leginkább meghatározó paraméterek súlyos koponyasérülések esetén: életkor, felvételtől GCS, cerebrális perfúziós nyomás, coagulopathia.

A nemzetközi viszonylatban továbbra is rendkívül magas elsődleges kórházi mortalitás hátterében – összhangban az eddig hazánkban e tárgykörben elvégzett epidemiológiai kutatások eredményeivel – vizsgálataink a sürgősségi ellátás relatíve rosszul szervezettségét, a komplex neurotraumatológiai-traumatológiai ellátóközpontok hiányát, és ebből következően sokszor késedelmes definitív ellátást valamint az ellátás során a nemzetközi irányelvek még mindig gyakori figyelmen kívül hagyását valószínűsítik. Az extrém magas hat hónapos mortalitás mögött pedig feltehetőleg a komplex neurorehabilitáció hazai hiányosságai állnak.

5. Elsődleges CT-képek elemzése

Vizsgálatainkkal megállapítottuk, hogy a digitális képelemzés során elemzett paraméterek összességében szignifikánsan jobb összefüggést mutatnak a kimenetellel, mint a papír alapú képelemzés ($p=0,009$ szemben $p=0,106$ -vel). A Rotterdam score elemei közül mind a kamrába törő vérzés, mind a traumás subarachnoidealis vérzés, mind pedig a cisternák eltűnése szoros összefüggést mutatott a kimenetellel, ugyanakkor ezek külön-külön (csoportként kezelve) pontosabb prognosztikai értéket adtak, mint összegzett Rotterdam score-ként használva. Ugyanezen statisztikai feldolgozás folyamán – többváltozós logisztikus regressziót alkalmazva – sikerült beazonosítani a halálos kimenetelt legnagyobb prediktív erővel meghatározó paramétereket (4. táblázat).

	Vizsgált paraméter	OR	p
Összes halálozás	Életkor (év)	1,118	0,000
	Subarachnoidealis vérzés	3,619	0,031
	Kamrába törő vérzés	3,952	0,049
	Cisterna eltűnt	47,056	0,001
	Cisterna kompresszió	3,328	0,136
	Plexusok/Corp. Pineale aszim.	0,184	0,014
Halálozás 0-10. napon	Nem (férfiak)	0,276	0,050
	Életkor (év)	1,074	0,000
	Oedema generalizált	5,827	0,205
	Oedema részleges	1,166	0,911
	Kamrába törő vérzés	5,263	0,010
	Cisterna eltűnt	12,108	0,017
	Cisterna kompresszió	2,26	0,346
Halálozás 0-3. napon	Kamrába törő vérzés	5,917	0,001
	Plexus/Corpus Pineale aszimmetria	0,202	0,003

4. táblázat. Különböző CT- illetve demográfiai paraméterek összefüggése a kimenetellel (többváltozós logisztikus regresszió). A 0-3. nap közötti halálozást döntően az elsődleges agysérülés, a 0-10 közöttit emellett a másodlagos sérülés is befolyásolja, míg az összes halálozás esetében későbbi (pl. fertőzéses) szövődmények is szerepet játszanak.

Eredményeink egyértelműen igazolják, hogy mind a Rotterdam score mind a Marshall-féle beosztás kellően nagy prediktív erővel rendelkezik súlyos koponyasérülések esetén, ezért ezirányú használatuk a magyarországi betegellátásban is indokolt volna.

Vizsgálatainkból kiderül, hogy súlyos koponyasérülések esetén megfontolandó lehet egyéb, a CT felvételekről leolvasható paraméterek beépítése az osztályzási rendszerekbe. Ilyenek lehetnek: generalizált oedema, impressió törés, plexus choroideus/corpus pineale aszimmetria.

Elsősorban többváltozós elemzéseink alapján válik egyértelművé, hogy a CT felvételek számítógépes szoftverrel végzett egzakt analízisével (esetünkben Dicom) gyűjtött

adatok alapján képzett prognosztikai csoportosítások prediktív értéke messze meghaladja a hagyományos CT képek elemzésének értékét.

Megállapítható, hogy noha a Marshall-féle beosztás és a Rotterdam score prediktív értéke önmagában is magas, ha igazán hatékony becslést akarunk adni a sérült klinikai kimenetelére vonatkozólag, akkor nem tekinthetünk el – az azt alapjaiban meghatározó – individuális tényezőktől, mint pl. az életkor. Felmerül az igény, hogy ahol nem áll rendelkezésre digitálisan feldolgozható formátumú CT eredmény, ott szükséges a felvételek digitalizálása és volumetriás elemzése.

V. Elért új eredmények összefoglalása

1. Koponyasérüléshez társuló diffúz axonális károsodás kísérletes vizsgálata

1. Vizsgálatainkkal elsőként bizonyítottuk, hogy a diffúz koponya-agysérülés kísérletes modelljében kialakuló axonális károsodás az azt kiváltó mechanikai energiával és a sérülés után eltelt idővel arányos, ugyanakkor a károsodott axonok morfológiai és immunfestési tulajdonságaikban nem mutatnak detektálható eltérést.

2. Megállapítottuk, hogy a kísérleti állaton megfigyelhető neurológiai illetve fiziológiai változásokkal nem járó súlyosságú koponyatrauma is képes jelentős mértékű diffúz axonális károsodás kiváltására.

3. Ezzel egyidejűleg kísérletes körülmények között bizonyítékot szolgáltatunk az emberben rendkívül enyhe fejsérülés mellett létrejövő post-traumás tünet együttes hátterében képalkotó vizsgálatokkal felvetett DAI fennállására.

4. A diffúz koponya-agysérülés impakt akcelerációs modelljében elsőként írtuk le, hogy az agytörzsi axonkárosodás mellett jelentős mértékű, – a gerincvelő távoli szakaszain is megfigyelhető – axonális sérülés jön létre.

5. A megfigyelt jelenség magyarázatul szolgálhat az e modellben észlelhető motoros károsodás egy részére, felveti a gerincvelő elemzésének fontosságát bántalmazott gyermek-szindróma esetén és új adatokkal szolgálhat a spondylotikus myelopathia illetve a centrális gerincvelő szindróma kialakulására vonatkozóan is.

6. A koponyasérülés hatására kialakuló gerincvelői diffúz axonális károsodás jelenségének leírásával egy időben megállapítottuk, hogy annak mértéke – a központi idegrendszer intracranialis részein szintén általunk leírt módon – direkt összefüggést mutat a sérülést kiváltó mechanikai energiával és a sérüléstől eltelt idővel is.

7. Megállapítottuk, hogy az MDL-28 170 trauma előtt adva a TCSp területén gátolja az axolemma trauma hatására kialakult permeabilitási zavarának súlyosbodását illetve tovaterjedését.

8. Vizsgálataink ismét megerősítették az axolemma mechanoporációjának jelenségét illetve elsőként igazolták, hogy a permeabilitási zavarok, legalábbis részben, csökkenthetők a calpain aktiváció gátlása útján.

2. A Pécsi Súlyos Koponyasérült Adatbázis létrehozása és feldolgozása

1. A Pécsi Súlyos Koponyasérült Adatbázissal az Országban egyedülálló, az ellátási protokollok auditálásától a prognosztikai faktorok meghatározásán át a sérültek utánkövetésére, alkalmazott klinikai kutatások folytatására alkalmas rendszert dolgoztunk ki.

2. Az adatbázis elemzésével a koponyasérülés kimenetelére vonatkozó prognosztikai faktorokat azonosítottunk, a legnagyobb prediktív erővel rendelkező faktoroknak – az ezirányú nemzetközi kutatások eredményeivel összhangban – az életkor, felvételtkor GCS, cerebrális perfúziós nyomás és a coagulopathia bizonyultak.

3. Adataink elemzése újabb bizonyítékot szolgáltatott arra a tényre, hogy a súlyos koponyasérültek halálozása hazánkban még mindig rendkívül magas, a fejlett országokban közölt mutatók közel kétszerese.
4. Igazoltuk, hogy a felvételi CT képek digitális elemzésével a kimenetelt előre jelző adatok nyerhetők, melyek jóval pontosabbak, mint a korábban használt filmfelvétel-alapú becslések.
5. Bizonyítottuk, hogy a nemzetközi gyakorlatban használatos, CT-alapú prognosztikai rendszerek prediktív ereje jelentősen növelhető további CT-anatómiai jellemzők valamint demográfiai adatok csatolásával.

VII. Publikációs lista

- Az értekezés alapjául szolgáló közlemények összesített impakt faktora: 8,752
- Az összes közlemény összesített impakt faktora: 10,636

1. Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Czeiter E**, Pal J, Kovesdi E, Bukovics P, Luckl J, Doczi T, Buki A. Traumatic axonal injury in the spinal cord evoked by traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 2008 Mar;25(3):205-13.
If.: **3,528**
2. Kovesdi E, **Czeiter E**, Tamas A, Reglodi D, Szellar D, Pal J, Bukovics P, Doczi T, Buki A. Rescuing neurons and glia: is inhibition of apoptosis useful? *Prog Brain Res*. 2007;161:81-95.
If.: **2,014**
3. Kovesdi E, Luckl J, Bukovics P, Farkas O, Pal J, **Czeiter E**, Szellár D, Dóczi T, Komoly S, Büki A. Update on protein biomarkers in traumatic brain injury with emphasis on clinical use. *Acta Neurochir (Wien)*. 2010 Jan;152(1):1-17.
If.: **1,472** (2009-es adat)
4. **Czeiter E**, Büki A, Bukovics P, Farkas O, Pal J, Kovesdi E, Doczi T, Sandor J. Calpain inhibition reduces axolemmal leakage in traumatic axonal injury. *Molecules*. 2009 Dec 9;14(12):5115-23.
If.: **1,738**
5. A. Büki, **E. Czeiter**, O. Farkas, A. Zsombok, J. Pál, T. Dóczi and J. T. Povishock: Development of Axonal Injury is Associated with the Impact and Survival Time. *Proceedings of the 12th European Congress of Neurosurgery*. Monduzzi Editore, Bologna, 2003, pp 649-652.
6. **E. Czeiter**, Z. Ursprung, N. Kovacs, E. Ezer, F. Kover, J. Sandor, T. Doczi and A. Buki: Outcome Prediction with Marshall CT-classification and Rotterdam Score in Severe Traumatic Brain Injury. *Proceedings of the 13th European Congress of Neurosurgery*. Medimond - Monduzzi Editore, Bologna, 2007, pp 353-356.

2. Egyéb közlemények

a. Könyvfejezetek

1. D. Szellar, E. Mezosi, P. Kosztolanyi, O. Nemes, Zs. Nagy, B. Bodis, L. Bajnok, **E. Czeiter**, T. Doczi and A. Buki: Pituitary Insufficiency after Traumatic Brain Injury - Preliminary Data from the Pécs Traumatic Brain Injury Database. *Proceedings of the 13th European Congress of Neurosurgery*. Medimond - Monduzzi Editore, Bologna, 2007, pp 343-346.

2. A. Büki, E. Kövesdi, J. Pál, **E. Czeiter**: Clinical and model research of neurotrauma, in Ottens AK, Wang KKW (eds): *Neuroproteomics*. Humana Press, New York, 2009, pp 41-55.

b. Tudományos közlemények

1. Martens-Lobenhoffer J, Sulyok E, **Czeiter E**, Büki A, Kohl J, Firsching R, Tröger U, Bode-Böger SM. Determination of cerebrospinal fluid concentrations of arginine and dimethylarginines in patients with subarachnoid haemorrhage. *J Neurosci Methods*. 2007 Aug 15;164(1):155-60.

If.: **1,884**

2. Lückl J, Farkas O, Pál J, Kövesdi E, **Czeiter E**, Szellár D, Dóczi T, Komoly S, Büki A. Protein biomarkers in experimental models and in clinical care of traumatic brain injury *Ideggyogy Sz.* 2007 Jul 30;60(7-8):284-94.

3. Auer T, Schwarcz A, Ezer E, **Czeiter E**, Aradi M, Hudvágner S, Janszky J, Büki A, Dóczi T. Diffusion tensor and functional MR imaging of severe traumatic craniocerebral injury at low magnetic field *Ideggyogy Sz.* 2007 Nov 30;60(11-12):480-8.

Köszönetnyilvánítás:

Először is szeretnék köszönetet mondani mentoromnak **Dr. Büki Andrásnak**, aki – már tudományos diákkörös hallgató koromban – megszerettette velem a koponyasérülések kutatásának mind kísérletes, mind klinikai oldalát, és megláttatta velem e területben rejlő hosszú távú tudományos kihívás és elköteleződés lehetőségét.

Kísérletes munkáim kapcsán köszönettel tartozom a PTE-ÁOK Idegsebészeti Klinika Neuropathológiai Laboratórium valamennyi dolgozójának, külön kiemelve **Gallyas Ferenc professzor urat**, aki a laboratórium vezetőjeként, illetve (2005 szeptemberétől 2006 márciusának végéig doktori programvezetőként is) lehetővé tette kutatásaim zavartalan kivitelezését. Külön köszönöm **Dr. Farkas Orsolyának**, hogy bevezetett az állatkísérletes munka – olykor váratlan nehézségekkel teli – világába, valamint **Nyirádi Józsefnek**, az immunhisztokémiai munkákban nyújtott segítségével, illetve hogy türelemmel megtanított az immunhisztokémiai technikák gondos kivitelezésének alapjaira. Köszönet illeti **Dr. Bukovics Pétert**, **Dr. Pál Józsefet** és **Kövesdi Erzsébetet** a kísérletek elvégzésében, és az adatok feldolgozásában, interpretálásában nyújtott segítségükért.

Klinikai kutatómunkám létrejöttéhez köszönöm **Dóczi Tamás professzor úrnak**, hogy mint a Klinika igazgatója mindenben támogatólag lehetővé tette számomra a legkülönbözőbb klinikai adatok gyűjtését és feldolgozását. Köszönöm a Klinika valamennyi dolgozójának, akik az elmúlt évek folyamán munkámban segítséget nyújtottak. Az adatok kiértékelésében és feldolgozásában külön köszönöm **Dr. Sándor János** segítségét, aki új alapokra helyezte számomra az epidemiológia fogalmát, és korszerű statisztikai módszerek tárházával ismertetett meg. Köszönet illeti **dr. Kovács Noémit**, az adatbázis fejlesztésében és különösképpen az elsődleges CT képekre vonatkozó adatgyűjtésben nyújtott segítségével. Ugyancsak itt szeretném megköszönni **dr. Ursprung Zsuzsanna** neuroradiológusnak a CT-képek „tudományos célú” leírásához nyújtott értő segítségét.

Végül, de nem utolsó sorban, szeretnék köszönetet mondani **Szüleimnek és barátaimnak** mindazért a sok lemondásért, melyet tőlük ezen értekezés és a hozzá vezető tudományos eredmények megszületése követelt.