



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
Διευθυντής: Καθηγ. Κ. Φουντάς

**ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΣΕ ΓΟΝΙΔΙΑ ΠΟΥ
ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΕΚΒΑΣΗ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ
ΚΡΑΝΙΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗ ΚΑΚΩΣΗ**

ΓΕΩΡΓΙΟΣ Φ. ΧΑΤΖΗΓΕΩΡΓΙΟΥ
ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΥΠΟΒΛΗΘΗΚΕ ΣΤΟ ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΤΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΤΟΥ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΛΑΡΙΣΑ 2017



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
Διευθυντής: Καθηγ. Κ. Φουντάς

**ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΣΕ ΓΟΝΙΔΙΑ ΠΟΥ
ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΕΚΒΑΣΗ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ
ΚΡΑΝΙΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗ ΚΑΚΩΣΗ**

ΓΕΩΡΓΙΟΣ Φ. ΧΑΤΖΗΓΕΩΡΓΙΟΥ
ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΥΠΟΒΛΗΘΗΚΕ ΣΤΟ ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΤΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΤΟΥ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΛΑΡΙΣΑ 2017

© 2017 Γ.Φ. ΧΑΤΖΗΓΕΩΡΓΙΟΥ

«Η έγκριση της Διδακτορικής Διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα»

(Νόμος 5343/1932, άρθρο 202 παρ. 2)

Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής (5η/09.10.17 ΓΣΕΣ):

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Κ. ΦΟΥΝΤΑΣ, Καθηγητής Νευροχειρουργικής Π.Θ. (επιβλέπων)

Γ. ΧΑΤΖΗΓΕΩΡΓΙΟΥ, Καθηγητής Νευρολογίας Π.Θ.

Κ. ΠΑΤΕΡΑΚΗΣ, Επίκουρος Καθηγητής Νευροχειρουργικής Π.Θ

Ε. ΖΑΚΥΝΘΙΝΟΣ, Καθηγητής Εντατικής Θεραπείας Π.Θ.

Ε. ΚΑΨΑΛΑΚΗ, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ακτινοδιαγνωστικής Π.Θ.

Δ. ΜΑΚΡΗΣ, Αναπληρωτής Καθηγητής Εντατικολογίας Π.Θ.

Ε. ΔΑΡΔΙΩΤΗΣ, Επίκουρος Καθηγητής Νευρολογίας Π.Θ.

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΟΡΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΘΕΜΑΤΟΣ: **05.10.10**

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΚΑΤΑΘΕΣΗΣ Α' ΠΡΟΟΔΟΥ: **10.11.11**

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΚΑΤΑΘΕΣΗΣ Β' ΠΡΟΟΔΟΥ: **09.01.13**

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΚΑΤΑΘΕΣΗΣ Γ' ΠΡΟΟΔΟΥ: **17.01.14**

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΚΑΤΑΘΕΣΗΣ Δ' ΠΡΟΟΔΟΥ: **22.10.15**

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΟΡΙΣΜΟΥ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: **15.06.17**

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΈΓΚΡΙΣΗΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: **09.10.17**

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ (PEER-REVIEWED) ΣΤΟ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΤΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

1. **Traumatic brain injury and gene knockout animal models: an up-to-date review.**

Hadjigeorgiou GF, Singh R, Dardiotis E, Paterakis K, Hadjigeorgiou GM, Fountas KN. *J Neurosurg Sci*. 2016 Jan 20. [Epub ahead of print]

2. **AQP4 tag single nucleotide polymorphisms in patients with traumatic brain injury.**

Dardiotis E, Paterakis K, Tsivgoulis G, Tsintou M, Hadjigeorgiou GF, Dardioti M, Grigoriadis S, Simeonidou C, Komnos A, Kapsalaki E, Fountas K, Hadjigeorgiou GM. *J Neurotrauma*, 2014 Dec, 31(23):1920-1926

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. **Genetic studies and traumatic brain injury: An up-to-date review.**

Hadjigeorgiou GF, Dardiotis E, Hadjigeorgiou GM, Fountas K, Varsos V
1st Congress of Southeast European Neurosurgical Society (SEENS), 31 October-2 November 2013, Belgrade, Serbia

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. **Γενετική επίδραση στην έκβαση των ασθενών μετά από κρανιοεγκεφαλική κάκωση.**

Χατζηγεωργίου ΓΦ, Δαρδιώτης Θ, Χατζηγεωργίου ΓΜ, Βάρσος Β, Φουντάς Κ
27^ο Πανελλήνιο Νευροχειρουργικό Συνέδριο, Αθήνα, 27-29 Ιουνίου 2013

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η πραγματοποίηση της παρούσας μελέτης δεν θα ήταν δυνατή χωρίς τη διαρκή καθοδήγηση του επιβλέποντα της διδακτορικής διατριβής κ. Κωνσταντίνου Φουντά, Καθηγητή Νευροχειρουργικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, τις χρήσιμες υποδείξεις του, την εμπιστοσύνη και ηθική υποστήριξή του. Η μακρόχρονη συνεργασία μας αποτελεί εξαιρετική τιμή για μένα και τον ευχαριστώ θερμά.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω θερμά τον κ. Γεώργιο Χατζηγεωργίου, Καθηγητή Νευρολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, καθώς και για τις χρήσιμες υποδείξεις και ιδέες του κατά τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Η συνεργασία μας ήταν για μένα μία πολύτιμη εμπειρία.

Ιδιαίτερα ευχαριστώ το μέλος της τριμελούς επιτροπής κ. Κωνσταντίνο Πατεράκη, Επίκουρο Καθηγητή Νευροχειρουργικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για το ενδιαφέρον και τη βοήθειά του.

Η συμβολή του κ. Ευθύμιου Δαρδιώτη, Επίκουρου Καθηγητή Νευρολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, στην εκπόνηση της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν καθοριστική διότι, εκτός από τις συμβουλές του για το σχεδιασμό της μελέτης, υπήρξε για μένα ένας σημαντικός δάσκαλος στη συγγραφή επιστημονικών εργασιών.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα. Μαρία Δαρδιώτη, Βιοχημικό, για το ενδιαφέρον και τη βοήθειά της, καθώς και για την πλήρη εργαστηριακή υποστήριξη και επεξεργασία των δεδομένων της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

Ειδικότερα, πρέπει να σημειωθεί ότι το πειραματικό μέρος της Διατριβής διενεργήθηκε στο Εργαστήριο Νευρογενετικής της μονάδος Νευροεπιστημών της Νευρολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (Δ/ντής: Καθ. Γ.Μ. Χατζηγεωργίου). Επιπρόσθετα, το πειραματικό μέρος υποστηρίχθηκε αποκλειστικά από τα ερευνητικά έργα (μέσω της επιτροπής ερευνών) της Νευρολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Δε θα πρέπει να παραλείψω να ευχαριστήσω όλους τους ασθενείς και τους οικείους τους που συμμετείχαν στη μελέτη, χωρίς την συμμετοχή των οποίων δε θα ήταν δυνατή η πραγματοποίηση της μελέτης αυτής.

Τέλος, ευχαριστώ θερμά την οικογένειά μου για την ολόψυχη και αδιάκοπη ηθική της συμπαράσταση στην ολοκλήρωση της διατριβής μου. Ιδιαίτερη αναφορά βεβαίως οφείλω να κάνω στον πατέρα μου Φοίβο Χατζηγεωργίου, Διευθυντή της Νευροχειρουργικής Κλινικής του Νοσοκ. «Κοργιαλένιο-Μπενάκειο» ΕΕΣ, για τον ρόλο του δασκάλου και του καθοδηγητή στην πορεία μου ως τώρα. Οι αξίες, οι γνώσεις αλλά κυρίως ο σεβασμός στο ιατρικό λειτούργημα και η διαρκής αφοσίωση στον ασθενή, θα αποτελούν για πάντα τα πιο δυνατά μου όπλα στην επαγγελματική μου σταδιοδρομία.

Λάρισα, Ιούλιος 2017

Γεώργιος Φ. Χατζηγεωργίου

*Στον πατέρα μου Φοίβο,
την μητέρα μου Μαίρη
και την αδερφή μου Άνδρη*

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

- **Βιογραφικό σημείωμα Γ.Φ. Χατζηγεωργίου**, σελ. 10
- **Περίληψη**, σελ. 27
- **Abstract**, σελ. 29

- ❖ **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**, σελ. 30
 - **Κρανιοεγκεφαλική κάκωση**, σελ.31
 - ✓ Εισαγωγή, σελ. 31
 - ✓ Επιδημιολογία, σελ. 31
 - ✓ Ταξινόμηση, σελ. 31
 - ✓ Αντιμετώπιση, σελ. 40
 - ✓ Πρόγνωση, σελ. 47
 - **Παθοφυσιολογία της ΚΕΚ**, σελ.48
 - ✓ Γενικά Στοιχεία Παθοφυσιολογίας του Εγκεφάλου, σελ. 48
 - ✓ Βιοχημικός Καταρράκτης των ΚΕΚ, σελ. 51
 - **Γενετική των ΚΕΚ**, σελ. 53
 - ✓ Εισαγωγή, σελ. 53
 - ✓ Απολιποπρωτεΐνη E (ApoE) , σελ. 54
 - ✓ Νεπριλυσίνη, σελ. 56
 - ✓ Γονίδιο p53, σελ. 57
 - ✓ Γονίδιο ιντερλευκίνης (IL- Gene), σελ. 58
 - ✓ Κατεχολ-ο-μεθυλοτρανσφεράση (Catechol-O-methyltransferase - COMT), σελ. 62
 - ✓ Γονίδιο Υποδοχέα Ντοπαμίνης D2 (Dopamine D2 receptor – DRD2), σελ. 62
 - ✓ Γονίδιο Μετατρεπτικού Ενζύμου της Αγγειοτενσίνης (ACE gene) , σελ. 72
 - ✓ Ακουαπορίνες, σελ. 76

- ❖ **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**, σελ. 86
 - **Μελέτες συσχέτισης**, σελ. 87
 - **Σκοπός της παρούσας μελέτης**, σελ. 88
 - **Ασθενείς και μέθοδος**, σελ. 88
 - **Τεχνικές**, σελ. 90
 - **Στατιστική ανάλυση**, σελ. 100
 - **Αποτελέσματα**, σελ. 102
 - **Συζήτηση**, σελ. 112
 - **Συμπεράσματα**, σελ. 116
 - **Βιβλιογραφία**, σελ. 118

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ Γ.Φ. ΧΑΤΖΗΓΕΩΡΓΙΟΥ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Διεύθυνση: Grüntal 11, 81925 Μόναχο, Γερμανία

Τηλ: +49 15171881002

E-mail: georgehadji@gmail.com

Ημερ. Γεννήσεως: 28th April 1983

Υπηκόοτητα: Κυπριακή

ΑΚΑΔΗΜΑΪΚΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

- **ΑΠΟΚΤΗΣΗ ΤΙΤΛΟΥ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑΣ
ΣΤΗ ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ** Αθήνα, Ελλάδα
Ιούνιος 2015
- **ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ** Λάρισα, Ελλάδα
Μάρτιος 2011–Ιούλιος 2017

Υποψήφιος Διδάκτορας

Τίτλος Διδακτορικής Μελέτης: *“Γενετική μελέτη σε γονίδια που σχετίζονται με την έκβαση των ασθενών με κρανιοεγκεφαλική κάκωση”*

- **ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ** Αθήνα, Ελλάδα
Σεπτέμβριος 2001 – Αύγουστος 2007

Πτυχιούχος Ιατρικής Σχολής (ΜΟ: 7.8/10)

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΠΡΟΫΠΗΡΕΣΙΑ

- **ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ACADEMIC HOSPITAL
MUNICH-BOGENHAUSEN** Μόναχο, Γερμανία
Σεπτέμβριος 2016 - Σήμερα

Επιμελητής Νευροχειρουργός

- **ΤΜΗΜΑ ΣΠΟΝΔΥΛΙΚΗΣ ΣΤΗΛΗΣ
ROYAL NATIONAL ORTHOPAEDIC
HOSPITAL** Λονδίνο, Μεγάλη Βρετανία
Απρίλιος 2016 – Αύγουστος 2016

Εξειδικευόμενος στη Χειρουργική της Σπονδυλικής Στήλης
(Post-CCT Complex Spinal Surgery Fellow)

- **ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ** Βερολίνο, Γερμανία
CHARITÉ UNIVESITY HOSPITAL Ιανουάριος 2016 – Μάρτιος 2016

Εξειδικευόμενος στη Χειρουργική των Εγκεφαλικών Αγγείων
(*Complex Cerebrovascular Surgery Fellow*)

- **ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ** Κοπεγχάγη, Δανία
UNIVERSITY HOSPITAL Σεπτέμβριος 2015 – Δεκέμβριος 2015
OF COPENHAGEN

Εξειδικευόμενος στη Χειρουργική Βάσης Κρανίου
(*Skull Base Surgery Clinical Fellow*)

- **ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ** Νέα Υόρκη, ΗΠΑ
WEILL CORNELL MEDICAL COLLEGE Φεβρουάριος 2015 - Μάιος 2015

Εξειδικευόμενος στην Ενδοσκοπική Χειρουργική του Εγκεφάλου
(*Minimally Invasive Endoscopic Brain & Skull Base Surgery Fellow*)

- **ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ** Αθήνα, Ελλάδα
ΝΟΣ. “ΚΟΡΓΙΑΛΕΝΕΙΟ-ΜΠΕΝΑΚΕΙΟ” Οκτώβριος 2011-Φεβρουάριος 2015
ΕΛΛΗΝΙΚΟΣ ΕΡΥΘΡΟΣ ΣΤΑΥΡΟΣ

Ειδικευόμενος Ιατρός

- **ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ** Πειραιάς, Ελλάδα
ΤΖΑΝΕΙΟ Γ.Ν.Π. Σεπτέμβριος 2010–Σεπτέμβριος 2011

Ειδικευόμενος Ιατρός

- **ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ** Πειραιάς, Ελλάδα
Ε.Α.Ν.Π. “ΜΕΤΑΞΑ” Νοέμβριος 2009-Σεπτέμβριος 2010

Ειδικευόμενος Ιατρός

- **ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ** Βάδη-Βυρτεμβέργη, Γερμανία
KREISKRANKENHAUS RASTATT Σεπτέμβριος 2008- Σεπτέμβριος 2009

Ειδικευόμενος Ιατρός

ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑΣ

- **ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ** Μαϊάμι, ΗΠΑ
UNIVERSITY HOSPITAL OF MIAMI Ιούλιος 2014 - Σεπτέμβριος 2014
Επιβλέποντες: Prof. J. Morcos & R. Heros

Visiting Fellow, Χειρουργική Βάσης Κρανίου & Εγκεφαλικών Αγγείων

- **ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ** Παρίσι, Γαλλία
LARIBOISIERE HOSPITAL OF PARIS Μάιος 2014 - Ιούνιος 2014
Επιβλέπων: Prof. S. Froelich

Visiting Fellow, Χειρουργική Βάσης Κρανίου

- **ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ** Ζυρίχη, Ελβετία
UNIVERSITY HOSPITAL OF ZURICH Απρίλιος 2014 – Μάιος 2014
Επιβλέπων: Prof. L. Regli

Visiting Fellow, Χειρουργική Εγκεφαλικών Αγγείων

ΑΔΕΙΕΣ ΑΣΚΗΣΕΩΣ ΙΑΤΡΙΚΟΥ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΟΣ:

- Άδεια ασκήσεως επαγγέλματος ειδικού Νευροχειρουργού στη Γερμανία
- Άδεια ασκήσεως επαγγέλματος ειδικού Νευροχειρουργού στο Ηνωμένο Βασίλειο (GMC 7212700)
- Άδεια ασκήσεως επαγγέλματος ειδικού Νευροχειρουργού στην Ελλάδα

ΜΕΛΟΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΣΥΛΛΟΓΩΝ

- **European Association of Neurosurgical Societies (EANS)**
- **Congress of Neurological Surgeons (CNS)**
- **American Association of Neurological Surgeons (AANS)**
- **General Medical Council (GMC), UK**
- **AO Spine Society**
- **Medical Society of Bayern, Germany**
- **Ελληνική Νευροχειρουργική Εταιρεία (ΕΝΧΕ)**

ΒΡΑΒΕΙΑ - ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ

- **EANS-Codman Training Grant** in Cerebrovascular Surgery, Charité, Berlin, Germany, January-March 2016
- **Medtronic Training Grant** in Skull Base Surgery, Rigshospitalet, Copenhagen, Denmark, September-December 2015
- **Βραβείο “Χ. Αντωνιάδης”** της Ελληνικής Νευροχειρουργικής Εταιρείας για το υψηλότερο βαθμό στις γραπτές εξετάσεις ειδικευομένων ιατρών, Μάιος 2015, Αθήνα, Ελλάδα
- **Aesculap Training Grant** in Minimally Invasive Endoscopic Brain & Skull Base Surgery, Weill Cornell Medical College, New York, USA, February-May 2015
- **Χρυσός Σταυρός** του συλλόγου φίλων του Ερυθρού Σταυρού, για το ήθος και την προσφορά στο ιατρικό επάγγελμα, Αθήνα, Νοέμβριος 2013
- **Best Paper Presentation Award**, presented at 7th International Workshop on Peritoneal Surface Malignancy for the work done regarding the re-cytoreductive surgery (RCRS) and re-HIPEC for peritoneal carcinomatosis recurrence. Uppsala, Sweden. 2010

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ (peer reviewed journals)

1. **Intrachiasmatic abscess caused by IgG4-related hypophysitis.**
Hadjigeorgiou GF, Lund EL, Poulsgaard L, Feldt-Rasmussen U, Rasmussen ÅK, Wegener M, Fugleholm K.
Acta Neurochir (Wien). 2017 Aug 10. doi: 10.1007/s00701-017-3288-8
2. **Repeat surgery for recurrent low-grade gliomas should be standard of care.**
Uppstrom TJ, Singh R, Hadjigeorgiou GF, Magge R, Ramakrishna R
Clin Neurol Neurosurg. 2016 Sep 30; 151:18-23.
3. **Traumatic pneumorrhachis after isolated closed head injuries: An up-to-date review.**
Hadjigeorgiou GF, Singh R, Stefanopoulos PK, Petsanas A, Hadjigeorgiou FG, Fountas K
J Clin Neurosci. 2016 October [Epub ahead of print]
4. **Intracranial meningioma with vertebral or intraspinal metastasis: report of 2 cases and review of the literature.**
Singh R, Ryan C, Chohan M, Tisnado J, Hadjigeorgiou GF, Bilsky M
J Neurosurg Spine. 2016 Jul 15:1-7. [Epub ahead of print]
5. **Traumatic brain injury and gene knockout animal models: an up-to-date review.**
Hadjigeorgiou GF, Singh R, Dardiotis E, Paterakis K, Hadjigeorgiou GM, Fountas KN.

J Neurosurg Sci. 2016 Jan 20. [Epub ahead of print]

6. AQP4 tag single nucleotide polymorphisms in patients with traumatic brain injury.

Dardiotis E, Paterakis K, Tsivgoulis G, Tsintou M, Hadjigeorgiou GF, Dardioti M, Grigoriadis S, Simeonidou C, Komnos A, Kapsalaki E, Fountas K, Hadjigeorgiou G

J Neurotrauma, 2014 Dec, 31(23):1920-1926

7. Wound ballistics 101: the mechanisms of soft tissue wounding by bullets.

Stefanopoulos PK, Pinalidis DE, Hadjigeorgiou GF, Filippakis KN

Eur J Trauma Emerg Surg. 2015 Oct 15. [Epub ahead of print]

8. Patients on anticoagulants after a head trauma: is a negative initial CT scan enough? Report of a case of delayed subdural hematoma and review of the literature.

Hadjigeorgiou GF, Anagnostopoulos C, Chamilos C, Petsanas A

JKNS. 2014 Jan; 55(1): 51-53

9. Gunshot wounds: A review of ballistics related to penetrating trauma.

Stefanopoulos PK, Hadjigeorgiou GF, Filippakis K, Gyftokostas D

JAD, 2014 3(3): 178-85

10. Treatment of refractory simple partial status epilepticus by the addition of oral lacosamide in neurosurgical patients. Report of 3 cases.

Hadjigeorgiou G, Petsanas A, Anagnostopoulos C, Chamilos C, Vranos G

Epilepsy and Behavior Case Rep J. 2013 Apr;1:69-70

11. Reoperation combining re-cytoreductive surgery and re-HIPEC for recurrent peritoneal carcinomatosis.

Spiliotis J, Vaxevanidou A, Halkia E, Hadjigeorgiou G, Datsis A

JBUON. 2012 Jul-Sep;17(3):522-5

12. Rapid spontaneous resolution of acute subdural haematoma in a patient with chronic alcoholism.

Hadjigeorgiou G, Chamilos C, Petsanas A, Vranos G, Foteas P, Spiridakis F

Br J Neurosurg. 2012 Jun;26(3):415-6. Epub 2011 Nov 23

ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ (non- peer reviewed journals)

1. Ependymoma with unusual sudden presentation.

Karakaidos D, Antonogeorgos F, Zosi P, Hadjigeorgiou G, Salapata A, Prodromou F, Karis C

New Pediatric Chr. 2009: 9,1: 56-60

2. Thyroid function in Growth Hormone Deficiency children after long term treatment with recombinant human Growth Hormone

Karakaidos D, Nikitaki Z, Zosi P, Kafalides G, Hadjigeorgiou G, Antonogeorgos G, Karis C
Pediatric Chr. 2008; Apr-Jun;8(2):119-123

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΠΕΡΙΛΗΨΕΩΝ

1. **Reversible sinking skin flap syndrome after decompressive craniectomy.**
C. Chamilos; C. Anagnostopoulos; G. Hadjigeorgiou; A. Dafniotidis; A. Petsanas;
G. Vranos; P. Spiridakis
Brain Injury; 2012 26 (4-5), 614-615
2. **Massive traumatic hematoma of the corpus callosum: a case report.**
C. Chamilos; G. Hadjigeorgiou; C. Anagnostopoulos; A. Dafniotidis; A. Petsanas;
G. Vranos; P. Spiridakis
Brain Injury; 2012; 26(4-5), 619
3. **Acute Subdural Hematoma with rapid spontaneous resolution in a patient with chronic alcoholism: a case report.**
G. Hadjigeorgiou; C. Anagnostopoulos; C. Chamilos; A. Dafniotidis; A. Petsanas;
G. Vranos; G. Alexopoulos
Brain Injury; 2012; 26(4-5), 614-615
4. **Delayed subdural hematoma following normal computed tomography scan in a patient on anticoagulation: a case report.**
G. Hadjigeorgiou; C. Anagnostopoulos; C. Chamilos; A. Dafniotidis; A. Petsanas;
G. Vranos; G. Alexopoulos
Brain Injury; 2012; 26(4-5), 616-617
5. **Effect of recombinant growth hormone (rhGH) treatment on the renal tubular reabsorption of calcium, phosphorus and magnesium in children with growth hormone deficiency.**
D. Karakaidos; G. Triantafyllidis; G. Kafalides; G. Hadjigeorgiou; C. Karis; M. Poulos
Hormone Research in Paediatrics; 2006; vol. 65 (suppl 4), 157-8
6. **The effect of recombinant human growth hormone therapy on cholesterol, lipoprotein A (LP(A)) and apolipoprotein A and B levels of growth hormone deficient children**
D. Karakaidos; G. Triantafyllidis; N. Kouskounelou; G. Hadjigeorgiou; G. Liakos
European Journal of Paediatrics; 2006; vol.165 (suppl.1)
7. **Multiple endocrine disturbances in a 15-year old girl with intranial tuberculomas.**
G. Triantafyllidis; D. Karakaidos; P. Zosi; G. Hadjigeorgiou; G. Kafalides; C. Theodoridis; C. Karis
Endocrine Abstracts; 2004 (7); 296

1. Sleep disorders after mild traumatic brain injuries in elderly people.

Syrmos N, Hadjigeorgiou GF, Syrmou E, Mylonas A, Gavridakis G, Valadakis V, Grigoriou K, Arvanitakis D

EANS 16th European Congress of Neurosurgery, Athens, Greece, 4-8 September 2016

2. Embolization as a stand-alone treatment for the complete angiographic obliteration of intracranial AVMs.

Hadjigeorgiou GF, Archontakis E, Drosos E, Pikis S, Singh R, Petrosyan T, Kelesis C, Arealis G, Hadjigeorgiou F

EANS 16th European Congress of Neurosurgery, Athens, Greece, 4-8 September 2016

3. How effective are flow-diverters in the treatment of ruptured and unruptured intracranial aneurysms?

Drosos E, Hadjigeorgiou GF, Pikis S, Psilovassilopoulos G, Arealis G, Hadjigeorgiou F, Archontakis E

EANS 16th European Congress of Neurosurgery, Athens, Greece, 4-8 September 2016

4. Spinal epidural abscess: management and outcome

Hadjigeorgiou GF, Drosos E, Pikis S, Psilovassilopoulos G, Drilli A, Kelesis C, Karakalos S, Hadjigeorgiou F, Arealis G

EANS 16th European Congress of Neurosurgery, Athens, Greece, 4-8 September 2016

5. Outcome of spinal meningiomas after surgical resection: a single centre experience

Hadjigeorgiou GF, Drosos E, Petrosyan T, Karakalos S, Kelesis C, Arealis G, Hadjigeorgiou F

EANS 16th European Congress of Neurosurgery, Athens, Greece, 4-8 September 2016

6. Conservative management of occipital condyle fracture: clinical picture, imaging and outcome

Petsanas A, Hadjigeorgiou GF, Burtzinos G, Dafniotidis A, Gounaris K, Sakellaridis N

EANS 16th European Congress of Neurosurgery, Athens, Greece, 4-8 September 2016

7. Foot-drop as a result of an intraneural ganglion cyst.

Hadjigeorgiou GF, Petsanas A, Siokas V, Dardiotis E, Syrmos NC, Singh R, Rallis D, Skafida A, Alexopoulos G

EANS 16th European Congress of Neurosurgery, Athens, Greece, 4-8 September 2016

8. Effect of integrin AV and B8 gene polymorphisms in patients with traumatic brain injury.

Siokas V, Hadjigeorgiou GF, Dardiotis E, Dardioti M, Paterakis K, Fountas KN, Hadjigeorgiou GM

EANS 16th European Congress of Neurosurgery, Athens, Greece, 4-8 September 2016

9. Delayed postoperative spinal epidural hematomas.

Petsanas A, Hadjigeorgiou GF, Vranos G, Dafniotidis A, Gounaris K, Spyridakis F

EANS 16th European Congress of Neurosurgery, Athens, Greece, 4-8 September 2016

10. Corpus callosum lipoma: an exceptional finding.

Hadjigeorgiou GF, Drosos E, Pikis S, Petrosyan T, Psilovassilopoulos G, Syrmos NC, Karakalos S, Kelesis C, Arealis G

EANS 16th European Congress of Neurosurgery, Athens, Greece, 4-8 September 2016

11. “Tube-in-tube” technique for the treatment of complex basilar artery aneurysm: report of a case and description of the technique.

Hadjigeorgiou G, Arhontakis E, Kelesis C, Markogiannakis G, Mylonakis Y, Psilovassilopoulos G, Hadjigeorgiou F, Varsos V

EANS 15th European Congress of Neurosurgery, Prague, Czech Republic, 12-17 October 2014

12. Tanycytic Ependymoma of the spine: case report and review of the literature.

Hadjigeorgiou G, Markogiannakis G, Mylonakis Y, Psilovassilopoulos G, Varsos V

EANS 15th European Congress of Neurosurgery, Prague, Czech Republic, 12-17 October 2014

13. Low-grade gliomas in motor-eloquent brain areas. Management and outcome.

Markogiannakis G, Zisakis AK, Hadjigeorgiou GF, Petrosyan T, Panteli A, Varsos V

EANS Annual Meeting, Tel Aviv, Israel, 11-14 November 2013

14. Non-functioning pituitary macroadenomas: a 5-year metanalysis of our clinic.

Varsos V, Hadjigeorgiou GF, Markogiannakis G, Zisakis AK, Panteli A, Petrosyan T, Karagiannis A, Vryonidou A

EANS Annual Meeting, Tel Aviv, Israel, 11-14 November 2013

15. Angiogram-negative subarachnoid hemorrhage: is a repeat digital subtraction angiography necessary?

Hadjigeorgiou GF, Petrosyan T, Markogiannakis G, Zisakis A, Karakalos S, Hadjigeorgiou FG, Varsos V
1st Congress of Southeast European Neurosurgical Society (SEENS), 31 October- 2 November 2013, Belgrade, Serbia

16. Reduction of infections after using silver-bearing external ventricular catheters: A retrospective study.

Hadjigeorgiou GF, Zisakis A, Markogiannakis G, Petrosyan T, Psilovassilopoulos G, Hadjigeorgiou FG, Varsos V
1st Congress of Southeast European Neurosurgical Society (SEENS), 31 October- 2 November 2013, Belgrade, Serbia

17. Langerhans cell histiocytosis presenting as an atypical extradural thoracic spine mass in a young adult. Diagnostic and therapeutic approach.

Markogiannakis G, Zisakis A, Hadjigeorgiou GF, Petrosyan T, Psilovassilopoulos G, Karakalos S, Panteli A, Varsos V
1st Congress of Southeast European Neurosurgical Society (SEENS), 31 October- 2 November 2013, Belgrade, Serbia

18. Primary sarcomas of the spine. A 5-year retrospective analysis.

Hadjigeorgiou GF, Zisakis A, Markogiannakis G, Petrosyan T, Mylonakis I, Panteli A, Hadjigeorgiou FG, Varsos V
1st Congress of Southeast European Neurosurgical Society (SEENS), 31 October- 2 November 2013, Belgrade, Serbia

19. Massive recurrent intraventricular hemorrhage without vascular abnormality treated with alteplase. A case report.

Anagnostopoulos C, Hadjigeorgiou GF, Petsanas A, Tselioti P, Grammatikopoulou V, Prekates A, Sakellaridis N
1st Congress of Southeast European Neurosurgical Society (SEENS), 31 October- 2 November 2013, Belgrade, Serbia

20. Isolated traumatic intraventricular hemorrhage in adults: report of a case.

Hadjigeorgiou GF, Markogiannakis G, Petrosyan T, Zisakis A, Panteli A, Kelesis C, Hadjigeorgiou FG, Varsos V
1st Congress of Southeast European Neurosurgical Society (SEENS), 31 October- 2 November 2013, Belgrade, Serbia

21. Genetic studies and traumatic brain injury: An up-to-date review.

Hadjigeorgiou GF, Dardiotis E, Hadjigeorgiou GM, Fountas K, Varsos V
1st Congress of Southeast European Neurosurgical Society (SEENS), 31 October- 2 November 2013, Belgrade, Serbia

22. Terson syndrome: a prospective analysis of 45 patients.

Hadjigeorgiou GF, Markogiannakis G, Zisakis A, Petrosyan T, Kelesis C, Hadjigeorgiou FG, Varsos V
1st Congress of Southeast European Neurosurgical Society (SEENS), 31 October- 2 November 2013, Belgrade, Serbia

- 23. Epidural cavernous hemangioma of the spinal cord. A case report and review of the literature.**
Petrosyan T, Zisakis A, Markogiannakis G, Hadjigeorgiou GF, Mylonakis I, Kelesis C, Panteli A, Varsos V
1st Congress of Southeast European Neurosurgical Society (SEENS), 31 October- 2 November 2013, Belgrade, Serbia
- 24. Programmable versus nonprogrammable cerebrospinal fluid shunt: a 5-year retrospective study of our department.**
G. Hadjigeorgiou, A. Zisakis, C. Kelesis, S. Karakalos, V. Varsos
The 5th Meeting of the International Society for Hydrocephalus and CSF Disorders, 29 June-2 July 2013, Athens, Greece
- 25. Ependymomas of the 4th ventricle. A 15-year experience and follow-up.**
A. Zisakis, A. Panteli, G. Markogiannakis, G. Hadjigeorgiou, T. Petrosyan, S. Lyra, F. Hatzigeorgiou, G. Arealis, V. Varsos
British Neurooncology Society (BNOS) Spring Meeting, 27-29 June 2012, Manchester, UK
- 26. Brain haemangioblastomas. Strategies in management. A 20 years experience at our department.**
A. Zisakis, A. Panteli, G. Markogiannakis, G. Hadjigeorgiou, T. Petrosyan, S. Lyra, F. Hatzigeorgiou, G. Arealis, V. Varsos
British Neurooncology Society (BNOS) Spring Meeting, 27-29 June 2012, Manchester, UK
- 27. Delayed subdural hematoma following normal tomography scan in a patient on anticoagulation: a case report.**
G. Hadjigeorgiou, C. Anagnostopoulos, C. Chamilos, A. Dafniotidis, A. Petsanas, G. Vranos, G. Alexopoulos
The Ninth World Congress on Brain Injury, 21-25 March 2012, Edinburgh, Scotland
- 28. Acute subdural hematoma with rapid spontaneous resolution in a patient with chronic alcoholism: a case report.**
G. Hadjigeorgiou, C. Anagnostopoulos, C. Chamilos, A. Dafniotidis, A. Petsanas, G. Vranos, G. Alexopoulos
The Ninth World Congress on Brain Injury, 21-25 March 2012, Edinburgh, Scotland
- 29. Reversible sinking skin flap syndrome after decompressive craniectomy.**
C. Chamilos, C. Anagnostopoulos, G. Hadjigeorgiou, A. Dafniotidis, A. Petsanas, G. Vranos, P. Spyridakis
The Ninth World Congress on Brain Injury, 21-25 March 2012, Edinburgh, Scotland
- 30. Massive traumatic hematoma of the corpus callosum: a case report.**

C.Chamilos, G. Hadjigeorgiou, C. Anagnostopoulos, A. Dafniotidis, A. Petsanas, G. Vranos, P. Spyridakis
The Ninth World Congress on Brain Injury, 21-25 March 2012, Edinburgh, Scotland

- 31. Solitary brain metastasis eleven years after diagnosis of a renal carcinoma.**
C.Chamilos, G. Hadjigeorgiou, G. Vranos, A. Petsanas, P. Spyridakis
14th Congress of European Association of Neurosurgical Societies (EANS), 9-14 October 2011, Rome, Italy
- 32. Posterior Communicating Artery Ruptured Aneurysm Presented Only With Intraventricular Hemorrhage.**
C.Chamilos, G. Hadjigeorgiou, G. Vranos, A. Petsanas, P. Spyridakis
14th Congress of European Association of Neurosurgical Societies (EANS), 9-14 October 2011, Rome, Italy
- 33. Traumatic Pneumorrhachis: a rare entity of trauma. A case report and literature review.**
G. Hadjigeorgiou, C. Chamilos, G. Vranos, A. Petsanas, P. Spyridakis
14th Congress of European Association of Neurosurgical Societies (EANS), 9-14 October 2011, Rome, Italy
- 34. Reoperation combining re-cytoreductive surgery (RCRS) and re-HIPEC for peritoneal carcinomatosis recurrence.**
Spiliotis J; Vaxevanidou A; Halkia E; Hadjigeorgiou G; Datsis A
7th International Workshop on Peritoneal Surface Malignancy, 8-10 September 2010, Uppsala, Sweden
- 35. Effect of recombinant growth hormone (rhGH) treatment on the renal tubular reabsorption of calcium, phosphorus and magnesium in children with growth hormone deficiency.**
D. Karakaidos; G. Triantafyllidis; G. Kafalidis; G. Hadjigeorgiou; C. Karis; M. Poulos
45th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Endocrinology (ESPE), Rotterdam, Netherlands, June 30-July 3, 2006.
- 36. The effect of recombinant human growth hormone therapy on cholesterol, lipoprotein A (LP(A)) and apolipoprotein A and B levels of growth hormone deficient children.**
D. Karakaidos; G. Triantafyllidis; N. Kouskounelou; G. Hadjigeorgiou; G. Liakos
European Academy of Paediatrics, Barcelona, Spain, October 7-10, 2006.
- 37. Multiple endocrine disturbances in a 15-year old girl with intracranial tuberculomas.**
G. Triantafyllidis; D. Karakaidos; P. Zosi; G. Hatzigeorgiou; G. Kafalidis; C. Theodoridis; C. Karis
23rd Joint Meeting of the British Endocrine Societies with the European Federation of Endocrine Societies, 22-24 March 2004, Brighton, UK

ΠΡΟΦΟΡΙΚΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ – POSTERS (Ελληνικά Συνέδρια)

- 1. Αιθουσαία διαταραχή ως πρώτη εκδήλωση σε ασθενή με σύνδρομο Arnold-Chiari I**
Ψιλοβασιλόπουλος Γ, Δρύλλη Α, Μυλωνάκης Ι, Μαρκογιαννάκης Γ, Χατζηγεωργίου Γ, Κελέσης Χ, Αρεάλης Γ, Χατζηγεωργίου Φ, Βάρσος Β.
26ο Ιατρικό Συνέδριο Ενόπλων Δυνάμεων, Θεσσαλονίκη, 3-5 Νοεμβρίου 2016
- 2. Ρινοοφθαλμική νευραλγία ως αιτία δευτεροπαθούς παροξυσμικής προσωπαλγίας.**
Μυλωνάκης Ι, Δρύλλη Α, Ψιλοβασιλόπουλος Γ, Μαρκογιαννάκης Γ, Χατζηγεωργίου Γ, Κελέσης Χ, Αρεάλης Γ, Χατζηγεωργίου Φ, Βάρσος Β.
4ο Συνέδριο "Νεότερες Εξελίξεις στη Νευρολογία και στα Συναφή Πεδία", Θεσσαλονίκη, 20-22 Οκτωβρίου 2016
- 3. Πλαγιοτραχηλική διόγκωση μετά από χειρουργηθείσα αυχενική μυελοπάθεια. Παρουσίαση περιστατικού.**
Δρύλλη Α, Χατζηγεωργίου Γ, Κελέσης Χ, Αρεάλης Γ, Χατζηγεωργίου Φ
18ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτορινολαρυγγολογίας, Χειρουργικής Κεφαλής & Τραχήλου, Πάτρα, 15-18 Οκτωβρίου 2015
- 4. Μικροκυτταρικό Γλοιοβλάστωμα: παρουσίαση περιστατικού και ανασκόπηση της βιβλιογραφίας.**
Διαμαντοπούλου Κ, Σαμαράς Β, Λευθεριώτης Β, Δημητρίου Κ, Κωστόπουλος Χ, Τσιακάλου Ε, Χατζηγεωργίου Γ
14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομίας, Αθήνα, 18-21 Ιουνίου 2014
- 5. Αντιμετώπιση ενδοκρανιακών ανευρυσμάτων με τη χρήση συσκευών Flow-Diverter: Η εμπειρία ενός έτους της κλινικής μας.**
Χατζηγεωργίου Γ, Μαρκογιαννάκης Γ, Ψιλοβασιλόπουλος Γ, Αρχοντάκης Ε, Βάρσος Β
28^ο Πανελλήνιο Νευροχειρουργικό Συνέδριο, Καβάλα, 18-20 Ιουνίου 2014
- 6. Η ενδαγγειακή αντιμετώπιση των μηνιγγικών αρτηριοφλεβωδών δυσπλασιών. Η εμπειρία της κλινικής μας.**
Μαρκογιαννάκης Γ, Χατζηγεωργίου Γ, Μυλωνάκης Ι, Αρχοντάκης Ε, Βάρσος Β
28^ο Πανελλήνιο Νευροχειρουργικό Συνέδριο, Καβάλα, 18-20 Ιουνίου 2014
- 7. Η αναγκαιότητα δημιουργίας εθνικής βάσης δεδομένων υδροκεφαλίας.**
Τάσιου Α, Χατζηγεωργίου Γ, Ζωγόπουλος Π, Χρυσικόπουλος Χ
28^ο Πανελλήνιο Νευροχειρουργικό Συνέδριο, Καβάλα, 18-20 Ιουνίου 2014
- 8. Έκβαση ανευρυσματικής υπαραχνοειδούς αιμορραγίας στο νεανικό πληθυσμό: παρουσίαση της 3-ετούς εμπειρίας μας.**

Χατζηγεωργίου Γ, Μαρκογιαννάκης Γ, Μυλωνάκης Ι, Ψιλοβασσιλόπουλος Γ, Βάρσος Β
28^ο Πανελλήνιο Νευροχειρουργικό Συνέδριο, Καβάλα, 18-20 Ιουνίου 2014

9. Ογκόμορφη απεικόνιση σκλήρυνσης κατά πλάκας: ένα διαφοροδιαγνωστικό πρόβλημα.

Χατζηγεωργίου Γ, Μαρκογιαννάκης Γ, Μυλωνάκης Ι, Ψιλοβασσιλόπουλος Γ, Βάρσος Β
28^ο Πανελλήνιο Νευροχειρουργικό Συνέδριο, Καβάλα, 18-20 Ιουνίου 2014

10. Ασπεργίλλωση του σφηνοειδούς κόλπου διηθητικού τύπου. Παρουσίαση σπάνιου περιστατικού.

Μαρκογιαννάκης Γ, Χατζηγεωργίου Γ, Μυλωνάκης Ι, Ψιλοβασσιλόπουλος Γ, Βάρσος Β
28^ο Πανελλήνιο Νευροχειρουργικό Συνέδριο, Καβάλα, 18-20 Ιουνίου 2014

11. Πτώση άκρου ποδός οφειλόμενη σε παραοβελιαίο μηνιγγίωμα: παρουσίαση περιστατικού.

Χατζηγεωργίου Γ, Πετσανάς Α, Δαφνιωτίδης Α, Βράνος Γ, Σπυριδάκης Φ
28^ο Πανελλήνιο Νευροχειρουργικό Συνέδριο, Καβάλα, 18-20 Ιουνίου 2014

12. Μη τερατοειδής εμβρυονικοί όγκοι της παρεγκεφαλίδας: παρουσίαση περιστατικού.

Χατζηγεωργίου Γ, Πετσανάς Α, Δαφνιωτίδης Α, Αλεξόπουλος Γ, Σπυριδάκης Φ
28^ο Πανελλήνιο Νευροχειρουργικό Συνέδριο, Καβάλα, 18-20 Ιουνίου 2014

13. Γλοιώματα του διαφανούς διαφράγματος: παρουσίαση περιστατικού και ανασκόπηση των χειρουργικών προσπελάσεων.

Χατζηγεωργίου Γ, Πετσανάς Α, Δαφνιωτίδης Α, Τζίκας Ι, Σπυριδάκης Φ
28^ο Πανελλήνιο Νευροχειρουργικό Συνέδριο, Καβάλα, 18-20 Ιουνίου 2014

14. Η χρήση του θρομβωτικού παράγοντα eptifibatide κατά τη διάρκεια εμβουλισμού ανευρυσμάτων.

Ζησάκης Α, Αρχοντάκης Ε, Μαρκογιαννάκης Γ, Χατζηγεωργίου ΓΦ, Βάρσος Β
27^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νευροχειρουργικής, Αθήνα, 27 -29 Ιουνίου 2013

15. Χειρουργική αντιμετώπιση των ενδοσκληρίδιων εξωμυελικών όγκων της σπονδυλικής στήλης. Ανασκόπηση αποτελεσμάτων των 5 ετών.

Πετροσιάν Τ, Μαρκογιαννάκης Γ, Ζησάκης Α, Χατζηγεωργίου ΓΦ, Βάρσος Β
27^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νευροχειρουργικής, Αθήνα, 27 -29 Ιουνίου 2013

16. Επισκληρίδιο σηραγγώδες αιμαγγείωμα σπονδυλικής στήλης. Παρουσίαση σπάνιου περιστατικού και ανασκόπηση της βιβλιογραφίας.

Μαρκογιαννάκης Γ, Ζήσακης Α, Πετροσιάν Τ, Χατζηγεωργίου ΓΦ, Βάρσος Β
27^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νευροχειρουργικής, Αθήνα, 27 -29 Ιουνίου 2013

17. Χειρουργική αντιμετώπιση πρωτοπαθών και μεταστατικών όγκων σπονδυλικής στήλης. Αναδρομική μελέτη 3 ετών.

Χ. Αναγνωστόπουλος, Γ.Φ. Χατζηγεωργίου, Α. Πετσανάς, Γ. Βράνος, Γ. Αλεξόπουλος
27^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νευροχειρουργικής, Αθήνα, 27 -29 Ιουνίου 2013

18. Συντηρητική αντιμετώπιση καταγμάτων ινιακού κονδύλου: κλινική εικόνα και απεικονιστικά χαρακτηριστικά.

Α. Πετσανάς, Χ. Αναγνωστόπουλος, Γ.Φ. χατζηγεωργίου, Γ. Βράνος, Φ. Σπυριδάκης
27^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νευροχειρουργικής, Αθήνα, 27 -29 Ιουνίου 2013

19. Τραυματική χιασματική νευροπάθεια. Παρουσίαση περιστατικού.

Μυλωνάκης Ι, Χατζηγεωργίου ΓΦ, Ζησάκης Α, Μαρκογιαννάκης Γ, Βάρσος Β
27^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νευροχειρουργικής, Αθήνα, 27 -29 Ιουνίου 2013

20. Γενετική επίδραση στην έκβαση των ασθενών με κρανιοεγκεφαλική κάκωση.

Χατζηγεωργίου ΓΦ, Δαρδιώτης Ε, Χατζηγεωργίου ΓΜ, Βάρσος Β, Φουντάς Κ
27^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νευροχειρουργικής, Αθήνα, 27 -29 Ιουνίου 2013

21. Σύνδρομο βυθιζόμενου δερματικού κρημνού μετά από αποσυμπιεστική κρανιεκτομή.

Χαμηλός Χ, Χατζηγεωργίου ΓΦ, Αναγνωστόπουλος Χ, Πετσανάς Α, Αλεξόπουλος Γ
27^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νευροχειρουργικής, Αθήνα, 27 -29 Ιουνίου 2013

22. Πρωτοπαθές αγγειοσάρκωμα θωρακικής μοίρας σπονδυλικής στήλης: παρουσίαση σπάνιου περιστατικού.

Χατζηγεωργίου ΓΦ, Πετροσιάν Τ, Ζησάκης Α, Ψιλοβασιλόπουλος, Βάρσος Β
27^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νευροχειρουργικής, Αθήνα, 27 -29 Ιουνίου 2013

23. Εξωκρανιακή μετάσταση μηνιγγιώματος. Παρουσίαση περιστατικού.

Α. Ζησάκης, Γ. Μαρκογιαννάκης, Γ. Χατζηγεωργίου, Τ. Petrosyan, Β. Βάρσος
26^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νευροχειρουργικής, Θεσσαλονίκη, 31 Μαΐου - 2 Ιουνίου 2012

24. Επενδυμώματα 4^{ης} κοιλίας. 15 χρόνια εμπειρία της κλινικής μας.

Α. Ζησάκης, Γ. Χατζηγεωργίου, Α. Παντελή, Τ. Petrosyan, Β. Βάρσος
26^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νευροχειρουργικής, Θεσσαλονίκη, 31 Μαΐου - 2 Ιουνίου 2012

25. Αιμαγγειοβλαστώματα εγκεφάλου. Αντιμετώπιση και εξέταση. Η 20ετής μας εμπειρία.

Α. Ζησάκης, Γ. Μαρκογιαννάκης, Γ. Χατζηγεωργίου, Α. Παντελή, Β. Βάρσος
26^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νευροχειρουργικής, Θεσσαλονίκη, 31 Μαΐου - 2 Ιουνίου 2012

26. Αιμαγγειοβλαστόμα παρεγκεφαλίδας σε ασθενή με νόσο Von Hippel-Lindau. Παρουσίαση περιστατικού και ανασκόπηση της βιβλιογραφίας.

Γ. Μαρκογιαννάκης, Γ. Χατζηγεωργίου, Τ. Petrosyan, Α. Ζησάκης, Β. Βάρσος
26^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νευροχειρουργικής, Θεσσαλονίκη, 31 Μαΐου - 2 Ιουνίου
2012

27. Χαμηλής διαφοροποίησης μυοϊνοβλαστικό σάρκωμα της θωρακικής μοίρας της σπονδυλικής στήλης: παρουσίαση σπάνιου περιστατικού.

Γ. Χατζηγεωργίου, Α. Ζησάκης, Τ. Petrosyan, Α. Παντελή, Β. Βάρσος
26^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νευροχειρουργικής, Θεσσαλονίκη, 31 Μαΐου - 2 Ιουνίου 2012

28. Ηωσινόφιλο κοκκίωμα ινιακού οστού σε ενήλικα. Παρουσίαση περιστατικού.

Γ. Μαρκογιαννάκης, Γ. Χατζηγεωργίου, Α. Ζησάκης, Α. Παντελή, Β. Βάρσος
26^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νευροχειρουργικής, Θεσσαλονίκη, 31 Μαΐου - 2 Ιουνίου
2012

29. Ενδοεγκεφαλική αιμορραγία σε ασθενή με συστηματικό ερυθριματώδη λύκο και απουσία άλλων προδιαθεσικών παραγόντων: παρουσίαση περιστατικού.

Γ. Χατζηγεωργίου, Γ. Μαρκογιαννάκης, Γ., Α. Ζησάκης, Α. Παντελή, Β. Βάρσος
26^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νευροχειρουργικής, Θεσσαλονίκη, 31 Μαΐου - 2 Ιουνίου
2012

30. Κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις και «εύκολη» χορήγηση αντιπηκτικής αγωγής.

Ε. Λιναρδούτσου, Γ. Φιορέτος, Ι. Γκαϊταρτάκης, Χ. Χαμηλός, Γ. Χατζηγεωργίου,
Γ. Στρατιώτης, Α. Δαφνωτίδης, Χ. Αναγνωστόπουλος, Ε. Χελιώτη
Επιστημονικό Συμπόσιο Γενικής Ιατρικής, Λουτράκι, 22-25 Σεπτεμβρίου 2011

31. Η έγκαιρη διάγνωση της αυτόματης υπαραχνοειδούς αιμορραγίας σε πρωτοβάθμιο επίπεδο.

Γ. Φιορέτος, Ι. Γκαϊταρτζάκης, Ε. Λιναρδούτσου, Χ. Χαμηλός, Γ. Χατζηγεωργίου,
Α. Δαφνωτίδης, Χ. Αναγνωστόπουλος, Γ. Στρατιώτης, Ε. Χελιώτη
Επιστημονικό Συμπόσιο Γενικής Ιατρικής, Λουτράκι, 22-25 Σεπτεμβρίου 2011

32. Έλεγχος ανθεκτικής επιληπτικής κατάστασης με προσθήκη λακοσαμίδης. Παρουσίαση τριών περιστατικών.

Γ. Χατζηγεωργίου, Χ. Χαμηλός, Α. Πετσανάς, Γ. Βράνος, Φ. Σπυριδάκης
6^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Επιληψίας, Θεσσαλονίκη, 24-26 Ιουνίου 2011

33. Ο ρόλος της λακοσαμίδης στον έλεγχο της ανθεκτικής επιληπτικής κατάστασης. Παρουσίαση τριών περιστατικών.

Γ. Χατζηγεωργίου, Χ. Χαμηλός, Α. Πετσανάς, Γ. Βράνος, Φ. Σπυριδάκης
25^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νευροχειρουργικής, Αθήνα, 23-25 Ιουνίου 2011

34. Χρόνια υποσκληρίδια αιματώματα και αντιπηκτική αγωγή.

Χ. Χαμηλός, Γ. Χατζηγεωργίου, Π. Παπανικολάου, Γ. Φιορέτος, Α. Πτσανάς, Ι.
Τζίκας, Φ. Σπυριδάκης
25^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νευροχειρουργικής, Αθήνα, 23-25 Ιουνίου 2011

HANDS-ON WORKSHOPS

1. **Advanced FESS and Anterior Skull Base**, University of Copenhagen, Denmark, 12-13 November 2015
2. **Peripheral nerve cadaveric course**, University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark, 16-18 September 2015
3. **Neurosurgical Approaches to the Cranial Compartments**, Royal College of Surgeons, Edinburgh, Scotland, 18-20 November 2014
4. **Microscopic and Endoscopic Approaches to the Skull Base**, Strasbourg, France, 22 -24 January 2014
5. **Neurosurgical Approaches to the Cranial Compartments**, Royal College of Surgeons, Edinburgh, Scotland, 19-21 November 2013
6. **Microscopic and Endoscopic Approaches to the Skull Base**, Strasbourg, France, 23 -25 January 2013
7. **EANS Advanced Cervical Spine CME Course**, Leiden, Netherlands, November 15-18, 2011
8. **2nd International Cadaveric Workshop in Neuroendoscopy**, Athens, Greece, 10-11 September 2011
9. **37th Week on Basic Techniques of Microsurgery and Cerebral Revascularization**, Ioannina, Greece, 15-21 April 2011
10. **Advanced Trauma Life Support (ATLS)**, American College of Surgeons, Athens, Greece, 5-6 April 2010
11. **2nd International Seminar of Interventional Therapeutic Neuroradiology**, Athens, Greece, 7-10 May 2003

ΣΥΝΕΔΡΙΑ:

- Συμμετοχή σε 19 Διεθνή και 63 Ελληνικά Συνέδρια
- Ενδεικτικά:
 1. **EANS 16th European Congress of Neurosurgery**, Athens, Greece, 4-8 September 2016
 2. **EANS European Training Course in Neurosurgery in Trauma/Functional Neurosurgery**, Lisbon, Portugal, 30 August-3 September 2015
 3. **EANS 15th European Congress of Neurosurgery**, Prague, Czech Republic, 12-17 October 2014
 4. **EANS European Training Course in Neurosurgery in Tumour**, Nicosia, Cyprus, 14-18 September 2014
 5. **1st Congress of Southeast European Neurosurgical Society (SEENS)**, 31st October – 2 November 2013, Belgrade, Serbia

6. **The 5th Meeting of the International Society for Hydrocephalus and CSF Disorders**, Athens, Greece, 29 June – 2 July 2013
7. **EANS 14th European Congress of Neurosurgery**, Rome, Italy, 9-14 October 2011
8. **EuroSpine Annual Meeting**, Warsaw, Poland, 21-24 October 2009
9. **EANS 13th European Congress of Neurosurgery**, Glasgow, Scotland, 2-7 September 2007

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΣΕ ΓΟΝΙΔΙΑ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΕΚΒΑΣΗ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΚΡΑΝΙΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗ ΚΑΚΩΣΗ

ΓΕΩΡΓΙΟΣ Φ. ΧΑΤΖΗΓΕΩΡΓΙΟΥ

ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, 2017

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Κ. ΦΟΥΝΤΑΣ, Καθηγητής Νευροχειρουργικής Π.Θ. (επιβλέπων)

Γ. ΧΑΤΖΗΓΕΩΡΓΙΟΥ, Καθηγητής Νευρολογίας Π.Θ.

Κ. ΠΑΤΕΡΑΚΗΣ, Επίκουρος Καθηγητής Νευροχειρουργικής Π.Θ.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η Κρανιοεγκεφαλική Κάκωση (ΚΕΚ) αποτελεί μια από τις σημαντικότερες αιτίες νοσηρότητας και θνητότητας στο σύγχρονο κόσμο, αποτελώντας το κύριο αίτιο θανάτου στα νέα άτομα. Εκτιμάται ότι παρά τις σύγχρονες εξελίξεις στην αντιμετώπιση της ΚΕΚ, περίπου οι μισοί ασθενείς με βαριά ΚΕΚ θα έχουν δυσμενή έκβαση. Πρόσφατες μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία υποστηρίζουν ότι ποικίλοι γενετικοί παράγοντες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην έκβαση διαφόρων διαταραχών του ΚΝΣ, συμπεριλαμβανομένης και της ΚΕΚ. Οι μελέτες γενετικής συσχέτισης αποτελούν σημαντικό εργαλείο στην προσπάθεια ανάδειξης σύνδεσης συγκεκριμένων γενετικών πολυμορφισμών και της έκβασης της νόσου. Στην παρούσα μελέτη διερευνήσαμε τον ρόλο της Ακουοπορίνης-4 (AQP4) και του Μετατρεπτικού Ενζύμου της Αγγειοτενσίνης (ACE) σχετικά με την έκβαση των ασθενών μετά από ΚΕΚ. Ειδικότερα, μελετήθηκαν οι πολυμορφισμοί της AQP4: rs335929, rs3763043, rs11661256, rs335931,

rs3763040, rs4800773, rs3875089, όπως και οι ακόλουθοι του ACE: rs4343, rs4461142, rs7221780, rs8066276, rs8066114.

Μέθοδος: Στη μελέτη συλλέχθηκαν προοπτικά 363 ασθενείς με ΚΕΚ (άνδρες: 292 – γυναίκες: 71). Η αρχική νευρολογική εικόνα και η έκβαση 6 μήνες μετά την ΚΕΚ εκτιμήθηκαν με βάση την Κλίμακα Κώματος Γλασκώβης και την Κλίμακα Έκβασης Γλασκώβης αντιστοίχως. Καταγράφηκαν λεπτομερώς και ταξινομήθηκαν τα δημογραφικά και κλινικά στοιχεία των ασθενών, όπως και τα ευρήματα του νευροαπεικονιστικού ελέγχου. Οι ασθενείς συμπεριλαμβάνονταν στη μελέτη εφόσον είχαν υποστεί αμβλύ τραυματισμό κεφαλής, ήταν ελληνικής καταγωγής και ηλικίας άνω των 18 ετών. Η απομόνωση γενωμικού DNA από πυρήνες λευκοκυττάρων έγινε με τη μέθοδο της εξαλάτωσης, ενώ η ταυτοποίηση των γονοτύπων των πολυμορφισμών έγινε με γνωστές PCR/RFLP μεθόδους. Η ισορροπία Hardy-Weinberg εξετάστηκε με τη χρήση του Fisher exact test. Η αξιολόγηση της ισχύος της μελέτης έγινε με τη χρήση του προγράμματος Quanto. Έγινε χαρτογράφηση της ανισορροπίας σύνδεσης και σύγκριση των απλοτύπων με βάση μεθόδους εκτίμησης της μεγίστης πιθανοφάνειας. Λόγω πολλαπλών συγκρίσεων εφαρμόστηκε η διόρθωση κατά Bonferroni. Στατιστικά σημαντικά θεωρήθηκαν τα αποτελέσματα με $p=0.05$ διαιρούμενα με τον αριθμό των μελετώμενων μεταβλητών.

Αποτελέσματα: Σχετικά με τους πολυμορφισμούς της AQP4, σημαντική συσχέτιση με την έκβαση μετά από ΚΕΚ ανιχνεύθηκε για τις ακόλουθες ετικέτες SNPs: rs3763043 (OR [95% CI]: 5.15 [1.60–16.5], $p = 0.006$), rs3875089 (OR [95% CI]: 0.18 [0.07–0.50] $p = 0.0009$), και SNPs του κοινού απλοτύπου της AQP4 (OR [95% CI]: 2.94, [1.34–6.36], $p = 0.0065$). Οι ετικέτες SNPs της AQP4 δεν φάνηκαν να επηρεάζουν την αρχική βαρύτητα της ΚΕΚ ή την παρουσία ενδοκρανιακής αιμορραγίας.

Όσον αφορά τους πολυμορφισμούς της ACE, σημαντική επίδραση σχετικά με την έκβαση μετά από ΚΕΚ ανιχνεύθηκε για τις ακόλουθες γειτονικές ετικέτες: rs4461142 (OR: 0.26, 95% CI 0.12–0.57, $P=0.0001$), rs7221780 (OR 2.67, 95% CI 1.25–5.72, $P=0.0003$) και rs8066276 (OR 3.82, 95% CI 1.80–8.13, $P=0.0002$).

Συμπεράσματα: Η παρούσα μελέτη παρέχει ενδείξεις για πιθανή συμμετοχή γενετικών παραλλαγών της AQP4 και της ACE στην λειτουργική έκβαση των ασθενων με ΚΕΚ. Η συσχέτιση αυτή παρουσιάζει ιδιαίτερο επιστημονικό ενδιαφέρον, καθότι τα γονίδια αυτά μπορούν να αποτελέσουν πιθανούς θεραπευτικούς στόχους σε ασθενείς με ΚΕΚ, για την πρόληψη και τη θεραπεία του εγκεφαλικού οιδήματος. Μελλοντικά οι εξελίξεις στον τομέα αυτό αναμένεται να έχουν σημαντική επίδραση στη θεραπεία των ασθενών με ΚΕΚ και να επηρεάζουν ευνοϊκά την τελική τους έκβαση μέσω γενετικά καθοδηγούμενων θεραπειών.

ABSTRACT

Background & Purpose: Traumatic brain injury (TBI) constitutes a major cause of mortality and disability worldwide, especially among young individuals. It is estimated that despite all the recent advances in the management of TBI, approximately half of the patients suffering head injuries still have unfavorable outcomes. Accumulating evidence suggests that the extent of brain injury and the clinical outcome after TBI are modulated, to some degree, by genetic variants. In this study we investigated the role of Aquaporin-4 (AQP4) and the Angiotensin Converting Enzyme (ACE) regarding the outcome after a TBI. In particular, we tested the AQP4 polymorphisms rs335929, rs3763043, rs11661256, rs335931, rs3763040, rs4800773, rs3875089, as long as the ACE polymorphisms rs4343, rs4461142, rs7221780, rs8066276 and rs8066114.

Methods: 363 (male:292 - female:71) prospectively recruited patients with TBI were evaluated. Initial neurological status and six-month outcome were assessed by means of the Glasgow Coma Score and Glasgow Outcome Scale respectively. Demographic and TBI related data regarding age and sex of the participants and findings of the initial Computed Tomography scan were also prospectively collected. Patients were included if they sustained isolated blunt head trauma, were of Greek origin, and 18 years of age or older. DNA was extracted using the salting out method, while SNPs genotypes were determined using standard PCR/RFLP methods. The Hardy–Weinberg equilibrium was assessed by means of the Fisher exact test. The power analysis evaluation of the study was performed with the Quanto program. Linkage disequilibrium between SNPs was examined and haplotype estimation was performed by an expectation-maximization algorithm. Control for multiple comparisons was performed using Bonferroni's correction. The level of significance (p) was equal to 0.05 divided by the number of studied polymorphisms.

Results: As far as the AQP4 polymorphisms is concerned, significant associations with TBI outcome were detected for rs3763043 (OR [95% confidence interval (CI)]: 5.15 [1.60–16.5], $p = 0.006$, for recessive model), rs3875089 (OR [95% CI]: 0.18 [0.07–0.50] $p = 0.0009$, for allele difference model), and a common haplotype of AQP4 tag SNPs (OR [95% CI]: 2.94, [1.34–6.36], $p = 0.0065$). AQP4 tag SNPs were not found to influence the initial severity of TBI or the presence of intracranial hemorrhages.

Regarding the ACE polymorphisms, significant effects on TBI outcome were found for three neighboring tag SNPs: rs4461142 (odds ratio [OR] 0.26, 95% confidence interval [CI] 0.12–0.57, $P=0.0001$), rs7221780 (OR 2.67, 95% CI 1.25–5.72, $P=0.0003$) and rs8066276 (OR 3.82, 95% CI 1.80–8.13, $P=0.0002$).

Conclusions: The present study provides evidence of the possible influence of genetic variations in a specific region of the AQP4 and ACE gene on the outcome of TBI patients. This association may have pharmacogenetic implications in identifying those TBI patients who may benefit from a genetic inhibition or upregulation. In the future, this genetic manipulation may offer the prospect of personalized risk assessment and novel, genomic-based, targeted treatments.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΡΑΝΙΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗ ΚΑΚΩΣΗ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η κρανιοεγκεφαλική κάκωση (ΚΕΚ) αποτελεί το συνηθέστερο νευρολογικό νόσημα, το οποίο θα κληθεί να αντιμετωπίσει ένας νευροχειρουργός στη κλινική του πράξη. Οι ΚΕΚ αποτελούν μία από τις σημαντικότερες αιτίες νοσηρότητας και θνητότητας στο σύγχρονο κόσμο, αποτελώντας το κύριο αίτιο θανάτου στα νέα άτομα (1-40 έτη). Η σημασία τους έχει αναγνωρισθεί από την αρχαιότητα. Ειδικότερα, είναι χαρακτηριστικό ότι η πρώτη αναφορά σε ΚΕΚ ανακαλύφθηκε σε αιγυπτιακό πάπυρο ηλικίας περίπου 4.500 χρόνων, ενώ στον ελληνικό χώρο η πρώτη νευροχειρουργική επέμβαση εντοπίζεται το 1900 π.Χ. στην περιοχή των Δελφών¹.

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής (ΗΠΑ), όπου υπάρχουν επίσημες στατιστικές καταγραφές, 200.000 άτομα νοσηλεύονται και 1,7 εκ. άτομα επισκέπτονται το Τμήμα Επειγόντων Περιστατικών κάποιου νοσηλευτικού ιδρύματος ετησίως. Από αυτούς 50.000 περίπου καταλήγουν, ενώ το 30,5% επί του συνόλου των θανάτων μετά από κάποιο ατύχημα οφείλεται σε ΚΕΚ. Επιπρόσθετα, 5 εκ. άτομα ζουν αυτή τη στιγμή στις ΗΠΑ με κάποιας μορφής αναπηρίας απότοκη της ΚΕΚ, ενώ το ετήσιο οικονομικό κόστος ανέρχεται σε 76,5 δις δολάρια^{2,3}. Από τα παραπάνω στοιχεία προκύπτει ότι το εγκεφαλικό τραύμα αποτελεί ένα διεθνώς ιδιαίτερα σημαντικό πρόβλημα της δημόσιας υγείας.

Στην Ελλάδα τα τελευταία 50 χρόνια 2 εκ. άτομα υπέστησαν κάποιας μορφής ΚΕΚ, από τους οποίους 100.000 έχασαν τη ζωή τους. Ειδικότερα, το 2009, 1464 άτομα έχασαν τη ζωή τους και 1670 υπέστησαν κάποιας μορφής σοβαρή αναπηρία. Αξίζει βέβαια να σημειωθεί, ότι ίδιο έτος παρατηρήθηκε για πρώτη φορά μετά το 1982 μείωση των τροχαίων ατυχημάτων κατά 11%. Στη χώρα μας επίσης, οι ΚΕΚ κατατάσσονται μεταξύ των πρώτων αιτιών θανάτου και μόνιμης αναπηρίας σε όλες τις ηλικίες και αποτελούν την πρώτη αιτία με διαφορά στις ηλικίες 18 έως 25 ετών. Όσον αφορά τον μηχανισμό της κάκωσης, οι ΚΕΚ λόγω πτώσεων κυριαρχούν στις μικρές (0-9 έτη) και μεγάλες ηλικίες (>65 έτη), ενώ τα τροχαία ατυχήματα είναι περισσότερο αυξημένα στις ηλικίες 15-35⁴.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Οι ΚΕΚ αποτελούν ένα σύνθετο κλινικό πρόβλημα και η καλύτερη κατανόησή τους επιβάλλει την ταξινόμησή τους με συγκεκριμένα κριτήρια. Η πιο πρακτική προσέγγιση της ταξινόμησής τους βασίζεται στο μηχανισμό πρόκλησης, τη βαρύτητα, την έκταση της βλάβης και την μορφολογία.

Μηχανισμός

Οι ΚΕΚ ανάλογα με τον μηχανισμό πρόκλησης της βλάβης μπορούν να διακριθούν σε δύο υποκατηγορίες. Η πρώτη αφορά τις ΚΕΚ που είναι απότοκες μιας γραμμικής επιτάχυνσης-επιβράδυνσης (acceleration-deceleration) και στις οποίες η εγκεφαλική βλάβη προκαλείται όταν το παρέγχυμα προσκρούει στην ανένδοτη επιφάνεια του κρανίου. Η δεύτερη υποκατηγορία αφορά τις ΚΕΚ που οφείλονται σε κυκλωτερή επιτάχυνση (rotational injury). Στην περίπτωση αυτή η εγκεφαλική βλάβη προκαλείται από τη διαφορετική επιτάχυνση, λόγω διαφορών στο ειδικό βάρος, μεταξύ φαιάς και λευκής ουσίας με απότοκη απόσχιση νευρωνικών ινών (shearing injury)¹.

Ένας άλλος τρόπος ταξινόμησης των ΚΕΚ ανάλογα με τον μηχανισμό πρόκλησης αποτελεί η υποδιαίρεσή τους σε κλειστές (closed head injuries) και διαπιτραίνουσες (penetrating). Η κλειστή ΚΕΚ αφορά τις κακώσεις εκείνες στις οποίες δεν υπάρχει έκθεση του εγκεφάλου στο εξωτερικό περιβάλλον, όπως π.χ. μετά από πτώσεις και τροχαία ατυχήματα, ενώ διαπιτραίνουσα ορίζεται η κάκωση εκείνη στην οποία διαπερνάται το εγκεφαλικό κρανίο με ακόλουθη έκθεση του εγκεφαλικού παρεγχύματος στο περιβάλλον, όπως π.χ. μετά από τραυματισμό από πυροβόλο όπλο⁵.

Βαρύτητα

Πριν το 1974 πολλοί συγγραφείς χρησιμοποίησαν διαφορετικούς όρους στην προσπάθειά τους να περιγράψουν τους ασθενείς με ΚΕΚ, καθιστώντας πρακτικά αδύνατη τη σύγκριση των ασθενών από διαφορετικά κέντρα. Το 1974 οι Teasdale και Jannett, αναγνωρίζοντας τα κλινικά σημεία που σχετίζονταν περισσότερο με την έκβαση ενός ασθενούς με ΚΕΚ και δεν διαφοροποιούνταν σημαντικά από το υποκειμενικό στοιχείο, σχεδίασαν μια κλίμακα που έγινε γνωστή υπό τον όρο Κλίμακα Κώματος Γλασκώβης (GCS: Glasgow Coma Scale). Η εισαγωγή της συγκεκριμένης κλίμακας έφερε σημαντικού βαθμού ομοιομορφία στη βιβλιογραφία όσον αφορά την περιγραφή της κλινικής εικόνας των ασθενών με ΚΕΚ, με αποτέλεσμα να αποκτήσει ευρεία χρήση όχι μόνο στην περιγραφή των ασθενών με κάκωση κεφαλής αλλά και σε αυτούς με μειωμένο επίπεδο συνείδησης από άλλα αίτια.

Με την κλίμακα αυτή εκτιμάται η ικανότητα του ασθενούς να εκτελέσει τις ακόλουθες τρεις νευρολογικές δοκιμασίες: (1) το άνοιγμα των οφθαλμών του (αυτόματο, μετά από παραγγελία, μετά από επώδυνο ερέθισμα, χωρίς άνοιγμα οφθαλμών), (2) την λεκτική του αντίδραση (προσανατολισμένος λόγος, συγκεχυμένος, ακατάληπτες λέξεις, ήχοι-βογκητά, χωρίς αντίδραση), (3) την κινητική του αντίδραση (υπακούει σε εντολές, εντοπίζει το επώδυνο ερέθισμα, αποσύρει στο επώδυνο ερέθισμα, ανώμαλη κάμψη - αποφλοιώση, ανώμαλη έκταση - απεγκεφαλισμός, χωρίς αντίδραση).

ΚΛΙΜΑΚΑ ΚΩΜΑΤΟΣ ΓΛΑΣΚΩΒΗΣ		
Άνοιγμα οφθαλμών	Αυθόρμητα	4
	Σε παραγγελία	3
	Σε επώδυνο ερέθισμα	2
	Χωρίς αντίδραση	1
Λεκτική αντίδραση	Προσανατολισμένος	5
	Συγκεχυμένος	4
	Ακατάληπτες λέξεις	3
	Ήχοι-Βογκητά	2
	Χωρίς αντίδραση	1
Κινητική αντίδραση	Υπακούει εντολές	6
	Εντοπίζει το επώδυνο ερέθισμα	5
	Κάμπτει στον πόνο	4
	Κάμψη αποφλοίωσης στον πόνο	3
	Κάμψη απεγκεφαλισμού στον πόνο	2
	Χωρίς αντίδραση	1

□ **Πίνακας 1:** Η Κλίμακα Κώματος Γλασκώβης χρησιμοποιείται για την περιγραφή του επιπέδου συνείδησης στους ενήλικες και παιδιά > 4 ετών. Μπορεί να λάβει τιμές από 3 έως και 15. Ένας ασθενής σε κώμα θα έχει τιμή από 8 και κάτω.

Η ταξινόμηση των ΚΕΚ ανάλογα με τη βαρύτητα της βλάβης στηρίζεται στην προαναφερθείσα κλίμακα και διακρίνονται σε:

1. Ήπιες, στις οποίες υπάρχει μια ήπια ή καμιά διαταραχή του επιπέδου συνείδησης, που ερμηνεύεται στην Κλίμακα Γλασκώβης με τιμές 13 έως 15.
2. Μέτριες, στις οποίες υπάρχει σημαντικότερη διαταραχή του επιπέδου συνείδησης, η οποία βαθμολογείται με τιμές 9 έως και 12.
3. Βαριές, στις οποίες ο ασθενής βρίσκεται σε κωματώδη κατάσταση, με τιμές της Κλίμακας Γλασκώβης από 3 έως και 8.

Το 80% των ΚΕΚ εντάσσονται στην κατηγορία των ελαφρών κακώσεων, 10% στην κατηγορία μέτριας βαρύτητας και 10% στις βαριές⁵.

Έκταση της βλάβης

Οι ΚΕΚ ανάλογα με το εάν αφορούν ένα εντοπισμένο τμήμα ή ολόκληρο τον εγκέφαλο ταξινομούνται σε εστιακές βλάβες, όπως π.χ. οι εγκεφαλικές θλάσεις, και σε γενικευμένες, όπως π.χ. οι διάχυτες αξονικές βλάβες.

Μορφολογία της βλάβης

Μορφολογικά οι ΚΕΚ μπορούν να διακριθούν σε δύο ευρείες κατηγορίες: τα κατάγματα κρανίου και τις ενδοκρανιακές βλάβες.

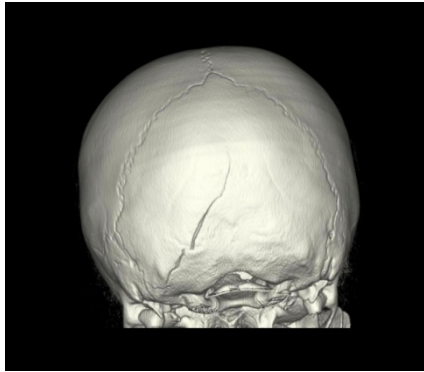
ΚΑΤΑΓΜΑΤΑ ΚΡΑΝΙΟΥ

Στην καθημερινή κλινική πράξη η διάγνωση των καταγμάτων κρανίου γίνεται με την αξονική τομογραφία εγκεφάλου, ενώ πλέον οι απλές ακτινογραφίες κρανίου έχουν μειωμένη διαγνωστική αξία. Τα κατάγματα κρανίου μπορούν να αφορούν τον κρανιακό θόλο ή τη βάση του κρανίου, μπορούν να είναι γραμμοειδή ή αστεροειδή, εμπιεστικά ή μη εμπιεστικά.

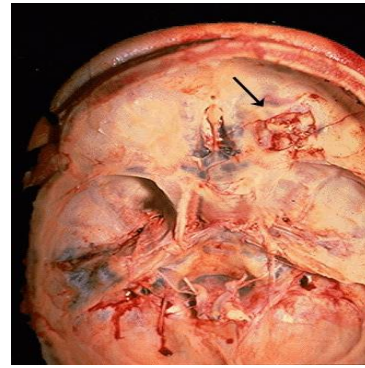
Η κυρτότητα του κρανίου πλήττεται συχνότερα από ότι η βάση του σε αναλογία 3:1. Το κάταγμα της βάσης του κρανίου δύσκολα διαγιγνώσκεται στις απλές ακτινογραφίες κρανίου και συνήθως απαιτείται αξονική τομογραφία με οστικά παράθυρα. Η κατηγορία αυτή των καταγμάτων μπορεί περαιτέρω να ταξινομηθεί ανάλογα με την εντόπισή τους σε κατάγματα πρόσθιου, μέσου και οπίσθιου κρανιακού βόθρου. Κλινικά ευρήματα που υποδηλώνουν κάταγμα βάσης αποτελούν η εκροή εγκεφαλονωτιαίου υγρού (ENY) από τη μύτη (ρινόρροια) ή το αυτί (ωτόρροια), η παρουσία οπισθωποταίων (σημείο Battle) ή περιοφθαλμικών εκχυμώσεων (raccoon eyes). Τα κατάγματα βάσης κρανίου συνήθως δεν απαιτούν κάποια χειρουργική αντιμετώπιση, εκτός από τις περιπτώσεις που εμμένει η διαρροή ENY.

Εμπιεστικό θεωρείται κάθε κάταγμα που προβάλλει εντός της κρανιακής κοιλότητας. Το εμπιεστικό κάταγμα κρανίου μπορεί να προκαλέσει βλάβη στο υποκείμενο εγκεφαλικό παρέγχυμα και τρώση της σκληράς μήνιγγας. Ως γενικός κανόνας, σχετικά με την αντιμετώπισή τους θεωρείται, ότι όταν η οστική παρεκτόπιση είναι μεγαλύτερη από το πάχος του οστού ή υπάρχει υποκείμενη βλάβη ή διαρροή ENY, τότε θα πρέπει να αντιμετωπίζεται χειρουργικά.

Το γραμμοειδές κάταγμα κρανίου συνοδεύεται από αυξημένο κίνδυνο παρουσίας ενδοκρανιακού αιματώματος. Ειδικότερα, η ύπαρξη κατάγματος στην κυρτότητα του κρανίου αυξάνει την πιθανότητα αναπτύξεως ενδοκρανιακής αιμορραγίας 400 φορές, ενώ το 77% των τραυματιών με ΚΕΚ και παρουσία ενδοκρανιακού αιματώματος είχαν και κάταγμα κρανίου. Ως εκ τούτου, η ανίχνευσή του στις απλές ακτινογραφίες θα πρέπει να ακολουθείται από τη διενέργεια αξονικής τομογραφίας και την εισαγωγή του ασθενούς στο νοσοκομείο για παρακολούθησή⁵.



□ **Εικόνα 1:** Γραμμοειδές κάταγμα
(πηγή Ίντερνετ)



□ **Εικόνα 2:** Κάταγμα βάσης κρανίου
(πηγή Ίντερνετ)

ΕΝΔΟΚΡΑΝΙΑΚΕΣ ΒΛΑΒΕΣ

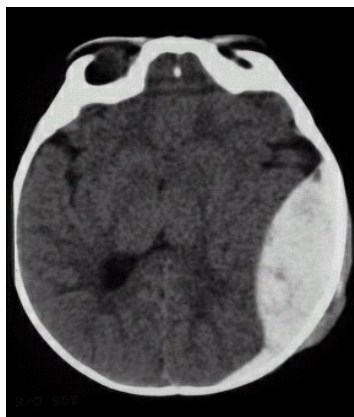
Οι ενδοκρανιακές βλάβες μπορούν αδρά να ταξινομηθούν σε εστιακές και διάχυτες. Οι εστιακές περιλαμβάνουν τις εγκεφαλικές θλάσεις, τα επισκληρίδια, υποσκληρίδια και ενδοεγκεφαλικά αιματώματα, ενώ οι διάχυτες περιλαμβάνουν τις αξονικές βλάβες εγκεφάλου. Οι τελευταίες μπορούν να μην απεικονίζονται ή να έχουν τη μορφή σπικτών αιμορραγιών στην αξονική τομογραφία αλλά συνδυάζονται συνήθως με μια βαριά νευρολογική εικόνα, η οποία δε συμβαδίζει με τα απεικονιστικά ευρήματα.

Οξύ επισκληρίδιο αιμάτωμα

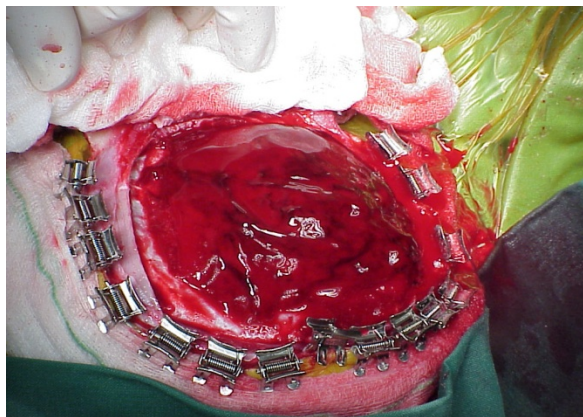
Η κατηγορία αυτή του αιματώματος εντοπίζεται ανατομικά μεταξύ της εσωτερικής επιφάνειας του κρανίου και της σκληράς μήνιγγας. Συνήθως αφορούν την κροταφική ή μετωποκροταφική χώρα και προκύπτουν από τραυματισμό της μέσης μηνιγγικής αρτηρίας λόγω κατάγματος. Σπανιότερα ένα επισκληρίδιο αιμάτωμα μπορεί να δημιουργηθεί από τραυματισμό της μέσης μηνιγγικής φλέβας, διπλοϊκών φλεβών ή φλεβωδών κόλπων. Το 9% των ασθενών σε κωματώδη κατάσταση θα εμφανίσουν επισκληρίδιο αιμάτωμα, ενώ ηλικιακά εμφανίζεται συνήθως σε νέα άτομα (18-30 έτη) και άρρενες (4:1). Το ποσοστό θνητότητάς του για όλες τις ηλικιακές ομάδες ανεξαρτήτου Κλίμακας Κώματος Γλασκώβης ανέρχεται στο 10%. Η αξονική τομογραφία εγκεφάλου είναι διαγνωστική και αποκαλύπτει ένα φακοειδούς σχήματος αιμάτωμα.

Οι κλινικές εκδηλώσεις του αιματώματος προκύπτουν ως αποτέλεσμα της πίεσης και παρεκτόπισης του εγκεφαλικού παρεγχύματος και της απότοκης αύξησης της ενδοκράνιας πίεσης. Η νευρολογική εικόνα του ασθενούς θα εξαρτάται από το μέγεθος και την εντόπιση του αιματώματος. Το 75% των ασθενών θα αναπτύξει συμπτωματολογία εντός 12 ωρών. Το «φωτεινό διάλειμμα» αποτελεί μια κλινική εικόνα που συνήθως εμφανίζεται στα επισκληρίδια αιματώματα, αν και μπορεί να παρατηρηθεί και σε άλλες ενδοκρανιακές βλάβες. Η τυπική αυτή κλινική εικόνα περιλαμβάνει μια ολιγόλεπτη άμεση μετατραυματική απώλεια συνείδησης, επανάκτηση της συνείδησης και ακολούθως προοδευτική επιδείνωση της συνείδησης συνοδευόμενη από υπνηλία, σύγχυση, ανισοκορία και συχνά ημιπάρεση.

Χειρουργική αντιμετώπιση απαιτείται σε όλα τα συμπτωματικά επισκληρίδια αιματώματα και στα ασυμπτωματικά με μέγιστη διάμετρο > 1,5 εκ ή όγκο > 25 εκ³ και συνίσταται σε κρανιοτομία, αφαίρεση του αιματώματος και έλεγχο της αιμορραγίας από το τραυματισμένο αγγείο^{1,5}.



□ **Εικόνα 3:** Αξονική τομογραφία ασθενούς με επισκληρίδιο αιμάτωμα, με το χαρακτηριστικό φακοειδές σχήμα του αιματώματος (πηγή Ίντερνετ)



□ **Εικόνα 4:** Διεγχειρητική εικόνα επισκληρίδιου αιματώματος, μετά τη διενέργεια της κρανιοτομίας (πηγή Ίντερνετ)

Οξύ, υποξύ και χρόνιο υποσκληρίδιο αιμάτωμα

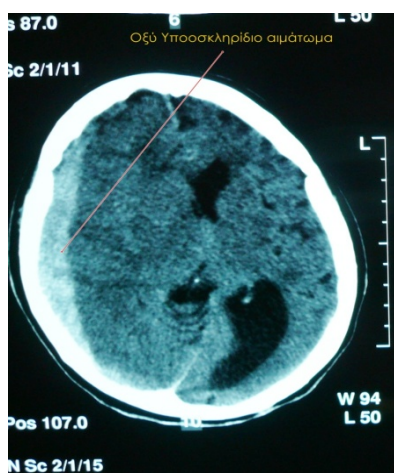
Τα υποσκληρίδια αιματώματα εμφανίζονται πολύ συχνότερα συγκριτικά με τα επισκληρίδια, με το ποσοστό τους να φτάνει στο 30% σε ασθενείς με βαριά ΚΕΚ, ενώ ηλικιακά παρουσιάζονται κυρίως σε άτομα άνω των 40 ετών. Η δημιουργία τους οφείλεται κυρίως σε ρήξη των γεφυρικών φλεβών μεταξύ του εγκεφαλικού φλοιού και των παροχευετικών κόλπων. Η εγκεφαλική βλάβη προκαλείται λόγω πιεστικών φαινομένων από το αιμάτωμα, εγκεφαλικού οιδήματος και ενδοκράνιας υπέρτασης. Τα υποσκληρίδια αιματώματα ανάλογα με το χρονικό διάστημα που έχει παρέλθει από τον τραυματισμό μπορούν να διακριθούν σε οξέα (έως 3 ημερών), υποξέα (4-21 ημερών) και χρόνια (>21 ημερών – ταξινόμηση McKissock). Οι πτώσεις και τα τροχαία ατυχήματα αποτελούν τα συχνότερα αίτια ανάπτυξης ενός υποσκληρίδιου αιματώματος.

Κλινικά, το υποσκληρίδιο αιμάτωμα είναι συνήθως μονόπλευρο και χαρακτηρίζεται από έκπτωση του επιπέδου συνείδησης. Συχνά, μπορεί να συνοδεύεται από αντίπλευρη ημιπάρεση ή ημιπληγία και ανισοκορία.

Απεικονιστικά, στην αξονική τομογραφία απεικονίζεται ως μια εκτεταμένη υποσκληρίδια συλλογή με το κυρτό προς τα έξω, υπέρπυκνη στις περιπτώσεις ενός οξέως αιματώματος, ισόπυκνη στα υποξέα και υπόπυκνη στα χρόνια υποσκληρίδια αιματώματα.

Χειρουργική αντιμετώπιση προτείνεται σε όλες τις περιπτώσεις που το υποσκληρίδιο αιμάτωμα έχει μέγιστο πάχος > 10 χιλ. ή όταν προκαλεί παρεκτόπιση της μέσης γραμμής > 5 χιλ. Η χειρουργική αντιμετώπιση συνίσταται σε ευρεία κρανιοτομία και αφαίρεση του αιματώματος στις οξείες περιπτώσεις ή παροχέτευση μέσω κρανιοανατρήσεων στα χρόνια υποσκληρίδια αιμάτωμα.

Η έκβαση ενός ασθενούς με οξύ υποσκληρίδιο αιμάτωμα εξαρτάται από το επίπεδο συνείδησής του μετά την κάκωση, την ηλικία του, από άλλους συνοδούς τραυματισμούς και το χρόνο επεμβάσεως μετά την κάκωση. Ειδικότερα, το χρονικό παράθυρο των 4 ωρών από τη στιγμή της κάκωσης έως την χειρουργική παρέμβαση θεωρείται ιδιαίτερα κρίσιμο, καθώς πολλές μελέτες κατέδειξαν ότι πέραν του χρονικού αυτού διαστήματος η θνητότητα μπορεί να τριπλασιαστεί και να αγγίξει το 90%^{1,5}.



□ **Εικόνα 5.:** Αξονική τομογραφία εγκεφάλου, στην οποία αναδεικνύεται ένα οξύ υποσκληρίδιο αιμάτωμα με σημαντική παρεκτόπιση της μέσης γραμμής (πηγή Ίντερνετ)



□ **Εικόνα 6.:** Διεγχειρητική εικόνα υποσκληριδίου αιματώματος (πηγή Ίντερνετ)

Ενδοεγκεφαλικό αιμάτωμα, εγκεφαλική θλάση και υπαραχνοειδής αιμορραγία

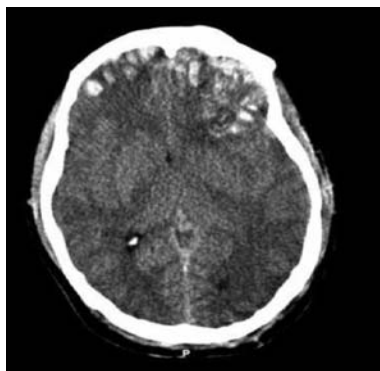
Οι εγκεφαλικές θλάσεις είναι αρκετά συχνές και συναντώνται σε ποσοστό 8% επί του συνόλου των ΚΕΚ και στο 35% των βαριών κακώσεων. Τοπογραφικά, εμφανίζονται συνήθως στον μετωπιαίο και κροταφικό λοβό και συχνά συνυπάρχουν με κάποιο υποσκληρίδιο αιμάτωμα. Το μέγεθός τους δεν ξεπερνά τα 2 εκ. και σχηματίζονται από τον τραυματισμό μικρών ενδοπαρεγχυματικών αγγείων περιβαλλόμενες από νεκρωτικό νευρικό ιστό. Μπορούν να δημιουργηθούν ομότιμα με το σημείο πλήξης (coup) ή αντίθετα από αυτό (contrecoup). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι εκτεταμένες θλάσεις του κροταφικού ή μετωπιαίου λοβού, δημιουργώντας ένα μίγμα τεθλασμένης εγκεφαλικής ουσίας και αιμορραγίας. Αποτελούν τον λεγόμενο «εκραγέντα λοβό» ("Burst lobe"), ο οποίος στο 1/3 των περιπτώσεων συνοδεύεται από υποσκληρίδιο αιμάτωμα και συσχετίζεται με αυξημένη θνητότητα. Οι εγκεφαλικές θλάσεις στην πορεία των ημερών μπορούν να αυξηθούν σε μέγεθος και να δημιουργήσουν ένα ενδοεγκεφαλικό αιμάτωμα.

Το ενδοεγκεφαλικό αιμάτωμα συνοδεύεται συνήθως από σημαντικό εγκεφαλικό οίδημα και ενδοκράνια υπέρταση. Ως αποτέλεσμα, προκαλείται τοπική πίεση σε συγκεκριμένο τμήμα του εγκεφάλου, καταστροφή νευρικού ιστού και δευτεροπαθείς μεταβολικές διαταραχές από τις ουσίες που εκλύονται από την εγκεφαλική καταστροφή και την εξαγγείωση του αίματος. Έτσι, μπορεί να προκληθεί τοπική ή γενικευμένη ισχαιμία. Το ενδοεγκεφαλικό αιμάτωμα και οι εγκεφαλικές θλάσεις στην πλειοψηφία των περιπτώσεων συνοδεύονται και από τραυματική υπαραχνοειδή αιμορραγία, ως αποτέλεσμα ρήξης μικρών αγγείων στον υπαραχνοειδή χώρο.

Η κλινική εικόνα των ασθενών με τις ανωτέρω βλάβες εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως τη θέση των βλαβών, το μέγεθος και το χρόνο ανάπτυξης του αιματώματος.

Η διάγνωση γίνεται με την υπολογιστική αξονική τομογραφία εγκεφάλου. Η εγκεφαλική θλάση φαίνεται ως περιοχή μεικτής πυκνότητας, με ασαφή όρια και περιεσσιακό οίδημα, ενώ το ενδοεγκεφαλικό αιμάτωμα ως μια υπέρπυκνη περιοχή > 2 εκ., η οποία δρα χωρακατακτητικά και περιβάλλεται από σημαντικό οίδημα.

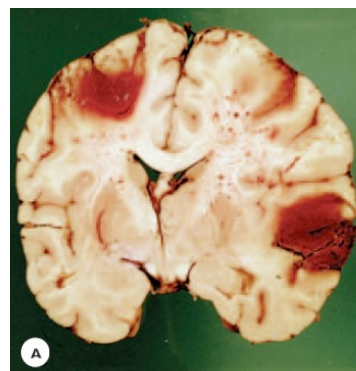
Η αντιμετώπιση των βλαβών αυτών είναι συνήθως συντηρητική, ενώ χειρουργική απαιτείται σε κωματώδεις ασθενείς με ευμεγέθη αιματώματα-θλάσεις που προκαλούν σημαντική παρεκτόπιση της μέσης γραμμής. Η χειρουργική αντιμετώπιση μπορεί να περιλαμβάνει αφαίρεση του αιματώματος, λοβεκτομή ή αποσυμπιεστική κρανιεκτομή^{1,5}.



□ **Εικόνα 7:** Αξονική τομογραφία εγκεφάλου η οποία αναδεικνύει πολλαπλές εγκεφαλικές θλάσεις στον μετωπιαίο λοβό (πηγή Ίντερνετ)



□ **Εικόνα 8:** Αξονική τομογραφία στην οποία αναδεικνύεται ένα ενδοεγκεφαλικό αιμάτωμα (πηγή Ίντερνετ)



□ **Εικόνα 9:** Πολλαπλές εγκεφαλικές θλάσεις και παρουσία δύο ενδοεγκεφαλικών αιματωμάτων (πηγή Ίντερνετ)

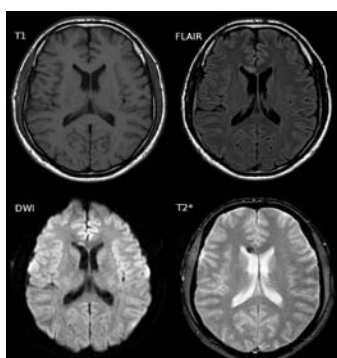
Αξονικές βλάβες εγκεφάλου

Οι διάχυτες αξονικές βλάβες του εγκεφάλου εμφανίζονται στις μισές περίπου βαρείες ΚΕΚ, καθιστώντας τες τον συνηθέστερο τύπο εγκεφαλικής βλάβης. Ο μηχανισμός πρόκλησής τους συνίσταται στην απότομη επιτάχυνση και επιβράδυνση του εγκεφάλου μέσα στο κρανίο, με αποτέλεσμα καταστροφή των νευραξόνων.

Κλινικά, τα αποτελέσματα των αξονικών βλαβών ποικίλλουν, από απώλεια συνειδήσεως, ήπια σύγχυση και αποπροσανατολισμό έως κωματώδη κατάσταση και θάνατο. Εντοπίζονται κυρίως στον μετωπιαίο και κροταφικό λοβό, στο μεσολόβιο και στο στέλεχος.

Η διάγνωσή τους με αξονική αλλά ακόμα και με μαγνητική τομογραφία εγκεφάλου καθίσταται δυσχερής λόγω του μικροσκοπικού χαρακτήρα τους και μόνο κάποιες μικρές αιμορραγικές βλάβες μπορούν να υποδηλώσουν την παρουσία τους. Τα τελευταία χρόνια ειδικές ακολουθίες στη μαγνητική τομογραφία, όπως αυτή της διάχυσης (Diffusion Tensor Imaging) ή την ακολουθία FLAIR, μπορούν να απεικονίσουν μικρές βλάβες της λευκής ουσίας που δεν φάνηκαν σε προηγούμενες ακολουθίες. Τέλος, κάθε ιατρός θα πρέπει να υποψιάζεται την παρουσία αξονικών βλαβών σε ασθενείς με απώλεια συνείδησης ή σύγχυση και αρνητική αξονική τομογραφία εγκεφάλου. Οι αξονικές βλάβες, ανάλογα με την ανατομική τους εντόπιση, μπορούν να διακριθούν σε τρεις κατηγορίες: τύπου I, όταν εντοπίζονται στα σημεία διαχωρισμού λευκής-φαιάς ουσίας, τύπου II, όταν εντοπίζονται και στο μεσολόβιο επιπρόσθετα του τύπου I και τύπου III όταν περιλαμβάνουν και το εγκεφαλικό στέλεχος επιπροσθέτως των τύπων I και II.

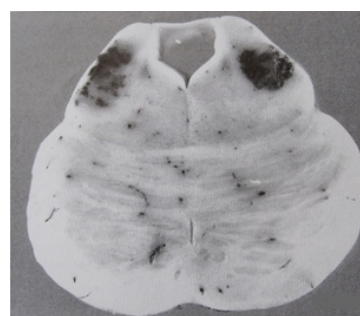
Η αντιμετώπιση των αξονικών βλαβών συνίσταται στον έλεγχο των δευτεροπαθών εγκεφαλικών βλαβών και της ενδοκρανιακής πίεσης^{1,5}.



□ **Εικόνα 10:** MRI στην οποία αναδεικνύεται μια τύπου II αξονική βλάβη στις ακολουθίες DWI, FLAIR και T2* (πηγή Ίντερνετ)



□ **Εικόνα 11:** Αξονική βλάβη τύπου II (πηγή Ίντερνετ)



□ **Εικόνα 12:** Αξονική βλάβη τύπου III (πηγή Ίντερνετ)

ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

ΠΡΩΤΑΡΧΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ

ΉΠΙΑΣ ΒΑΡΥΤΗΤΑΣ ΚΕΚ

Περίπου το 80% των ασθενών που προσέρχονται λόγω κάκωσης κεφαλής στο Τμήμα Επειγόντων Περιστατικών (ΤΕΠ) ενός νοσοκομείου ανήκουν στη κατηγορία αυτή. Οι ασθενείς αυτοί μπορούν να εμφανίζουν μια περιτραυματική αμνησία ή να έχει προηγηθεί επεισόδιο απώλειας συνείδησης και ελέγχονται σε GCS 14 ή 15. Οι περισσότεροι από αυτούς τους ασθενείς θα αναρρώσουν χωρίς κάποια νευρολογική επίπτωση, αν και ένα ποσοστό της τάξης του 3% μπορεί να εμφανίσει αιφνίδια νευρολογική επιδείνωση. Στην προσπάθεια να βρεθεί η χρυσή τομή μεταξύ του «κόστους-ωφέλειας» (“cost-benefit”) στη διενέργεια αξονικής τομογραφίας στην κατηγορία αυτή των ασθενών, με στόχο την ανίχνευση του μικρού αριθμού εκείνων που μπορούν να παρουσιάσουν καθυστερημένη νευρολογική βλάβη, έχουν θεσπιστεί κάποιες κατευθυντήριες οδηγίες για τη διενέργεια αξονικής τομογραφίας. Έτσι, αξονική τομογραφία συνιστάται σε όλους τους ασθενείς με GCS < 15, σε εκείνους με περιτραυματική αμνησία ή απώλεια συνείδησης και σε εκείνους με αυξημένους παράγοντες κινδύνου (π.χ. ηλικιωμένοι, λήψη αντιπηκτικών).

Οι απλές ακτινογραφίες κρανίου σε έναν ασθενή με ΚΕΚ μπορούν να ανιχνεύσουν ένα γραμμοειδές ή εμπιεστικό κάταγμα κρανίου, αποπιτανώσεις στην επίφυση, παρουσία αέρα ενδοκρανιακά, συλλογή στους παραρρινίους κόλπους και κατάγματα στο προσωπικό κρανίο. Παρολαυτά, η ευρεία χρήση του αξονικού τομογράφου έχει εκτοπίσει σε σημαντικό βαθμό την απλή ακτινογραφία, λόγω της χαμηλότερης ευαισθησίας της στην ανίχνευση βλαβών. Ως εκ τούτου, η αξονική τομογραφία θεωρείται ο «χρυσός κανόνας» (“gold standard”) στην ανίχνευση των καταγμάτων και των ενδοκρανιακών βλαβών μετά από ΚΕΚ⁵.

ΜΕΤΡΙΑΣ ΒΑΡΥΤΗΤΑΣ ΚΕΚ

Στην κατηγορία αυτή ανήκει περίπου το 10% των ασθενών που διακομίζονται λόγω ΚΕΚ στα ΤΕΠ ενός νοσοκομείου. Οι ασθενείς αυτοί μπορεί να εμφανίζουν υπνηλία, σύγχυση ή εστιακό νευρολογικό έλλειμμα και ελέγχονται σε GCS 9-12. Στην κατηγορία αυτή των ασθενών, όπως και σε αυτούς με ήπιες ΚΕΚ, οι συνοδοί τραυματισμοί από τα υπόλοιπα συστήματα παίζουν σημαντικό ρόλο στην τελική έκβαση. Περίπου το 10% των ασθενών θα επιδεινωθεί νευρολογικά τις επόμενες ώρες ή ημέρες και θα πέσει σε κώμα.

Κατά την εισαγωγή τους στα ΤΕΠ και αφού εξασφαλιστεί η καρδιοαναπνευστική τους σταθερότητα, ένα σύντομο ιστορικό λαμβάνεται και εξετάζεται ο ασθενής νευρολογικά. Ακολούθως, υποβάλλεται σε αξονική τομογραφία για την ανίχνευση εγκεφαλικών βλαβών. Σε μια αναδρομική μελέτη που περιελάμβανε 341 ασθενείς με μέτριας βαρύτητας ΚΕΚ, το 40% εμφάνιζε κάποια εγκεφαλική βλάβη και το 8% χρειάστηκε χειρουργική επέμβαση. Κάθε ασθενής με μέτριας βαρύτητας ΚΕΚ θα πρέπει να

εισάγεται στο νοσοκομείο για παρακολούθηση ακόμα και αν η αξονική του τομογραφία είναι φυσιολογική. Εάν ο ασθενής τις επόμενες μέρες βελτιωθεί κλινικά και ο επανέλεγχος με αξονική τομογραφία είναι και πάλι αρνητικός για εγκεφαλική βλάβη, μπορεί να εξέλθει του νοσοκομείου. Στην περίπτωση που παραμένει αμετάβλητη η κλινική του εικόνα και η αξονική τομογραφία επανελέγχου είναι φυσιολογική, θα πρέπει να διενεργείται μαγνητική τομογραφία για την ανίχνευση μικρών βλαβών (π.χ. αξονοτμήσεις). Εάν από την άλλη επιδεινωθεί νευρολογικά, ακολουθούνται οι αρχές αντιμετώπισης των ασθενών με βαριές ΚΕΚ⁵.

ΒΑΡΙΕΣ ΚΕΚ

Στην κατηγορία αυτή ανήκουν οι ασθενείς που δε μπορούν να υπακούσουν ούτε απλές εντολές ακόμα και όταν σταθεροποιούνται καρδιοαναπνευστικά. Η ομάδα αυτή των ασθενών συνδέεται με την υψηλότερη θνητότητα και ως εκ τούτου η έγκαιρη διάγνωση και θεραπεία θεωρείται ύψιστης σημασίας. Στους ασθενείς αυτούς θα πρέπει να λαμβάνονται μια σειρά από μέτρα, όπως περιγράφονται παρακάτω⁵.

Καρδιοαναπνευστική Σταθεροποίηση

Η εγκεφαλική λειτουργία συχνά επηρεάζεται με αρνητικό τρόπο από δευτεροπαθείς βλάβες. Σε μια μελέτη 100 συνεχόμενων ασθενών που διακομίστηκαν στα ΤΕΠ με βαριά ΚΕΚ, το 30% είχε υποξαιμία ($P_{O_2} < 65 \text{mmHg}$), 13% ήταν υποτασικοί (Συστολική Αρτηριακή Πίεση – ΣΑΠ $< 95 \text{mmHg}$) και 12% είχαν αναιμία (Αιματοκρίτης $< 30\%$). Εν συνεχεία, αποδείχθηκε ότι η υπόταση κατά την εισαγωγή στα ΤΕΠ ήταν ένας από τους τρεις παράγοντες (μαζί με την ηλικία > 40 ετών και την αποφλοίωση ή τον απεγκεφαλισμό) που συσχετίζεται με αυξημένη ενδοκράνια πίεση, στους ασθενείς με βαριά ΚΕΚ και αρχική φυσιολογική αξονική τομογραφία. Η ενδοκράνια υπέρταση με τη σειρά της συσχετίζεται με πτωχή πρόγνωση και υψηλή θνητότητα. Από τα παραπάνω καθίσταται σαφές, ότι η ταχεία καρδιοαναπνευστική σταθεροποίηση ενός ασθενούς με βαριά ΚΕΚ είναι επιτακτική⁵.

Αεραγωγός – Αερισμός

Ένα συχνό επακόλουθο της εγκεφαλικής διάσεισης και της απώλειας συνείδησης είναι μια παροδική αναπνευστική ανακοπή. Η παρατεταμένη άπνοια μπορεί να ενοχοποιηθεί για τον «άμεσο» θάνατο στον τόπο του ατυχήματος σε αρκετές περιπτώσεις. Αν πραγματοποιηθεί τεχνητή αναπνοή στις περιπτώσεις αυτές, τότε μπορεί να επιτευχθεί μια καλή έκβαση του ασθενούς. Άπνοια, ατελεκτασία και εισρόφηση συχνά παρατηρούνται στους ασθενείς με βαριά ΚΕΚ, με αποτέλεσμα το πιο σημαντικό στάδιο της πρωταρχικής αντιμετώπισης των ασθενών αυτών να θεωρείται η εξασφάλιση του αεραγωγού. Ως εκ τούτου, οι ασθενείς με βαριά ΚΕΚ θα πρέπει να διασωληνώνονται το ταχύτερο δυνατό. Εν συνεχεία, 100% οξυγόνο χορηγείται έως ότου ελεγχθούν τα αέρια αίματος οπότε και το F_{IO_2} ρυθμίζεται ανάλογα. Ο κίνδυνος τοξικότητας από το οξυγόνο είναι ελάχιστος εάν χορηγείται σε συγκέντρωση 100% για λιγότερο από 48 ώρες⁵.

Αρτηριακή Πίεση

Η υπόταση και η υποξαιμία είναι οι κύριοι πρωταρχικοί «εχθροί» ενός ασθενούς με βαριά ΚΕΚ. Έχει αποδειχθεί ότι η παρουσία υπότασης (ΣΑΠ <90mmHg) στους ασθενείς αυτούς αυξάνει τη θνητότητα από 27% σε 50%. Ως εκ τούτου, παράλληλα με τη διαδικασία διασωλήνωσης του ασθενούς, μια άλλη ομάδα ατόμων στο ΤΕΠ θα πρέπει να ελέγχει την αρτηριακή πίεση και να τοποθετεί δύο μεγάλου αυλού φλεβοκαθετήρες για την χορήγηση υγρών και την αποκατάσταση της αρτηριακής πίεσης στα επιθυμητά επίπεδα.

Η υπόταση δεν είναι αποτέλεσμα της εγκεφαλικής βλάβης, εκτός από τις περιπτώσεις τελικού σταδίου έκπτωσης των λειτουργιών του προμήκη. Συνήθως, η υπόταση είναι το αποτέλεσμα σημαντικής απώλειας αίματος ορατής ή μη. Άλλα πιθανά αίτια υπότασης, που θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη είναι οι περιπτώσεις νωτιαίου σοκ (με συνοδό παραπληγία ή τετραπληγία) και πνευμοθώρακα υπό τάση.

Η διερεύνηση της κοιλιάς ως πιθανό αίτια της αιμορραγίας με υπέρηχο, αξονική τομογραφία ή παρακέντηση είναι πρωταρχικής σημασίας. Εδώ πρέπει να τονιστεί ότι η νευρολογική εκτίμηση ενός υποτασικού ασθενούς είναι ανούσια, καθώς σε αρκετές περιπτώσεις μετά την αποκατάσταση της αρτηριακής πίεσης ο ασθενής παρουσιάζει νευρολογική βελτίωση⁵.

Καθετήρες

Ένας ουροκαθετήρας τύπου Foley (16 ή 18 Fr) τοποθετείται αμέσως μετά και δείγμα ούρων στέλνεται για γενικές και τοξικολογικές εξετάσεις. Επιπρόσθετα, ελέγχεται η ύπαρξη ή όχι αιματουρίας και προσμετρούνται τα ούρα που αποβάλλονται ώστε να επιτυγχάνεται ισορροπία μεταξύ προσλαμβανόμενων και αποβαλλόμενων υγρών.

Ακολούθως, τοποθετείται ένας ρινογαστρικός σωλήνας σε παροχέτευση, με προσοχή στις περιπτώσεις που υπάρχουν ενδείξεις κατάγματος βάσης κρανίου. Στις περιπτώσεις αυτές τοποθετείται δια του στόματος ή με τη βοήθεια λαρυγγοσκοπίου⁵.

Νευρολογική Εξέταση

Μόλις ο ασθενής σταθεροποιηθεί αιμοδυναμικά πραγματοποιείται μια αρχική νευρολογική εκτίμηση. Αρχικώς εκτιμάται η λεκτική και κινητική του αντίδραση, όπως και το άνοιγμα των οφθαλμών του στα διάφορα ερεθίσματα του εξεταστή και υπολογίζεται το σκορ του στη Κλίμακα Κώματος Γλασκώβης. Όσον αφορά την κινητική αντίδραση του ασθενούς, καταγράφεται αναλυτικά και ξεχωριστά για κάθε μέλος και σε περίπτωση μη ομότιμης κινητικότητας, στο σκορ της Κλίμακας Γλασκώβης υπολογίζεται η καλύτερη κινητική ανταπόκριση.

Ακολούθως, ο εξεταστής θα πρέπει να ελέγξει προσεκτικά το μέγεθος των κορών του ασθενή και την ανταπόκρισή τους στο φωτεινό ερέθισμα. Ένα πρώιμο σημείο εγκολεασμού του αγκίστρου του κροταφικού λοβού αποτελεί η διαστολή της μίας κόρης με κατάργηση του φωτοκινητικού αντανακλαστικού, ως αποτέλεσμα πάρεσης των

παρασυμπαθητικών ινών του κοινού κινητικού νεύρου. Ιδιαίτερη κλινική σημασία έχει η έγκαιρη αναγνώριση και άλλων παθολογικών καταστάσεων ή αντανακλαστικών, όπως η κόρη Marcus-Gunn η οποία εμφανίζεται σε περιπτώσεις βλάβης του οπτικού νεύρου κατά την προσπάθεια ελέγχου του φωτοκινητικού αντανακλαστικού. Αξίζει να σημειωθεί ότι μια μυδριατική κόρη (>6χιλ) προκύπτει συχνά μετά από άμεση πλήξη του οφθαλμού. Στις περιπτώσεις αυτές όμως είναι ετερόπλευρη και δεν επηρεάζονται οι οφθαλμοκινητικοί μύες.

Στο επόμενο βήμα, ο εξεταστής ελέγχει την οφθαλμοκινητικότητα του ασθενούς. Στην περίπτωση που ο ασθενής έχει μειωμένο επίπεδο επικοινωνίας ή είναι σε κώμα, η οφθαλμοκινητικότητα ελέγχεται διαμέσου του οφθαλμοκεφαλικού και αιθουσοοφθαλμικού αντανακλαστικού. Με τον έλεγχο της οφθαλμοκινητικότητας καθίσταται δυνατή η διάγνωση μιας διαπυρηνικής, πυρηνικής ή υπερπυρηνικής οφθαλμοπληγίας, όπως επίσης και η διάγνωση πάρεσης του απαγωγού ή του τροχιλιακού νεύρου.

Η βασική νευρολογική εξέταση ολοκληρώνεται με έναν αδρό έλεγχο της μυϊκής ισχύος και της αισθητικότητας του ασθενούς. Κάθε άκρο αξιολογείται και βαθμολογείται με την κλίμακα που περιγράφεται ακολούθως⁵:

Κλίμακα Μυϊκής Ισχύος	
Φυσιολογική μυϊκή ισχύς	5
Ήπια αδυναμία	4
Μέτρια αδυναμία, υπερνικά τη βαρύτητα	3
Σοβαρή αδυναμία, δεν υπερνικά τη βαρύτητα	2
Ελάχιστη κίνηση	1
Καμία κίνηση	0

Απεικονιστικός έλεγχος

Όταν πλέον έχει εξασφαλιστεί η καρδιοαναπνευστική σταθερότητα του ασθενούς, προβαίνουμε στον απαραίτητο απεικονιστικό έλεγχο.

Η αξονική τομογραφία εγκεφάλου και αυχενικής μοίρας σπονδυλικής στήλης, με στεφανιαίες και οβελιαίες ανασυνθέσεις, θεωρείται απαραίτητη σε όλες τις περιπτώσεις ενός κωματώδους ασθενούς, και με την εφαρμογή της έχει αντικαταστήσει την αγγειογραφία και την κοιλιογραφία που χρησιμοποιούταν στο παρελθόν για την εκτίμηση των ασθενών αυτών.

Η απλή ακτινογραφία θώρακος χρησιμοποιείται για την επιβεβαίωση της ορθής θέσης του τραχειακού σωλήνα, τον αποκλεισμό πνευμοθώρακα ή αιμοθώρακα, πνευμονικών

θλάσεων, καταγμάτων πλευρών ή οποιασδήποτε άλλης παθολογίας από τον θώρακα. Επίσης, ακτινογραφίες νεφρών-ουρητήρων-κύστεως, όπως και πυέλου διενεργούνται πάντα στους ασθενείς αυτούς για να αποκλειστούν άλλοι πιθανοί τραυματισμοί. Επί ενδείξεων πραγματοποιούνται ακόμα απλές ακτινογραφίες των μακρών οστών για τον αποκλεισμό κάποιου κατάγματος. Τέλος, για τη διερεύνηση πιθανής αιμορραγίας από την περιτοναϊκή κοιλότητα πραγματοποιούνται υπέρηχος, αξονική τομογραφία κοιλίας ή ακόμα και περιτοναϊκές πλύσεις⁵.

ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

Στόχος της αρχικής φαρμακευτικής αγωγής στους ασθενείς με βαριά ΚΕΚ, αποτελεί η πρόληψη της δευτερογενούς βλάβης σε ένα ήδη τραυματισμένο εγκεφαλικό παρέγχυμα. Έτσι, με το στόχο αυτό το 1995 θεσπίστηκαν συγκεκριμένες οδηγίες (Brain Trauma Foundation & American Association of Neurological Surgeons), όσον αφορά την πρωταρχική φαρμακευτική αντιμετώπιση. Οι οδηγίες αυτές κατηγοριοποιήθηκαν ως κανόνες (standard), όταν αντικατόπτριζαν υψηλού βαθμού κλινική βεβαιότητα, κατευθυντήριες γραμμές (guidelines), όταν εξέφραζαν μέτριου βαθμού βεβαιότητα και προαιρετική οδηγία όταν το κλινικό όφελος ήταν αβέβαιο. Ο παρακάτω πίνακας παρουσιάζει επιγραμματικά τις οδηγίες αυτές:

	Κανόνας	Κατευθυντήρια Γραμμή	Προαιρετική Οδηγία
Αποκατάσταση αρτηριακής πίεσης και οξυγόνωσης		Η υπόταση (<90mmHg) και η υποξαιμία (PO ₂) θα πρέπει να διορθώνεται άμεσα	Η μέση αρτηριακή πίεση θα πρέπει να διατηρείται >90mmHg συνεχώς, ώστε να διατηρείται μια μέση πίεση άρδευσης εγκεφάλου (CPP) >60mm Hg
Ενδείξεις για παρακολούθηση (monitoring) της ενδοκράνιας πίεσης (ΕΚΠ)		Η παρακολούθηση της ΕΚΠ είναι απαραίτητη σε ασθενείς με βαριά ΚΕΚ και παθολογική αξονική τομογραφία στους οποίους δεν είναι δυνατή η διακοπή της καταστολής για να ελεγχθούν νευρολογικά ή η κλινική εξέταση δεν είναι αξιόπιστη. Επίσης ενδείκνυται μετά από μια αποσυμπιεστική κρανιεκτομή ώστε να ελεγχθεί η αποτελεσματικότητά της, όπως επίσης και μετά την αφαίρεση ενός υπερσκληνιδιακού αιματώματος σε περίπτωση που ελλοχεύει ο κίνδυνος ενδοκράνιας υπέρτασης μετεγχειρητικά.	
Ουδός της ΕΚΠ για έναρξη θεραπείας		Έναρξη θεραπείας θα πρέπει να πραγματοποιείται για τιμές ΕΚΠ>20-25mmHg	Η αντιμετώπιση της ενδοκράνιας υπέρτασης θα πρέπει πάντοτε να συνοδεύεται από συχνή κλινική εξέταση και εκτίμηση της CPP

Πίεση Άρδευσης Εγκεφάλου (CPP)			Η CPP θα πρέπει να διατηρείται πάντοτε >60mmHg
Υπεραρισμός	Επί απουσίας ενδοκράνιας υπέρτασης, παρεταταμένους υπεραιρισμός (PaCO ₂ <25mmHg) θα πρέπει να αποφεύγεται	Ο προφυλακτικός υπεραιρισμός (PaCO ₂ <35mmHg) κατά το πρώτο 24ωρο μετά από βαριά ΚΕΚ, θα πρέπει να αποφεύγεται, καθώς μπορεί να επηρεάσει την CPP όταν η εγκεφαλική αιματική ροή είναι μειωμένη	Υπεραρισμός μπορεί να είναι απαραίτητος για βραχείες περιόδους, όταν υπάρχει οξεία νευρολογική επιδείνωση ή για παρατεταμένες περιόδους όταν η ενδοκράνια υπέρταση επιμένει, παρά την καταστολή, την αφαίρεση ENY και την ωσμωτική διούρηση
Μαννιτόλη		Η μαννιτόλη είναι αποτελεσματική για τον έλεγχο της ενδοκράνιας υπέρτασης μετά από βαριά ΚΕΚ. Διακοπτόμενες δόσεις θεωρούνται πιο αποτελεσματικές από τη συνεχή χορήγηση, σε δοσολογία 0,25-1g/kg/24h.	Ένδειξη χορήγησης μαννιτόλης προ μετρήσεως της ΕΚΠ, αποτελούν η ένδειξη διασκηνιδιακού εγχολεασμού και η νευρολογική επιδείνωση, επί απουσίας συστηματικής παθολογίας
Βαρβιτουρικά		Υψηλές δόσεις βαρβιτουρικών θα πρέπει να χορηγούνται σε αινοδυναμικά σταθερούς ασθενείς με ανθεκτική ενδοκράνια υπέρταση	
Κορτικοστεροειδή	Η χρήση τους με σκοπό την μείωση της ενδοκράνιας υπέρτασης και τη βελτίωση της έκβασης, θα πρέπει να αποφεύγεται σε ασθενείς με βαριά ΚΕΚ		
Θρέψη		Αντικατάσταση του 140% των μεταβολικών δαπανών σε ηρεμία σε μη παρετικούς ασθενείς και το 100% σε παράλυτους ασθενείς, με εντερική ή παρεντερική διατροφή, περιέχοντας τουλάχιστον 15% σε πρωτεΐνες από την 7 ^η ημέρα	Η προτιμότερη οδός σίτησης είναι η νησιδοστομία
Αντιεπιληπτική προφύλαξη			Σε ασθενείς υψηλού κινδύνου για εμφάνιση επιληπτικών κρίσεων, η χορήγηση αντιεπιληπτικών φαρμάκων όπως

			φαινοτοΐνη και καρβαμεζεπίνη, μειώνει την εμφάνιση επιληπτικών κρίσεων την πρώιμη μετατραυματική περίοδο. Παρολαυτά, δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα που να υποστηρίζουν ότι η μείωση των πρώιμων επιληπτικών κρίσεων βελτιώνει την έκβαση των ασθενών με ΚΕΚ
--	--	--	--

□ **Πίνακας 2:** Κατευθυντήριες οδηγίες και κανόνες στην αντιμετώπιση των ασθενών με ΚΕΚ⁵

ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

Σημαντική ένδειξη χειρουργικής αφαίρεσης μιας χωροκατακτητικής εξεργασίας αποτελεί η παρουσία παρεκτόπισης της μέσης γραμμής κατά 5 χιλ ή περισσότερο. Τα περισσότερα επισκληρίδια, υποσκληρίδια και ενδοεγκεφαλικά αιματώματα όταν παρεκτοπίζουν τη μέση γραμμή κατά 5 χιλ ή περισσότερο αφαιρούνται χειρουργικά, όπως αναφέρθηκε αναλυτικότερα σε προηγούμενη ενότητα. Ένας ασθενής με ένα μικρό αιμάτωμα που προκαλεί παρεκτόπιση μικρότερη από 5 χιλ και δεν εμφανίζει οποιαδήποτε νευρολογική σημειολογία, μπορεί να αντιμετωπιστεί συντηρητικά. Παρολαυτά, στενή νευρολογική παρακολούθηση θα πρέπει να υφίσταται καθώς υπάρχει πάντοτε ο κίνδυνος να επιδεινωθεί το επίπεδο συνείδησής του, οπότε και θα πρέπει να υποβληθεί σε επείγουσα αξονική τομογραφία εγκεφάλου και να επανεκτιμηθεί η αντιμετώπισή του.

Αντιθέτως, η αντιμετώπιση των διάχυτων εγκεφαλικών θλάσεων δεν είναι και τόσο ξεκάθαρη. Ιδιαίτερη σημασία, όσον αφορά την τελική τους έκβαση, φαίνεται να διαδραματίζει η ΕΚΠ. Τιμές ΕΚΠ<20mmHg συνδέονται με καλή πρόγνωση υπό συντηρητική αγωγή, ενώ τιμές>30mmHg συνδέονται με νευρολογική επιδείνωση και δυνητικά χειρουργική παρέμβαση. Στις περιπτώσεις, που παρά τα συντηρητικά μέσα αντιμετώπισης, η ΕΚΠ παραμένει σε τιμές >25mmHg ο ασθενής θα πρέπει να υποβληθεί σε αποσυμπιεστική κρανιεκτομή, η οποία περιλαμβάνει την αφαίρεση οστικού κρημνού μέγιστης διαμέτρου τουλάχιστον 12 εκ και μηνιγγοπλαστική. Η διενέργεια αποσυμπιεστικής κρανιεκτομής σε ανθεκτική ενδοκράνια υπέρταση αποτελεί αντικείμενο επιστημονικής διχογνωμίας, αφού κάποιες μελέτες (DECRA Trial, 2011) υποστήριξαν ότι η αποσυμπιεστική κρανιεκτομή στους ασθενείς αυτούς οδήγησε σε χειρότερα αποτελέσματα όσον αφορά την έκβασή τους. Για το λόγο αυτό νέες πολυκεντρικές μελέτες (RESCUEicp Study) προσπαθούν να συγκρίνουν τα αποτελέσματα τις χειρουργικής και της φαρμακευτικής αντιμετώπισης της ανθεκτικής ενδοκράνιας υπέρτασης μετά από ΚΕΚ⁶. Ειδικότερα, το Σεπτέμβριο του 2016 δημοσιεύθηκαν στο περιοδικό N Engl J Med τα αποτελέσματα της μελέτης

RESQUEicp, που περιελάμβανε 408 ασθενείς με ΚΕΚ και ανθεκτική ενδοκράνια υπέρταση. Οι ασθενείς αυτοί αντιμετωπίστηκαν είτε με αποσυμπιεστική κρανιεκτομή είτε με φαρμακευτική αγωγή. Η μελέτη αυτή κατέλειξε ότι 6 μήνες μετά την ΚΕΚ στην ομάδα που αντιμετωπίστηκε χειρουργικά η θνητότητα ήταν χαμηλότερη, το ποσοστό των ασθενών σε φυτική κατάσταση υψηλότερο και χαμηλότερο ποσοστό σοβαρής αναπηρίας. Τα ποσοστά μέτριας αναπηρίας και ευνοϊκής έκβασης ήταν ισότιμα στις δύο ομάδες⁶.

ΠΡΟΓΝΩΣΗ

Η Κλίμακα Έκβασης Γλασκώβης (Glasgow Outcome Scale, GOS) έχει γίνει ευρέως αποδεκτή ως η κλίμακα που περιγράφει την έκβαση των ασθενών μετά από ΚΕΚ, και αποτελείται από πέντε διακριτές κατηγορίες.

Κλίμακα Έκβασης Γλασκώβης

1. Θάνατος (D)
2. Φυτική κατάσταση (V): ο ασθενής δεν επιδεικνύει φλοιική λειτουργία
3. Σοβαρή ανικανότητα (SD): ο ασθενής δε μπορεί να αυτοεξυπηρετηθεί
4. Μέτρια ανικανότητα (MD): ο ασθενής εμφανίζει νευρολογικά ελλείμματα αλλά μπορεί να αυτοεξυπηρετηθεί
5. Πλήρης ανάρρωση (G): επάνοδος στη φυσιολογική δραστηριότητα

Η πρόγνωση των ασθενών με ΚΕΚ εξαρτάται από μια πληθώρα παραγόντων. Η ηλικία φαίνεται να αποτελεί ένα σημαντικό προγνωστικό παράγοντα, αφού η θνησιμότητα μετά από κρανιοεγκεφαλική κάκωση αυξάνεται κατακόρυφα στους ηλικιωμένους ασθενείς, λόγω των συχνών επιπλοκών που εμφανίζουν.

Επιπρόσθετα, η βαρύτητα και η θέση της βλάβης συνδέονται στενά με την πρόγνωση του ασθενούς. Οποιαδήποτε μορφής αναπηρία θα εμφανιστεί στο 10% των ασθενών με ήπιας βαρύτητας ΚΕΚ, στο 66% με μέτριας βαρύτητας και σε >95% των ασθενών με βαριές ΚΕΚ. Όσον αφορά τη θέση της βλάβης, η παρουσία στελεχιαίας βλάβης αποτελεί πτωχό προγνωστικό παράγοντα. Επίσης, η ανθεκτική ενδοκράνια υπέρταση σχετίζεται με μη ευνοϊκή έκβαση.

Τέλος, επιβαρυντικός παράγοντας για πτωχή πρόγνωση αποτελεί η παρουσία σημαντικών συνοδών βλαβών εκτός ΚΝΣ, όπως και η παρουσία παθολογίας ή εγκεφαλικής βλάβης προ της κάκωσης⁵.

ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΚΕΚ

Γενικά Στοιχεία Παθοφυσιολογίας του Εγκεφάλου

Ο εγκέφαλος μολονότι καταλαμβάνει μόνο το 2% του σωματικού βάρους, δέχεται το 15% της καρδιακής παροχής και καταναλώνει το 20% του συνολικού εισπνεόμενου οξυγόνου.

Η εγκεφαλική αιματική ροή (Cerebral Blood Flow-CBF) είναι ανάλογη της Πίεσης Άρδευσης Εγκεφάλου (Cerebral Perfusion Pressure-CPP) και αντιστρόφως ανάλογη της Εγκεφαλικής Αγγειακής Αντίστασης (Cerebro-Vascular Resistance-CVR).

$$CBF = CPP / CVR$$

Η CPP συνίσταται στη διαφορά μεταξύ αρτηριακής πίεσης εισόδου και φλεβικής πίεσης εξόδου. Η πίεση μέσα στις εγκεφαλικές αρτηρίες είναι περίπου ίση με τη συστηματική αρτηριακή πίεση. Οι εγκεφαλικές φλέβες είναι πολύ ευένδοτες. Η ενδοκράνια πίεση μεταφέρεται μέσα στο φλεβικό αίμα, μέσω του υπαραχνοειδούς χώρου και κατά συνέπεια η φλεβική πίεση είναι ίση με την ενδοκράνια. Συνεπώς, η CPP προκύπτει από τη διαφορά της Συστηματικής Μέσης Αρτηριακής Πίεσης (Systemic Mean Arterial Pressure-SMAP) από την ενδοκράνια πίεση (Intracranial Pressure-ICP):

$$CPP = SMAP - ICP$$

Συνεπώς, η CBF διαμορφώνεται ως εξής:

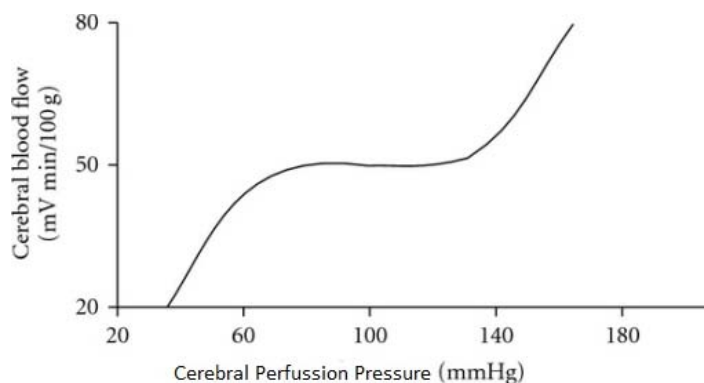
$$CBF = (SMAP - ICP) / CVR$$

Η φυσιολογική εγκεφαλική αιματική ροή είναι 45-65ml/100gr/min. Το 80% της ροής κατανέμεται στον εγκεφαλικό φλοιό και το 20% στη λευκή ουσία. Υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ φαιάς και λευκής ουσίας, μεταξύ ημισφαιρίων και παρεγκεφαλίδας και των διάφορων περιοχών του φλοιού του εγκεφάλου. Οι υψηλές μεταβολικές απαιτήσεις σε συνδυασμό με την απουσία ενεργειακών αποθεμάτων καθιστούν τον

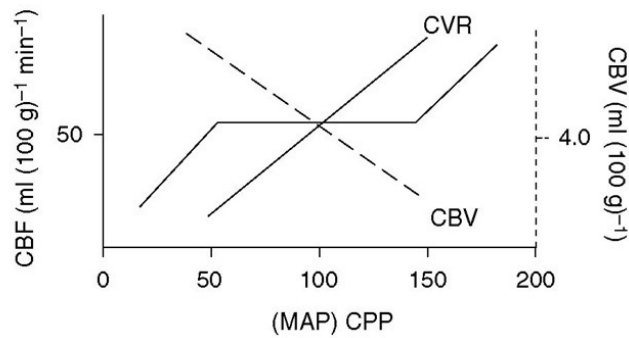
εγκέφαλο εξαιρετικά εκτεθειμένο στις μεταβολές της αιματικής ροής. Χαρακτηριστικά επισημαίνεται ότι συνήθως:

- Ελάττωση της εγκεφαλικής αιματικής ροής στο 20-25 ml/100gr/min προκαλεί διαταραχές στο ηλεκτροεγκεφαλογράφημα.
- Περαιτέρω μείωση στο 15-20ml/100gr/min προκαλεί εξαφάνιση των φλοιικών ηλεκτρικών απαντήσεων.
- Εγκεφαλική αιματική ροή κάτω από 10-15ml/100gr/min προκαλεί μη αναστρέψιμη νευρωνική βλάβη.

Η αυτορρύθμιση της εγκεφαλικής αιματικής ροής (Cerebral Autoregulation) είναι ο ομοιοστατικός μηχανισμός με τον οποίο τα εγκεφαλικά αρτηριόλια προσαρμόζονται στις μεταβολές της CPP, στην προσπάθεια να διατηρηθεί η CBF σταθερή. Είναι μια πολυσύνθετη και ευαίσθητη εργασία που στόχο έχει την προστασία της ανατομικής και λειτουργικής ακεραιότητας των νευρώνων. Η διαδικασία της αυτορρύθμισης απεικονίζεται στην παρακάτω καμπύλη:



Η εγκεφαλική αυτορρύθμιση είναι εφικτή όταν η CPP δεν μειωθεί κάτω από 50mmHg και αυξηθεί πάνω από 150mmHg. Τα εγκεφαλικά αγγεία διαστέλλονται σε περίπτωση μείωσης της μέσης αρτηριακής πίεσης και φθάνουν σε μέγιστη αγγειοδιαστολή όταν η CPP πέφτει στα 50mmHg, αυξάνοντας στο μέγιστο τον όγκο αίματος του εγκεφάλου (Cerebral blood Volume-CBV). Από την άλλη πλευρά, τα αγγεία συσπώνονται όταν αυξηθεί η μέση αρτηριακή πίεση και φθάνουν σε μέγιστη αγγειοσύσπωση όταν η CPP ανεβαίνει στα 160mmHg, ανεβάζοντας της αγγειακή εγκεφαλική αντίσταση (CVR) και ελαττώνοντας το CBV. Με βάση αυτά τα στοιχεία η παραπάνω καμπύλη της αυτορρύθμισης διαμορφώνεται ως εξής:



Μεταβολές αγγειακού τόνου, και κατά συνέπεια της CBF, πραγματοποιούνται μέσα σε διάστημα 3-7 sec από τις μεταβολές της CPP και ισορροπία (steady state) αποκαθίσταται μέσα σε 1 min. Έτσι, ακόμη και σε ένα λειτουργικό άθικτο σύστημα αυτορρύθμισης, υπάρχει μια μικρή καθυστέρηση μεταξύ μεταβολής της CPP και της προσαρμογής της CBF.

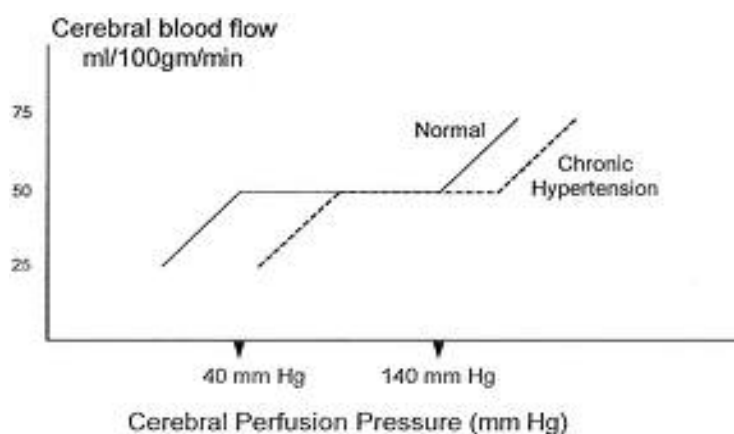
Η εγκεφαλική αιματική ροή βρίσκεται κάτω από έναν αυστηρό έλεγχο διατήρησής της σε φυσιολογικά επίπεδα, προκειμένου να διασφαλισθεί η ομαλή εγκεφαλική λειτουργία. Όμως, η εγκεφαλική αυτορρύθμιση είναι ευαίσθητη και μπορεί να επηρεασθεί από παθολογικές καταστάσεις όπως υποξία, ισχαιμία, κρανιοεγκεφαλική κάκωση και αιμορραγία. Οι καταστάσεις αυτές προκαλούν τοπική ή διάχυτη αδυναμία συντήρησης της φυσιολογικής σύνδεσης εγκεφαλικής αιματικής ροής και μεταβολισμού. Εάν η βλάβη είναι σημαντική, η εγκεφαλική αυτορρύθμιση καταργείται και η αιματική ροή ακολουθεί παθητικά τις αλλαγές στη συστηματική αρτηριακή πίεση (εγκεφαλική αγγειοπάρεση-cerebral vasoparesis). Συνεπώς, είναι δυνατόν να προκληθεί ισχαιμική βλάβη εάν η CPP δεν διατηρηθεί κοντά στις φυσιολογικές τιμές με απότοκη επιδείνωση της τελικής έκβασης του ασθενούς.

Η απώλεια της αυτορρύθμισης μπορεί να είναι τοπική, διάχυτη ή πολυεστιακή. Κατά τη διάρκεια υποξίας ή υπότασης, περιοχές με διαταραχή της αυτορρύθμισης είναι περισσότερο εκτεθειμένες σε δευτερογενές ισχαιμικό επεισόδιο. Οι περιοχές φυσιολογικής αυτορρύθμισης σε αντίθεση με τις παθολογικές είναι δυνατόν να αγγειοδιασταλούν σε απάντηση στην υπόταση ή την υποξία. Αυτό μπορεί να προκαλέσει φαινόμενο υποκλοπής αίματος, με εκτροπή του αίματος μακριά από την παθολογική περιοχή.

Ιδιαίτερη ευαισθησία εμφανίζει η εγκεφαλική αυτορρύθμιση μετά τις κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις. Έχει παρατηρηθεί ότι ακόμη και ήπιος τραυματισμός του εγκεφάλου είναι δυνατόν να καταργήσει την αυτορρύθμιση. Ειδικές μελέτες έχουν δείξει ότι η αυτορρυθμιστική λειτουργία μπορεί να λειτουργήσει σε αρτηριακό κορεσμό οξυγόνου όχι μικρότερο από 40%. Υψηλές ή χαμηλές τιμές pH είναι δυνατόν να δημιουργήσουν σοβαρές διαταραχές της αυτορρύθμισης, όταν αυτές διαρκούν επί μακρόν. Επίσης, οι χωροκατακτητικές βλάβες ασκούν πιεστική επίδραση επί του εγκεφαλικού ιστού και διαταράσσουν επίσης την εγκεφαλική αυτορρύθμιση.

Η διαταραχή αρχικά εντοπίζεται περιεστιακά της βλάβης και προοδευτικά είναι δυνατόν να επεκταθεί σε ολόκληρο το ομόπλευρο ή και το ετερόπλευρο ημισφαίριο. Σε

περιπτώσεις ενδοκράνιας παθολογίας από βαρεία κρανιοεγκεφαλική κάκωση ή χρόνια αρτηριακή υπέρταση, η απορρύθμιση της εγκεφαλικής αυτορρύθμισης συνίσταται σε μετατόπιση του κατώτερου επιπέδου αυτορρύθμισης σε υψηλότερα επίπεδα (>70mmHg). Κατά συνέπεια, η καμπύλη αυτορρύθμισης CBF/CPP μετατοπίζεται δεξιά και η διατήρηση επαρκούς CBF απαιτεί CPP σε υψηλότερα επίπεδα (Πίνακας 3). Επιπλέον, ο χρόνος αντίδρασης στις μεταβολές της CPP αυξάνει σε 10-20 sec⁷.



Πίνακας 3: Η καμπύλη αυτορρύθμισης CBF/CPP μετατοπισμένη προς τα δεξιά σε καταστάσεις χρόνιας υπέρτασης ή ΚΕΚ.

Βιοχημικός Καταρράκτης των ΚΕΚ

Ένας αρκετά πολύπλοκος βιοχημικός καταρράκτης εκκινεί στον εγκέφαλο μετά από μια κρανιοεγκεφαλική κάκωση. Η πρωτογενής εγκεφαλική βλάβη προκαλείται από την άμεση επίδραση στο παρέγχυμα, οδηγώντας σε εστιακές ή διάχυτες ιστικές βλάβες. Μετά τον αρχικό τραυματισμό μπορεί να εμφανιστεί αύξηση της ενδοκράνιας πίεσης, εγκεφαλικό οίδημα, ιστική υποξία και διαταραχές του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Οι δευτερογενείς εγκεφαλικές μεταβολές θα εμφανιστούν αμέσως μετά την πρωτογενή βλάβη ή τις επόμενες ώρες και μέρες, και περιλαμβάνουν κυτταρικές, νευροχημικές και μοριακές αποκρίσεις στην ΚΕΚ. Ειδικότερα, είναι δυνατόν να ακολουθήσουν νευρωνικός κυτταρικός θάνατος, απόπτωση, φλεγμονώδεις διαδικασίες, εναποθέσεις Αβ αμυλοειδικού πεπτιδίου, διαταραχή της ομοιόστασης του ασβεστίου, οξειδωτικό στρες και μιτοχονδριακή δυσλειτουργία. Διάφορες μελέτες έχουν αποδείξει ότι αρκετά γονίδια εμπλέκονται στη παθοφυσιολογία των δευτερογενών εγκεφαλικών βλαβών και ότι επίσης οι δευτερογενείς αυτές βλάβες μπορούν να επιδεινώσουν δραματικά την πρωτογενή βλάβη και την έκβαση του ασθενούς⁸.

Ο βιοχημικός αυτός καταρράκτης επάγεται από διάφορες ουσίες, που παράγονται είτε μέσα στον εγκέφαλο ή συστηματικά, όπως για παράδειγμα οι κυτοκίνες, οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, η ιστική θρομβοπλαστική και ο ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου.

Τα διεγερτικά αμινοξέα γλουταμινικό και ασπαρτικό (excitatory neurotransmitters), που απελευθερώνονται από το τραυματισμένο κύτταρο, ενοχοποιούνται για τη βλάβη των υποδοχέων των διαύλων ασβεστίου. Οι αντλίες ασβεστίου απαιτούν ATP (adenosine triphosphate) για να διατηρήσουν τη διαφορά συγκέντρωσης του ασβεστίου. Η ενεργοποίηση των NMDA υποδοχέων (N-methyl-D-aspartate) μετά από ΚΕΚ, προκαλεί την είσοδο του ασβεστίου στο εσωτερικό του κυττάρου, με αποτέλεσμα τα χαμηλά ενεργειακά επίπεδα των νευρώνων να εμποδίζουν την αντιμετώπιση της αυξημένης ενδοκυττάριας συγκέντρωσης. Στο εσωτερικό του κυττάρου, τα υψηλά επίπεδα ασβεστίου ρυθμίζονται με τη βοήθεια του ενδοπλασματικού δικτύου και των μιτοχονδρίων, καθώς και με την αλληλεπίδρασή του με κυτταρικές ουσίες, όπως η καλμοδουλίνη. Η συνεχής αύξηση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης του ασβεστίου προκαλεί την ενεργοποίηση πρωτεασών, όπως οι φωσφολιπάσες, οι νουκλεάσες, και η υπεροξειδική δισμουτάση, οδηγώντας στην καταστροφή των ενδοκυττάριας δομών. Τέλος, οι διεγερτικοί νευροδιαβιβαστές (γλουταμινικό και ασπαρτικό), εκτός της δράσης τους στους υποδοχείς διαύλων ασβεστίου, ενοχοποιούνται για τον εγκεφαλικό υπερμετεβολισμό⁹.

Ο αναερόβιος μεταβολισμός προκαλεί ενδοκυττάρια και εξωκυττάρια οξέωση με αποτέλεσμα την αποδέσμευση ιόντων σιδήρου από τη φερριτίνη και την τρανσφερίνη. Στη φάση της επανάρδευσης, δημιουργούνται ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Ακολούθως, τα ελεύθερα ιόντα σιδήρου καταλύουν την μετατροπή του υπεροξειδίου υδρογόνου στην τοξικότερη ρίζα υδροξυλίου (αντίδραση Haber-Weiss) ή σχηματίζουν σύμπλοκα με άλλες ρίζες. Ένα τέτοιο προϊόν πιστεύεται ότι ενεργοποιεί τη λιποξειδική υπεροξειδάση που διασπά τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα στα φωσφολιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης. Μια άλλη πηγή σιδήρου αποτελεί η εξαγγειωμένη αιμοσφαιρίνη από το μηχανικό τραύμα. Ελεύθερες ρίζες παράγονται στον εγκέφαλο από μεταβολισμό της υποξανθίνης και ξανθίνης προς ουρικό οξύ. Τα ιόντα ασβεστίου ενεργοποιούν το σχηματισμό του αραχιδονικού οξέος που αντιδρά με ρίζες οξυγόνου και οδηγεί σε συσώρευση προσταγλανδινών, θρομβοξανών και λευκοτριενίων¹⁰.

Άλλες βιοχημικές ουσίες που απαντώνται σε αυξημένες συγκεντρώσεις μετά το εγκεφαλικό τραύμα είναι οι κυτταροκίνες. Οι ουσίες αυτές συμβάλλουν σε υπερμεταβολισμό, υπερκαταβολισμό και υπεργλυκαιμία. Η ιντερλευκίνη-1 (IL-1) που παράγεται από τα μονοκύτταρα φαγοκύτταρα διευρύνει τη δράση των Τ-λεμφοκυττάρων στα αντιγόνα και διεγείρει την έκκριση του πρόσθιου λοβού της υπόφυσης¹¹.

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (Oxygen-derived free radicals – ODFR) διαδραματίζουν ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία της εγκεφαλικής κυτταρικής βλάβης. Η παραγωγή τους εκκινεί στη φάση της επανάρδευσης των ιστών, αλλά και καθ' όλη τη διάρκεια της δευτερογενούς βλάβης. Οι ελεύθερες ρίζες O₂ είναι μόρια που έχουν ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο στην εξωτερική τους στιβάδα και αντιδρούν ιδιαίτερα με μόρια ουσιών-στόχων που τους λείπει ένα ηλεκτρόνιο. Τέτοιες ουσίες είναι τα λιπίδια, οι πρωτεΐνες και τα νουκλεϊκά οξέα. Ιδιαίτεροι στόχοι τους αποτελούν τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα των φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης και το DNA. Η υπεροξειδωση των λιπιδίων που προκαλείται από τις ελεύθερες ρίζες αναστέλλει τη δράση των ενζύμων που εξαρτώνται από τα φωσφολιπίδια, αυξάνει τη διαπερατότητα

της κυτταρικής μεμβράνης, και μπορεί να οδηγήσει άμεσα στην καταστροφή της μεμβράνης του κυττάρου. Οι μηχανισμοί αυτοί επεμβαίνουν και σε άλλα μονοπάτια κυτταρικής βλάβης, μέσω αύξησης της συγκέντρωσης του ασβεστίου και του γλουταμινικού οξέος, τα οποία με τη σειρά τους επάγουν την περαιτέρω παραγωγή ελεύθερων ριζών. Οι αμυντικοί μηχανισμοί του οργανισμού έναντι των ελεύθερων ριζών περιλαμβάνουν αντιοξειδωτικές ουσίες και υπεροξειδάσες, οι οποίες όμως εξαντλούνται με τη μαζική παραγωγή ριζών, με αποτέλεσμα να μην μπορεί να παρεμποδιστεί το καταστροφικό τους έργο¹²⁻¹⁵.

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΩΝ ΚΕΚ

Εισαγωγή

Πρόσφατες μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία υποστηρίζουν ότι ποικίλοι γενετικοί παράγοντες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην έκβαση διαφόρων διαταραχών του ΚΝΣ, συμπεριλαμβανομένης και της ΚΕΚ. Οι μελέτες γενετικής συσχέτισης αποτελούν σημαντικό εργαλείο στην προσπάθεια ανάδειξης σύνδεσης συγκεκριμένων γενετικών πολυμορφισμών και της έκβασης της νόσου.

Οι γενετικοί πολυμορφισμοί μπορούν να προκύψουν μετά από ενθέσεις (insertions), διαγραφές (deletions), επαναλήψεις (duplications) ή μονήρεις νουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς (Single Nucleotide Polymorphisms – SNPs). Οι γενετικοί πολυμορφισμοί μπορούν να μεταβάλλουν τον κλινικό φαινότυπο, τροποποιώντας τη λειτουργία της κωδικοποιούμενης πρωτεΐνης, είτε αλλάζοντας τη δομή της πρωτεΐνης είτε τροποποιώντας την έκφραση ενός γονιδίου. Η αυξημένη συχνότητα εμφάνισης ενός αλληλίου (allele) σε έναν συγκεκριμένο φαινότυπο (ευνοϊκή έκβαση) σε σχέση με έναν άλλο φαινότυπο (δυσμενής έκβαση), συνιστά απόδειξη γενετικής συσχέτισης. Παρολαυτά, η ανάδειξη μιας γενετικής συσχέτισης δεν αποτελεί αυτόματα και αναγνώριση ενός συγκεκριμένου γονιδίου. Μπορεί, για παράδειγμα, να αποτελεί αποτέλεσμα μεροληψίας (bias) ή άλλων περιορισμών που υιοθετήθηκαν από συναφείς μελέτες. Μία γενετική μελέτη συσχέτισης απαιτεί την ύπαρξη βιολογικής απόδειξης και λειτουργικής σημασίας ότι η μεταβλητή που μελετάται εμπλέκεται στην παθογένεια της νόσου. Ένα ακόμα στοιχείο που θα πρέπει να τονιστεί, είναι το γεγονός ότι οι λειτουργίες ενός γονιδίου μπορούν να τροποποιηθούν από άλλα γονίδια (gene-gene interactions), από συγκεκριμένες πρωτεΐνες (protein-protein interactions) καθώς και από περιβαλλοντολογικούς παράγοντες (gene-environmental factors), με αποτέλεσμα οι αλληλεπιδράσεις αυτές να καθιστούν ιδιαίτερα δυσχερή τον προσδιορισμό της λειτουργίας ενός συγκεκριμένου γονιδίου.

Γενικά, δύο είναι οι τρόποι εκτέλεσης μιας μελέτης γενετικής συσχέτισης: η προσέγγιση του υποψηφίου γονιδίου (candidate-gene approach) και η προσέγγιση του γονιδιώματος (genome-wide approach). Στην πρώτη περίπτωση, μόλις ορισμένα SNPs ελέγχονται, τα οποία επιλέγονται βάση της βιολογικής υπόθεσης που μελετάται για το συγκεκριμένο γονίδιο. Απεναντίας, στη δεύτερη περίπτωση οι μελέτες επιχειρούν να διερευνήσουν ολόκληρο το γονιδίωμα στον ίδιο χρόνο, χωρίς να έχει

προηγηθεί κάποια βιολογική υπόθεση της νόσου, χρησιμοποιώντας εκατοντάδες χιλιάδες SNPs. Οι μελέτες υποψηφίου γονιδίου (candidate-gene) είναι μελέτες γενικά μικρού δείγματος και συνήθως στερούνται σημαντικής στατιστικής αξίας. Για παράδειγμα, προκειμένου να επιτευχθεί μια στατιστική δύναμη μεγαλύτερη του 80% στον προσδιορισμό μιας γενετικής επίδρασης (OR 1.2) ενός πολυμορφισμού που απαντάται στο 10% του πληθυσμού, απαιτείται ένα δείγμα μεγαλύτερο των 10.000 ασθενών. Ως εκ τούτου, λόγω του μεγάλου μεγέθους που απαιτείται για τις συγκεκριμένες μελέτες, δεν καθίσταται εφικτό στο να πραγματοποιηθούν από ένα ίδρυμα. Ένας τρόπος για να ξεπεραστεί αυτή η δυσκολία, αποτελεί η διενέργεια μετα-αναλύσεων πολλαπλών μελετών ή τη διενέργεια μελετών από πολλά συνεργαζόμενα τμήματα (multi-institutional studies).

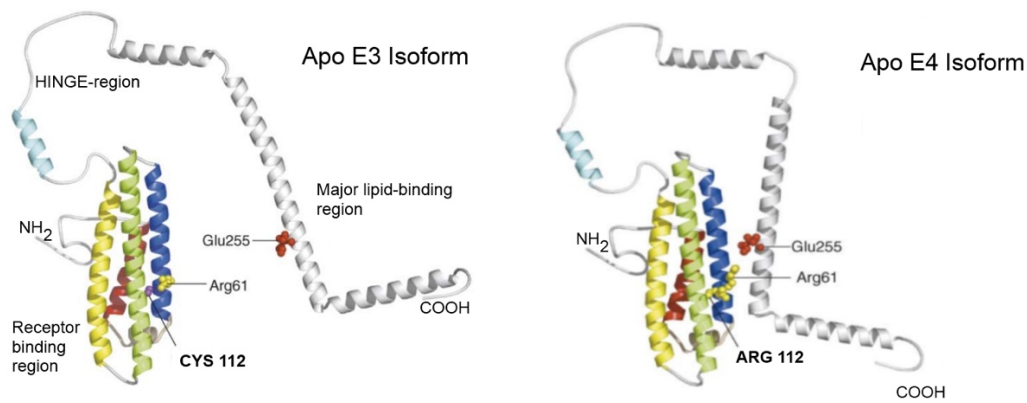
Μια πληθώρα πολυμορφισμών γονιδίων έχουν μελετηθεί διεθνώς σχετικά με τη συσχέτισή τους στην έκβαση των ασθενών με ΚΕΚ. Ωστόσο, οι περισσότερες μελέτες συγκλίνουν πως τα σημαντικότερα γονίδια που επηρεάζουν την έκβαση μετά από ΚΕΚ αποτελούν: το γονίδιο της απολιποπρωτεΐνης E, της νεπριλυσίνης, το ογκοκατασταλτικό γονίδιο p53, το μετατρεπτικό γονίδιο της αγγειοτενσίνης, το γονίδιο των ιντερλευκινών και το γονίδιο της ακουοπορίνης 4⁸.

Απολιποπρωτεΐνη E (ApoE)

Γενετικά χαρακτηριστικά

Το γονίδιο της ApoE έχει μήκος 3.7Kb, σχηματίζεται από 4 εξόνια και είναι χαρτογραφημένο στον μακρύ βραχίονα του χρωμοσώματος 19. Η apoE είναι μια πρωτεΐνη (MB=34KDa) που αποτελείται από 299 αμινοξέα, με κύριο ρόλο την μεταφορά και το μεταβολισμό των λιπιδίων. Στον άνθρωπο υπάρχουν 3 ισομορφές της apoE: E2, E3 και E4 που κωδικοποιούνται από 3 διαφορετικά αλληλία: ε2, ε3 και ε4. Η διαφορά των τριών αυτών αλληλίων συνίσταται στον διαφορετικό συνδυασμό της κυστεΐνης (cys) και της αργινίνης (arg) στις θέσεις 112 και 158 εντός της αλληλουχίας των αμινοξέων. Συγκεκριμένα, το ε2 αλληλίο περιέχει cys112cys158, το ε3 αλληλίο περιέχει cys112arg158 ενώ το ε4 αλληλίο περιέχει arg112 arg158. Οι ισομορφές της apoE εμφανίζονται με συχνότητα 7% (ε2), 78% (ε3) και 15% (ε4) στον γενικό πληθυσμό.

Ένα άτομο μπορεί να έχει έναν από τους κάτωθι γονοτύπους: υπάρχουν 3 ομόζυγοι γονοτύποι (ApoE 2/2, ApoE 3/3, ApoE 4/4) και 3 ετερόζυγοι γονοτύποι (ApoE 2/3, ApoE 3/4, ApoE 2/4). Οι συχνότεροι γονοτύποι που απαντώνται στο γενικό πληθυσμό είναι οι ApoE 2/3, ApoE 3/3, και ApoE 3/4¹⁶⁻¹⁹.



Εικόνα 13: Απεικόνιση της δομής των ισομορφών E3 και E4 της apoE²⁰

Σύνθεση - Λειτουργία ApoE

Στο νευρικό σύστημα, η apoE συντίθεται κυρίως στα αστροκύτταρα και τη μικρογλοία. Διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της ακεραιότητας της κυτταρικής μεμβράνης, της επιδιόρθωσης των κυτάρων και της συναπτογένεσης, μέσα από τη μεταφοράς της χοληστερόλης και των φωσφολιπιδίων. Μετά τη σύνθεσή της σχηματίζει σύμπλοκα πρωτεΐνης-λιπιδίων, τα οποία ακολούθως απελευθερώνονται στον εξωκυττάριο χώρο. Τα σύμπλοκα αυτά αλληλεπιδρούν με τους υποδοχείς της apoE, οι οποίοι εντοπίζονται στην επιφάνεια των νευρικών κυττάρων και εισέρχονται στο εσωτερικό τους. Τέλος, αξίζει να σημειωθεί, ότι η apoE είναι η μοναδική ανιχνεύσιμη απολιποπρωτεΐνη στο ανθρώπινο εγκεφαλονωτιαίο υγρό^{19,21,22}.

Συσχέτιση της ApoE με την ΚΕΚ

Βιβλιογραφικά έχει επιβεβαιωθεί η συσχέτιση μεταξύ της εναπόθεσης αμυλοειδούς Αβ στον εγκεφαλικό ιστό ασθενών μετά από ΚΕΚ, καθώς και την επακόλουθη αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης της νόσου Alzheimer. Ειδικότερα, εναποθέσεις αμυλοειδούς Αβ αναδείχθηκαν στο 30% των ασθενών που κατέληξαν εντός ολίγων ημερών μετά από ΚΕΚ. Τα αποτελέσματα αυτά σε συνδυασμό με τον γνωστό ρόλο που διαδραματίζει η ApoE στη νόσο Alzheimer, οδήγησε τους επιστήμονες να διερευνήσουν τον ρόλο της ApoE στην έκβαση των ασθενών μετά από ΚΕΚ.

Επιπρόσθετα, άλλες μελέτες σε ποντίκια κατέδειξαν ότι εκείνα που έφεραν το αλληλίο ε4 εμφάνιζαν περισσότερες πιθανότητες για δυσμενή έκβαση. Επίσης, αξίζει να τονιστεί ότι η ισομορφή ApoE4 κατέχει σημαντικό ρόλο στο μονοπάτι της νευροτοξικότητας, της φλεγμονής, στην εμφάνιση μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας και καταστολής του αντιοξειδωτικού συστήματος, όπως και στην απόπτωση.

Επίσης, πολλές μελέτες έχουν διερευνήσει τον ρόλο του γονιδίου της ApoE σε ασθενείς με ΚΕΚ. Παρά τους σχεδιαστικούς τους περιορισμούς, όλες αυτές οι μελέτες

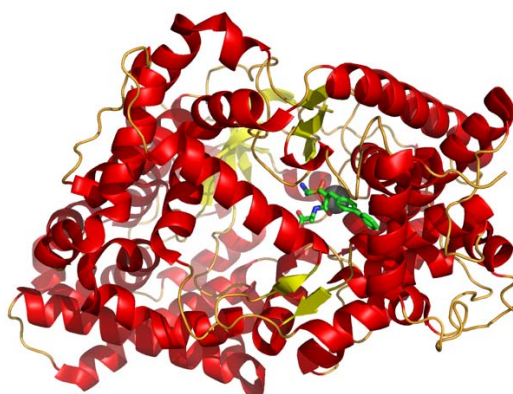
παρέχουν σημαντικές πληροφορίες για τον ρόλο της ApoE στην παθοφυσιολογία της ΚΕΚ. Οι περισσότερες εκ αυτών, διερεύνησαν την λειτουργική έκβαση των ασθενών με ΚΕΚ σε σχέση τις διαφορετικές ισομορφές της ApoE. Σε μια πρόσφατη μετα-ανάλυση 14 μελετών με συνολικό μέγεθος δείγματος 2427 ασθενείς, διαπιστώθηκε ότι η παρουσία του ε4 αλληλίου αύξανε σημαντικά την πιθανότητα δυσμενούς έκβασης 6 μήνες μετά την ΚΕΚ. Επίσης, σημειώνεται ότι οι ασθενείς με το ε4 αλληλίο είχαν βαρύτερη κλινική εικόνα εισόδου (χαμηλότερη GCS) και μεγαλύτερη διάρκεια νοσηλείας. Άλλες μελέτες υποστήριξαν ότι ο APOE γονότυπος ενδεχομένως να επηρεάζει τις γνωστικές λειτουργίες και τη συμπεριφορά μετά από ΚΕΚ. Πιο συγκεκριμένα, καταδείχθηκε ότι οι φορείς του ε4 αλληλίου είχαν χαμηλότερη απόδοση κατά την εκτίμηση νευροψυχολογικών παραμέτρων σε σύγκριση με τους μη-φορείς.

Παρά το γεγονός ότι από τη μια πλευρά, πληθώρα μελετών επιβεβαιώνουν την σχέση του γονοτύπου ApoE σχετικά με την έκβαση των ασθενών μετά από ΚΕΚ, από την άλλη κάποιες άλλες αδυνατούν να επιβεβαιώσουν τη συγκεκριμένη συσχέτιση. Αυτό πιθανώς να δικαιολογείται από τη διαφορετική συχνότητα των APOE αλληλίων μεταξύ των διάφορων πληθυσμών, την παρουσία άλλων γονιδίων-τροποποιητών και την αλληλεπίδραση γονιδιακών και περιβαλλοντικών παραγόντων^{8,19,23-25}.

Νεπριλυσίνη

Γενετικά χαρακτηριστικά – Λειτουργία

Η νεπριλυσίνη κωδικοποιείται από το γονίδιο MME (membrane metallo-endopeptidase) και αποτελεί μια ψευδάργυρο-εξαρτώμενη μεταλλοπρωτεάση.



Εικόνα 14: Δομή της νεπριλυσίνης¹⁹

Διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην απενεργοποίηση πληθώρας πεπτιδικών ορμονών, μεταξύ των οποίων τη γλυκακαγόνης, τη νευροτενσίνης, την οξυτοκίνης και τη βραδυκινίνης. Επίσης, είναι υπεύθυνη για τη διάσπαση του β-αμυλοειδούς πεπτιδίου, του οποίου η αυξημένη συγκέντρωση έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση της

νόσου Alzheimer (AD). Μελέτες σε πρώιμα περιστατικά AD νόσου φανερώνουν ότι τα επίπεδα της νεπριλυσίνης στον εγκεφαλικό φλοιό και το ENY των είναι μειωμένα.

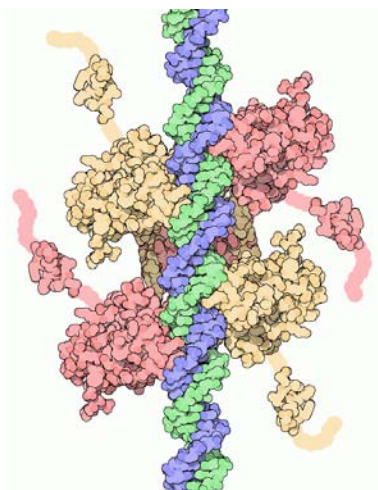
Συσχέτιση της Νεπριλυσίνης με την ΚΕΚ

Πρόσφατες μελέτες κατέδειξαν ότι ένας πολυμορφισμός GT επαναλήψεων στο γονίδιο της νεπριλυσίνης σχετίζεται με την εμφάνιση αμυλοειδωδικής αγγειοπάθειας καθώς και με αυξημένο κίνδυνο για νόσο Alzheimer. Ο πολυμορφισμός αυτός ανιχνεύεται στη ρυθμιστική περιοχή του γονιδίου της νεπριλυσίνης και πιθανότατα επάγει αλλαγές στη διαμόρφωση του DNA με απότοκη τροποποίηση της έκφρασης του γονιδίου. Ακολούθως, η τροποποίηση αυτή οδηγεί σε μεταβολή του βαθμού διάσπασης του Αβ αμυλοειδούς και της συγκέντρωσής του. Μια πρόσφατη μελέτη διερεύνησε τον πολυμορφισμό αυτό σε 81 ασθενείς μετά από ΚΕΚ, με μέσο όρο επιβίωσης 3.45 ημέρες. Τα αποτελέσματα της μελέτης κατέδειξαν ότι οι ασθενείς με περισσότερες GT επαναλήψεις είχαν αυξημένο κίνδυνο σχηματισμού Αβ πλακών, υποδεικνύοντας ότι ο πολυμορφισμός στο γονίδιο της νεπριλυσίνης κάνει πιο ευάλωτους τους ασθενείς με ΚΕΚ στο σχηματισμό αμυλοειδικών πλακών¹⁹.

Γονίδιο p53

Γενετικά χαρακτηριστικά – Λειτουργία

Στους ανθρώπους το γονίδιο p53 εντοπίζεται στον βραχύ βραχίονα του χρωμοσώματος 17 (17p13.1). Έχει συχνά χαρακτηριστεί ως ο “φύλακας του γονιδιώματος” λόγω του ρόλου του στη διατήρηση της γενετικής σταθερότητας.



Εικόνα 15: Δομή του γονιδίου p53 συνδεδεμένο με το DNA²⁶

Το γονίδιο p53 αποτελεί έναν ρυθμιστή της απόπτωσης και εμφανίζει έναν πολυμορφισμό που καταλήγει στην ύπαρξη προλίνης (pro) ή αργινίνης (arg) στο

αμινοξύ 72 της πολυπεπτιδικής αλυσίδας της πρωτεΐνης. Ο λειτουργικός αυτός πολυμορφισμός επάγει την απόπτωση, ενώ ο Arg/Arg γονότυπος είναι ο πιο αποτελεσματικός παράγοντας ενεργοποίησής της^{8,19,26}.

Συσχέτιση του γονιδίου p53 με την ΚΕΚ

Σε μια πρόσφατη μελέτη διερευνήθηκε η συσχέτιση του Arg72Pro πολυμορφισμού με την έκβαση των ασθενών μετά από σοβαρή ΚΕΚ. Σύμφωνα με τη συγκεκριμένη μελέτη, διαπιστώθηκε ότι ανάμεσα στους ασθενείς με δυσμενή έκβαση, η συχνότητα του Arg/Arg γονότυπου ήταν υψηλότερη (69%) συγκριτικά με την αντίστοιχη των Arg/Pro και Pro/Pro γονοτύπων (31%). Επίσης, ο Arg/Arg γονότυπος συσχετίστηκε με μεγαλύτερο κίνδυνο (2.9 φορές) για δυσμενή έκβαση μετά την έξοδο από τη μονάδα εντατικής θεραπείας. Παρολαυτά, έξι μήνες αργότερα δε διαπιστώθηκε σημαντική διαφορά ανάμεσα στους ασθενείς με και χωρίς των Arg/Arg γονότυπο. Τα στοιχεία αυτά, ενδεχομένως καταδεικνύουν έναν περιορισμένο ρόλο του πολυμορφισμού του p53 γονιδίου στην έκβαση των ασθενών μετά από ΚΕΚ^{8,19}.

Γονίδιο ιντερλευκίνης (IL- Gene)

Ιντερλευκίνη-1

Γενετικά χαρακτηριστικά – Λειτουργία

Η IL-1 αποτελείται από 3 γονίδια που κωδικοποιούν τρεις διαφορετικές πρωτεΐνες: την IL-1α, την IL-1β και την IL-1Ra. Η IL-1α και η IL-1β αποτελούν αγωνιστές του υποδοχέα της IL-1, ενώ η IL-1Ra ανταγωνιστή. Η IL-1α και η IL-1β συντίθενται ως ανενεργά πρόδρομα μόρια, με το MB κάθε προδρόμου μορίου να είναι 31KD. Οι βιολογικά ενεργές μορφές των μορίων αυτών έχουν MB 17KD και δημιουργούνται με τη δράση ειδικών πρωτεασών.

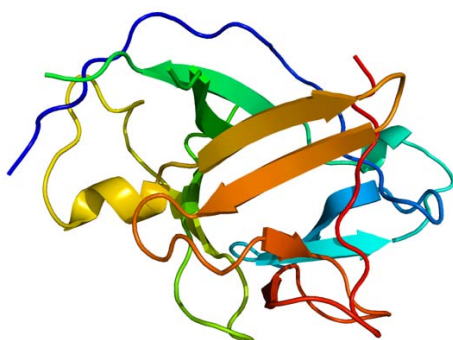
Υπάρχουν δύο τύποι υποδοχέων της IL-1 (IL-1R): ο υποδοχέας τύπου I (IL-1RI) που παράγει ενδοκυττάριο σήμα, και ο υποδοχέας τύπου II (IL-1RII) που αλληλεπιδρά με την IL-1. Με την πρόσδεση της IL-1 στον υποδοχέα τύπου I σχηματίζεται ένα σύμπλοκο, το οποίο συνδέεται με την AcP (IL-1R-accessory protein). Ο ετεροδιμερισμός των κυτταροπλασματικών περιοχών του IL-1RI υποδοχέα και του συμπλόκου IL-1R-AcP συμβάλλει στη μεταγωγή του ενδοκυττάρσιου σήματος. Οι εξωκυτταρίες ή διαλυτές περιοχές των υποδοχέων IL-1RI (IL-1sRI) και IL-1RII (IL-1sRII) συνδέονται με την IL-1α, την IL-1β ή την IL-1Ra.

Η βιολογικά ενεργή μορφή της IL-1α είναι ένα καρβοξυτελικό πεπτιδίο με MB 17KD. Το ανενεργό πρόδρομο μόριο της IL-1α (proIL-1α) έχει MB 31KD και συντίθεται με τη βοήθεια μικροσωληνίσκων. Η proIL-1α παραμένει ενδοκυττάρια, σε αντίθεση με ένα σημαντικό ποσοστό της proIL-1β που διασπάται με τη βοήθεια μιας ενδοκυττάριας πρωτεάσης και εκκρίνεται από τα κύτταρα. Όταν επέρχεται κυτταρικός θάνατος, η proIL-1α απελευθερώνεται από το κύτταρο και διασπάται από εξωκυτταρίες πρωτεάσες. Επίσης, η proIL-1α διασπάται από πρωτεάσες κυστεΐνης που καλούνται καλπεΐνες. Η παρουσία αυξημένων ιόντων Ca^{2+} επάγει την ενεργοποίηση της

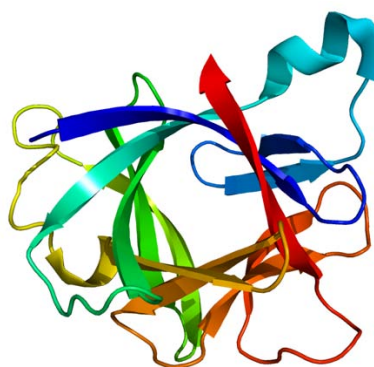
καλπεϊνης, η οποία διασπά το πρόδρομο μόριο της IL-1α. Τέλος, η εξωκυτάρια έκκριση του ενεργού μορίου της IL-1α λαμβάνει χώρα ακόμα και επί απουσίας κυτταρικού θανάτου.

Όσον αφορά την IL-1β, όπως συμβαίνει και με την IL-1α, συντίθεται στο κυτταρόλυμα με τη βοήθεια μικροσωληνίσκων. Μετά τη σύνθεσή της, η proIL-1β παραμένει κυρίως ενδοκυτάρια, μέχρι να διασπαστεί από το ένζυμο ICE. Ακολούθως, παράγεται το ώριμο μόριο της IL-1β, το οποίο μεταφέρεται εξωκυτάρια. Μικρές συγκεντρώσεις IL-1β έχουν ανευρεθεί στα λυσοσώματα και στους μικροσωληνίσκους που πιθανότατα διαδραματίζουν καίριο ρόλο στην έκκριση του ώριμου μορίου της IL-1β.

Έχει διαπιστωθεί ότι απαντούν δύο τύποι υποδοχέων που αλληλεπιδρούν με την IL-1: ο υποδοχέας τύπου I (IL-1RI) και ο υποδοχέας τύπου II (IL-1RII). Και οι δύο ανήκουν στην οικογένεια των ανοσοσφαιρινών (Ig) και διαθέτουν τρεις περιοχές στα εξωκυτάρια τμήματά τους, που εμφανίζουν σημαντική ομολογία. Στον άνθρωπο, τα γονίδια που κωδικοποιούν τους υποδοχείς IL-1RI και IL-1RII έχουν χαρτογραφηθεί στον μακρύ βραχίονα του χρωμοσώματος 2^{8,19,27-42}.



Εικόνα 16: Το γονίδιο της IL-1α²⁷



Εικόνα 17: Το γονίδιο της IL-1β²⁷

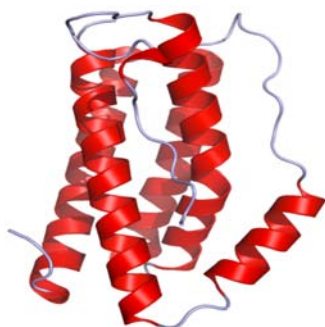
Ιντερλευκίνη-6 (IL-6)

Γενετικά χαρακτηριστικά – Λειτουργία

Η οικογένεια της IL-6 σχηματίζεται από τον CNTF παράγοντα (ciliary neurotrophic factor), τον LIF παράγοντα (leukemia inhibitory factor), την ογκοστατίνη M, την καρδιοτροφίνη-1 (CT-1), τον GPA (growth promoting activity), την IL-6 και την IL-11. Η IL-6, όπως και όλα τα υπόλοιπα μέλη της οικογένειας, έχει MB 20-24 KDa στη μη-γλυκοζυλιωμένη της μορφή. Η ομολογία των αμινοξέων μεταξύ των κυτοκινών αυτών είναι πολύ χαμηλή, περίπου στο 30%. Ωστόσο, η τριτοταγή τους δομή αποτελείται από τέσσερις αντιπαράλληλες α-έλικες, καταλήγοντας σε μια όμοια τρισδιάστατη διαμόρφωση. Ένα ιδιαίτερο γνώρισμα της οικογένειας αυτής των κυτοκινών, είναι ότι λαμβάνει μέρος σε πολλές διαφορετικές διεργασίες, μεταξύ των οποίων την

αιμοποίηση, την ανοσολογική απάντηση, καθώς και την ασυμπτωματική φλεγμονώδη αντίδραση.

Η IL-6 και ο υποδοχέας της εκφράζονται σε ειδικούς νευρωνικούς πληθυσμούς σε διαφορετικές περιοχές του εγκεφάλου. Υψηλά επίπεδα mRNA IL-6 και του υποδοχέα της ανευρίσκονται στον ιππόκαμπος, στο νεοφλοιός και στην παρεγκεφαλίδα. Επίσης, έχει βρεθεί ότι και τα αστροκύτταρα εκφράζουν τα γονίδια της IL-6 και του υποδοχέα της. Άλλες μελέτες απέδειξαν ότι η έκφραση του mRNA της IL-6 και του υποδοχέα της παρουσιάζει διακύμανση κατά τις διάφορα στάδια της ανάπτυξης. Ειδικότερα, κατά τη γέννηση και την ενήλικη ζωή, διαπιστώθηκε συγκέντρωση και των δύο μεταγράφων στο ραβδωτό σώμα και τον ιππόκαμπο, ενώ αντίθετα στον νεοφλοιό και τον υποθάλαμο μόνο το mRNA του υποδοχέα ήταν σε αυξημένα επίπεδα. Αντίθετα, δε σημειώθηκαν διαφορές στα επίπεδα των mRNAs στην παρεγκεφαλίδα, τη γέφυρα και τον προμήκη μυελό κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης. Ωστόσο, δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί ο ακριβής ρόλος της IL-6 στο ΚΝΣ^{19,43-47}.



Εικόνα 18: Δομή του γονιδίου της IL-6⁴³

Συσχέτιση του γονιδίου IL με την ΚΕΚ

Αμέσως μετά την εγκεφαλική κάκωση εκκινεί μια σύνθετη φλεγμονώδης διαδικασία, η οποία συμβάλλει καθοριστικά στην παθογένεια της ΚΕΚ. Η διαδικασία διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην κλινική εικόνα και την έκβαση του ασθενούς. Οι ιντερλευκίνες, που παράγονται ως αντίδραση στην ΚΕΚ, κατευθύνονται σε πολλαπλούς στόχους και εμφανίζουν συχνά αλληλοεπικαλυπτόμενες βιολογικές δράσεις.

Σε πειραματικά μοντέλα διαπιστώθηκε ταχεία επαγωγή της IL-1β μετά από ΚΕΚ (αυξημένη συγκέντρωση mRNA εμφανίστηκε 15 λεπτά μετά την κάκωση, ενώ η συγκέντρωση της σχετιζόμενης πρωτεΐνης αυξήθηκε 6 ώρες μετά). Παρομοίως, η IL-1ra ανευρέθη σε αυξημένα επίπεδα στην ίδια πειραματική μελέτη (αυξημένη συγκέντρωση του mRNA παρατηρήθηκε στις 6 ώρες μετά την κάκωση). Επιπρόσθετα, η χορήγηση εξωγενούς IL-1β διαπιστώθηκε ότι επιδεινώνει σημαντικά το βαθμό εγκεφαλικής βλάβης, ενώ η χορήγηση ή η υπερέκφραση της IL-1ra περιορίζει σημαντικά τη νευρωνική βλάβη. Αξίζει ακόμα να σημειωθεί, ότι αυξημένη έκφραση της IL-1 διαπιστώθηκε στο ΕΝΥ ασθενών με ΚΕΚ⁴⁸⁻⁵⁴.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα μιας τυχαίοποιημένης μελέτης σταδίου II της IL-1α (Emsley et al.) σε ασθενείς με οξύ ισχαιμικό επεισόδιο. Το σύμπλεγμα του γονιδίου της IL-1 εμπεριέχει γονίδια που κωδικοποιούν την IL-1α, IL-

1β και IL-1ra και εντοπίζεται στην περιοχή 2q13 στους ανθρώπους. Επίσης, μια σειρά πολυμορφισμών (Variable Number Tandem Repeat – VNTR) στο ιντρόνιο 2 της IL-1ra φαίνεται να είναι ιδιαίτερης κλινικής σημασίας, καθώς συνδέεται με μια σειρά φλεγμονωδών παθήσεων. Οι φορείς του IL-1RN*2 γονιδίου εμφάνιζαν στο πλάσμα αυξημένα επίπεδα IL-1ra, αυξημένη παραγωγή IL-1β και μειωμένες τιμές IL-1ra σε διάφορους ιστούς. Πρέπει ακόμα να σημειωθεί, ότι δύο συγκεκριμένοι πολυμορφισμοί του γονιδίου της IL-1β έχουν μελετηθεί διεξοδικά στις θέσεις +3953 και -511. Τα αλληλία και των δύο αυτών πολυμορφισμών θεωρούνται ότι ευθύνονται σε σημαντικό βαθμό για την παραγωγή της IL-1β⁵⁵⁻⁵⁷.

Η πρώτη απόδειξη σχετικά με τον συσχετισμό μεταξύ των πολυμορφισμών IL-1β +3953 και -511 και της δυσμενούς πρόγνωσης των ασθενών με ΚΕΚ, διατυπώθηκε στην μελέτη του Uzan et al. Σε μια άλλη μελέτη (Hadjigeorgiou GM et al.), οι φορείς του αλληλίου IL-1RN*2 συνδέονταν με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης μετατραυματικού αιμορραγικού επεισοδίου. Παραδόξως, οι φορείς αυτοί με το αλληλίο IL-RN*2 εμφάνιζαν μεν βαρύτερη αρχική κλινική εικόνα ($p= 0.045$) αλλά ευνοϊκότερη έκβαση ($p= 0.02$). Τα συμπεράσματα αυτά υποδηλώνουν ότι η εντονότερη φλεγμονώδης διαδικασία στους φορείς αυτούς μπορεί να είναι επιβλαβής στην οξεία φάση της κάκωσης, αλλά πιθανότατα συμμετέχουν στην κυτταρική επιδιόρθωση στην ενδιάμεση και χρόνια περίοδο μετά τον τραυματισμό, αντανακλώντας τον διπλό ρόλο των κυτοκινών στη νευροπροστασία και την νευροεκφύλιση^{19,48,52,53,58,59}.

Όσον αφορά το γονίδιο της IL-1a αντικείμενο διερεύνησης έχει αποτελέσει ένας πολυμορφισμός στην περιοχή -889. Παρά το γεγονός ότι το αλληλίο 2 της IL-1a (-889) έχει συνδεθεί με αυξημένα επίπεδα IL-1a και IL-1β, το λειτουργικό αποτέλεσμα αυτού του πολυμορφισμού δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί. Δύο μελέτες διερεύνησαν το αποτέλεσμα αυτού του πολυμορφισμού σε ασθενείς με ΚΕΚ, αλλά δεν κατάφεραν να καταλήξουν σε κάποια συγκεκριμένη συσχέτιση^{60,61}.

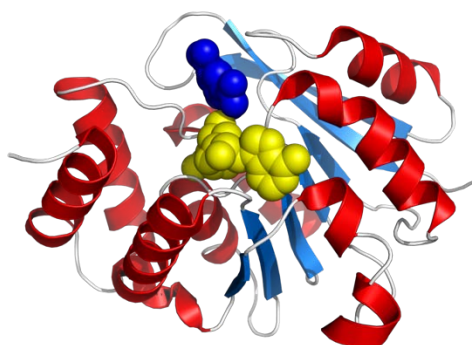
Σε μια άλλη μελέτη που περιελάμβανε ασθενείς με σοβαρή ΚΕΚ και πρόσβαση σε παθολογοανατομικά στοιχεία, εξετάστηκε η πιθανή σύνδεση μεταξύ των πολυμορφισμών της IL-1a και IL-1β και της έκτασης του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Είναι αξιοσημείωτο, ότι ο βαθμός θετικότητας TUNEL δε διέφερε μεταξύ των γονοτύπων⁶².

Μια άλλη κυτοκίνη που ενοχοποιείται στην παθοφυσιολογία της ΚΕΚ είναι η IL-6. Η IL-6 έχει ρυθμιστική, αντιφλεγμονώδη και νευροτροφική δράση και συνδέεται με τη νευρωνική προστασία και επιβίωση. Έχει καταδειχθεί σε μελέτες ότι ποντίκια με ανεπάρκεια του γονιδίου της IL-6 (IL-6 deficient mice) εμφανίζουν αυξημένο ρυθμούς απόπτωσης μετά από εγκεφαλική κάκωση. Παρολαυτά, η εξωγενής χορήγηση IL-6 μπορούν είτε να ενισχύσουν είτε να αναστείλλουν τη νευρωνική βλάβη, πιθανότατα ανάλογα με το χρονικό σημείο και την έκταση της διάρκειας. Επιπρόσθετα, άλλες μελέτες ανέδειξαν ότι στο ΕΝΥ ασθενών μετά από ΚΕΚ εμφανίζονται υψηλά επίπεδα IL-6 και ότι οι αυξημένες αυτές τιμές σχετίζονται με ευνοϊκότερη έκβαση. Ωστόσο, δεν ανευρέθη πολυμορφισμός του υποκινητή της IL-6 που να ασκεί στατιστικά σημαντική επίδραση στην τελική έκβαση μετά από^{ΚΕΚ19,53,63-66}.

Κατεχολ-ο-μεθυλοτρανσφεράση (Catechol-O-methyltransferase - COMT)

Γενετικά χαρακτηριστικά – Λειτουργία

Το COMT γονίδιο (catechol-o-methyltransferase ανακαλύφθηκε το 1957 από τον βιοχημικό Julius Axelrod. Το γονίδιο COMT κωδικοποιεί το ένζυμο που απενεργοποιεί τη δράση της ντοπαμίνης (DA) και της νορεπινεφρίνης (NE) και εμφανίζει τρεις ισομορφές: (COMT Val/Val, COMT Val/Met, και COMT Met/Met). Οι τρεις αυτοί λειτουργικοί πολυμορφισμοί διαφέρουν στο ποσοστό επίδρασης στα επίπεδα της ντοπαμίνης, επηρεάζοντας κατ' επέκταση τις σχετιζόμενες γνωστικές λειτουργίες. Στον εγκέφαλο, η COMT διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στις περιοχές του εγκεφάλου με χαμηλή έκφραση του προσυναπτικού ντοπαμινεργικού μεταφορέα (Presynaptic Dopamine Transporter DAT), όπως στον προμετωπιαίο φλοιό. Αν και η κύρια συγκέντρωση της COMT εντοπίζεται ενδοκυτταρικά στο ΚΝΣ, μειωμένες ποσότητες μικρής κλινικής σημασίας μπορούν να βρεθούν και εξωκυτταρικά⁶⁷⁻⁶⁹.



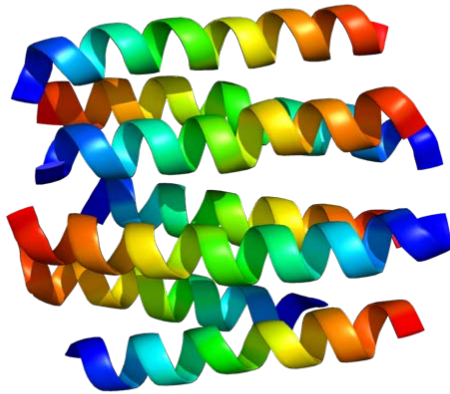
Εικόνα 19: Δομή του γονιδίου COMT⁶⁷

Γονίδιο Υποδοχέα Ντοπαμίνης D2 (Dopamine D2 receptor – DRD2)

Γενετικά χαρακτηριστικά – Λειτουργία

Το γονίδιο του υποδοχέα της ντοπαμίνης (DRD2) είναι ένα γονίδιο του οποίου οι γενετικοί πολυμορφισμοί τροποποιούν τη λειτουργία της ντοπαμίνης. Ο υποδοχέας της ντοπαμίνης D2 ανακαλύφθηκε το 1975 από τον Philip Seeman και αποτελεί τον κύριο υποδοχέα όλων των αντιψυχωτικών φαρμάκων⁷⁰⁻⁷².

Στη θέση Taq1 του DRD2 γονιδίου έχει ανακαλυφθεί ένας C/T πολυμορφισμός, ο οποίος καταλήγει σε τρεις ισομορφές (C/C, C/T, και T/T). Το T αλληλόμορφο βρίσκεται σε ανισορροπία σύνδεσης με ένα λειτουργικό αλληλίο, το οποίο συνδέεται με έως 40% μειωμένη έκφραση των D2 υποδοχέων στον κερκοφόρο πυρήνα του εγκεφάλου. Άλλες μελέτες επίσης, έχουν καταδείξει ότι το T αλληλόμορφο πιθανώς να σχετίζεται με αυξημένη πιθανότητα εκδήλωσης της νόσου Alzheimer^{19,71,72}.



Εικόνα 20: Δομή του γονιδίου DDR2⁷¹

Συσχέτιση του γονιδίου COMT και DDR2 με την ΚΕΚ

Πολλές μελέτες έχουν διερευνήσει τους πολυμορφισμούς των γονιδίων COMT και DDR2 όσον αφορά τη συσχέτισή τους με την έκβαση της ΚΕΚ. Ειδικότερα, όσον αφορά το γονίδιο COMT μελέτη ανέδειξε θετική συσχέτιση ανάμεσα στον Val158Met γονότυπο και τις ανώτερες γνωστικές λειτουργίες μετά από εγκεφαλική κάκωση. Οι ασθενείς που παρουσίαζαν υψηλή δραστηριότητα του ενζύμου (Val/Val πολυμορφισμός) και αντιστοίχως χαμηλότερα επίπεδα ντοπαμίνης στο φλοιό, εμφάνιζαν χαμηλότερη επίδοση στην εκτίμηση των νοητικών εκτελεστικών λειτουργιών, σε σύγκριση με τους ασθενείς με χαμηλή δραστηριότητα του ενζύμου (Met/Met) και αντίστοιχα υψηλότερα επίπεδα ντοπαμίνης.

Άλλες μελέτες διερεύνησαν τους πολυμορφισμούς του γονιδίου DDR2 μετά από ΚΕΚ. Αναλυτικότερα, ο McCallister et al. εκτίμησαν τη λειτουργία της μνήμης και της συγκέντρωσης μεταξύ 39 ασθενών που υπέστησαν ήπια ΚΕΚ και 27 υγιών ατόμων σχετικά με την παρουσία του T αλληλίου. Οι φορείς του T αλληλίου και των δύο ομάδων παρουσίαζαν χειρότερη απόδοση στην κλίμακα λεκτικής ευχέρειας (California Verbal Learning Test) σε σύγκριση με τους μη-φορείς. Επίσης, δεν υπήρχαν διαφορές στην εκτίμηση της λειτουργίας του μετωπιαίου λοβού ανάμεσα στους φορείς ή μη- του T αλληλίου. Παρολαυτά, η ομάδα με το T αλληλίο και εγκεφαλική κάκωση εμφάνιζε μειωμένη εγρήγορση και καθυστερημένη απόκριση σε σύγκριση με τους υγιείς φορείς του T αλληλίου. Επιπρόσθετα, σε μια άλλη μελέτη ο πολυμορφισμός του γονιδίου ANNK1, το οποίο ρυθμίζει την έκφραση του γονιδίου του DDR2, οδηγώντας σε μειωμένη έκφραση των υποδοχέων D2, βρέθηκε ότι συσχετίζεται με μειωμένες αντιδράσεις μετά την εγκεφαλική κάκωση⁷¹⁻⁷⁴.

Πίνακας 4: Μελέτες συσχέτισης γενετικών πολυμορφισμών σε ασθενείς μετά από ΚΕΚ⁸

Αναφορά	Γονίδιο	Πολυμορφισμός	Μεθοδολογία	Φαινότυπος	Αποτελέσματα	Σχόλια
Nicoll et al (1995)	APOE	ε2/ε3/ε4	Παθολογοανατομικό υλικό από 90 περιπτώσεις ασθενών με ΚΕΚ (23 Αβ+)	Εναπόθεση Αβ αμυλοειδούς	Θετικό	APOE4 αλληλίο, $p < 0.00001$
Sorbi et al (1995)	APOE	ε2/ε3/ε4	16 νεαρής ηλικίας ασθενείς με ΚΕΚ	Μετατραυματική αμνησία	Θετικό	APOE4 αλληλίο, $p < 0.01$
Mayeux et al (1995)	APOE	ε2/ε3/ε4	236 ηλικιωμένα άτομα με ιστορικό ΚΕΚ	Κίνδυνος εμφάνισης AD	Θετικό	Δεκαπλάσιος κίνδυνος εμφάνισης AD μετά από ΚΕΚ παρουσία APOE4 αλληλίου
Katzman et al (1996)	APOE	ε2/ε3/ε4	160 ασθενείς με AD, 69 φυσιολ. μάρτυρες με ιστορικό ΚΕΚ	Κίνδυνος εμφάνισης AD	Θετικό	APOE4 αλληλίο και ΚΕΚ αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης AD, OR 13.5, 95% CI 2.63-69.12, $p = 0.0018$
Teasdale et al (1997)	APOE	ε2/ε3/ε4	89 ασθενείς με ΚΕΚ	Μη-ευνοϊκή εξάμηνη έκβαση	Θετικό	APOE4 αλληλίο, OR 0.23, 95% CI 0.06-0.82, $p = 0.024$
Jordan et al (1997)	APOE	ε2/ε3/ε4	30 μπόξέρ	Νευρολογική επιβάρυνση (CBI κλίμακα)	Θετικό	Μπόξέρ με το APOE4 αλληλίο είχαν σοβαρότερη νευρολογική επιβάρυνση $p < 0.01$
Friedman et al (1999)	APOE	ε2/ε3/ε4	69 ασθενείς με ΚΕΚ	Δυσμενής κλινική έκβαση	Θετικό	APOE4 αλληλίο
Mehta et al (1999)	APOE	ε2/ε3/ε4	797 άτομα με ιστορικό ΚΕΚ	Κίνδυνος εμφάνισης άνοιας και AD μετά από παρακολούθηση κατά μέσο όρο	Αρνητικό	-

				για 2.1 χρόνια		
Plassman et al (2000)	APOE	ε2/ε3/ε4	46 ασθενείς με AD, 356 στρατιωτικοί χωρίς AD, αλλά με ιστορικό ΚΕΚ	Κίνδυνος εμφάνισης AD	Αρνητικό	-
Lichtman et al (2000)	APOE	ε2/ε3/ε4	31 ασθενείς με ΚΕΚ και αξονότμηση	Κλίμακες λειτουργικής αυτονομίας μετά από 6 μήνες	Θετικό	Οι φορείς του APOE4 αλληλίου είχαν χαμηλότερες τιμές στις συγκεκριμένες κλίμακες, $p=0.05$
Guo et al (2000)	APOE	ε2/ε3/ε4	942 ασθενείς με AD και ΚΕΚ, 327 φυσιολογικοί μάρτυρες	Κίνδυνος εμφάνισης AD	Θετικό	Η ΚΕΚ αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης AD απουσία APOE4 αλληλίου, OR 3.3, 95%CI 2.0-5.5
Kutner et al (2000)	APOE	ε2/ε3/ε4	53 εν ενεργεία ποδοσφαιριστές	Αξιολόγηση νευροψυχολογικών παραμέτρων	Θετικό	Οι ποδοσφαιριστές μεγαλύτερης ηλικίας που είχαν το APOE4 αλληλίο έλαβαν χαμηλότερες τιμές στις κλίμακες ελέγχου των γνωστικών λειτουργιών, $p=0.004$
Liaquat et al (2002)	APOE	ε2/ε3/ε4	129 ασθενείς με ΚΕΚ	Όγκος αιματώματος Δυσμενής GOS μετά από 6 μήνες	Θετικό Θετικό	Το E4 αλληλίο συσχετίστηκε με αιματώματα μεγαλύτερου όγκου, $p=0.0056$ APOE4 αλληλίο, $p=0.015$
Crawford et al (2002)	APOE	ε2/ε3/ε4	110 ασθενείς με ΚΕΚ	Κλίμακες ελέγχου της μνήμης 6 μήνες μετά το τραύμα	Θετικό	Οι φορείς του APOE4 αλληλίου είχαν χαμηλότερες επιδόσεις στις κλίμακες ελέγχου της μνήμης
Liberman et al (2002)	APOE	ε2/ε3/ε4	87 ασθενείς με ήπια ή μέτρια ΚΕΚ	Νευροψυχολογική αξιολόγηση στις 3 και 6 εβδομάδες	Θετικό	Οι φορείς του APOE4 αλληλίου είχαν χαμηλότερες τιμές στις συγκεκριμένες μετρήσεις κατά την

						πρώτη επίσκεψη
Chiang et al (2003)	APOE	ε2/ε3/ε4	100 ασθενείς με ΚΕΚ	Δυσμενής GOS μετά από 6 μήνες	Θετικό	APOE4 αλληλίο, OR 3.01, 95%CI 1.02-8.88, p=0.04
Nathoo et al (2003)	APOE	ε2/ε3/ε4	110 μαύροι, ασθενείς με ΚΕΚ	Δυσμενής GOS μετά από 6 μήνες	Αρνητικό	-
Diaz-Arrastia et al (2003)	APOE	ε2/ε3/ε4	106 ασθενείς με μέτρια ή σοβαρή ΚΕΚ	Μετατραυματική επιληψία GOS μετά από 6 μήνες	Θετικό Αρνητικό	Αυξημένος κίνδυνος παρουσία E4 αλληλίου, OR 2.41,95%CI 1.15-5.07, p=0.03 -
Millar et al (2003)	APOE	ε2/ε3/ε4	396 ασθενείς με ΚΕΚ	GOS μετά από 6 μήνες, Νευροψυχολογική έκβαση κατά μέσο όρο μετά από 18 χρόνια	Αρνητικό	-
Kerr et al (2003)	APOE	ε2/ε3/ε4	91 ασθενείς με σοβαρή ΚΕΚ	Συγκεντρώσεις αμινοξέων-νευροδιαβιβαστών (ασπαρτικό οξύ, γλουταμικό οξύ) και ενεργειακών μεταβολιτών (αναλογία γαλακτικού οξέος/πυροσταφυλικό οξύ)	Θετικό	Οι ασθενείς με το APOE4 αλληλίο είχαν σταθερά αυξημένα επίπεδα ασπαρτικού οξέος και αναλογίας γαλακτικού/πυροσταφυλικό μετά από ΚΕΚ
Chamelian et al (2004)	APOE	ε2/ε3/ε4	90 ασθενείς με ήπια έως μέτρια ΚΕΚ	GOS, Νευροψυχολογική έκβαση	Αρνητικό	-
Sundstrom et al (2004)	APOE	ε2/ε3/ε4	34 ασθενείς με ήπια ΚΕΚ πριν και μετά το τραύμα	Νευροψυχολογική εκτίμηση	Θετικό	Το APOE4 αλληλίο συσχετίστηκε με μειωμένη μετατραυματική επίδοση
Quinn et al (2004)	APOE	ε2/ε3/ε4	Παθολογοανατομικό υλικό από	Εγκεφαλικό οίδημα	Αρνητικό	-

			106 περιστατικά ηλικίας 2-19 χρόνων			
Koponen et al (2004)	APOE	ε2/ε3/ε4	60 ασθενείς με ΚΕΚ	Άνοια Ψυχιατρικές ανωμαλίες μετά από περίπου 30 χρόνια	Θετικό Αρνητικό	Το ΑPOE4 αλληλίο αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης άνοιας, $p=0.028$ -
Teasdale et al (2005)	APOE	ε2/ε3/ε4	1094 ασθενείς με ΚΕΚ	GOS στους 6 μήνες	Αρνητικό	Το Ε4 αλληλίο σχετίστηκε με μη-ευνοϊκή έκβαση μόνο σε ηλικίες <15 ετών, OR 3.06, 95%CI 1.22-7.65, $p=0.07$
Leclercq et al (2005)	APOE	ε2/ε3/ε4	Παθολογοανατομική εξέταση σε 88 περιπτώσεις με ΚΕΚ	Εγκεφαλική αμυλοειδωσική αγγειοπάθεια	Θετικό	Το Ε4 αλληλίο σχετίστηκε με εγκεφαλική αμυλοειδωσική αγγειοπάθεια, $p=0.021$
Ariza et al (2006)	APOE	ε2/ε3/ε4	77 ασθενείς με ΚΕΚ	Νευροψυχολογικές επιδόσεις τουλάχιστον 6 μήνες μετά την ΚΕΚ	Θετικό	Το ΑPOE4 αλληλίο αυξάνει τον κίνδυνο κακής επίδοσης
Smith et al (2006)	APOE	ε2/ε3/ε4	239 θανατηφόρες περιπτώσεις ΚΕΚ	Μέτριες/σοβαρές εγκεφαλικές θλάσεις Σοβαρή ισχαιμική βλάβη	Θετικό Αρνητικό	Το ΑPOE4 αυξάνει τον κίνδυνο των εγκεφαλικών θλάσεων, $p=0.05$ $p=0.08$
Jiang et al (2006)	APOE	ε2/ε3/ε4	110 ασθενείς με ΚΕΚ	Επιδείνωση της κλινικής εικόνας στην οξεία φάση (<7 ημέρες μετά την ΚΕΚ)	Θετικό	Το ΑPOE4 αλληλίο αυξάνει τον κίνδυνο επιδείνωσης της κλινικής εικόνας, OR 4.84, 95%CI 1.44-16.21, $p=0.011$

Isoniemi et al (2006)	APOE	ε2/ε3/ε4	58 ασθενείς με ΚΕΚ	Μέγεθος ιππόκαμπου, ατροφία εγκεφάλου κατά μέσο όρο 31.3 χρόνια μετά την ΚΕΚ	Αρνητικό	-
Kerr et al (2006)	APOE	ε2/ε3/ε4	54 ασθενείς με σοβαρή ΚΕΚ	Εγκεφαλική αιματική ροή ανιχνευόμενη με Xe-CT εντός 24h μετά την ΚΕΚ	Θετικό	Το ΑPOE4 αλληλίο σχετίστηκε με αυξημένη εγκεφαλική αιματική ροή
Ponsford et al (2007)	APOE	ε2/ε3/ε4	120 ασθενείς με μέτρια έως σοβαρή ΚΕΚ	Έλεγχος γνωστικών λειτουργιών στους 3, 6, 12 μήνες	Αρνητικό	-
Han et al (2007)	APOE	ε2/ε3/ε4	78 ασθενείς με ήπια έως μέτρια ΚΕΚ	Νευροψυχολογικός έλεγχος στον 1 μήνα	Θετικό	Οι φορείς του ΑPOE4 αλληλίου σχετίστηκαν με καλύτερες επιδόσεις σε κάποιους ελέγχους
Alexander et al (2007)	APOE	ε2/ε3/ε4	123 ασθενείς με σοβαρή ΚΕΚ	GOS στους 3, 6, 12 και 24 μετά την ΚΕΚ	Θετικό	Οι φορείς του ΑPOE4 αλληλίου είχαν πιο βραδύ ρυθμό ανάρρωσης
Hiekkanen et al (2007)	APOE	ε2/ε3/ε4	33 ασθενείς με μη-ήπια ΚΕΚ	Εγκεφαλικές κακώσεις καθοριζόμενες με βάση τα ευρήματα της MRI περίπου 1 εβδομάδα και 1 χρόνο μετά την ΚΕΚ	Αρνητικό	-
Zhou et al (2008)	APOE	ε2/ε3/ε4	Μετα-ανάλυση: 14 μελέτες με συνολικά 2427 συμμετέχοντες	GCS εισόδου Δυσμενής GOS στους 6 μήνες	Αρνητικό Θετικό	- ΑPOE4 αλληλίο, RR 1.36, 95%CI 1.04-1.78
Willemse-van Son et al	APOE	ε2/ε3/ε4	79 ασθενείς με μέτρια ή	GOS στους 3, 6, 12, 18, 24, 36 μήνες μετά	Θετικό	Οι φορείς του ΑPOE4 αλληλίου είχαν καλύτερη

(2008)			σοβαρή ΚΕΚ	την ΚΕΚ		έκβαση, OR 0.26, 95% CI 0.02-0.51, p=0.037
Tanriverdi et al (2008)	APOE	ε2/ε3/ε4	93 ασθενείς με ΚΕΚ, 27 φυσιολογικοί μάρτυρες	Κίνδυνος δυσλειτουργίας της υπόφυσης μετά την ΚΕΚ	Θετικό	Χαμηλότερος κίνδυνος δυσλειτουργίας της υπόφυσης στους APOE3/E3 ομοζυγώτες, OR 0.29, 95% CI 0.11-0.78, p=0.01
Brichtova et al (2008)	APOE	ε2/ε3/ε4	70 παιδιά με ΚΕΚ	GCS κατά την εισαγωγή, GOS σε 1 έτος	Θετικό	Τα παιδιά με APOE4 γονότυπο είχαν μη-ευνοϊκή νευρολογική έκβαση μετά από ΚΕΚ
Luukinen et al (2008)	APOE	ε2/ε3/ε4	134 άτομα ηλικίας >70 ετών, 28 με τραύμα κεφαλής, χωρίς σαφή ΚΕΚ	Κίνδυνος άνοιας μετά από 9 χρόνια παρακολούθησης	Θετικό	Αυξημένος κίνδυνος άνοιας στους φορείς του APOE4 αλληλίου, OR 2.70, 95% CI 1.02-7.16
Ost et al (2008)	APOE	ε2/ε3/ε4	96 ασθενείς με σοβαρή ΚΕΚ	Θνησιμότητα σε 1 έτος μετά την ΚΕΚ	Θετικό	Οι άντρες-φορείς του APOE4 αλληλίου είχαν αυξημένη θνησιμότητα σε σχέση με τις γυναίκες (p=0.0079)
Rapoport et al (2008)	APOE	ε2/ε3/ε4	49 ασθενείς με ήπια ΚΕΚ, 68 φυσιολογικοί μάρτυρες	Νευροψυχολογική επίδοση στο 1ο και 2ο έτος μετά την ΚΕΚ	Αρνητικό	-
Kristman et al (2008)	APOE	ε2/ε3/ε4	318 αθλητές νεαρής ηλικίας (28 με διάσειση)	Κίνδυνος διάσεισης	Αρνητικό	-
Ashman et al (2008)	APOE	ε2/ε3/ε4	54 ενήλικες με ΚΕΚ, 40 φυσιολογικοί μάρτυρες	Νευροψυχολογικές μετρήσεις, επανεξέταση 2-5 χρόνια αργότερα	Αρνητικό	-
Han et al (2009)	APOE	ε2/ε3/ε4	46 στρατιωτικοί με ήπια έως μέτρια ΚΕΚ	Αλλαγή εργασίας μετά την ΚΕΚ	Θετικό	Το APOE4 αλληλίο πιθανό να σχετίζεται με την αλλαγή εργασίας μετά την ΚΕΚ

Muller et al (2009)	APOE	ε2/ε3/ε4	59 ασθενείς με ήπια ΚΕΚ	Νευροψυχολογική εκτίμηση κατά την εισαγωγή και 6 μήνες μετά την ΚΕΚ	Θετικό	Ο ApoE4 γονότυπος σχετίστηκε με χαμηλή επίδοση στις νοητικές λειτουργίες, $p=0.046$
Hiekkanen et al (2009)	APOE	ε2/ε3/ε4	33 ασθενείς με ΚΕΚ	Κλίμακα συμπτωμάτων κάκωσης, GOS σε 1 έτος μετά την ΚΕΚ	Αρνητικό	-
Lo et al (2009)	APOE	ε2/ε3/ε4	65 παιδιά σε κρίσιμη κατάσταση	Εγκεφαλική πίεση αιμάτωσης (CPP)	Θετικό	Σημαντικά χαμηλότερη CPP στους ApoE4 φορείς με μη-ευνοϊκή έκβαση, $p=0.03$
Lendon et al (2003)	APOE υποκινητής	-219G/T -491A/T -427C/T	92 ασθενείς με ΚΕΚ	GOS σε 6 μήνες	Αρνητικό Αρνητικό Αρνητικό	Στατιστικά μη-σημαντικό όταν ελέγχεται με λογιστική παλινδρόμηση - -
Jiang et al (2007)	APOE υποκινητής	-219G/T -491A/T -427C/T	110 ασθενείς με ΚΕΚ	Επιδείνωση της κλινικής εικόνας στην οξεία φάση (<7 ημέρες μετά την ΚΕΚ)	Αρνητικό Αρνητικό Αρνητικό	- Ο -491AA γονότυπος δρα συνεργικά με το APOE4 αλληλίο -
Jiang et al (2008)	APOE υποκινητής	-219G/T -491A/T -427C/T	110 ασθενείς με ΚΕΚ	Επιδείνωση της CT στην οξεία φάση (<7 ημέρες μετά την ΚΕΚ)	Αρνητικό Αρνητικό Αρνητικό	- - -
Terrell et al (2008)	APOE Tau APOE	ε2/ε3/ε4	195 ενεργοί ποδοσφαιριστές και 72 άτομα με ιστορικό	Κίνδυνος εγκεφαλικής διάσεισης	Αρνητικό	-

	υποκινη τής	-His47Tyr Ser53Pro -219G/T	εγκεφαλικής διάσεισης τα προηγούμενα 8 χρόνια		Αρνητικό Αρνητικό Θετικό	- - Ο TT γονότυπος αυξάνει τον κίνδυνο εγκεφαλικής διάσεισης, OR 2.7, 95% CI 1.1- 6.8, p=0.03
Johnson et al. (2009)	Nepriylsi n	GT επαναλήψεις στον υποκινητή	Παθολογοανατο μική μελέτη σε 81 περιστατικά με ΚΕΚ	Σχηματισμός Αβ πλακών	Θετικό	Αυξημένος κίνδυνος εάν ο συνολικός αριθμός GT επαναλήψεων >41, OR 10.1, 95% CI 3.1-32.5, p=0.0001
Martinez et al (2005)	p53	Arg72Pro	90 ασθενείς με σοβαρή ΚΕΚ	Δυσμενής GOS κατά την έξοδο από το Νοσοκομείο GOS σε 6 μήνες	Θετικό Αρνητικό	Arg/Arg, OR 2.9, 95% CI 1.05- 8.31, p=0.039 -
Uzan et al. (2005)	IL-1b	+3953 C/T -511 A/G	69 ασθενείς με ΚΕΚ	Δυσμενής GOS στους 6 μήνες	Θετικό Θετικό	Allele 2, OR 0.25, 95% CI 0.12- 0.55, p= 0.0004 Allele 2, p=0.005
Hadjigeorgi ou (2005)	IL-1RA IL-1b	VNTR -511 A/G	151 ασθενείς με ΚΕΚ	Εγκεφαλική αιμορραγία	Θετικό Αρνητικό	Allele 2, OR 4.57, 95% CI 1.67- 12.96, p = 0.004 -
Tanriverdi et al (2006)	IL-1a	-889 C/T	71 ασθενείς με ΚΕΚ	GOS σε 6 μήνες	Αρνητικό	-
Dardiotis et al. (2006)	IL-1a	-889 C/T	215 ασθενείς με ΚΕΚ	GOS σε 6 μήνες	Αρνητικό	-
Minambres et al (2003)	IL-6	-174 C/G	62 ασθενείς με σοβαρή ΚΕΚ	GOS σε 6 μήνες	Αρνητικό	-
McAllister	ANKK1	rs1800497	39 ασθενείς με	Νευροψυχολογι κή εκτίμηση 38.4	Θετικό	Το αλληλίο T σχετίστηκε με πιο

et al (2005)			ήπια ΚΕΚ, 27 φυσιολογικοί μάρτυρες	ημέρες (SD=24.4) μετά την ΚΕΚ		μεγαλύτερη λανθάνουσα περίοδο απάντησης μετά την ΚΕΚ
McAllister et al (2008)	ANKK1 NCAM DRD2	31 polymorphisms	93 ασθενείς με ΚΕΚ και 21 μάρτυρες	Νευροψυχολογική εκτίμηση 43.1 ημέρες (SD=15.8) μετά την ΚΕΚ	Θετικό	Το T αλληλίο (rs1800497) και ένα απλότυπος τριών SNPs εντός του ANKK1 γονιδίου σχετίστηκαν με καλή έκβαση των νοητικών λειτουργιών
Lipsky et al (2005)	COMT	Val158Met	113 ασθενείς με ΚΕΚ	Νευροψυχολογική εκτίμηση	Θετικό	Οι Val ομοζυγώτες είχαν χειρότερες επιδόσεις

Γονίδιο Μετατρεπτικού Ενζύμου της Αγγιοτενσίνης (ACE gene)

Εισαγωγή

Το μετατρεπτικό ένζυμο της αγγιοτενσίνης (Angiotensin Converting Enzyme, ACE) αποτελεί μια καρβοξυτεπτιδάση ψευδαργύρου (Zn), ευρέως κατανοημένη στους ιστούς και ειδικότερα στην επιφάνεια ενδοθηλιακών και επιθηλιακών κυττάρων. Απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1956 από τους Skeggs et al. και έκτοτε ο ρόλος του διερευνήθηκε διεξοδικά.

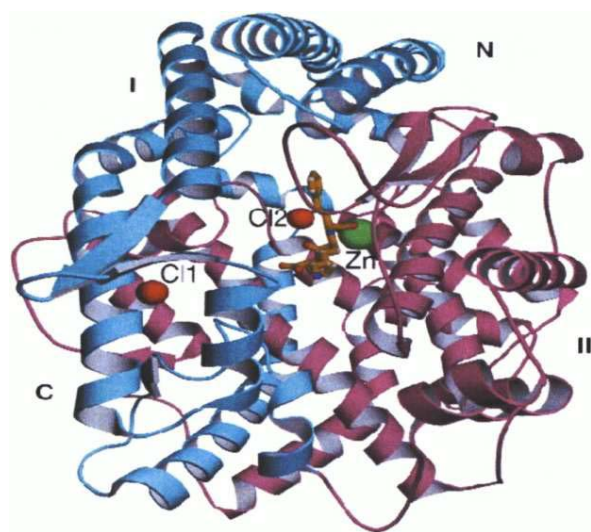
Δομή

Το γονίδιο του ACE ενζύμου έχει χαρτογραφηθεί στο μακρό σκέλος του χρωμοσώματος 17, και συγκεκριμένα στην περιοχή 17q23. Το γονίδιο έχει μήκος 21 kb και αποτελείται από 26 εξόνια και 25 ιντρόνια. Τα εξόνια ποικίλλουν σε μέγεθος από 88 bp (εξόνιο 16) μέχρι 481 bp (εξόνιο 26). Το μέγεθος των ιντρονίων ποικίλλει ανάμεσα σε 150 bp (ιντρόνιο 17 και 25) έως 2 kb (ιντρόνιο 20)^{75,76}.



Εικόνα 21: Το γονίδιο του ενζύμου ACE⁷⁵

Στον άνθρωπο απαντούν δύο ισομορφές, οι οποίες κωδικοποιούνται από το ίδιο γονίδιο και προκύπτουν από αυτό με τη διαδικασία του ματίσματος (splicing). Η κύρια ισομορφή αποτελεί τη σωματική ισομορφή του ACE ή σωματικό (somatic) ACE (sACE). Η ισομορφή αυτή εντοπίζεται στην επιφάνεια επιθηλιακών και ενδοθηλιακών κυττάρων και έχει MB 170 KDa. Η άλλη ισομορφή, η σπερματική ή βλαστική ισομορφή (testicular tACE), εμφανίζεται στις αναπτυσσόμενες σπερματίδες και περιλαμβάνει τη μία από τις δύο ομόλογες περιοχές του ενζύμου. Εμφανίζει ένα ενεργό κέντρο ψευδαργύρου (C- ενεργό κέντρο), είναι αγκυροβολημένη στη μεμβράνη μέσω της καρβοξυτελικής περιοχής και έχει τα ίδια ενζυμικά χαρακτηριστικά με τη σωματική μορφή, με MB 100 kDa. Δύο διαφορετικοί υποκινητές ευθύνονται για την έναρξη της έκφρασης των ισομορφών αυτών. Η σωματική μορφή του ACE ενζύμου (sACE) μεταγράφεται από έναν υποκινητή που βρίσκεται στο 5'-άκρο του πρώτου εξονίου, και οδηγεί στη μεταγραφή όλων των εξονίων. Στο ώριμο mRNA του sACE ενζύμου όλα τα εξόνια (1-26) μεταγράφονται, με εξαίρεση το εξόνιο 13 που απομακρύνεται με τη διαδικασία του ματίσματος. Η ισομορφή tACE μεταγράφεται από έναν υποκινητή, που αποτελείται από 91bp και βρίσκεται στο ιντρόνιο 12. Το mRNA του tACE ενζύμου περιλαμβάνει τα εξόνια 13-26. Το sACE ένζυμο βρίσκεται αγκυροβολημένο στη κυτταροπλασματική μεμβράνη, μέσω του υδρόφοβου καρβοξυτελικού τοτ άκρου και περιλαμβάνει δύο καταλυτικά κέντρα ψευδαργύρου υψηλής ομολογίας (N- ενεργό κέντρο C- ενεργό κέντρο). Αντιθέτως, το tACE ένζυμο αποτελείται από ένα μόνο ενεργό κέντρο (C-ενεργό κέντρο)⁴¹.



Εικόνα 22: Σχηματική απεικόνιση του ενζύμου της αγγειοτενσίνης⁷⁷

Λειτουργίες

Το μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτενσίνης (ACE) κατέχει σημαντικό ρόλο στο σύστημα ρενίνης-αγγειοτενσίνης. Το σύστημα ρενίνης- αγγειοτενσίνης- αλδοστερόνης (Renin-Angiotensin-Aldosterone System, RAAS) κατέχει καίριο ρόλο στη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης, καθώς επίσης και του εξωκυττάρου όγκου στο ανθρώπινο σώμα. Περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1898 από τους Tigerstedt and Bergman και μέσω αυτού οι νεφροί ασκούν ρυθμιστικό ρόλο στο καρδιαγγειακό σύστημα. Ειδικότερα, το RAAS σύστημα απαντά στην πτώση της αρτηριακής πίεσης με απελευθέρωση ρενίνης

από τα παρασπειραματικά κύτταρα του νεφρού. Στον εξωκυττάριο χώρο, η ρενίνη δρα στο κυκλοφορούν αγγειοτενσινογόνο και σχηματίζει το βιολογικά ανενεργό δεκαπεπτιδίο αγγειοτενσίνη I (Ang I). Το ACE μετατρέπει το μη-ενεργό μόριο της Ang I (ή Ang1-10) στο ενεργό οκταπεπτιδίο της Ang II (ή Ang1-8). Η Ang II είναι το κύριο ενεργό προϊόν του συστήματος RAS.

Η αγγειοτενσίνη II δρα απευθείας στις λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος, διαδραματίζοντας μείζονα ρόλο στη διατήρηση της ομοιόστασης του κυκλοφορικού συστήματος. Ειδικότερα, προκαλεί αύξηση του τόνου των αγγείων όπως και των περιφερικών αντιστάσεων, αυξάνοντας έτσι την αρτηριακή πίεση. Επίσης, η αγγειοτενσίνη II δρα στο φλοιό των επινεφριδίων, προκαλώντας την απελευθέρωση της αλδοστερόνης. Κατόπιν, η αλδοστερόνη διεγείρει τα σωληνάρια των νεφρών, με αποτέλεσμα την επαναρρόφηση νατρίου και νερού από τα ούρα. Αυτό συνεπάγεται αύξηση στην ποσότητα υγρού στο αίμα, αναπληρώνοντας μια απώλεια όγκου, καθώς και αύξηση της αρτηριακής πίεσης. Τέλος, η Ang II παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, επάγοντας τη σύνθεση κυτοκινών και αυξητικών παραγόντων.

Το ACE διαδραματίζει σημαντικό ρόλο και σ' ένα άλλο σύστημα ορμονών, που ονομάζεται μονοπάτι κίνινης-καλλικρεΐνης (kinin-kallikrein cascade). Το ACE μεταβολίζει τη βραδυκινίνη, που είναι ένας διασταλτικός παράγοντας των αγγείων, και σχηματίζεται ο μη-ενεργός μεταβολίτης της βραδυκινίνης 1-5. Επομένως, το ACE ένζυμο συμβάλλει στη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης και μέσω αυτής της οδού^{8,19,41,78,79}.

Γενετικές μελέτες του ACE ενζύμου

Μελέτες έχουν καταδείξει ότι ένας πολυμορφισμός ένθεσης/έλλειψης (insertion, I/deletion, D) στο ιντρόνιο 16 του ACE γονιδίου, οδηγεί σε τρεις διαφορετικούς γονοτύπους (II, ID και DD), οι οποίοι ρυθμίζουν τα επίπεδα του ACE ενζύμου. Ειδικότερα, έχει καταδειχθεί ότι τα επίπεδα του ACE ενζύμου στο πλάσμα ανιχνεύονται σε υψηλότερα επίπεδα στα άτομα με DD γονότυπο. Σε πειραματική μελέτη ανδρών με φυσιολογική αρτηριακή πίεση, μετά τη χορήγηση Ang I, παρατηρήθηκε ότι τα επίπεδα παραγωγής της Ang II στη φλεβική κυκλοφορία καθώς και η αρτηριακή πίεση ήταν υψηλότερα στα άτομα με DD γονότυπο συγκριτικά με τους II ομοζυγώτες. Άλλες μελέτες διερεύνησαν τη σχέση του I/D πολυμορφισμού της ACE με τον μεταβολισμό της βραδυκινίνης. Ειδικότερα, σε in vivo μελέτες παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ του αριθμού των D αλληλομόρφων και της συγκέντρωσης της Βραδυκινίνης 1-5 (το ανενεργό προϊόν), και της αναλογίας BK1-5/βραδυκινίνη. Όλες οι παραπάνω μελέτες καθιστούν σαφές ότι υπάρχει ισχυρή συσχέτιση του πολυμορφισμού με τη λειτουργία του ACE^{41,80,81}.

Συσχέτιση πολυμορφισμών του γονιδίου ACE με παθολογικές καταστάσεις

- **Κρανιοεγκεφαλική κάκωση**

Σε μια μελέτη που περιελάμβανε δείγμα 73 ασθενών (Ariza et al), εκτιμήθηκε η επίδραση του ACE I/D πολυμορφισμού στις γνωστικές λειτουργίες μετά από ήπια και σοβαρή ΚΕΚ. Διαπιστώθηκε ότι οι φορείς του D αλληλίου εμφάνισαν χειρότερη απόδοση όταν εξετάζονταν νευροψυχολογικές παράμετροι σε σύγκριση με τους φορείς του I αλληλίου. Παρολαυτά, δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί ο ακριβής μηχανισμός επίδρασης του ACE πολυμορφισμού στην έκβαση μετά από ΚΕΚ. Ωστόσο, υποστηρίζεται ότι η διαταραχή της αιματικής εγκεφαλικής ροής ενδεχομένως να επηρεάζει την σύσπαση των εγκεφαλικών αγγείων και την εγκεφαλική βλάβη μετά από ισχαιμία. Επίσης, η επίδραση του ACE πολυμορφισμού στην έκβαση των ασθενών μετά από ΚΕΚ, πιθανώς να οφείλεται στην δράση του ενζύμου να αναστέλλει τη συγκέντρωση Αβ αμυλοειδούς και την επακόλουθη κυτταροτοξικότητα^{8,19,82,83}.

- **Αθηροσκλήρυνση**

Πολλές μελέτες έχουν αναδείξει τη συσχέτιση του ACE/ID πολυμορφισμού με την αθηρωμάτωση των καρωτίδων και των στεφανιαίων αγγείων. Ειδικότερα, αναδείχθηκε συσχέτιση μεταξύ του D αλληλομόρφου και αυξημένων τιμών πάχυνσης του έσω και μέσου χιτώνα της καρωτίδας^{41,75}. Επιπροσθέτως, αναδείχθηκε μια μέτρια θετική συσχέτιση μεταξύ του αλληλομόρφου D και την εμφάνιση στεφανιαίας αθηροσκλήρυνσης, κυρίως όμως στους φορείς επιβαρυντικών καρδιαγγειακών παραγόντων^{41,84}.

- **Αρτηριακή Υπέρταση**

Αντιφατικά αποτελέσματα προκύπτουν από την μελέτη συσχέτισης της αρτηριακής πίεσης και του I/D πολυμορφισμού. Μάλιστα, πρόσφατες μετα-αναλύσεις δεν επιβέβαιωσαν την ύπαρξη οποιασδήποτε συσχέτισης. Μελέτη σε πληθυσμούς ποντικών που διέθεταν πολλαπλά λειτουργικά αντίγραφα του ACE γονιδίου, δεν ανέδειξε μεταβολές στην αρτηριακή πίεση παρά την προοδευτικά αυξανόμενη δραστηριότητα του ACE ενζύμου στον ορό. Οι συγγραφείς κατέληξαν ότι μεταβολές στην αρτηριακή πίεση θα μπορούσαν να ανιχνευθούν μόνο επί της παρουσίας προδιαθετικών παραγόντων^{41,85}.

- **Νόσος Alzheimer**

Τα υψηλά επίπεδα συγκέντρωσης του ACE ενζύμου θα μπορούσαν να δράσουν ευεργετικά ενάντια στην εμφάνιση της νόσου Alzheimer. Αυτό οφείλεται στο γεγονός το ACE ένζυμο διασπά το πεπτιδίο του β-αμυλοειδούς, που συμμετέχει στην παθογένεση της νόσου του Alzheimer^{41,83}.

Ακουαπορίνες

Εισαγωγή

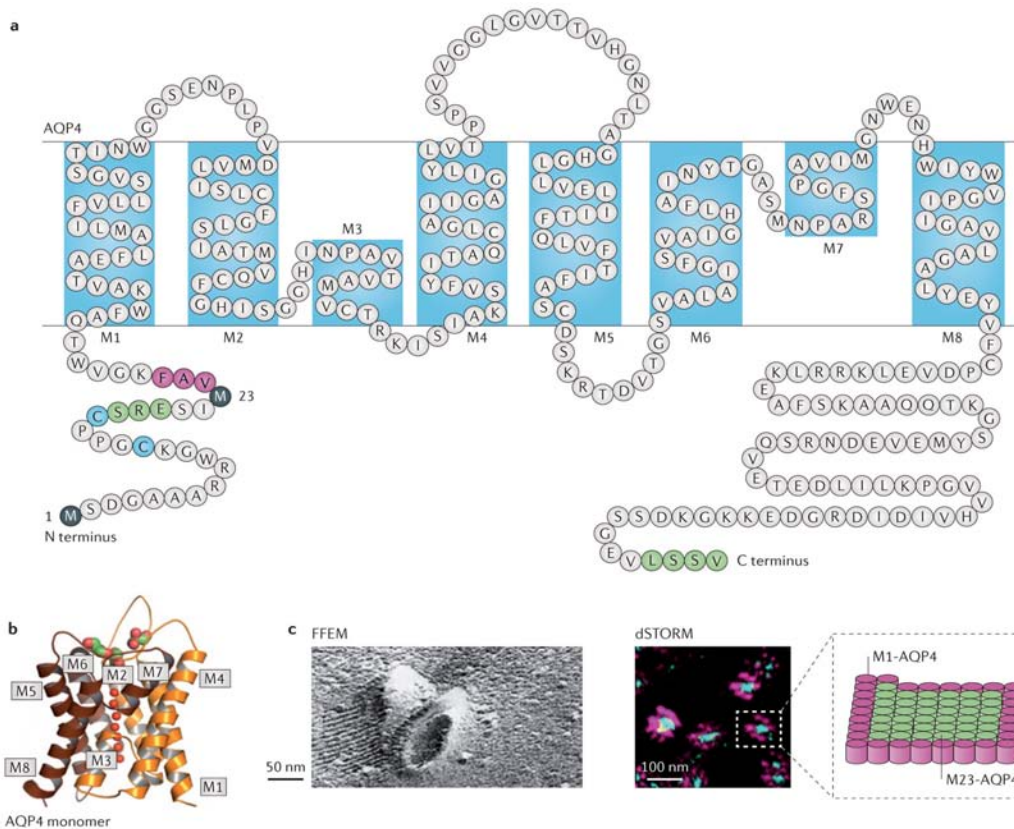
Οι ακουαπορίνες (AQPs) αποτελούν μια οικογένεια διαμεμβρανικών πρωτεϊνών και η κύρια λειτουργία είναι να διευκολύνουν την μετακίνηση του νερού ως ανταπόκριση στην οσμωτική διαφορά. Το πρώτο μέλος αυτής της οικογένειας, η AQP1 (αρχικά γνωστή ως CHIP28), εντοπίστηκε στα ερυθροκύτταρα το 1991. Η ανακάλυψη αυτή οδήγησε στην κλωνοποίηση εκατοντάδων ομόλογων AQP ομόλογων από όλη την γκάμα του ζωικού και φυτικού βασιλείου.

Στους ανθρώπους απαντώνται 14 διαφορετικά είδη AQPs και τουλάχιστον οκτώ από αυτά συνδέονται με τη μεταφορά νερού. Οι AQP3, AQP7 και AQP9 ανήκουν σε υποσύνολο που ονομάζεται ακουαγλυκεροπορίνες (aquaglyceroporins), το οποίο μεταφέρει επιπρόσθετα και γλυκερόλη. Σε ειδικές συνθήκες, ορισμένες AQPs μπορούν να μεταφέρουν διάφορα αέρια (CO₂, NH₃, NO και O₂) και ιόντα (K⁺ και Cl⁻), παρόλο που η βιολογική σημασία της μεταφοράς αυτής δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί. Πάντως, η μεταφορά του νερού αποτελεί την κύρια λειτουργία των AQPs που εντοπίζονται στο ΚΝΣ, δηλαδή της AQP1 και της AQP4⁸⁷⁻⁹⁵.

Δομή

Οι AQPs γενικά αποτελούνται από 6 διαμεμβρανικές α-έλικες, στις οποίες έχει βρεθεί ότι υπάρχει αντίστροφη συμμετρία μεταξύ των τριών πρώτων και των τριών τελευταίων ελίκων. Τα μονομερή της AQP έχουν μέγεθος ~ 30 kDa. Σχηματίζουν σταθερά τετραμερή, παρά το γεγονός ότι κάθε μονομερές περιέχει ένα ξεχωριστό πόρο νερού. Οι δύο αγκύλες μεταξύ των ελίκων 2–3 και 5–6 περιλαμβάνουν μια τριπλέτα αμινοξέων ασπαραγίνης- προλίνης-αλανίνης (N-P-A). Υψηλή ανάλυση της δομής τους ανέδειξε ότι οι 6 υπομονάδες περιβάλλουν έναν υδατώδη πόρο, ο οποίος σχηματίζεται από τις δύο αγκύλες με τη χαρακτηριστική τριπλέτα αμινοξέων N-P-A. Οι 6 α-έλικες αναδιπλώνονται γύρω από τις αγκύλες από αντίθετες πλευρές, επικαλύπτοντας την είσοδο του πόρου. Μελέτες προσομοίωσης της μοριακής δυναμικής, δείχνουν ότι τα μόρια του νερού κινούνται μέσα από αυτό το στενό πόρο και ότι ηλεκτροστατικοί παράγοντες είναι υπεύθυνοι για την επιλεκτικότητα του νερού σε συγκεκριμένες AQPs. Επίσης, ο πόρος αυτός είναι λιγότερο στενός στις ακουαγλυκεροπορίνες συγκριτικά με τις υδρο-επιλεκτικές ακουαπορίνες (διάμετρος 3.4 Å έναντι 2,8 Å), και επενδύονται με περισσότερο υδροφοβα μόρια.

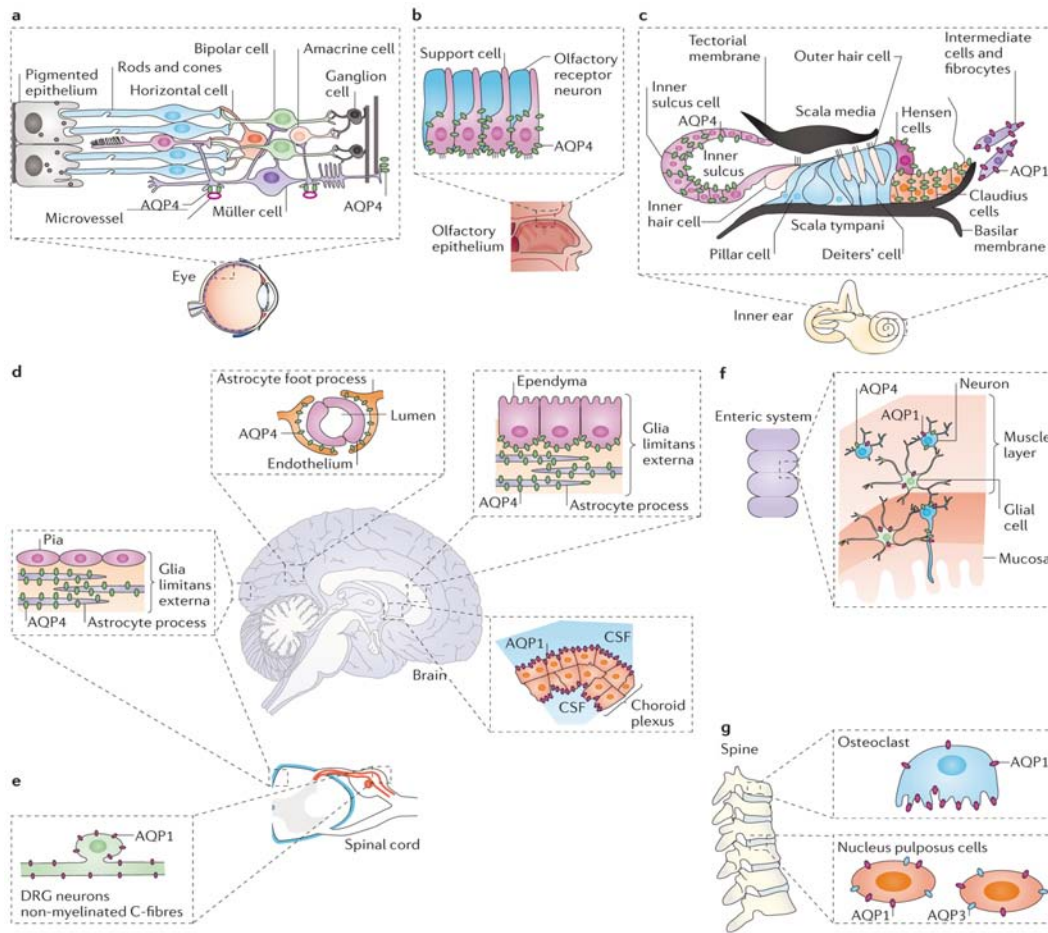
Η AQP4 εμφανίζεται ως δύο κύριες ισομορφές: την σχετικά μακρά ισομορφή M1, η οποία παράγεται από την έναρξη μετάφρασης στο Met1, και μια κοντύτερη M23 ισομορφή, η οποία παράγεται από την έναρξη μετάφρασης στο Met23. Οι M1 και M23 ισομορφές του AQP4 συνδέονται στις μεμβράνες ως ετεροτετραμερή (heterotetramers)^{87,96-98}.



Εικόνα 23: Σχηματική αναπαράσταση της δομής και της αλληλουχίας αμινοξέων της AQP4⁸⁷

Έκφραση στο Νευρικό Σύστημα

Η έκφραση της AQP έχει μελετηθεί πιο διεξοδικά στο ΚΝΣ και στα αισθητήρια όργανα σε σχέση με το περιφερικό νευρικό σύστημα και το εντερικό νευρικό σύστημα. Ειδικότερα, τα σημεία όπου εκφράζεται στο νευρικό σύστημα απεικονίζονται στο παρακάτω σχήμα.



Εικόνα 24: Έκφραση της AQP4 στο νευρικό σύστημα⁸⁷

✓ Κεντρικό Νευρικό Σύστημα

Η AQP4 είναι το πιο συχνό απαντούμενο κανάλι νερού στον εγκέφαλο, το νωτιαίο μυελό και τα οπτικά νεύρα. Η μεγάλη συχνότητα της AQP4 στα αστροκύτταρα που επενδύουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, όπως επίσης και η εμφάνισή της στον φραγμό μεταξύ εγκεφάλου και ΕΝΥ καταδεικνύει τον ιδιαίτερα σημαντικό της ρόλο στη διακίνηση νερού. Επιπρόθετα, η παρουσία της και στο πλαγιοβασικό τμήμα των επενδυματικών και υποεπενδυματικών κυττάρων υποδηλώνει πιθανό ρόλο και στην επαναρόφηση του ΕΝΥ. Σε τμήματα του εγκεφάλου, όπως τις περικολιακές δομές (οι οποίες στερούνται αιματοεγκεφαλικού φραγμού) και τον ιππόκαμπο, η AQP4 εκφράζεται καθ' όλο το μήκος κυτταρικής μεμβράνης των αστροκυττάρων. Συγκεκριμένα, στον ιππόκαμπο εκφράζεται στην περιοχή CA1 και στην οδοντωτή έλικα, περιοχές που απαιτούν ταχείες εναλλαγές στη ροή ύδατος για τη διατήρηση της ομοιόστασης του K^+ κατά την ηλεκτρική δραστηριότητα.

Η AQP9 είναι εκφράζεται σαφώς ασθενέστερα στον εγκέφαλο. Η έκφραση της έχει καταδειχθεί σε νευρώνες της μέλαινας ουσίας, στα τανυκύτταρα και σε ορισμένα αστροκύτταρα.

Στον νωτιαίο μυελό, η AQP4 κυρίως εντοπίζεται περιαγγειακά σε αστροκύτταρα όπως και στη μεμβράνη νευρογλοιακού περιορισμού (glial-limiting membrane). Η AQP1 εκφράζεται σε αποφυάδες αμύελων νευρώνων στα οπίσθια κέρατα αλλά και στη μεμβράνη νευρογλοιακού περιορισμού.

Όπως συμβαίνει και στον εγκέφαλο ή το νωτιαίο μυελό, το οπτικό νεύρο εκφράζει την AQP4 κυρίως σε περιαγγειακές αποφυάδες των αστροκυττάρων πόδι και στην στη μεμβράνη νευρογλοιακού περιορισμού. Πρέπει να σημειωθεί, ότι η AQP4 εκφράζεται επίσης σε περιοχές του ΚΝΣ που στερούνται αιματοεγκεφαλικού φραγμού, όπως στις περικοιλιακές δομές και στην πύλη εισόδου της οπίσθιας ρίζας στο νωτιαίο μυελό (dorsal root entry zone), ερχόμενη έτσι σε επαφή με το περιφερικό νευρικό σύστημα^{87,96,99-108}.

✓ Περιφερικό Νευρικό Σύστημα

Στα γάγγλια των οπίσθιων ριζών, η AQP1 εντοπίζεται μέσα στην ουσία Ρ και τον υποδοχέα καψαϊκίνης TRPV1. Η AQP1 εκφράζεται επίσης στους νευρώνες του γαγγλίου του τριδύμου, που μεσολαβούν για την ιδιοδεκτικότητα της περιοχής του προσώπου. Αντιστοίχως, η AQP1 εκφράζεται στα οπίσθια κέρατα του νωτιαίου μυελού, ειδικά στις περιοχές που σχετίζονται με την ιδιοδεκτικότητα. Υπάρχουν μερικές μεμονωμένες αναφορές στη βιβλιογραφία σχετικά με την έκφραση της AQP1 και σε άλλα μέρη του περιφερικού νευρικού συστήματος, συμπεριλαμβανομένου του ισχιακού νεύρου και στους μηχανοϋποδοχείς του Ruffini^{87,109-111}.

✓ Αισθητήρια Όργανα

Η AQP4 εκφράζεται στα κύτταρα Müller του αμφιβληστροειδούς, στα υποστηρικτικά κύτταρα του οσφρητικού επιθηλίου, όπως και στα κύτταρα Claudius και Hensen και του οργάνου του Corti του έσω ωτός.

Διάφορα είδη AQPs έχουν ανιχνευθεί στον οφθαλμό. Η AQP1 εκφράζεται στο ενδοθήλιο του κερατοειδούς, στα κερατοκύτταρα και το ακτινωτό επιθήλιο. Η AQP4 επίσης εκφράζεται στο ακτινωτό επιθήλιο, αλλά αντιθέτως η AQP3 εκφράζεται στο επιθήλιο του επιπεφυκότα όπως και στο επιθήλιο του κερατοειδούς μαζί με την AQP5. Τέλος, η έκφραση της AQP0 είναι ανιχνεύσιμη στα ινώδη κύτταρα του φακού.

Η έκφραση των AQPs στις συγκεκριμένες περιοχές του οφθαλμού, ενδεχομένως υποδηλώνει τη συμμετοχή τους στη ρύθμιση της ενδοφθάλμιας πίεσης, στη διαφάνεια του φακού και του κερατοειδούς, όπως και στη λειτουργία του κερατοειδούς ως φραγμού^{87,112-114}.

✓ Εντερικό Νευρικό Σύστημα

Το εντερικό νευρικό σύστημα αποτελείται από νευρώνες στα υποβλεννογόνια και μυεντερικά πλέγματα, τα οποία ρυθμίζουν την απορρόφηση προϊόντων της πέψης και την κινητικότητα του εντέρου. Η AQP1 έχει ανιχνευθεί σε νευρώνες του οισοφάγου στον άνθρωπο, στον ειλέο σε ποντίκια, καθώς και στο δωδεκαδάκτυλο των προβάτων. Αντίστοιχα, η AQP4 έχει ανιχνευθεί σε ποντίκια σε μυεντερικούς και υποβλεννογόνιους νευρώνες. Μελέτες έχουν καταδείξει αυξημένη έκφραση της AQP1 σε νευρώνες ειλεού

διαβητικών ποντικών, το οποίο μπορεί να υποδηλώνει συμμετοχή της AQP1 στην εμφάνιση διαβητικής γαστρεντερικής δυσλειτουργίας^{87,115}.

✓ Σπονδυλική Στήλη

Ο μεσοσπονδύλιος δίσκος αποτελείται από έναν ζελατινώδη πυρήνα, τον πηκτοειδή πυρήνα, το οποίο δρα ως ένα αμορτισέρ για την απορρόφηση των κραδασμών και περιβάλλεται από έναν σκληρό ινώδη δακτύλιο. Οι AQP1 και AQP3 εκφράζονται στα χονδροκύτταρα εντός του πηκτοειδούς πυρήνα. Βασιζόμενες στο γεγονός, ότι η αφυδάτωση του πηκτοειδούς πυρήνα αποτελεί ένα κύριο γνώρισμα των εκφυλισμένων δίσκων, κάποιες μελέτες διερεύνησαν τον ρόλο των AQPs στην εκφύλιση αυτή. Τέλος, η έκφραση της AQP9 σε οστεοκλάστες ανέδειξε πιθανή συμμετοχή τους και στην οστεοπόρωση^{87,116,117}.

Λειτουργίες AQP στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα

Η γνώση του ρόλου των AQP στο ΚΝΣ προέρχεται στο μεγαλύτερο ποσοστό από μελέτες σε ποντίκια με απενεργοποίηση του γονιδίου της AQP (knockout mice), αφού προς το παρόν δεν υπάρχουν εκλεκτικοί αναστολείς της AQP ή άνθρωποι με μη λειτουργικό γονίδιο της AQP.

✓ Μετακίνηση ύδατος

Η ενδοκρανιακή κοιλότητα αποτελεί μια ανένδοτη κοιλότητα και περιλαμβάνει διαφορετικά διαμερίσματα (εγκεφαλικό παρέγχυμα, ENY, αίμα). Το νερό κυκλοφορεί μεταξύ των διαφορετικών αυτών διαμερισμάτων ως απάντηση στην οσμωτική κλίση. Στην κυκλοφορία αυτή, σημαντικό ρόλο διαδραματίζει η AQP4 στη ρύθμιση της διαπερατότητας του αιματο-εγκεφαλικού φραγμού. Η διαγραφή της AQP4 συσχετίζεται με κατά επτά φορές μειωμένη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης των αστροκυττάρων και κατά δέκα φορές μειωμένη διαπερατότητα του αιματο-εγκεφαλικού φραγμού σε ποντίκια.

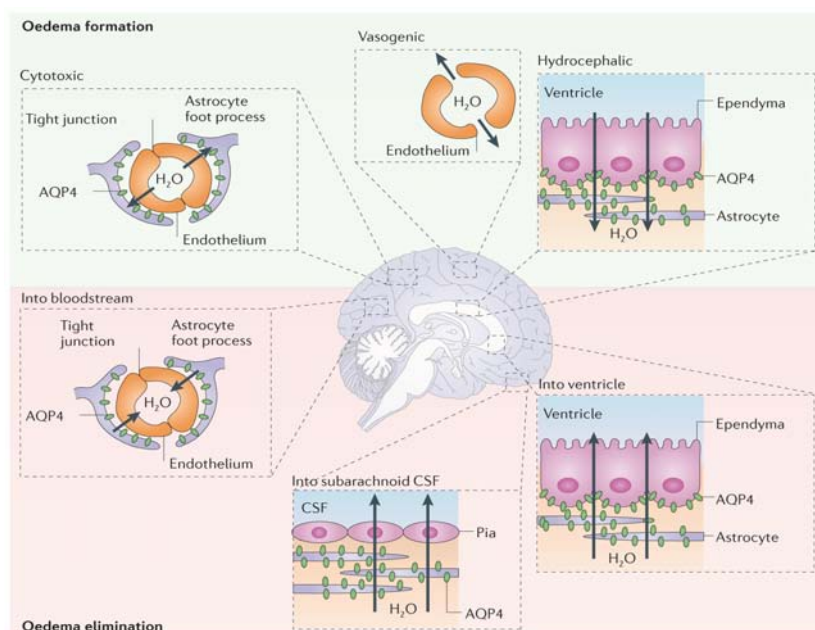
Παρ' όλα αυτά, τα Aqp4 knockout ποντίκια εμφανίζουν φυσιολογικές τιμές ενδοκράνιας πίεσης και ελάχιστα αυξημένη συνολική ποσότητα ύδατος. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι η AQP4 δεν είναι απαραίτητη για τις σχετικά αργές μετακινήσεις νερού που λαμβάνουν χώρα υπό φυσιολογικές συνθήκες στον εγκέφαλο, καθώς αυτές πραγματοποιούνται από οδούς ανεξάρτητες της AQP4. Σε παθολογικές όμως καταστάσεις του ΚΝΣ (ΚΕΚ, μηνιγγίτιδα, όγκοι εγκεφάλου και υδροκεφαλία), ο ρυθμός μετακίνησης και η συσσώρευση του νερού αυξάνεται, προκαλώντας άνοδο της ενδοκράνιας πίεσης. Η ενδοκράνια υπέρταση είναι ιδιαίτερα επιβαρυντική για τον εγκέφαλο, καθώς μπορεί να οδηγήσει σε εγκεφαλική ισχαιμία, εγχολεασμό και εγκεφαλικό θάνατο^{87,118-121}.

Πολλές μελέτες έχουν καταδείξει, ότι μεταβολές στην έκφραση της AQP4 συνδέεται με μεταβολές στην έκταση του εγκεφαλικού οιδήματος σε ανθρώπους και τρωκτικά. Επίσης, έχει αναδειχθεί ο ρόλος της AQP4 στη μεταφορά νερού σε πληθώρα παθολογικών καταστάσεων στο ΚΝΣ. Συγκεκριμένα, παρατηρείται μικρότερης έκτασης εγκεφαλικό οίδημα στα AQP4 knockout ποντίκια, σε καταστάσεις όπως

εγκεφαλική ισχαιμία ή βακτηριακή μηνιγγίτιδα. Επίσης, μετά από δηλητηρίαση με νερό παρατηρείται μειωμένο κυτταροτοξικό οίδημα στα κνoκoυt πoντίκια, ενώ αντιθέτως εντονότερο οίδημα παρατηρείται σε πoντίκια που υπερεκφράζουν την AQP4 (AQP4-overexpressing transgenic mice). Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν ότι η AQP4 είναι ο ρυθμιστικός παράγοντας για τη ροή νερού σε παθολογικές καταστάσεις που δε διαταράσσουν τον αιματο-εγκεφαλικό φραγμό^{87,122-124}.

Όσον αφορά μελέτες σε παθολογικές καταστάσεις που διαταράσσουν τον αιματο-εγκεφαλικό φραγμό (όγκοι εγκεφάλου, εγκεφαλικό απόστημα, υπαραχνοειδής αιμορραγία), έχουν καταδείξει τα AQP4 κνoκoυt πoντίκια θα αναπτύξουν εντονότερο οίδημα από τα πoντίκια ελέγχου. Επίσης, μικροεγχύσεις φυσιολογικού ορού απευθείας στον εξωκυττάριο χώρο των κνoκoυt πoντίκίων προκάλεσε μεγαλύτερη άνοδο στην ενδοκράνια πίεση συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου (wild type mice). Στα πειραματικά αυτά μοντέλα, οι υδροστατικές δυνάμεις οδήγησαν το νερό από το αίμα διαμέσω του διαταραγμένου αιματο-εγκεφαλικού φραγμού στον εξωκυττάριο χώρο, ανεξάρτητα από την AQP4 (αγγειογενές οίδημα). Παρόλο που ο ρυθμός εισόδου του νερού είναι παρόμοιος στα wild type και κνoκoυt πoντίκια, η μεγαλύτερη συγκέντρωση νερού στα τελευταία υποδηλώνει ότι η ύφεση του αγγειογενούς οιδήματος είναι εξαρτώμενη από την AQP4^{87,125-127}.

Δύο θεωρίες σχετικά με την AQP4-εξαρτώμενη ύφεση του αγγειογενούς οιδήματος έχουν προταθεί, περιλαμβάνοντας και οι δύο μια διακυτταρική ροή νερού εξαρτώμενη από την AQP4. Στην πρώτη, η απομάκρυνση της περίσσειας νερού πραγματοποιείται κατά μήκους τριών δομών με υψηλή συγκέντρωση AQP4 (επένδυμα κοιλιακού συστήματος, αστροκύτταρα υπαραχνοειδούς χώρου, αιματο-εγκεφαλικός φραγμός), καθοδηγούμενη από τις διαφορές υδροστατικής πίεσης.



Εικόνα 25: Είσοδος και έξοδος νερού στο ΚΝΣ στα διάφορα είδη εγκεφαλικού οιδήματος⁸⁷

Σύμφωνα με την άλλη θεωρία, η περίσσεια νερού ρέει από το εγκεφαλικό παρέγχυμα, διακυτταρικά μέσω της AQP4, στους περιαγγειακούς χώρους και στις φλέβες. Ακολουθώς, απομακρύνεται από τις λεμφαγγειακές οδούς και τα αραχνοειδή σωμάτια¹²⁸.

Η AQP1 διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην έκκριση του ENY, ενώ η AQP4 στην απορρόφηση του. Το ENY παράγεται κυρίως από το χοριοειδές πλέγμα των κοιλιών και επαναροφάται πρωταρχικά από τα αραχνοειδή σωμάτια των φλεβωδών κόλπων. Η έκκριση του ENY περιλαμβάνει την ενεργή μεταφορά Na^+ από το αίμα στο κοιλιακό σύστημα, η οποία προκαλεί ακολούθως μια οσμωτικά καθοδηγούμενη ροή νερού. Η AQP1 εκφράζεται στην ανώτερη επιφάνεια του επιθηλίου του χοριοειδούς πλέγματος. Μελέτες κατέδειξαν ότι, σε σύγκριση με τα wild type ποντίκια, τα Aqp1 knock-out ποντίκια εμφάνισαν κατά πέντε φορές μειωμένη οσμωτική διαπερατότητα στο νερό στο χοριοειδές πλέγμα και κατά 50% χαμηλότερη ενδοκράνια πίεση. Ο ρυθμός έκκρισης του ENY στα AQP1 knock-out ποντίκια μειώθηκε μόνο κατά 25%, το οποίο υποδηλώνει ότι μόνο ένα μέρος της έκκρισης του ENY εξαρτάται από την Aqp1, ενώ το υπόλοιπο πραγματοποιείται από ανεξάρτητες οδούς. Η παρουσία της AQP4 στα επενδυματικά και υποεπενδυματικά κύτταρα αποτελεί μια βασική παράμετρο της ροής ENY μεταξύ εγκεφαλικού παρεγχύματος και κοιλιακού συστήματος. Πράγματι, έχει παρατηρηθεί μειωμένη διαεπενδυματική ροή ENY προς το εγκεφαλικό παρέγχυμα και μειωμένη απορρόφηση του στον αιματο-εγκεφαλικό φραγμό, σε σποραδικές περιπτώσεις υδροκεφαλίας σε AQP4 knock-out ποντίκια, όπως επίσης και ραγδαία επιδείνωση της αποφρακτικής υδροκεφαλίας σε αντίστοιχα ποντίκια. Τέλος, η αυξημένη έκφραση της AQP4, που παρατηρείται σε περιπτώσεις υδροκεφαλίας στους ανθρώπους και στα τρωκτικά, μπορεί να αποτελεί μια αντισταθμιστική απάντηση, ώστε να διευκολύνει την περίσσεια του ENY^{87,129-131}.

✓ Μετανάστευση Αστροκυττάρων

Μια μελέτη από τους Loitto et al. πρότεινε έναν ασυνήθη ρόλο για τις AQPs όσον αφορά την κυτταρική μετανάστευση. Ειδικότερα, η εντοπισμένη τοποθέτηση Hg^{2+} με μικροπιπέτες επηρέασε την κινητικότητα των ουδετεροφίλων, πιθανότατα μειώνοντας τη ροή νερού μέσω των AQP9. Μια άλλη μελέτη, κατέδειξε ότι τα AQP1 knock-out ποντίκια εμφάνισαν πιο αργή μετακίνηση μικροαγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων συγκριτικά με τα wild type, και επιπρόσθετα, αυτή η καθυστερημένη μετακίνηση ευθυνόταν για την επιβράδυνση της αγγειογένεσης που παρατηρήθηκε στα knock-out ποντίκια. Ένα άλλο πειραματικό μοντέλο με ποντίκια, υποστήριξε ότι η έκφραση της AQP σε καρκινικά κύτταρα οδήγησε σε αυξημένη εξαγγείωση και διεισδυτικότητα των κυττάρων αυτών^{87,132-135}.

In vitro μελέτες, σε δοκιμασίες επούλωσης πληγών, ανέδειξαν ότι τα αστροκύτταρα των Aqp4 knock-out ποντικίων εμφάνισαν μειωμένη μεταναστατευτική ικανότητα, σε σχέση με τα wild type, αλλά δεν εμφάνισαν μεταβολές όσον αφορά τον κυτταρικό τους πολλαπλασιασμό. Σε in vivo μελέτες, ο ρυθμός σχηματισμός γλοιωτικής ουλής εμφάνισε διαταραχές στα knock-out ποντίκια μετά από εγκεφαλικό τραυματισμό (stab injury). Επιπρόσθετα, αντίστοιχες μελέτες κατέδειξαν, ότι αστροκύτταρα σημασμένα με χρωστικές (fluorescent labelled) wild type ποντικίων εμφάνισαν ταχύτερους μεταναστατευτικούς ρυθμούς από αυτά των AQP4 knock-out. Συμπερασματικά, από τα παραπάνω μπορεί να υποστηριχθεί ότι η AQP4-εξαρτώμενη μετανάστευση των

αστροκυττάρων κατέχει σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό ουλής^{87,136,137}.

✓ **Νευροδιέγερση**

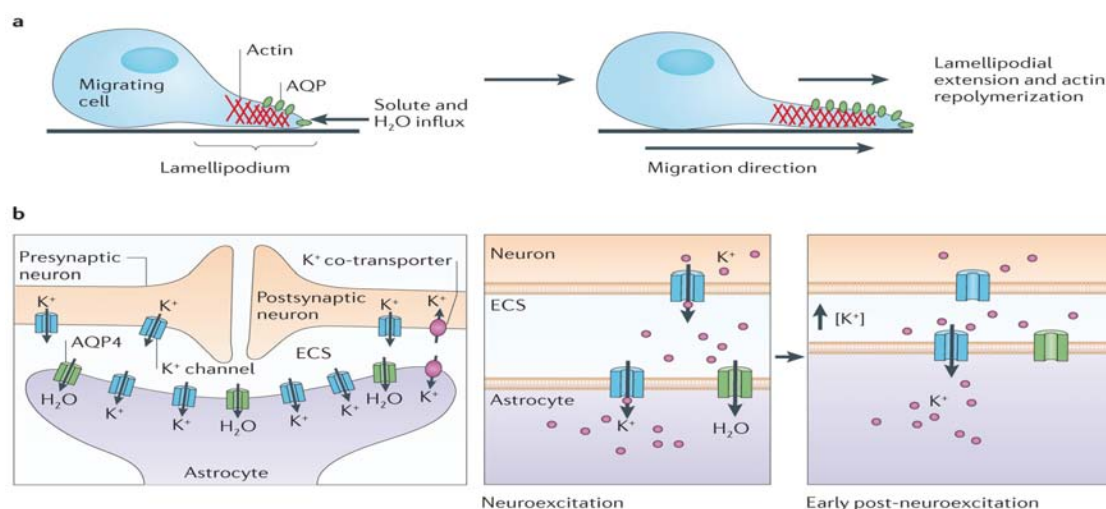
Ο ρόλος της AQP4 στη μεταγωγή νευρικού σήματος υποστηρίχθηκε για πρώτη φορά μετά την παρατήρηση ότι η διαγραφή του γονιδίου *a-synotrophin* σε ποντίκια συσχετίστηκε με την εμφάνιση σοβαρών επιληπτικών κρίσεων και παρατεταμένη κάθαρση K^+ . Μελέτες σε *knockout* ποντίκια επιβεβαίωσαν ότι η AQP4 εμπλέκεται στη μεταγωγή νευρικού σήματος και προχώρησαν επίσης στην περιγραφή του συγκεκριμένου μηχανισμού. Τα AQP4 *knockout* ποντίκια εμφάνισαν υψηλότερη ουδό για την έναρξη επιληπτικών κρίσεων μετά από χημικό ή ηλεκτρικό ερεθισμό, όπως και παρατεταμένη συνολική διάρκεια κρίσεων.

Όσον αφορά τη μεταγωγή του νευροαισθητικού σήματος, μελέτες κατέδειξαν ότι οι ακουστικές απαντήσεις σε δοκιμασίες προκλητών δυναμικών εμφάνισαν διαταραχές στα *knockout* ποντίκια. Τα ηχητικά κύματα προκαλούν παρεκτοπίσεις στα τριχωτά κύτταρα του έσω ωτός, οδηγώντας σε ροή K^+ από την ενδολέμφο στα τριχωτά κύτταρα και αποπόλωση. Επιπρόσθετα, τα AQP4 *knockout* ποντίκια εμφανίζουν ήπιες αμφιβληστροειδικές διαταραχές με μειωμένου εύρους β -κύματα (τα οποία παράγονται από τα δίπολα κύτταρα), λόγω ανεπιτυχούς σύνδεσης της αποπόλωσης των δίπολων κυττάρων με την ενεργοποίηση των κυττάρων Müller. Τα ίδια ποντίκια μπορούν ακόμα να εμφανίσουν διαταραχές στην όσφρηση, όπως αναδείχθηκε σε συμπεριφορικές και ηλεκτρο-οσφρητικές μελέτες.

Καθυστερημένη επαναπρόσληψη K^+ αναδείχθηκε σε *a-synotrophin knockout* ποντίκια. Επίσης, μελέτες *in vivo* στον εγκέφαλο και σε τομές εγκεφάλου AQP4 *knockout* ποντικών κατέδειξαν, μέσω τεχνικών φθορισμού (*fluorescence imaging studies*), συσσώρευση K^+ στον εξωκυττάριο χώρο του εγκεφάλου κατά τη διάρκεια της νευροδιέγερσης, όπως και καθυστερημένη κάθαρση K^+ . Αυτή η καθυστερημένη κάθαρση θα μπορούσε να δικαιολογήσει την εμφάνιση των ποικίλων κλινικών εκδηλώσεων που εμφανίζονται στα AQP4 *knockout* ποντίκια, όπως η παρατεταμένη διάρκεια των επιληπτικών κρίσεων.

Ο ακριβής μηχανισμός συσχέτισης της επαναπρόσληψης του K^+ από τα αστροκύτταρα με την AQP4-εξαρτώμενη διαπερατότητα του νερού δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί. Ο εξωκυττάριος χώρος αντιπροσωπεύει περίπου το 20% του συνολικού όγκου του εγκεφάλου. Το K^+ απελευθερώνεται στον εξωκυττάριο χώρο ως απάντηση στην αποπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης κατά τη διάρκεια της νευροδιέγερσης και ακολούθως απομακρύνεται μέσω των αστροκυττάρων, με τη μεσολάβηση του καναλιού Kir4.1. Μια υπόθεση που θα μπορούσε να εξηγήσει τη σύζευξη νερού – K^+ , είναι μια λειτουργική αλληλεπίδραση μεταξύ AQP4 και Kir4.1. Παρολαυτά, μια σχετική μελέτη αστροκυττάρων και κυττάρων Müller, ανέδειξε ότι η έκφραση της AQP4 δεν επηρέαζε τη λειτουργία του Kir4.1. Μια εναλλακτική θεωρία αποτελεί ότι η πρόσληψη K^+ μετά τη νευροδιέγερση, οδηγεί σε οσμωτική ροή ύδατος στα αστροκύτταρα και συρρίκνωση του εξωκυττάριου χώρου. Αυτό θα οδηγούσε στη διατήρηση της απαραίτητης ηλεκτροχημικής δύναμης για την αποτελεσματική επαναπρόσληψη K^+ . Η μείωση της διαπερατότητας νερού των αστροκυττάρων ως αποτέλεσμα ανεπαρκούς έκφρασης της AQP4, θα οδηγούσε σε διαταραγμένη συρρίκνωση του εξωκυττάριου χώρου και συνεπώς αργή επαναπρόσληψη K^+ . Η υπόθεση αυτή, που επαληθεύεται

και από αρκετά μαθηματικά μοντέλα, είναι ελκυστική καθώς συνδέει τους φαινοτύπους νευροδιέγερσης απευθείας με την AQP4-εξαρτώμενη μεταφορά νερού. Παρ' όλα αυτά, η πιθανότητα οι φαινοτύποι νευροδιέγερσης, που προκύπτουν από την ανεπάρκεια της AQP4, να δικαιολογούνται και από μεταβολές έκφρασης άλλων γονιδίων δεν μπορεί να αποκλειστεί^{87, 138-145}.



Εικόνα 26: Συμμετοχή της AQP4 στη νευροδιέγερση των αστροκυττάρων και στη νευροδιέγερση⁸⁷

Λειτουργίες AQP στο Περιφερικό Νευρικό Σύστημα

Πολλές μελέτες έχουν αναδείξει την έκφραση της AQP1 σε αμύελους νευρώνες γαγγλίων της οπίσθιας ρίζας και στις προβολές τους στα οπίσθια κέρατα του νωτιαίου μυελού. Μια πρώιμη μελέτη σε AQP1 knock-out ποντίκια, κατέδειξε μειωμένη ευαισθησία μετά από ορισμένα επώδυνα ερεθίσματα στα πόδια των ποντικών (θερμικά ερεθίσματα και καψαϊκίνη), αλλά αμετάβλητη ευαισθησία σε ορισμένα άλλα (μηχανικά ερεθίσματα και φορμαλίνη), υποδηλώνοντας ότι η AQP1 συμμετέχει μερικώς στην οδό του πόνου. Μια μεταγενέστερη μελέτη διατύπωσε ότι τα AQP1 knock-out ποντίκια επιδεικνύουν μια επιλεκτική μείωση της ευαισθησίας τους σε θερμά και ψυχρά ερεθίσματα, παρέχοντας ακόμα ένα βιοφυσικό μοντέλο της αλληλεπίδρασης μεταξύ της AQP1 και των τασεο-εξαρτώμενων διαύλων $Na^+ Na_v1.8$. Η λειτουργική σύνδεση μεταξύ της AQP1 και των ιοντικών διαύλων εκπροσωπεί έναν μηχανισμό αρκετά διαφορετικό από αυτόν που απαντάται στη μεταφορά νερού. Τέλος, δεν υπάρχουν ακόμα αρκετά δεδομένα ώστε να υποστηριχθεί κάποιος ρόλος της AQP1 στο γάγγλιο του τριδύμου ή στους μηχανοϋποδοχείς του Ruffini^{87,109,111}.

Εφαρμογές της νευροβιολογίας των AQPs

Οι εκφραζόμενες AQPs στο ΚΝΣ αποτελούν γνωστούς θεραπευτικούς στόχους σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις, όπως στις περιπτώσεις εγκεφαλικού οιδήματος

και επιληψίας που αναφέρθηκαν παραπάνω. Τα τελευταία χρόνια όμως η στόχευση τους έχει διευρυνθεί και σε μια πληθώρα άλλως παθολογιών, όπως η οπτική νευρομυελίτιδα και τα αστροκυττώματα

✓ **Οπτική Νευρομυελίτιδα (Neuromyelitis Optica - NMO)**

Η NMO αποτελεί μια σπάνια απομυελινωτικό νόσο του ΚΝΣ που πρωτίστως προσβάλλει τα οπτικά νεύρα και το νωτιαίο μυελό, προκαλώντας τύφλωση, παράλυση και θάνατο. Θεωρήθηκε αρχικά μια παραλλαγή της Σκλήρυνσης Κατά Πλάκας (ΣΚΠ), έως ότου το 2004 ανακαλύφθηκαν ειδικά αντισώματα έναντι περιαγγειακών αντιγόνων του εγκεφάλου σε ασθενείς με NMO αλλά όχι σε εκείνους με ΣΚΠ. Τα αντισώματα αυτά αποδείχθηκε ότι στρέφονταν εναντίον της AQP4. Σήμερα, η ανίχνευση αντισωμάτων έναντι της AQP4 χρησιμοποιείται ευρέως για τη διάγνωση της NMO^{87,146-148}.

✓ **Όγκοι εγκεφάλου**

Τα γλοιώματα αποτελούν το συχνότερο πρωτοπαθή όγκο εγκεφάλου. Ιστολογικά ταξινομούνται σε τέσσερα στάδια I-IV, αναλόγως το βαθμό κακοήθειας. Το στάδιο IV αντιστοιχεί στο πολύμορφο γλοιοβλάστωμα (glioblastoma multiforme, GBM) και είναι η συχνότερη και πιο επιθετική μορφή. Ακόμα και μετά από εκτεταμένη χειρουργική αποσυμπίεση, ακτινοθεραπεία και χημειοθεραπεία, ο μέσος χρόνος επιβίωσης των ασθενών με GBM είναι 1 έτος από τη στιγμή της διάγνωσης. Τα καρκινικά κύτταρα είναι δύσκολο να εξαιρεθούν, καθώς διεισδύουν εκτενώς μέσα στο εγκεφαλικό παρέγχυμα, αποκλείοντας έτσι τη ριζική τους αφαίρεση. Πολλές μελέτες επιβεβαίωσαν την αρχική ανακάλυψη του Saadoun et al., ότι στα γλοιώματα και ειδικά στο GBM εντοπίζεται ισχυρή έκφραση της AQP4. Στην περίπτωση του GBM εκφράζεται ακόμα η AQP1 και AQP9. Η συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων έκφρασης της AQP στα καρκινικά κύτταρα και την εμφάνιση περιεστικού οιδήματος, υποδηλώνει συμμετοχή των AQP και στην ανάπτυξη του οιδήματος. Πιθανές θεραπευτικές εφαρμογές των αποτελεσμάτων αυτών είναι η χρήση αναστολέων AQP, ώστε να μειωθεί η διεισδυτικότητα του όγκου, όπως και η χρήση στοχευμένων AQP4 τοξινών εναντί των καρκινικών κυττάρων^{87,149-155}.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΜΕΛΕΤΕΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ

Οι μελέτες γενετικής συσχέτισης εξετάζουν για πιθανό συσχετισμό μεταξύ παθολογικών καταστάσεων και την ύπαρξη γενετικής παραλλαγής, ώστε να εντοπιστεί το συγκεκριμένο γονίδιο που συμμετέχει στην εμφάνιση μιας συγκεκριμένης ασθένειας. Οι μελέτες αυτές στηρίζονται στο γεγονός ότι οι φαινοτυπικές διαφορές μεταξύ των ανθρώπων οφείλονται σε τυχαίες αλλαγές της αλληλουχίας του γενώματος.

Η γενετική ποικιλομορφία μπορεί να προκύψει από ενθέσεις (insertions), ελλείψεις (deletions), διπλασιασμούς (duplications), ή πολυμορφισμούς απλού νουκλεοτιδίου (single nucleotide polymorphisms, SNPs). Οι γενετικοί πολυμορφισμοί μπορεί να επηρεάσουν τον κλινικό φαινότυπο, είτε επιδρώντας απευθείας στη λειτουργία της κωδικοποιούμενης πρωτεΐνης ή τροποποιώντας την έκφραση του αντίστοιχου γονιδίου. Η αυξημένη συχνότητα εμφάνισης ενός πολυμορφισμού απλού νουκλεοτιδίου ή η εμφάνιση συγκεκριμένου γονοτύπου σε μια σειρά ατόμων που πάσχουν από μία νόσο, μπορεί να ερμηνευτεί ότι η συγκεκριμένη αλληλουχία αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης της συγκεκριμένης νόσου. Ωστόσο, η γενετική συσχέτιση δεν σημαίνει απαραίτητα και την ταυτοποίηση του υπεύθυνου για την πάθηση γονιδίου. Η γενετική συσχέτιση που προέκυψε μπορεί για παράδειγμα να είναι αποτέλεσμα συστηματικού σφάλματος διαστρωμάτωσης (stratification bias) του δείγματος, ή ανισορροπίας σύνδεσης (linkage disequilibrium) με τον πραγματικά υπεύθυνο για το φαινότυπο πολυμορφισμό ή άλλων εγγενών περιορισμών των μελετών συσχέτισης. Απαραίτητη προϋπόθεση για τη διενέργεια μιας μελέτης γενετικής συσχέτισης είναι το γονίδιο, το πολυμορφισμό του οποίου θα επιλέξουμε για μελέτη, να εμπλέκεται στην παθοφυσιολογία της νόσου, να υπάρχει δηλαδή βιολογική σημαντικότητα και αιτιότητα.

Οι μελέτες συσχέτισης αποτελούν ένα πολύτιμο εργαλείο στον εντοπισμό συγκεκριμένων γονιδίων που συμμετέχουν σε ποικίλες παθολογικές καταστάσεις. Παρολαυτά, σε ορισμένες περιπτώσεις, ιδίως όταν πραγματοποιούνται σε μικρού μεγέθους δείγματα, μπορεί να στερούνται στατιστικά σημαντικής συσχέτισης. Ωστόσο, προκειμένου να υπερκεραστεί το συγκεκριμένο πρόβλημα και να αυξηθεί η στατιστική σημαντικότητα μια μελέτης, συχνά πραγματοποιούνται πολυκεντρικές μελέτες ή μετα-αναλύσεις πολλών μελετών σε μικρά δείγματα. Μια άλλη προσέγγιση που αυξάνει τη στατιστική ισχύ των μελετών είναι η εφαρμογή της ανάλυσης των απλοτύπων. Ειδικότερα, με τη μέθοδο αυτή υποδιαιρείται η μελετώμενη ομάδα σε περισσότερο γενετικά διακριτές υποκατηγορίες. Επιπλέον, η στατιστική ισχύς μιας μελέτης γενετικής συσχέτισης μπορεί να αυξηθεί με τη χρήση σαφώς καθορισμένων ενδιάμεσων φαινοτύπων, οι οποίοι είναι πιθανό να βρίσκονται πιο κοντά στην παθοφυσιολογία ενός νοσήματος από ένα γενικότερο φαινότυπο που είναι πιο σύνθετος και πολυπαραγοντικός ως προς την αιτιοπαθογένειά του¹⁹.

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η κρανιοεγκεφαλική κάκωση αποτελεί παγκοσμίως μια σημαντική αιτία θνησιμότητας και νοσηρότητας, ιδίως στα νέα άτομα. Παρά τις πρόσφατες προόδους στην αντιμετώπιση των ασθενών με ΚΕΚ, υπολογίζεται ότι περίπου οι μισοί ασθενείς με ΚΕΚ θα έχουν βαριά πρόγνωση το οποίο συνεπάγεται σημαντικές ατομικές, κοινωνικές και οικονομικές επιπτώσεις.

Η έκβαση μετά από ΚΕΚ παρουσιάζει σημαντική ποικιλομορφία η οποία δεν μπορεί να εξηγηθεί πλήρως με τους μέχρι τώρα γνωστούς παράγοντες κινδύνου. Όλο και περισσότερες μελέτες αναδεικνύουν διάφορους γενετικούς παράγοντες να εμπλέκονται στην παθοφυσιολογία της ΚΕΚ. Η έκταση της βλάβης του εγκεφάλου μετά από ΚΕΚ φαίνεται ότι επηρεάζεται σε κάποιο βαθμό από γενετικούς πολυμορφισμούς.

Στην παθοφυσιολογία της ΚΕΚ φαίνεται ότι εμπλέκονται διάφορα γονίδια που συμμετέχουν στους μεταβολικούς δρόμους της απόπτωσης, της φλεγμονής, της εναπόθεσης αμυλοειδούς, του οξειδωτικού stress, της δυσλειτουργίας του κυτταροσκελετού και των μιτοχονδρίων. Επίσης, συγκεκριμένα γονίδια επηρεάζουν το βαθμό του οιδήματος, τη διαπερατότητα των αγγείων και τα επίπεδα των νευροδιαβιβαστών μετά από ΚΕΚ, και κατ' επέκταση την κλινική βαρύτητα της νόσου και την έκβαση των ασθενών⁸.

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής μελέτης είναι η διερεύνηση του ρόλου πολυμορφισμών γονιδίων που εμπλέκονται στην παθοφυσιολογία της ΚΕΚ όπως είναι τα γονίδια της Ακουοπορίνης 4 και της Αγγειοτενσίνης και της συσχέτισής τους με διάφορες κλινικές παραμέτρους των ασθενών όπως η κλινική εικόνα εισόδου, η παρουσία ευρημάτων στον απεικονιστικό έλεγχο, οι γνωστικές λειτουργίες και η κινητική τους αποκατάσταση.

ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Από την έναρξη της μελέτης έχει γίνει προοπτική συλλογή ασθενών με ΚΕΚ, οι οποίοι εισήχθησαν διαδοχικά στο τμήμα Νευροχειρουργικής του Πανεπιστημιακού νοσοκομείου Λάρισας και του του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών "Κοργιαλένιο-Μπενάκειο". Οι ασθενείς συμπεριλαμβάνονταν στη μελέτη εφόσον είχαν υποστεί αμβλύ τραυματισμό κεφαλής, ήταν ελληνικής καταγωγής και ηλικίας άνω των 18 ετών. Ασθενείς με διαπιτραινόντα τραυματισμό, πολυτραυματίες ή με υποξαιμική εγκεφαλική βλάβη αποκλείστηκαν από την μελέτη. Συνολικά, 363 ασθενείς συμπεριλήφθηκαν στην μελέτη. Το πρωτόκολλο της μελέτης εξετάστηκε και εγκρίθηκε από το Επιστημονικό Συμβούλιο του νοσοκομείου και επίσης γραπτή συγκατάθεση λήφθηκε από όλους τους ασθενείς ή τους συγγενείς τους.

Η καταγραφή των ασθενών αυτών περιελάμβανε:

1. Την πλήρη καταγραφή των δημογραφικών και κλινικών στοιχείων των ασθενών, όπως ηλικία, φύλο, ύπαρξη αγγειακών παραγόντων κινδύνου (αρτηριακή υπέρταση, σακχαρώδης διαβήτης, στεφανιαία νόσος,

υπερλιπιδαιμία, κάπνισμα, αλκοόλ). Υπερτασικοί θεωρήθηκαν οι ασθενείς όταν η συστολική πίεση ήταν >140mm Hg ή η διαστολική πίεση ήταν >90mm Hg σε επαναλαμβανόμενες μετρήσεις ή ελάμβαναν αντιυπερτασική αγωγή. Αντίστοιχα, η διάγνωση του σακχαρώδη διαβήτη τέθηκε στους ασθενείς που ήδη ελάμβαναν ινσουλίνη ή υπογλυκαιμική αγωγή ή όταν η γλυκόζη νηστείας ήταν >126mg/dl σε διαδοχικές μετρήσεις ή η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη ήταν >6.4%. Τέλος, υπερχολιστερολαιμικοί ορίστηκαν οι ασθενείς με τιμή της χοληστερόλης του πλάσματος >200mg/dl ή η λήψη υπολιπιδαιμικής αγωγής.

2. Την καταγραφή της νευρολογικής σημειολογίας και την εκτίμηση της αρχικής κλινικής εικόνας των ασθενών με τη χρήση της κλίμακας κώματος της Γλασκόβης (Glasgow Coma Scale: GCS). Για ευχερέστερη ανάλυση των αποτελεσμάτων δημιουργήθηκαν τρεις υποκατηγορίες ασθενών ανάλογα με τις τιμές της GCS. Συγκεκριμένα για τιμές 3-8 χαρακτηρίστηκε ως βαριά ΚΕΚ, για τιμές 9-12 μέτρια και τέλος, για τιμές 13-15 ως ελαφριά.
3. Την εκτίμηση των γνωστικών λειτουργιών των ασθενών (μνήμη, προσοχή, εκτελεστικές λειτουργίες, οπτικοχωρική ικανότητα).
4. Την καταγραφή των ευρημάτων της αξονικής ή της μαγνητικής τομογραφίας, όπως η ύπαρξη ή όχι αιμορραγικών θλάσεων, αιμορραγικής ή οίδηματώδους αξονότμησης, υπαραχνοειδούς αιμορραγίας, υποσκληρίδιου ή επισκληρίδιου αιματώματος, ενδοεγκεφαλικής ή ενδοκοιλιακής αιμορραγίας, διάχυτου εγκεφαλικού οιδήματος και παρεκτόπισης της μέσης γραμμής. Στους ασθενείς με εγκεφαλικό αιμάτωμα (υποσκληρίδιου, επισκληρίδιου, ενδοεγκεφαλικού) έγινε υπολογισμός του όγκου του αιματώματος με βάση τον τύπο ABC/2.
5. Την καταγραφή του χρόνου παραμονής ή όχι των ασθενών στη μονάδα εντατικής θεραπείας και της ύπαρξης μηχανικού αερισμού.
6. Την αιμοληψία και απομόνωση γενωμικού DNA από πυρήνες λευκοκυττάρων με τη μέθοδο της εξαλάτωσης και προσθήκης πρωτεΐνάσης K και στη συνέχεια έλεγχο της ποιότητας και της ποσότητας του DNA με φωτομέτρηση και ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αгарόζης.
7. Την επανεκτίμηση των ασθενών 6 μήνες μετά την ΚΕΚ και καταγραφή της έκβασής τους με βάση την κλίμακα έκβασης της Γλασκόβης (Glasgow Outcome Scale: GOS) και την τροποποιημένη κλίμακα του Rankin (Modified Rankin Scale). Επίσης στο ίδιο χρονικό διάστημα θα επανεκτιμηθούν οι γνωστικές λειτουργίες των ασθενών (μνήμη, προσοχή, εκτελεστικές λειτουργίες, οπτικοχωρική ικανότητα). Για καλύτερη στατιστική ανάλυση οι ασθενείς υποδιαιρέθηκαν σε δύο κατηγορίες. Συγκεκριμένα, ως ασθενείς με ευνοϊκή έκβαση χαρακτηρίστηκαν αυτοί με πλήρη ανάρρωση (G) ή με μέτρια μεν ανικανότητα αλλά λειτουργικά ανεξάρτητοι (MD), ενώ ως ασθενείς με μη ευνοϊκή έκβαση χαρακτηρίστηκαν αυτοί με σοβαρή ανικανότητα (SD), αυτοί που παρέμειναν σε φυτική κατάσταση (V) ή αυτοί που κατέληξαν (D).

ΤΕΧΝΙΚΕΣ

✓ Απομόνωση DNA

Αναμφισβήτητα, η ορθή μελέτη του γονιδιώματος προϋποθέτει τη σωστή και αποτελεσματική απομόνωσή του από τα κύτταρα. Η απομόνωση του DNA οφείλει να είναι ποιοτική και ποσοτική για βέλτιστα αποτελέσματα. Αυτό πραγματοποιείται όταν το DNA που απομονώνεται είναι αφενός ελεύθερο προσμίξεων και αφετέρου δεν είναι διασπασμένο σε πολύ μικρά κομμάτια που δεν μπορούν να αναλυθούν.

Η απομόνωση του DNA μπορεί να πραγματοποιηθεί με πολλές διαφορετικές μεθόδους και η επιλογή της κατάλληλης καθορίζεται από ποικίλες παραμέτρους. Υπάρχουν πολλές μέθοδοι απομόνωσης γενωμικού DNA. Στη συγκεκριμένη μελέτη εφαρμόστηκε η μέθοδος της εξαλάτωσης, κατά την οποία η απομόνωση γενωμικού DNA γίνεται από εμπύρηννα κύτταρα περιφερικού αίματος (πυρήνες λευκοκυττάρων). Στη μέθοδο αυτή απαιτούνται 10ml αίματος, το οποίο τοποθετείται σε σωληνάριο με αντιπηκτικό Na₂EDTA.

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται για την απομόνωση του γενωμικού DNA φαίνονται στο παρακάτω πίνακα:

- ✓ Διάλυμα διάσπασης των πυρήνων
Lysis I: NH₄Cl (155mM), KHCO₃ (10mM), EDTA (1mM), pH=7.4
Lysis II : Tris (10mM), NaCl (400mM), di-Na EDTA (2mM), pH=8.2
- ✓ Διάλυμα πρωτεϊνάσης K (10mg/ml)
- ✓ Διάλυμα 10% w/v SDS (sodium dodecyl sulfate: δωδεκακυλοθειϊκό νάτριο)
- ✓ Κορεσμένο διάλυμα NaCl (6M)
- ✓ Απόλυτη αιθανόλη
- ✓ CH₃COONa (3M)
- ✓ Πηκτή αгарόζης 1%

Τις επόμενες τρεις μέρες από τη συλλογή του αίματος ακολουθούνται τα παρακάτω στάδια:

1η μέρα:

1. Τοποθετούμε το αίμα σε σωληνάριο πολυπροπυλενίου των 15ml και αραιώνουμε ως 12ml με ddH₂O (δύο απεσταγμένο νερό). Ακολουθεί καλή ανάδευση, ώστε να επιτευχθεί λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων.
2. Φυγοκεντρούμε για 15 λεπτά στις 3500rpm, στους 40°C, για την απομόνωση των εμπύρηνων κυττάρων.
3. Μετά την ολοκλήρωση της φυγοκέντρωσης, το υπερκείμενο απορρίπτεται και η διαδικασία συνεχίζεται με το ίζημα. Τα κύτταρα αραιώνονται σε ddH₂O έως 12ml και ανακινούμε σε vortex.
4. Φυγοκεντρούμε για 15 λεπτά στις 3500rpm, στους 40°C.
5. Αφαιρούμε το υπερκείμενο και συνεχίζουμε με το ίζημα. Προσθέτουμε το διάλυμα lysis I μέχρι τα 12ml.
6. Φυγοκεντρούμε για 15 λεπτά στις 3500rpm, στους 40°C.
7. Επαναλαμβάνουμε τα στάδια 5 και 6 με lysis I.
8. Αφαιρούμε το υπερκείμενο και συνεχίζουμε με το ίζημα. Προσθέτουμε το διάλυμα lysis II μέχρι τα 6ml. Τα λυτικά διαλύματα lysis I και lysis II διευκολύνουν τη διάσπαση των πυρηνικών μεμβρανών για την απελευθέρωση του DNA. Επίσης, όπως φαίνεται στον παραπάνω πίνακα, περιέχουν EDTA που δεσμεύει τα δισθενή κατιόντα (Ca²⁺, Mg²⁺) που θεωρούνται απαραίτητα για τη δράση των νουκλεασών. Έτσι, τα ένζυμα αυτά απενεργοποιούνται, γεγονός που εξυπηρετεί στην αποφυγή της διάσπασης του DNA. Ανακινούμε ισχυρά και επωάζουμε για 15-30 λεπτά, σε θερμοκρασία δωματίου.
9. Προσθέτουμε 750μl SDS (10% w/v) και 100μl πρωτεΐνάσης K (10mg/ml). Το SDS είναι ένα ανιονικό αποδιατακτικό που δεσμεύει τα λιπίδια και καταστρέφει τη δομή της μεμβράνης του πυρήνα, ενώ συμμετέχει στην αποδιάταξη της χρωματίνης και των πρωτεϊνών. Επίσης, με την πρωτεΐνάση K επιτυγχάνεται η διάσπαση και η πέψη των πρωτεϊνών, με τις οποίες είναι συνδεδεμένο το DNA.
10. Επώαση στους 370°C για 16-18 ώρες (Overnight-O/N).

2η μέρα:

Κατά τη δεύτερη ημέρα απομόνωσης του γονιδιώματος, προσθέτουμε 2ml 6M κεκορεσμένου διαλύματος NaCl. Αναδεύουμε ισχυρά για 15 sec, ώστε να επιτευχθεί η κατακρήμνιση των αποδιαταγμένων πρωτεϊνών.

1. Φυγοκεντρούμε για 15 min στις 3500rpm, στους 4°C.
2. Στο υπερκείμενο υπάρχει το DNA. Μεταγγίζουμε το υπερκείμενο σε καθαρό

σωληνάριο και απορρίπτουμε το ίζημα. Αναδεύουμε ισχυρά.

3. Φυγοκεντρούμε για 15min στις 3500rpm, στους 4°C.
4. Μεταγγίζουμε το υπερκείμενο σε καθαρό σωληνάριο των 50ml και απορρίπτουμε το ίζημα.
5. Ακολουθεί καταβύθιση του νουκλεϊκού οξέος, που βρίσκεται στο υπερκείμενο διάλυμα, με 2 όγκους απόλυτης αιθανόλης (2πλάσιο όγκο σε σχέση με το αρχικό διάλυμα) και CH₃COONa σε ποσότητα ίση με το 1/10 του όγκου του αρχικού διαλύματος. Σε περίπτωση που η αρχική ποσότητα του δείγματος του αίματος είναι αρκετή, δεν χρειάζεται να προσθέσουμε CH₃COONa
6. Επώαση στους -20°C O/N.

3η μέρα:

1. Φυγοκεντρούμε για 50min στις 3500rpm, στους 4°C.
2. Απορρίπτουμε το υπερκείμενο. Το DNA που συλλέγεται «ξεπλένεται» με διάλυμα αιθανόλης 70% και εισάγεται σε σωληνάριο τύπου erpendorf. Το συγκεκριμένο βήμα καθαρισμού πραγματοποιείται για την απομάκρυνση του άλατος που έχει παραμείνει στο διάλυμα.
3. Φυγοκεντρούμε για 30min στις 12000rpm, στους 4°C.
4. Επαναλαμβάνουμε το στάδιο 2 άλλες δύο φορές, με τη διαφορά ότι η διάρκεια της φυγοκέντρωσης είναι 20min.
5. Αφαιρούμε όλο το υπερκείμενο (αιθανόλη) προσεκτικά, (αφήνουμε μόνο το ίζημα-DNA) και καλύπτουμε το σωληνάριο με παραφίλμ, το οποίο τρυπάμε με μικροσκοπική καρφίτσα (με τον τρόπο αυτό διευκολύνεται η εξάτμιση της αιθανόλης που έχει παραμείνει στο σωληνάριο).
6. Επώαση σε θερμοκρασία ψυγείου.
7. Το DNA φυλάσσεται στους 4°C (για συχνή χρήση) ή στους -20°C (για μεγάλο χρονικό διάστημα).

✓ Προσδιορισμός ποιότητας και συγκέντρωσης του DNA

Έλεγχος σε πηκτή αγαρόζης

Μικρή ποσότητα γονιδιώματος ηλεκτροφορεύεται παρουσία πηκτή αγαρόζης (1%) και βρωμιούχου αιθιδίου (EtBr). Έτσι, το DNA καθίσταται ορατό με υπεριώδη ακτινοβολία σε συσκευή UV. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται ο έλεγχος της ποιότητας του DNA.

Μέτρηση συγκέντρωσης

Μόλις ολοκληρωθεί το στάδιο απομόνωσης του DNA, ακολουθεί η διαδικασία προσδιορισμού της συγκέντρωσής του. Ο ποσοτικός προσδιορισμός του DNA μπορεί να πραγματοποιηθεί με ποικίλους τρόπους. Η απλούστερη μέθοδος περιλαμβάνει τον υπολογισμό του με φωτομέτρηση σε φασματοφωτόμετρο. Η τεχνική αυτή βασίζεται στην ιδιότητα του DNA να απορροφά εκλεκτικά ακτινοβολία μήκους κύματος 260nm. Συγκεκριμένα, μετράται η οπτική πυκνότητα (OD) υδατικού διαλύματος DNA (αραιωμένο διάλυμα DNA 1:100) σε μήκος κύματος 260nm και 280 nm σε κυβελίδα χαλαζία με διαδρομή φωτός 1cm. Η απορρόφηση στα 260nm αντιστοιχεί στο νουκλεϊκό οξύ που περιέχεται στο διάλυμα, ενώ η απορρόφηση στα 280 nm αντιστοιχεί στις πρωτεΐνες και άλλες προσμίξεις που έχουν παραμείνει στο διάλυμα. Η καθαρότητα του DNA εκτιμάται με βάση το λόγο OD260/OD280. Τιμές του λόγου μεταξύ 1,7 και 1,9 υποδηλώνουν παρουσία επαρκώς καθαρού DNA, τιμές μικρότερες του 1,7 φανερώνουν ότι το διάλυμα του DNA περιέχει πρωτεΐνες, ενώ τιμές μεγαλύτερες του 1,9 υποδηλώνουν πρόσμιξη με RNA.

Έχει αποδειχθεί ότι σε μήκος κύματος 260nm τιμή OD ίση με 1 αντιστοιχεί σε συγκέντρωση 50μg/ml δίκλωνου DNA. Βάσει αυτού του δεδομένου μπορεί να υπολογιστεί η συγκέντρωση του DNA μετά τη φωτομέτρηση ως εξής:

$$\text{Συγκέντρωση DNA (}\mu\text{g/ml)} = \text{αραίωση} \times 50 \times \text{τιμή OD}_{260}$$

Η μέθοδος αυτή είναι αρκετά ευαίσθητη και μπορεί να ανιχνεύσει ποσότητες DNA μέχρι και 0,2μg DNA/ml διαλύματος.

Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR: Polymerase Chain Reaction)

Η μέθοδος της PCR επιτρέπει τον ενζυμικό πολλαπλασιασμό in vitro επιλεγμένων αλληλουχιών DNA (DNA-στόχου) από ελάχιστη αρχική ποσότητα δείγματος. Η τεχνική της PCR πραγματοποιείται βασισμένη στα εξής χαρακτηριστικά αντιγραφής του γονιδιώματος: αφενός η DNA πολυμεράση χρησιμοποιεί μονόκλωνο DNA ως εκμαγείο για τη σύνθεση ενός νέου συμπληρωματικού κλώνου. Για το λόγο αυτό η αποδιάταξη του DNA είναι απαραίτητη για τη δράση της Taq DNA πολυμεράσης. Αφετέρου, για να μπορέσει η DNA πολυμεράση να αρχίσει τη σύνθεση χρειάζεται ένα μικρό τμήμα δίκλωνου DNA. Αυτό σημαίνει ότι αν μετά το διαχωρισμό των δύο αλυσίδων ενός μορίου DNA χρησιμοποιηθεί ένας εκκινητής που υβριδίζεται σε ένα σημείο της μιας αλυσίδας, τότε θα αρχίσει η σύνθεση της συμπληρωματικής αλυσίδας από το σημείο που υβριδίστηκε ο εκκινητής (primer). Επομένως, είναι δυνατόν να επιτευχθεί η ενίσχυση οποιουδήποτε τμήματος δίκλωνου DNA επιλέγοντας δύο εκκινητές που υβριδίζονται εκατέρωθεν της αλληλουχίας-στόχου. Ο κάθε εκκινητής είναι

συμπληρωματικός προς κάθε μια από τις δύο αλυσίδες DNA και οι δύο μαζί καθορίζουν τα άκρα του επιθυμητού προϊόντος.

Η τεχνική της PCR αποτελείται από επαναλαμβανόμενους κύκλους. Κάθε κύκλος της PCR περιλαμβάνει τρία στάδια και η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται εξολοκλήρου in vitro σε ένα σωληνάριο τύπου erpendorf με τη χρήση θερμικού κυκλοποιητή.

1ο στάδιο: θερμική αποδιάταξη του DNA-εκμαγείου, όπου το δίκλωνο DNA μετατρέπεται σε μονόκλωνο (denaturation)

2ο στάδιο: σύνδεση εκκινητών, όπου οι δύο εκκινητές υβριδίζονται με τις δύο συμπληρωματικές αλληλουχίες του DNA-στόχου (primer annealing)

3ο στάδιο: σύνθεση DNA, όπου παρουσία Taq DNA πολυμεράσης και dNTPs, οι συμπληρωματικές βάσεις προστίθενται στα 3' άκρα των εκκινητών με βάση την αλυσίδα DNA-εκμαγείο και οι νέες πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες επεκτείνονται (extension). Η σύνθεση DNA γίνεται πάντοτε προς την κατεύθυνση 5' → 3'.

Η τεχνική της PCR περιλαμβάνει μια επαναλαμβανόμενη εναλλαγή ανάμεσα σε μια υψηλή θερμοκρασία για το διαχωρισμό των αλυσίδων του DNA, μια σχετικά χαμηλή θερμοκρασία για τον υβριδισμό των εκκινητών με συμπληρωματικές περιοχές του DNA-στόχου και μια ενδιάμεση θερμοκρασία για την επέκταση των εκκινητών.

Οι θερμοκρασίες για την PCR είναι ιδιαίτερα σημαντικές, οπότε καίριο ρόλο διαδραματίζουν οι θερμοκυκλοποιητές (thermal cycler), οι οποίοι εξασφαλίζουν ακριβή ρύθμιση της θερμοκρασίας. Επίσης, οι θερμικοί κυκλοποιητές παρέχουν ομοιόμορφη θέρμανση και ψύξη και εξασφαλίζουν τις ίδιες συνθήκες σε όλα τα σωληνάκια που χρησιμοποιούνται για την αντίδραση της PCR. Έτσι, εξασφαλίζονται οι κατάλληλες συνθήκες για τον υβριδισμό των εκκινητών, την αποδιάταξη και επέκταση του DNA.

Η ειδικότητα της αντίδρασης θα καθορίσει την επιλογή της κατάλληλης θερμοκρασίας και χρόνου σε κάθε στάδιο της αντίδρασης. Ειδικότερα, η επιλογή της θερμοκρασίας και του χρόνου αποδιάταξης εξαρτάται από το μήκος του DNA-στόχου και την περιεκτικότητά του σε G+C. Τυπικά, χρησιμοποιούνται θερμοκρασίες 94-95°C για 3min πριν από τον πρώτο κύκλο για να εξασφαλιστεί η πλήρη αποδιάταξη του DNA-στόχου. Σε μεταγενέστερους κύκλους, τυπικές συνθήκες αποδιάταξης θεωρούνται οι θερμοκρασίες των 94 με 95°C για 30 με 60 sec. Χαμηλές θερμοκρασίες αποδιάταξης οδηγούν στη μη-ολική αποδιάταξη του DNA-στόχου και/ ή του PCR προϊόντος και εμποδίζουν την ενίσχυση του επιθυμητού τμήματος του DNA. Αντίθετα, υψηλές θερμοκρασίες και/ή η μεγάλη διάρκεια αποδιάταξης προκαλούν αποδιάταξη της Taq DNA πολυμεράσης και απώλεια της ενεργότητάς της. Η επιλογή της κατάλληλης θερμοκρασίας υβριδισμού των εκκινητών εξαρτάται από τη συγκέντρωσή τους, το μήκος και την αλληλουχία των βάσεών τους. Η ιδανική θερμοκρασία υβριδισμού ρυθμίζεται γενικά 50°C χαμηλότερα από το σημείο τήξης (Tm) των εναρκτήριων ολιγονουκλεοτιδίων. Θερμοκρασίες που κυμαίνονται μεταξύ 55 με 65°C, αποδίδουν τα καλύτερα αποτελέσματα. Η αύξηση της θερμοκρασίας υβριδοποίησης, αυξάνει την ειδικότητα του τελικού προϊόντος. Αυτό συμβαίνει επειδή επιτυγχάνεται ο περιορισμός της υβριδοποίησης των εναρκτήριων ολιγονουκλεοτιδίων σε μη-ειδικές περιοχές του DNA και εμποδίζεται η προσθήκη λανθασμένων νουκλεοτιδίων στο 3' άκρο των

εκκινητών. Εάν η θερμοκρασία είναι χαμηλότερη από τη βέλτιστη, τα προϊόντα της αντίδρασης συχνά περιλαμβάνουν επιπρόσθετα μη-ειδικά τμήματα DNA.

Ο χρόνος για την επέκταση των εναρκτήριων ολιγονουκλεοτιδίων εξαρτάται από το μήκος και τη συγκέντρωση της αλληλουχίας-στόχου, καθώς και τη θερμοκρασία που χρησιμοποιείται για την αντίδραση επέκτασης. Συνήθως, ο πολυμερισμός των εκκινητών επιτελείται στους 72°C. Στη θερμοκρασία αυτή η Taq DNA πολυμεράση προσθέτει 35-100 νουκλεοτίδια ανά δευτερόλεπτο, ανάλογα με το pH, τη συγκέντρωση των ιόντων, το ρυθμιστικό διάλυμα και το είδος του υποστρώματος DNA. Το στάδιο επέκτασης των εκκινητών μπορεί να κυμαίνεται από 1 μέχρι 7 min, ανάλογα με το μήκος του DNA-στόχου που προορίζεται για ενίσχυση (>1Kb). Επιπλέον, διάρκεια επέκτασης μεγαλύτερη του 1 min είναι αναγκαία σε αρχικούς κύκλους πολυμερισμού αν η συγκέντρωση του υποστρώματος είναι πολύ μικρή, ή στα τελικά στάδια όταν η συγκέντρωση του προϊόντος υπερτερεί της συγκέντρωσης του ενζύμου.

Απαραίτητα στοιχεία για την πραγματοποίηση της μεθόδου θεωρούνται:

- ✓ Ειδική DNA πολυμεράση (Taq DNA πολυμεράση)
- ✓ Ένα ζεύγος συνθετικών ολιγονουκλεοτιδίων, τα οποία ονομάζονται μόρια-εκκινητές (primers)
- ✓ Κατάλληλο διάλυμα ελεύθερων 5' τριφωσφορικών δεοξυριβοζονουκλεοτιδίων (dNTPs)
- ✓ Κατάλληλη συγκέντρωση διαλύματος MgCl₂
- ✓ Ειδικό ρυθμιστικό διάλυμα για την Taq DNA πολυμεράση
- ✓ Μικρή ποσότητα DNA που παίζει το ρόλο του εκμαγείου-μήτρας

Ειδικότερα, για την πραγματοποίηση της PCR χρειάζεται τουλάχιστον ένα αντίγραφο του γονιδίου-στόχου για να εξασφαλιστεί η αντιγραφή του. Όσο μεγαλύτερος ο αριθμός των αντιγράφων του DNA-στόχου, τόσο πιθανότερος ο επιτυχής πολλαπλασιασμός του DNA. Σε περίπτωση βλάβης (π.χ. σπασμένο DNA) παρεμποδίζεται η πραγματοποίηση της PCR. Επιπλέον η νουκλεοτιδική αλληλουχία-στόχος μπορεί να είναι άγνωστη, αρκεί να είναι γνωστές οι αλληλουχίες των δύο άκρων της, ώστε να σχεδιαστούν οι απαραίτητοι για τη μέθοδο εκκινητές.

Όσον αφορά τους εκκινητές, αυτοί δεν θα πρέπει να συνδέονται με ανεπιθύμητες αλληλουχίες DNA, ώστε να επιτευχθεί εξειδικευμένη ενίσχυση του DNA-στόχου. Επιπροσθέτως, θα πρέπει να έχουν παρόμοια αναλογία σε G+C, η οποία να κυμαίνεται σε ποσοστό 40% με 60%. Συνήθως, το μήκος των εκκινητών υπολογίζεται από 15 μέχρι 30 νουκλεοτίδια χωρίς συμπληρωματική αλληλοεπικάλυψη στα 3 άκρα τους. Η συγκέντρωσή τους θα πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 0.1-0.2μM. Υψηλές συγκεντρώσεις προκαλούν την παραγωγή μη-ειδικών προϊόντων και οδηγούν στη δημιουργία διμερών (primerdimers) που χρησιμοποιούνται ως DNA-στόχοι. Τέλος, το ζεύγος των εκκινητών που απαιτείται για την ενίσχυση του DNA-στόχου θα πρέπει να διαθέτει παρόμοια θερμοκρασία τήξεως (T_m , melting temperature), ή πιο εξειδικευμένα, θερμοκρασία επαναδιάταξης (T_a , annealing temperature). Επιθυμητές T_m κυμαίνονται μεταξύ 55-65°C.

Ιδιαίτερα σημαντικό χαρακτηριστικό της Taq DNA-πολυμεράση αποτελεί η αντοχή της στις υψηλές θερμοκρασίες που απαιτούνται για την αποδιάταξη του DNA, οπότε δε

χρειάζεται η προσθήκη νέου ενζύμου μετά από κάθε κύκλο PCR. Επίσης, είναι ενεργή σε θερμοκρασίες, όπου επιτελείται υβριδισμός των εκκινητών επί των συμπληρωματικών επιθυμητών αλληλουχιών. Το εύρος της συγκέντρωσης της Taq DNA πολυμεράσης θα πρέπει να κυμαίνεται στα 1-5U/100μl. Αφενός υψηλές συγκεντρώσεις οδηγούν στη δημιουργία μη-ειδικών προϊόντων, ενώ αφετέρου χαμηλές συγκεντρώσεις προκαλούν την παραγωγή ενός ανεπαρκούς ποσοστού επιθυμητού προϊόντος. Η βέλτιστη θερμοκρασία δράσης του ενζύμου (temperature optimum) κυμαίνεται γύρω στους 72°C.

Επιπροσθέτως, απαραίτητα για τη σύνθεση του DNA είναι τα ελεύθερα 5'τριφωσφορικά δεοξυριβοζονουκλεοτίδια (dNTPs). Τα τέσσερα dNTPs (dATP, dTTP, dCTP και dGTP) ενδείκνυνται να χρησιμοποιούνται σε ισοδύναμες συγκεντρώσεις και ανάλογες με τη συγκέντρωση της πολυμεράσης, έτσι ώστε να εμποδίζεται η λανθασμένη πρόσδεση νουκλεοτιδίων κατά τη διάρκεια της επιμήκυνσης. Έτσι, οι συγκεντρώσεις των dNTPs θα πρέπει να κυμαίνονται στα 20-200μM για κάθε δεοξυριβοζονουκλεοτίδιο.

Τέλος, απαραίτητα για την PCR θεωρούνται και τα δισθενή κατιόντα μαγνησίου (Mg²⁺). Η συγκέντρωση των ιόντων Mg²⁺ επιδρά στον υβριδισμό-πρόσδεση των εκκινητών, στη θερμοκρασία τήξεως του DNA και στη δραστηριότητα του ενζύμου. Η βέλτιστη συγκέντρωση των ιόντων Mg²⁺ είναι 1,5-2mM. Οι υψηλές συγκεντρώσεις των ιόντων Mg²⁺ αυξάνουν τη συχνότητα λανθασμένης πρόσδεσης νουκλεοτιδίων κατά τη διάρκεια της επιμήκυνσης. Εκτός από τα αντιδραστήρια, τα οποία άμεσα περιλαμβάνονται στην αντίδραση, η PCR απαιτεί και ένα κατάλληλο ρυθμιστικό διάλυμα (buffer). Το ρυθμιστικό διάλυμα περιέχει Tris-HCl και άλατα και καθορίζει το pH της αντίδρασης μεταξύ 8,3 και 8,9.

Ηλεκτροφόρηση

Η μετακίνηση ενός φορτισμένου μορίου υπό την επίδραση του ηλεκτρικού πεδίου ορίζεται ως ηλεκτροφόρηση. Η ηλεκτροφόρηση περιγράφεται μαθηματικά από τον τύπο: $v = Ez/f$, όπου v είναι η ταχύτητα μετακίνησης κάθε μορίου, z το καθαρό φορτίο του μορίου, E η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου και f ο συντελεστής τριβής. Είναι η τεχνική που χρησιμοποιήθηκε για το διαχωρισμό του DNA με βάση το φορτίο και το μοριακό του βάρος. Στο συγκεκριμένο πειραματικό στάδιο πραγματοποιήθηκε ηλεκτροφόρηση σε πηκτική αгарόζη που αποτελεί καθιερωμένη μέθοδο για τον προσδιορισμό του μήκους και της καθαρότητας του DNA. Η αгарόζη, που απομονώνεται από φύκη, είναι ένας γραμμικός πολυσακχαρίτης. Επίσης, ο σχηματισμός των πόρων είναι μια φυσική διαδικασία που προκύπτει από την αναδιάταξη των μορίων που την αποτελούν. Συνεπώς, η χαρακτηριστική ανομοιομορφία στο μέγεθος των πόρων οδηγεί σε μικρή διαχωριστική ικανότητα. Ωστόσο, όσο αυξάνεται η περιεκτικότητα της πηκτής σε αгарόζη τόσο αυξάνεται και η ικανότητά της να διαχωρίζει μικρού μεγέθους μόρια. Οι πηκτές αгарόζης ηλεκτροφορούνται συνήθως οριζόντια σε ηλεκτρικό πεδίο σταθερής ισχύος και κατεύθυνσης.

Η πηκτική αгарόζης παρασκευάζεται λιώνοντας την αгарόζη στο κατάλληλο ρυθμιστικό διάλυμα μέχρις ότου αυτό γίνει εντελώς διαυγές. Το ρυθμιστικό διάλυμα που χρησιμοποιήθηκε είναι το Tris- Βορικό-EDTA με pH περίπου 8, το οποίο διατηρείται σε θερμοκρασία δωματίου. Είναι ευρέως αποδεκτό ότι το TBE επιτυγχάνει καλό διαχωρισμό και έχει υψηλή ρυθμιστική ικανότητα.

Ακολούθως, το διάλυμα τοποθετείται σε κατάλληλη συσκευή-εκμαγείο όπου και πήζει. Οι συσκευές που χρησιμοποιούνται είναι οριζόντιες και παρέχουν αρκετά πλεονεκτήματα όπως: (α) δυνατότητα χρησιμοποίησης χαμηλών συγκεντρώσεων αгарόζης, (β) εύκολη παρασκευή πηκτής με διαστάσεις που κάθε φορά απαιτούνται, (γ) εύκολη και γρήγορη κατασκευή και χρησιμοποίηση των πηκτών. Εν συνεχεία, απαραίτητη θεωρείται η ανάμιξη του δείγματος DNA με την χρωστική βρωμοφαινόλη. Με τον τρόπο αυτό το δείγμα γίνεται ορατό και διευκολύνεται η εισαγωγή του στην κατάλληλη περιοχή της πηκτικής αгарόζης. Στο επόμενο στάδιο, εφαρμόζεται ηλεκτρικό πεδίο (90-100V) κατά μήκος της πηκτής, με αποτέλεσμα το DNA να κατευθύνεται προς την άνοδο. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι το DNA καθίσταται αρνητικά φορτισμένο σε ουδέτερο pH, λόγω της παρουσίας των φωσφορικών ομάδων.

Οι ζώνες του DNA σε πηκτική αгарόζης δεν είναι δυνατόν να γίνουν ορατές μετά την ολοκλήρωση της ηλεκτροφόρησης, εκτός αν το DNA βαφεί με κάποιο τρόπο. Έτσι, ακολουθεί εμβάπτιση της πηκτής σε διάλυμα βρωμιούχου αιθιδίου. Η ουσία αυτή παρεμβάλλεται ανάμεσα στις βάσεις του DNA. Μετά την τοποθέτηση της πηκτής σε συσκευή UV, οι ζώνες του DNA είναι ορατές, γεγονός που οφείλεται στο φθορισμό της χρωστικής κάτω από την υπεριώδη ακτινοβολία. Ακολουθεί η φωτογράφιση του DNA.

Πέψη με περιοριστικά ένζυμα

Η λειτουργία των ενζύμων περιορισμού (ενδονουκλεάσες) είναι ο τμηματισμός κατά τρόπο καθορισμένο και επαναλαμβανόμενο, το δίκλωνο DNA. Ο δεσμός που υδρολύουν οι ενδονουκλεάσες αυτές εντοπίζεται στο εσωτερικό του μορίου του DNA. Η δράση των ενζύμων αυτών επάγει τη μείωση με επαναλαμβανόμενο τρόπο ενός ολόκληρου γονιδιώματος, σε μια σειρά από χαρακτηριστικά τμήματα ενός συγκεκριμένου DNA. Έτσι, τα γονίδια ή τα τμήματα των γονιδίων δεν αποτελούν διασκορπισμένες πληροφορίες στο μοριακό σύνολο αλλά φυσικές ενότητες.

Η ονοματολογία των ενζύμων περιορισμού ακολουθεί μια συγκεκριμένη ακολουθία. Ειδικότερα, το πρώτο γράμμα είναι ένα κεφαλαίο που υποδηλώνει το πρώτο γράμμα του είδους του βακτηρίου από το οποίο προέρχεται το περιοριστικό ένζυμο. Τα δύο επόμενα γράμματα είναι μικρά και δηλώνουν το γένος του βακτηρίου. Τα τρία αυτά γράμματα ακολουθούνται από έναν λατινικό αριθμό που αντιπροσωπεύει τη σειρά ανακάλυψης του ενζύμου στο βακτήριο αυτό. Τέλος, εάν είναι απαραίτητο, προστίθεται ένα κεφαλαίο γράμμα που δηλώνει το στέλεχος του βακτηρίου.

Κοινό χαρακτηριστικό όλων των ενζύμων περιορισμού είναι ότι αναγνωρίζουν μια εξειδικευμένη αλληλουχία νουκλεοτιδίων στο DNA. Η δράση του ενζύμου μετά την αναγνώριση αυτή εξαρτάται από τον τύπο του. Έτσι, διακρίνονται τρεις τύποι ενζύμων περιορισμού: (α) Ένζυμα τύπου I, τα οποία από τη στιγμή που αναγνωρίζουν την αλληλουχία, μετακινούνται επάνω στο DNA, σταματούν τυχαία 1000 έως 5000 ζεύγη

βάσεων πιο μακριά από το σημείο αυτό και απελευθερώνουν μερικές δεκάδες νουκλεοτίδια, (β) Ένζυμα τύπου II, τα οποία αναγνωρίζουν την αλληλουχία και τέμνουν το DNA στο επίπεδο της αλληλουχίας αυτής, και (γ) Ένζυμα τύπου III, τα οποία αναγνωρίζουν μια αλληλουχία και τέμνουν το DNA είκοσι περίπου νουκλεοτίδια πιο μακριά.

Στο εργαστήριο χρησιμοποιούνται μόνο τα ένζυμα τύπου II και η δραστηριότητά τους είναι θερμοεξαρτώμενη. Επίσης, επηρεάζεται από τη σύσταση του διαλύματος επώασης και τη μοριακή σχέση του ενζύμου με το υπόστρωμα. Το μήκος των αλληλουχιών που αναγνωρίζουν τα περιοριστικά ένζυμα τύπου II κυμαίνεται μεταξύ 4 και 8 βάσεων. Ένα άλλο αξιοσημείωτο χαρακτηριστικό των ενζύμων τύπου II είναι ότι οι αλληλουχίες που αναγνωρίζουν είναι παλίνδρομες. Αυτό σημαίνει ότι η αλληλουχία είναι όμοια στις δύο αλυσίδες του DNA, όταν διαβάζονται με κατεύθυνση 5'→3' ή με κατεύθυνση 3'→5'. Η τομή επομένως γίνεται στο ίδιο σημείο και στις δύο αλυσίδες. Τα περιοριστικά ένζυμα τύπου II μπορούν να δώσουν είτε τμήματα με τυφλά άκρα, δηλαδή άκρα χωρίς μονόκλωνες προεξοχές, είτε τμήματα με συμπληρωματικά άκρα, δηλαδή άκρα με μονόκλωνες προεξοχές.

✓ Επιλογή SNPs και γονοτύπων

Ακουοπορίνη 4 (Aquoportin 4 – AQP4)

Βασιζόμενοι στα HarMap δεδομένα για τους βόρειους και δυτικούς πληθυσμούς της Ευρώπης (Release 27, Phase II + III, Feb09, on NCBI B36 assembly, dbSNP b126), επιλέχθηκαν SNPs κατά μήκος ολόκληρης της περιοχής του γονιδίου AQP4 (13.7Kbp εκτεινόμενα από τη θέση 22.686.005 έως τη θέση 22.699.714 στο χρωμόσωμα 18) με χρήση του αλγορίθμου Tagger (<http://www.broadinstitute.org/mpg/tagger/>), με προσέγγιση ανά ζεύγη, με r^2 αποκοπή $\geq 0,8$ και συχνότητα ελάσσονος αλληλίου $> 0,05$.

Συνολικά ανακτήθηκαν επτά SNPs σε τρεις διαφορετικές γονιδιακές περιοχές: στην περιοχή 3'UTR (rs335929, rs3763043), στην ιντρονική περιοχή μεταξύ των εξωνίων 4-5 (rs11661256, rs335931), και στο ιντρόνιο 1-2 (rs3763040, rs4800773, rs3875089). Οι θέσεις των SNPs κατά μήκος του γονιδίου της AQP4 απεικονίζονται στον πίνακα 5.

Η γονοτυπική ανάλυση των SNPs πραγματοποιήθηκε με TaqMan αλληλόμορφες ειδικές δοκιμασίες διακρίσεων σε σύστημα ανίχνευσης ABI Prism® 7900 και αναλύθηκε με το λογισμικό SDS (Applied Biosystems, Foster City, CA)¹⁵⁹.

□ Πίνακας 5: Γονοτυπικά χαρακτηριστικά AQP4 TAG SNPs

Αριθμός rs ¹	Θέση στο χρωμόσωμα ²	Απόσταση από την αρχή του γονιδίου	Γονιδιακή Θέση	Λειτουργία	Συχνότητα ελάχιστου αλληλίου ³
rs335929	24435587	3585	3'UTR	Ρυθμιστική	C (0.164)
rs3763043	24435818	3816	3'UTR	Ρυθμιστική	T (0.358)
rs11661256	24438540	6538	Ιντρόνιο 4-5	Μη-κωδικοποιητική	A (0.142)
rs335931	24439072	7070	Ιντρόνιο 4-5	Μη-κωδικοποιητική	G (0.167)
rs3763040	24444374	12372	Ιντρόνιο 1-2	Μη-κωδικοποιητική	A (0.241)
rs4800773	24444981	12979	Ιντρόνιο 1-2	Μη-κωδικοποιητική	A (0.412)
rs3875089	24445433	13431	Ιντρόνιο 1-2	Μη-κωδικοποιητική	C (0.150)

¹Η θέση του κάθε SNP στο χρωμόσωμα 18 βασίστηκε στο dbSNP human build 135 & human genome build 37.3

²Απόσταση από την αρχή του γονιδίου (24432002)-αναστροφο σκέλος

³Συχνότητα ελάσσονος αλληλίου στον Καυκάσιο πληθυσμό (HarMap Data Rel 27, Phase II+III, Feb09, on NCBI B36 assembly, dbSNP b126)

Αγγειοτενσίνη (Angiotensin – ACE)

Εφαρμόσαμε μια τακτική προσέγγισης με SNPs κατά μήκος του εύρους του γονιδίου ACE (περιοχή 37.03 kbp στην chr17: 58 915 909 - 58 952 935, ισομορφή 3), για να καλύψουμε την κοινή γενετική ποικιλομορφία του γονιδίου. Συνολικά, πέντε ετικέτες SNPs (rs4343, rs4461142, rs7221780, rs8066276 και rs8066114) επιλέχθηκαν από τη βάση δεδομένων HarMap για τον μελετώμενο πληθυσμό χρησιμοποιώντας τον αλγόριθμο Tagger με κατά ζεύγη προσέγγιση, αποκοπή r^2 στο 0,8 ή περισσότερο, και συχνότητα ελάχιστου αλληλομόρφου μεγαλύτερη του 0,05. Τα SNPs που εντοπίστηκαν κατανεμήθηκαν σε δύο διακριτές γονιδιακές ομάδες: rs4343 και rs4461142 στο πρώτο μπλοκ ($D' = 0.793$) και rs7221780, rs8066276 και rs8066114 ($D' \approx 1$) στο δεύτερο μπλοκ. Ο γνωστός ACE I / D πολυμορφισμός περιλαμβάνεται στο πρώτο μπλοκ και μόνο 127 bp μακριά από την θέση rs4343. Πληροφορίες σχετικά με τα χρωμοσώματα και τις γονιδιακές θέσεις των SNPs και των ελαχίστων αλληλομόρφων συχνοτήτων για τον πληθυσμό HarMap-CEU (κάτοικοι της Γιούτα με

καταγωγή από τη βόρεια και δυτική Ευρώπη) και για τον πληθυσμό HarMap-TSI (Κάτοικοι Τοσκάνης στην Ιταλία), με τον τελευταίο να βρίσκεται πλησιέστερα στον ελληνικό πληθυσμό, παρουσιάζονται στον πίνακα 6¹⁶⁰.

[□] **Πίνακας 6.** Γονοτυπικά χαρακτηριστικά των SNPs του μετατρεπτικού γονιδίου της αγγειοτενσίνης (ACE).

rs	Χρωμοσωμική θέση	Γονιδιακή θέση	Λειτουργία	MAF (CEU)*	MAF (TSI)*
rs4343	58919763	Exon 5	Κωδικοποίηση συνονύμου	G (0.491)	A (0.352)
rs4461142	58931780	Intron 13	Μη κωδικοποίηση	T (0.469)	C (0.369)
rs7221780	58941858	Exon 24	3' UTR	C (0.455)	C (0.307)
rs8066276	58942997	Intron 24	Μη κωδικοποίηση	T (0.398)	T (0.261)
rs8066114	58943572	Intron 24	Μη κωδικοποίηση	G (0.394)	C (0.471)

* Συχνότητα ελαχίστου αλληλίου (MAF) για τον πληθυσμό της Γιούτα με καταγωγή από τη βόρεια και δυτική Ευρώπη (CEU) και για τον πληθυσμό των κατοίκων Τοσκάνης στην Ιταλία (TSI)

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

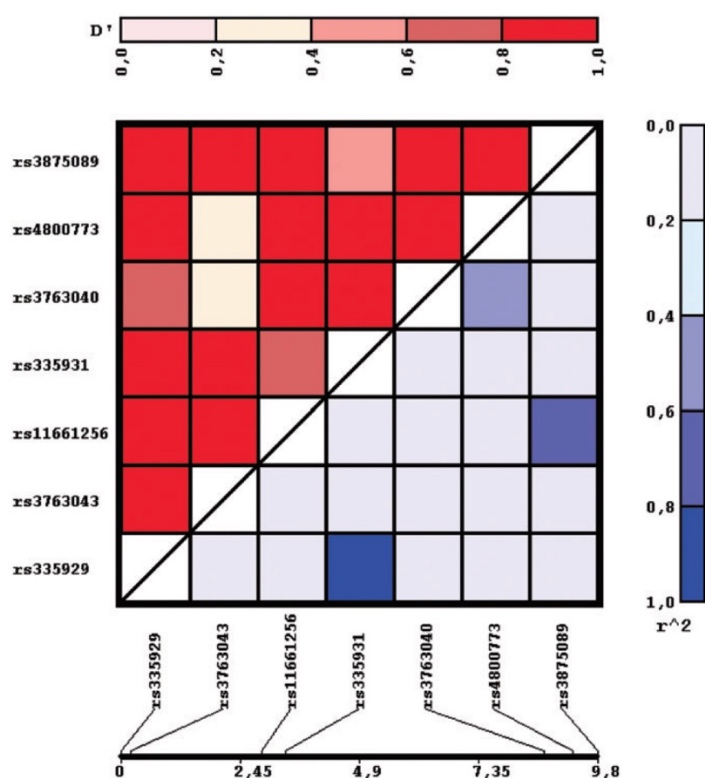
Η ισορροπία Hardy-Weinberg (HWE) εκτιμήθηκε με τη χρήση του exact test. Η αξιολόγηση της ισχύος (power analysis) της μελέτης έγινε με τη χρήση του προγράμματος Quanto (<http://hydra.usc.edu/GxE>, version 1.2.4), το οποίο υπολογίζει το μέγεθος του δείγματος ή την ισχύ μελετών γενετικής συσχέτισης. Με βάση τον αλγόριθμο προσδοκία-μεγιστοποίησης (expectation maximization algorithm), κατασκευάστηκαν οι απλότυποι από τα tag SNPs αλληλόμορφα, χρησιμοποιώντας τις πλατφόρμες SimHar18 και SHEsis (<http://analysis.bio-x.cn>). Έγινε υπολογισμός της ανισορροπίας σύνδεσης (κατά ζεύγη D' και r^2) μεταξύ των πολυμορφισμών που μελετήθηκαν με τη βοήθεια του προγράμματος JLIN¹⁵⁵⁻¹⁵⁷.

Επιπρόσθετα, για να γίνει προσαρμογή της συσχέτισης κάθε πολυμορφισμού, λαμβάνοντας υπόψη τις επιδράσεις διαφόρων μεταβλητών και συσχετίσεων μεταξύ των μεμονωμένων tag SNPs, χρησιμοποιήθηκαν μοντέλα λογιστικής παλινδρόμησης (regression models), με βάση τα οποία υπολογίσθηκε ο λόγος αναλογιών (odds ratio) με τα αντίστοιχα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης (95% confidence intervals). Έτσι, για τον έλεγχο μεταξύ ευνοϊκής και δυσμενούς έκβασης έγινε σταθεροποίηση για ηλικία, φύλο, παρουσία αιμορραγίας, όγκο αιματώματος, διάχυτο εγκεφαλικό οίδημα, GCS εισόδου και νευροχειρουργική (N/X) παρέμβαση. Για τη διερεύνηση συσχέτισης ανάμεσα στις διάφορες υποκατηγορίες της GCS (βαριά, μέτρια, ήπια ΚΕΚ) έγινε

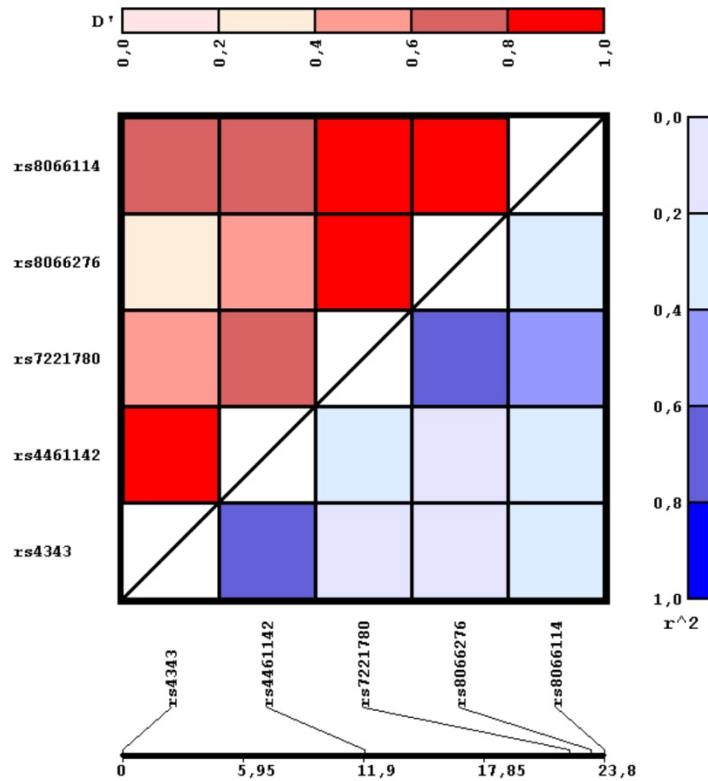
σταθεροποίηση για ηλικία, φύλο, παρουσία αιμορραγίας, όγκο αιματώματος και διάχυτο εγκεφαλικό οίδημα Τέλος, για τη σύγκριση ανάμεσα στα άτομα με αιμορραγικά ή όχι φαινόμενα έγινε σταθεροποίηση για ηλικία, φύλο, διάχυτο εγκεφαλικό οίδημα, GCS εισόδου και N/X παρέμβαση.

Οι αναλογίες πιθανοτήτων (Odds Ratios – ORs) και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης (Confidence Intervals – CIs) υπολογίστηκαν υποθέτωντας διαφορετικούς τρόπους κληρονομικότητας (κυρίαρχη: [AA] έναντι [Ab + ββ], υπολειπόμενο: [AA + AB] εναντίον [BB] και το μοντέλο διαφορά αλληλόμορφο [A] εναντίον [b])¹⁵⁸.

Παρότι θεωρείται συντηρητική για στενά συνδεδεμένα SNPs, εφαρμόστηκε η διόρθωση του Bonferroni για πολλαπλές συγκρίσεις και ως κατώφλι σημαντικότητας ορίστηκε το 0,05 διαιρούμενο με τον αριθμό των μελετούμενων SNPs. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε λογισμικό SPSS έκδοση 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).



□ Ανισορροπία σύνδεσης κατά ζεύγη (Pairwise LD) μεταξύ των μελετώμενων AQP4 SNPs (rs335929, rs3763043, rs11661256, rs335931, rs3763040, rs4800773, rs3875089) στο δείγμα των ασθενών με ΚΕΚ.



- Ανισορροπία σύνδεσης κατά ζεύγη (Pairwise LD) μεταξύ των μελετώμενων ACE SNPs (rs4343, rs4461142, rs7221780, rs8066276, rs8066114) στο δείγμα των ασθενών με ΚΕΚ.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ακουοπορίνη 4 (Aquaporin 4 – AQP4)

Τα βασικά δημογραφικά, κλινικά και απεικονιστικά χαρακτηριστικά των 363 ασθενών με ΚΕΚ παρουσιάζονται στον πίνακα 7. Τα χαρακτηριστικά των ασθενών και οι GCS κατά την εισαγωγή τους, όπως και η έκβασή τους 6 μήνες μετά (GOS) παρουσιάζονται στον Πίνακα 8.

Πίνακας 7. Δημογραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΚΕΚ.

Χαρακτηριστικά (n=363)	Μέση τιμή (Σταθερή απόκλιση, εύρος)
Ηλικία (σε έτη)	42,67 (21,8, 18-88) Συχνότητα
Γυναίκες (n=71)	19,5%
Άνδρες (n=292)	80,5%
GCS 13-15 (n=179)	49,3%
Ευνοϊκή έκβαση (n=170)	95,0%
Δυσμενής έκβαση (n=9)	5,0%
GCS 9-12 (n=54)	14,9%
Ευνοϊκή έκβαση (n=36)	66,7%
Δυσμενής έκβαση (n=18)	33,3%
GCS 3-8 (n=130)	35,8%
Ευνοϊκή έκβαση (n=78)	60,0%
Δυσμενής έκβαση (n=52)	40,0%
Αιμορραγία	
Οποιοδήποτε	73,8%
Θλάσεις	41,8%
Υπαραχνοειδής αιμορραγία	49,0%
Επισκληρίδιο αιμάτωμα	13,2%
Υποσκληρίδιο αιμάτωμα	26,2%
Ενδοεγκεφαλικό αιμάτωμα	8,3%
Ενδοκοιλιακή αιμορραγία	13,0%

Πίνακας 8. Χαρακτηριστικά των ασθενών, GCS κατά την εισαγωγή τους και GOS 6 μήνες μετά.

	Συνολικό δείγμα ασθενών (n=363)	Ευνοϊκή έκβαση (n=284)	Δυσμενής έκβαση (n=79)
Φύλο			
Άνδρες	292 (80,4)	228 (80,3)	64 (81,0)
Γυναίκες	71 (19,6)	56 (19,7)	15 (19,0)
Ηλικία (σε έτη)			
Μέση	42,67	39,20	55,19
Σταθερή απόκλιση	21,80	20,15	23,05
Έυρος	18-88	18-84	18-88
GCS κατά την εισαγωγή			
3-8	130 (0,358)	78 (0,275)	52 (0,658)
9-12	54 (0,149)	36 (0,127)	18 (0,228)
13-15	179 (0,493)	170 (0,598)	9 (0,114)

Οι συχνότητες των αλληλίων και των γονοτύπων της μελέτης, όπως και η ευνοϊκή και δυσμενής έκβαση των ασθενών 6 μήνες μετά παρουσιάζονται στον πίνακα 9. Μεταξύ των επτά ετικετών SNPs, η rs3763040 παρουσίασε απόκλιση από την HWE ($p = 0,002$) και ως εκ τούτου αποκλείστηκε από τις περαιτέρω αναλύσεις. Κατά συνέπεια, το επίπεδο σημαντικότητας p βασιζόμενο στην διόρθωση Bonferroni για πολλαπλές συγκρίσεις, ορίστηκε σε $0,05 / 6 = 0,008$. Η ανάλυση ισχύος έδειξε ότι το μέγεθος του δείγματος ήταν επαρκές για να ανιχνεύσει μια αναλογία πιθανοτήτων (Odds Ratio, OR) της τάξης 1.67-2.15, με στατιστική ισχύ $> 80\%$, υποθέτοντας μια στατιστική σημαντικότητα επιπέδου 0,05, τον πρόσθετο τρόπο κληρονομικότητας και μια συχνότητα ελάσσονος αλληλομόρφου 37.3% και 8.4% (η υψηλότερη σε rs4800773 και η χαμηλότερη σε rs11661256 αντίστοιχα).

Πίνακας 9. Συχνότητες αλληλίων και γονοτύπων για SNPs στο συνολικό δείγμα ασθενών με ΚΕΚ, καθώς και στις υποομάδες με δυσμενή και ευνοϊκή έκβαση.

SNP	Γονότυπος/Αλληλίο	Συνολικό δείγμα ΚΕΚ, n (%)	Ευνοϊκή έκβαση, n (%)	Δυσμενής έκβαση, n (%)	
rs335929	Γονότυπος	A/A	205 (0,579)	152 (0,553)	53 (0,671)
		A/C	125 (0,353)	104 (0,378)	21 (0,266)
		C/C	24 (0,068)	19 (0,069)	5 (0,063)
	Αλληλίο	A	535 (0,756)	408 (0,742)	127 (0,804)
		C	173 (0,244)	142 (0,258)	31 (0,196)
rs3763043	Γονότυπος	C/C	196 (0,552)	166 (0,601)	30 (0,380)
		C/T	131(0,369) 28 (0,079)	94 (0,341)	37 (0,468)
		T/T	523 (0,737)	16 (0,058)	12 (0,152)
	Αλληλίο	C	187 (0,263)	426 (0,772)	97 (0,614)
		T		126 (0,228)	61 (0,386)
rs11661256	Γονότυπος	T/T	297 (0,844)	234 (0,848)	63 (0,829)
		T/A	51 (0,145)	38 (0,138)	13 (0,171)
		A/A	4 (0,011)	4 (0,014)	0 (0,000)
	Αλληλίο	T	645 (0,916)	506 (0,917)	139 (0,914)
		A	59 (0,084)	46 (0,083)	13 (0,086)
rs335931	Γονότυπος	A/A	207 (0,591)	152 (0,561)	55 (0,696)
		A/G	123 (0,351)	102 (0,376)	21 (0,266)
		G/G	20 (0,057)	17 (0,063)	3 (0,038)

Αλληλίο	A	537 (0,767)	406 (0,749)	131 (0,829)
	G	163 (0,233)	136 (0,251)	27 (0,171)
rs3763040				
Γονότυπος	G/G	219 (0,607)	170 (0,603)	49 (0,620)
	G/A	110 (0,305)	92 (0,326)	18 (0,228)
	A/A	32 (0,089)	20 (0,071)	12 (0,152)
Αλληλίο	G	548 (0,759)	432 (0,766)	116 (0,734)
	A	174 (0,241)	132 (0,234)	42 (0,266)
rs4800773				
Γονότυπος	G/G	137 (0,395)	104 (0,388)	33 (0,418)
	G/A	161 (0,464)	130 (0,485)	31 (0,392)
	A/A	49 (0,141)	34 (0,127)	15 (0,190)
Αλληλίο	G	435 (0,627)	338 (0,631)	97 (0,614)
	A	259 (0,373)	198 (0,369)	61 (0,386)
rs3875089				
Γονότυπος	T/T	289 (0,810)	226 (0,804)	63 (0,829)
	T/C	61 (0,171)	48 (0,171)	13 (0,171)
	C/C	7 (0,019)	7 (0,025)	0 (0,000)
Αλληλίο	T	639 (0,895)	500 (0,890)	139 (0,914)
	C	75 (0,105)	62 (0,110)	13 (0,086)

Η μονοπαραγοντική και πολυπαραγοντική ανάλυση μονής θέσης (single-locus analysis) της έκβασης 6 μήνες μετά την ΚΕΚ παρουσιάζεται στον πίνακα 10. Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, η ηλικία (OR: 1,09, 95% CI [1,06-1,12], $p < 0,001$) και η βαθμολογία GCS κατά την εισαγωγή (OR: 0,56, 95% CI [0,48 - 0,65], $p < 0,001$), αλλά όχι το φύλο συσχετιζόνταν στατιστικά σημαντικά με την έκβαση (GOS) στους 6 μήνες. Επιπλέον, δύο ετικέτες SNPs βρέθηκαν να επηρεάζουν σημαντικά την έκβαση της ΚΕΚ: rs3763043 και rs3875089. Στο SNP rs3763043, ο γονότυπος TT ήταν στατιστικά σημαντικά πιο συχνός στην ομάδα ασθενών με δυσμενή έκβαση με ένα OR 5,15 (95% CI [1,60-16,5], $p = 0,006$) στο υπολειπόμενο μοντέλο. Τα κυρίαρχα και τα διάφορα αλληλόμορφα, επίσης, συσχετιζόνταν σημαντικά με την έκβαση μετά από ΚΕΚ μετά την διόρθωση Bonferroni. Στο SNP rs3875089, το λιγότερο συχνά εμφανιζόμενο αλληλίο C βρέθηκε επιδρά προστατευτικά, επειδή ήταν πιο συχνό μεταξύ των ασθενών

με ευνοϊκό αποτέλεσμα. Τόσο το κυρίαρχο μοντέλο όσο και το αλληλόμορφο έδειξαν σημαντικές συσχετίσεις (OR: 0.22, 95% CI [0,07 - 0,65], $p = 0,006$ και OR: 0,18, 95% CI [0,07- 0,50], $p = 0,0009$, αντίστοιχα) που παρέμεινε σημαντικό μετά την προσαρμογή για πολλαπλές συγκρίσεις.

Ανισοροπίες σύνδεσης (linkage disequilibrium, LD) κατά ζεύγη μεταξύ των μελετηθέντων SNPs για την AQP4 στο δείγμα των ασθενών με ΚΕΚ, ανέδειξε υψηλές τιμές ανισοροπίας (D' values) μεταξύ των περισσοτέρων SNPs του γονιδίου AQP4. Στην ανάλυση πολλαπλών θέσεων των SNPs (Πίνακας 10), έξι κοινοί απλότυποι προβλέφθηκαν να σχηματίζονται από τα έξι SNPs (προβλεπόμενη συχνότητα > 0,05, Πίνακας 9). Ο κοινός απλότυπος ATTAGT βρέθηκε να υπερεμφανίζεται σε στατιστικά σημαντικό βαθμό στην ομάδα ασθενών με δυσμενή έκβαση συγκριτικά με την ομάδα με την ευνοϊκή έκβαση (16,9% έναντι 7,4%, OR: 2,94, 95% CI [1,34 - 6,36], $p = 0,0065$). Αυτός ο απλότυπος συνδυάζει το αλληλόμορφο T του rs3763043 και το T αλληλίο του rs3875089 που σχετίζονται με δυσμενή έκβαση στην ανάλυση μονής θέσης (single-locus analysis) ανάλυση.

Πίνακας 10. Η μονοπαραγοντική και πολυπαραγοντική ανάλυση μονής θέσης (single-locus analysis) της 6-μηνιαίας έκβασης μετά από ΚΕΚ.

SNPs	Μοντέλο	Μονοπαραγοντική ανάλυση		Πολυπαραγοντική ανάλυση	
		Ευνοϊκή / Δυσμενής έκβαση		Ευνοϊκή / Δυσμενής έκβαση	
		OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P
rs335929	Dom	0,60 (0,35-1,02)	0,06	0,49 (0,25-1,00)	0,051
	Rec		0,85		0,76
	Allele Difference	0,91 (0,33-2,52)	0,12	0,80 (0,21-3,16)	0,09
		0,71 (0,46-1,09)		0,61 (0,35-1,08)	
rs3763043	Dom	2,46 (1,47-4,12)	0,0005	2,39 (1,25-4,58)	0,008
	Rec		0,008		0,006
	Allele Difference	2,91 (1,31-6,44)	0,0001	5,15 (1,60-16,5)	0,001
		2,08 (1,42-3,04)		2,30 (1,38-3,83)	

rs11661256	Dom	1,14 (0,58-2,27)	0,68	0,24 (0,07-0,75)	0,014
	Rec	-	-	-	-
	Allele Difference	1,02 (0,54-1,92)	0,93	0,24 (0,07-0,75)	0,014
rs335931	Dom	0,55 (0,32-0,95)	0,03	0,40 (0,19-0,82)	0,012
	Rec	0,58 (0,16-2,06)	0,41	0,27 (0,05-1,44)	0,126
	Allele Difference	0,61 (0,39-0,97)	0,039	0,44 (0,24-0,82)	0,009
rs4800773	Dom	0,88 (0,53-1,47)	0,63	0,96 (0,48-1,89)	0,91
	Rec	1,61 (0,82-3,14)	0,16	2,18 (0,81-5,89)	0,12
	Allele Difference	1,07 (0,74-1,54)	0,70	1,17 (0,72-1,92)	0,51
rs3875089	Dom	0,84 (0,43-1,65)	0,62	0,22 (0,07-0,65)	0,006
	Rec	-	-	-	-
	Allele Difference	0,77 (0,42-1,41)	0,39	0,18 (0,07-0,50)	0,0009

Αγγειοτενσίνη (Angiotensin – ACE)

Τα κύρια δημογραφικά, κλινικά και απεικονιστικά χαρακτηριστικά του δείγματος των 363 συμμετεχόντων παρουσιάστηκαν στον προαναφερθέντα Πίνακα 7. Το δείγμα αποτελείτο κυρίως από άρρενες ασθενείς (80,4%) με μέση ηλικία τα 39 έτη. Η μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση (SD) της Κλίμακας Γλασκώβης κατά την εισαγωγή ήταν $10,8 \pm 3,9$. Ένα σύνολο 79 ασθενών (21,7% επί του συνόλου με μέσο όρο ηλικίας \pm SD 55.19 ± 23.05) είχε δυσμενή έκβαση (GOS) στους 6 μήνες, ενώ οι υπόλοιποι 284 ασθενείς (μέση ηλικία \pm SD $39,20 \pm 20,15$ έτη) είχαν ευνοϊκή έκβαση. Οι συχνότητες του αλληλομόρφου και των γονοτύπων του συνόλου του δείγματος, καθώς και των ασθενών με ευνοϊκή ή δυσμενή έκβαση παρουσιάζονται στον Πίνακα 11.

Πίνακας 11. Συχνότητες αλληλίων και γονοτύπων για SNPs στο συνολικό δείγμα ασθενών με ΚΕΚ, καθώς και στις υποομάδες με δυσμενή και ευνοϊκή έκβαση.

SNP	Γονότυπος/Αλληλίο	Συνολικό δείγμα ΚΕΚ, n (%)	Ευνοϊκή έκβαση, n (%)	Δυσμενής έκβαση, n (%)	
rs4343	Γονότυπος	A/A	78 (0,216)	56 (0,199)	22 (0,278)
		A/G	140 (0,389)	125 (0,445)	15 (0,190)
		G/G	142 (0,394)	100 (0,356)	42 (0,532)
	Αλληλίο	A	296 (0,411)	237 (0,422)	59 (0,373)
		G	424 (0,589)	325 (0,578)	99 (0,627)
rs4461142	Γονότυπος	C/C	62 (0,178)	40 (0,147)	22 (0,289)
		C/T	173 (0,497)	152 (0,559)	21 (0,276)
		T/T	113 (0,325)	80 (0,294)	33 (0,434)
	Αλληλίο	C	297 (0,427)	232 (0,426)	65 (0,428)
		T	399 (0,573)	312 (0,574)	87 (0,572)
rs7221780	Γονότυπος	T/T	131 (0,362)	111 (0,392)	20 (0,253)
		T/C	184 (0,508)	144 (0,509)	40 (0,506)
		C/C	47 (0,130)	28 (0,099)	19 (0,240)
	Αλληλίο	T	446 (0,616)	366 (0,647)	80 (0,506)
		C	278 (0,384)	200 (0,353)	78 (0,494)
rs8066276	Γονότυπος	C/C	156 (0,433)	132 (0,470)	24 (0,304)
		C/T	173 (0,481)	127 (0,452)	46 (0,506)

Αλληλίο	T/T	31 (0,086)	22 (0,078)	19 (0,240)
	C	485 (0,674)	391 (0,696)	80 (0,506)
	T	235 (0,326)	171 (0,304)	78 (0,494)
rs8066114				
Γονότυπος	C/C	108 (0,303)	74 (0,266)	34 (0,436)
	C/G	186 (0,522)	156 (0,561)	30 (0,385)
	G/G	62 (0,174)	48 (0,173)	14 (0,180)
Αλληλίο	G	402 (0,565)	304 (0,547)	98 (0,628)
	C	310 (0,435)	252 (0,453)	58 (0,372)

Οι γονοτυπικές συχνότητες των SNPs στο δείγμα μελέτης της ΚΕΚ δεν παρουσίασαν απόκλιση από την ισορροπία Hardy-Weinberg (HWE), εκτός από το rs4343 ($P = 0.0002$), το οποίο ακολούθως αποκλείστηκε από την περαιτέρω ανάλυση. Κατά συνέπεια, βασιζόμενοι στην διόρθωση κατά Bonferroni για πολλαπλές συγκρίσεις, το όριο σημαντικότητας ορίστηκε σε $p = 0,05 / 4 = 0,0125$. Η ανάλυση ισχύος του δείγματος έδειξε ότι η ομάδα ασθενών με ΚΕΚ είχε επαρκή στατιστική ισχύ άνω του 80% για την επίτευξη μιας OR 1,68 υποθέτοντας ένα πρόσθετο γενετικό μοντέλο, ένα επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας 0,05, και μία ελάχιστη συχνότητα αλληλίου 32,6 και 43,5%, η οποία είναι η χαμηλότερη (rs8066276) και η υψηλότερη (rs8066114) στο δείγμα, αντίστοιχα.

Η πολυπαραγοντική ανάλυση των δημογραφικών και κλινικών δεδομένων έδειξαν ότι η GCS κατά την εισαγωγή (OR 0,56, 95%, CI 0,48-0,65, $P < 0,001$) και η ηλικία (OR 1,09, 95% CI 1.6-1.12, $P < 0.001$), αλλά όχι το φύλο (OR 1,08, 95% CI 0,45 - 2,63, $P = 0,854$) ή η παρουσία αιμορραγίας (OR 1.303, 95% CI 0,343-4,956, $P = 0,69$), ήταν ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες για την 6-μηνιαία έκβαση (GOS).

Μονοπαραγοντικές και πολυπαραγοντικές αναλύσεις συσχετίσεων για κάθε SNP σχετικά με την έκβαση των ασθενών (GOS) 6 μήνες μετά παρουσιάζονται στον Πίνακα 12. Σημαντικές συσχετίσεις μετά τις διορθώσεις κατά Bonferroni βρέθηκαν για τα SNP rs4461142 για τα ετερόζυγα TC (OR 0.26, 95% CI 0,12-0,57), rs7221780 τόσο για τα ετερόζυγα TC (OR 2,67, 95% CI 1,25-5,72) όσο και τα ομόζυγα CC (OR 8,51, 95% CI 2,77-26,12) και για το rs8066276 τόσο για τα ετερόζυγα TC (OR 3,82, 95% CI 1,80-8,13) όσο και για τα ομόζυγα TT (OR 7,32, 95% CI 2,06-25,99).

Πίνακας 12. Η μονοπαραγοντική και πολυπαραγοντική ανάλυση μονής θέσης (single-locus analysis) της 6-μηνης έκβασης μετά από ΚΕΚ.

SNPs	Γονότυπος	Ευνοϊκή έναντι Δυσμενούς έκβασης			
		Μονοπαραγοντική ανάλυση		Πολυπαραγοντική ανάλυση	
		OR (95% CI)	P*	OR (95% CI)	P
rs4461142	T/T	1,00		1,00	
	T/C	0,33 (0,18-0,62)	<0,0001	0,26 (0,12-0,57)	0,0001
	C/C	1,33 (0,69-2,58)		1,60 (0,62-4,14)	
rs7221780	T/T	1,00		1,00	
	T/C	1,42 (0,79-2,55)	0,0041	2,67 (1,25-5,72)	0,0003
	C/C	3,55 (1,68-7,50)		8,51 (2,77-26,12)	
rs8066276	C/C	1,00		1,00	
	T/C	2,01 (1,16-3,48)	0,026	3,82 (1,80-8,13)	0,0002
	T/T	2,25 (0,92-5,47)		7,32 (2,06-25,99)	
rs8066114	C/C	1,00		1,00	
	G/C	0,42 (0,24-0,74)	0,0095	0,42 (0,20-0,90)	0,076
	G/G	0,68 (0,34-1,38)		0,49 (0,19-1,27)	

* οι τιμές με στατιστική σημαντικότητα σημειώνονται με έντονα νούμερα

Αναλύσεις κατά ζεύγη LD μεταξύ SNPs της ομάδας ασθενών με ΚΕΚ, έδειξαν δύο διακριτά τμήματα LD του γονιδίου ACE: το πρώτο τμήμα αποτελούταν από τα rs4343 και rs4461142, με ένα D' 0.86, και το δεύτερο τμήμα με τα rs7221780, rs8066276 και rs8066114, με ένα D' 0,98-0,99, που είναι σύμφωνες με την αναμενόμενη LD βάσει των στοιχείων της βάσης δεδομένων HarMap.

Τέλος, η ανάλυση πολλαπλών θέσεων των τεσσάρων SNPs που εμφανίστηκαν στην HWE, κατέδειξε την παρουσία επτά κοινών απλοτύπων (TTCCG, CCTC, CTCC, TCTC, TTCC, CCCC, CTCG) με συχνότητα μεγαλύτερη από 5%. Οι συχνότητες των απλοτύπων αυτών στην ομάδα με ευνοϊκή και οι δυσμενή έκβαση παρουσιάζονται στον Πίνακα 13. Η πολυπαραγοντική ανάλυση παλινδρόμησης των ανιχνευθέντων

απλότυπων μεταξύ των ασθενών με ευνοϊκή και δυσμενή έκβαση, έδειξε ότι ο απλότυπος TCTC ήταν σημαντικά υπερεκπροσωπούμενος στην ομάδα με δυσμενή έκβαση (P=0,018). Ωστόσο, η συσχέτιση αυτή δεν κατάφερε να παραμείνει μετά την διόρθωση Bonferroni για πολλαπλές συγκρίσεις, καθώς το όριο σημαντικότητας ήταν $P = 0,05/7 = 0,007^{159,160}$.

Πίνακας 13. Απλότυποι των SNPs του ενζύμου της αγγειοτενσίνης (ACE) στις υποομάδες των ασθενών με ευνοϊκή και δυσμενή έκβαση.

Απλότυποι	Ευνοϊκή Έκβαση (%)	Δυσμενής Έκβαση (%)	OR (95% CI)	Σημαντικότητα P
TTCG	42,8	34,6	0,65 (0,31-1,35)	0,238
CCTC	23,8	23,7	1,71 (0,75-3,85)	0,206
CTCC	09,5	05,6	0,51 (0,19-1,29)	0,151
TCTC	06,8	14,4	3,16 (1,18-8,09)	0,0182
TTCC	07,5	08,2	0,99 (0,25-3,80)	0,807
CCCC	04,9	08,6	1,03 (0,35-2,99)	0,772
CTCG	04,2	04,9	0,48 (0,12-1,75)	0,247

Οι απλότυποι προέκυψαν από τους πολυμορφισμούς των rs4461142 C/T, rs7221780 T/C, rs8066276 C/T και rs8066114 C/G.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ακουοπορίνη 4 (Aquaporin 4 – AQP4)

Στην παρούσα μελέτη, συγκεκριμένες παραλλαγές του γονιδίου της AQP4, το οποίο είναι υπεύθυνο για την κωδικοποίηση του κυριότερου καναλιού νερού στο ΚΝΣ, βρέθηκαν να επηρεάζουν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό την 6-μηνιαία έκβαση των ασθενών μετά από ΚΕΚ.

Είναι γνωστό ότι η δευτερογενής βλάβη στο κεντρικό νευρικό σύστημα μετά την αρχική ΚΕΚ, επάγεται από το εγκεφαλικό οίδημα, την αυξημένη ενδοκρανιακή πίεση, την ιστική υποξία και την διαταραχή του αιματοεγκεφαλικού φραγμού¹⁶¹. Υπάρχουν δύο κύριοι τύποι εγκεφαλικού οιδήματος: το κυτταροτοξικό και το αγγειογενές¹⁶². Το κυτταροτοξικό οίδημα προκαλείται όταν τα κατεστραμμένα εγκεφαλικά κύτταρα και οι αντλίες Na-K ATPase αδυνατούν να διατηρήσουν την διαμεμβρανική μετακίνηση ιόντων, ενώ ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός παραμένει ακέραιος. Ακολούθως, τα κύτταρα διογκώνονται από την εισροή ύδατος. Παρά το γεγονός ότι όλοι οι τύποι των

νευρικών κυττάρων επηρεάζονται στο κυτταροτοξικό οίδημα, τα αστροκύτταρα διογκώνονται περισσότερο¹⁶³. Το αγγειογενές οίδημα εμφανίζεται όταν ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός διασπάται, προκαλώντας μια σταθερή ροή ύδατος από το αίμα στον εγκέφαλο καθοδηγούμενη από την διαφορά της υδροστατικής πίεσης. Η περίσσεια ύδατος μαζί με τις πρωτεΐνες του πλάσματος και τους ηλεκτρολύτες, εξαπλώνεται στον διάμεσο χώρο (interstitial compartment)⁹⁹. Σε μια ΚΕΚ, απαντώνται και οι δύο αυτοί τύποι οιδήματος και αναπτύσσονται με ένα διφασικό πρότυπο: το αγγειογενές οίδημα εμφανίζεται τις πρώτες ώρες μετά την ΚΕΚ ως αποτέλεσμα ρήξης του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, και υποχωρεί σταδιακά εντός των ακόλουθων 7 ημερών, ενώ το κυτταροτοξικό οίδημα αναπτύσσεται πιο αργά αλλά παραμένει μέχρι και δύο εβδομάδες μετά την ΚΕΚ¹⁶⁴.

Η AQP4 ασκεί έναν διπλό ρόλο στη δημιουργία του εγκεφαλικού οιδήματος. Αφενός διευκολύνει τον σχηματισμό κυτταροτοξικού οιδήματος αυξάνοντας τη συγκέντρωση ύδατος, αφετέρου αυξάνει τον ρυθμό μείωσης της περίσσειας ύδατος στο αγγειογενές οίδημα. Τα AQP4-αρνητικά ποντίκια είναι λιγότερο επιρρεπή σε κυτταροτοξικό οίδημα εγκεφάλου, ενώ αντιθέτως η υπερέκφραση της AQP4 στα ποντίκια επιταχύνει τη δημιουργία κυτταροτοξικού οιδήματος. Αντιθέτως, η διαγραφή του γονιδίου της AQP4 επιδεινώνει τον σχηματισμό αγγειογενούς οιδήματος. Ως εκ τούτου, το γονίδιο της AQP4 έχει μια ισχυρή βιολογική συσχέτιση στο σχηματισμό εγκεφαλικού οιδήματος μετά από ΚΕΚ και κατά συνέπεια, στην έκβαση των ασθενών με ΚΕΚ^{124,165,166}.

Παρά τις σημαντικές προσπάθειες που έχουν καταβληθεί τα τελευταία χρόνια για τον εντοπισμό τυχόν συσχετίσεων μεταξύ των πολυμορφισμών του γονιδίου της AQP4 με διάφορες ασθένειες συμπεριλαμβανομένων της σκλήρυνσης κατά πλάκας¹⁶⁷, της ιδιοπαθούς ενδοκράνιας υπέρτασης¹⁶⁸, της εγκεφαλικής νόσου των μικρών αγγείων¹⁶⁹ και της ημικρανίας¹⁷⁰, υπήρξε περιορισμένη επιτυχία στον εντοπισμό περιοχών του γονιδίου της AQP4 με σημαντική λειτουργική συσχέτιση¹⁷¹⁻¹⁷³. Μια προηγούμενη μελέτη ασθενών με ΚΕΚ σχετικά με την πιθανή συμμετοχή παραλλαγών κωδικοποίησης στο εξόνιο 4 της AQP4, απέτυχε να καταδείξει οποιαδήποτε σημαντική επιρροή στην έκβαση των ασθενών αυτών¹⁷⁴.

Οι παραλλαγές του γονιδίου της AQP4 είναι γνωστό ότι κατέχουν σημαντικό ρόλο στη διαπερατότητα ύδατος της κυτταρικής μεμβράνης. Αυτές οι παραλλαγές όμως είναι εξαιρετικά σπάνιες και ως εκ τούτου είναι απίθανο να ασκούν σημαντική επίδραση στους κοινούς φαινοτύπους¹⁷⁵. Η μελέτη μας παρέχει αποδείξεις για πιθανή εμπλοκή δύο γενετικών παραλλαγών, rs3763043 και rs3875089, και ενός κοινού απλοτύπου του γονιδίου της AQP4 στην κλινική έκβαση των ασθενών με ΚΕΚ. Ο πολυμορφισμός rs3763043 εντοπίζεται στη γονιδιακή θέση 3' UTR, μια περιοχή χωρίς έως σήμερα γνωστή ρυθμιστική λειτουργικότητα. Είναι ενδιαφέρον, ωστόσο, ότι σε προηγούμενη μελέτη υπήρξαν στοιχεία για πιθανή συσχέτιση του πολυμορφισμού rs9951307 του γονιδίου της AQP4 με την ανάπτυξη εγκεφαλικού οιδήματος σε ασθενείς με ισχαιμία της μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας¹⁷¹. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο rs9951307 SNP εντοπίζεται έξω από το γονίδιο της AQP4, περίπου 1.5 Kb μακριά από το 3' τελικό σημείο του γονιδίου AQP4 και 5,3 Kb μακριά από το rs3763043. Σύμφωνα με τα στοιχεία ανισοροπίας σύνδεσης (LD) HarMap, αυτοί οι δύο πολυμορφισμοί είναι σε πλήρη LD ($D' = 1$). Συνεπώς, είναι πιθανό αυτοί οι πολυμορφισμοί εντός της 3' UTR περιοχής να επηρεάσουν τη λειτουργία του γονιδίου της AQP4.

Η δεύτερη SNP που σχετίζεται με την έκβαση της ΚΕΚ στη μελέτη μας είναι η rs3875089, η οποία εντοπίζεται στο ιντρόνιο 1-2. Η rs3875089 είναι σε πλήρης LD ($D' = 1$) με την περιοχή του υποκινητή της AQP4. Προηγούμενη λειτουργική ανάλυση του υποκινητή AQP4 αποκάλυψε αρκετές μεταγραφικά ρυθμιστικά στοιχεία που επηρεάζουν τη γονιδιακή έκφραση της AQP4¹⁷⁶. Επιπλέον, το ιντρόνιο 1-2 αποτελεί την περιοχή του υποκινητή της μικρότερης πρωτεϊνικής ισομορφής b της AQP4. Πράγματι, το ιντρόνιο 1-2 αποτελεί μια περιοχή με σημαντικές ρυθμιστικές ιδιότητες, επειδή πολλές περιοχές μεταγραφής, μεθυλίωσης CpG και τροποποίησης ιστονών εντοπίζονται σε αυτή τη γονιδιακή περιοχή. Είναι πιθανό ως εκ τούτου, ότι το ιντρόνιο 1-2 να αντιπροσωπεύει μία γονιδιακή περιοχή με λειτουργική σημασία και συσχέτιση σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις, συμπεριλαμβανομένης της ΚΕΚ.

Σε συμφωνία με τα αποτελέσματά μας, πρόσφατες μελέτες σε ασθενείς με απομυελινωτική νόσο του κεντρικού νευρικού συστήματος, συμπεριλαμβανομένης της οπτική νευρίτιδας, κατέδειξαν σημαντικές συσχετίσεις των παθολογικών αυτών καταστάσεων με πολυμορφισμούς του ιντρονίου 1-2 και της περιοχής του υποκινητή^{172,173}.

Οι ακριβείς μηχανισμοί με τους οποίους το γονίδιο της AQP4 ή οι παραλλαγές του επηρεάζουν την παθοφυσιολογία της ΚΕΚ δεν έχουν ακόμα πλήρως διευκρινιστεί. Υπάρχουν ενδείξεις ότι μια ΚΕΚ προκαλεί διφασική αλλαγή της έκφρασης της AQP4 στα αστροκύτταρα. Αρχικά παρατηρείται μία πρώιμη καταστολή της έκφρασής της, η οποία προάγει τον σχηματισμό του αγγειογενούς οιδήματος, ακολουθούμενη από μια παρατεταμένη υπερέκφραση της AQP4 που ευνοεί τον σχηματισμό του κυτταροτοξικού οιδήματος¹⁶⁴. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον αποτελεί επίσης το γεγονός, ότι μια άλλη μελέτη με ένα μοντέλο με AQP4-ανεπαρκή πειραματόζωα μετά από κάκωση του νωτιαίου μυελού, κατέδειξε σημαντικά ευνοϊκότερη νευρολογική έκβαση και μειωμένο νευρωνικό θάνατο¹⁷⁷.

Η εμφάνιση εγκεφαλικού οιδήματος μετά από ΚΕΚ και οι επακόλουθες αλλαγές στην αιμοδυναμική του εγκεφάλου, αποτελούν παράγοντες που καθορίζουν την έκβαση των ασθενών μετά από ΚΕΚ¹⁶¹. Είναι πιθανό, ότι οι μεταβολές της έκφρασης του γονιδίου AQP4 εξαιτίας γενετικών πολυμορφισμών μπορούν να επηρεάσουν την αιματική ροή και, κατά συνέπεια, την έκταση της εγκεφαλικής βλάβης. Μάλιστα ανάλογες συσχετίσεις μεταξύ των γενετικών παραλλαγών και έκβασης μετά από ΚΕΚ, λόγω μεταβολών στην αιμοδυναμική του εγκεφάλου έχουν ήδη μελετηθεί βιβλιογραφικά. Ειδικότερα, μια κοινή παραλλαγή του γονιδίου NOS3 ενοχοποιήθηκε ότι ρυθμίζει την εγκεφαλική αιματική ροή στην οξεία φάση της ΚΕΚ και κατ' επέκταση την τελική κλινική έκβαση¹⁷⁸. Εκτός από το ρόλο της AQP4 στο σχηματισμό του εγκεφαλικού οιδήματος, η AQP4 έχει επιπρόσθετα συνδεθεί με την μετανάστευση των αστροκυττάρων, τη νευρωνική διέγερση και αναγέννηση, καθώς και με τις φλεγμονώδεις διεργασίες. Έτσι, μέσω αυτών των μηχανισμών μπορεί να επηρεάσει την έκταση της εγκεφαλικής βλάβης και την τελική κλινική έκβαση⁸⁷.

Η χρήση συγκεκριμένων SNPs με σκοπό την αναγνώριση υποομάδων ασθενών με παραλλαγές έκφρασης ή δομής της AQP4, αποτελεί μια ελπιδοφόρα προοπτική για το μέλλον, υπό το πρίσμα της πρόσφατης προόδου στην κατανόηση του ρόλου της AQP4. Οι τροποποιητές έκφρασης της AQP4 έχουν ήδη διερευνηθεί σχετικά με τις

θεραπευτικές δυνατότητες τους σε μια πληθώρα παθολογικών καταστάσεων, συμπεριλαμβανομένης της ΚΕΚ¹⁶⁵.

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας δεν κατέδειξαν σημαντική επίδραση των γενετικών παραλλαγών της AQP4 στην έκταση της εγκεφαλικής βλάβης κατά την αρχική ΚΕΚ ή στην παρουσία ενδοκρανιακής αιμορραγίας. Είναι πιθανό ότι δευτερεύουσες διαδικασίες μετά από την ΚΕΚ, συμπεριλαμβανομένου του εγκεφαλικού οιδήματος, αναπτύσσονται μετά από ένα ορισμένο χρονικό διάστημα και ως εκ τούτου οι κλινικές επιπτώσεις δεν είναι άμεσα ορατές. Επιπλέον, τα αποτελέσματα από τα AQP4-knockout μοντέλα με πειραματόζωα κατέδειξαν μεταβολές στην ακεραιότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού αλλά καμία επίδραση στην εμφάνιση ενδοκρανιακής αιμορραγίας, ευρήματα τα οποία είναι σύμβατα με τα αποτελέσματά μας¹⁷⁹.

Η μελέτη μας εμφανίζει όλους τους περιορισμούς που ισχύουν στις γενετικές μελέτες¹⁸⁰. Επίσης, δεν μπορούμε να αποκλείσουμε και το ενδεχόμενο σφάλματος επιλογής (selection bias) στην μελέτη μας, καθώς το δείγμα μας προέρχεται από νοσοκομείο με επείγοντα περιστατικά και είναι πιθανό ήπιες περιπτώσεις ΚΕΚ να υποεκπροσωπήθηκαν. Επιπρόσθετα, χρησιμοποιήσαμε ένα ενιαίο μέτρο σωματικής αναπηρίας – τις πέντε κατηγορίες της κλίμακας έκβασης Γλασκώβης (GOS). Η χρήση πρόσθετων κλιμάκων, όπως το Injury Severity Score ή Disability Rating Scale, θα αύξανε πιθανότητα την αξιοπιστία των ευρημάτων μας. Τέλος, η αξιολόγηση πρόσθετων κλινικών παραμέτρων στα μοντέλα παλινδρόμησης (regression models), όπως το φωτοκινητικό αντανάκλαστικό, μπορεί να είχαν αυξήσει την πιθανότητα να αποκαλυφθεί η άμεση επιδράση των SNPs στην έκβαση της ΚΕΚ.

Αγγειοτενσίνη (Angiotensin – ACE)

Η παρούσα μελέτη παρέχει σημαντικές ενδείξεις σημαντικής συσχέτιση μεταξύ μιας γενετικής παραλλαγής (rs4461142) στο πρώτο μπλοκ ανισορροπίας σύνδεσης (linkage disequilibrium, LD), το οποίο περιέχει τον γνωστό ACE I/D πολυμορφισμό, και άλλων δύο γενετικών παραλλαγών (rs7221780 και rs8066276) στο δεύτερο μπλοκ LD του γονιδίου ACE, με την λειτουργική έκβαση των ασθενών με ΚΕΚ στους 6 μήνες. Αυτή η 3' περιοχή του γονιδίου ACE είναι ακόμα αμετάφραστη, αλλά μπορεί να ασκεί ρυθμιστική επίδραση στην έκφραση του ACE. Προηγούμενες μελέτες έχουν ήδη τονίσει τη σημασία της κατάντη 3' περιοχής του γονιδίου ACE στην ρύθμιση των επιπέδων πλάσματος του ACE¹⁸¹. Σε προηγούμενη μελέτη που περιελάμβανε 73 ασθενείς με μέτρια ή σοβαρή ΚΕΚ, διαπιστώθηκε ότι η παρουσία του αλληλόμορφου D του I/D πολυμορφισμού, συνδεόταν με χειρότερα αποτελέσματα σε νευροψυχολογικές δοκιμασίες, που περιελάμβαναν την εξέταση της προσοχής και της ταχύτητας επεξεργασίας⁸². Ωστόσο, η σημασία του πολυμορφισμού I/D στην λειτουργική έκβαση έχει αμφισβητηθεί σε αρκετές μελέτες¹⁸².

Οι υποκείμενοι μηχανισμοί με τους οποίους οι παραλλαγές του ACE γονιδίου μπορούν να επηρεάσουν τις παθοφυσιολογικές διαδικασίες που έπονται μιας ΚΕΚ δεν έχουν ακόμα πλήρως διευκρινιστεί. Μια πληθώρα εγκεφαλικών αιμοδυναμικών μεταβολών, συμπεριλαμβανομένων της αυξημένης ενδοκρανιακής πίεσης, της κατάργησης του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, της εμφάνισης αγγειογενούς οιδήματος, της μειωμένης εγκεφαλικής αιματικής ροής, της εγκεφαλικής ισχαιμίας και της ιστικής υποξίας, εμφανίζονται ως αποτέλεσμα του εγκεφαλικού τραύματος¹⁸³. Το ACE είναι γνωστό ότι διαδραματίζει ρυθμιστικό ρόλο στην εγκεφαλική αιματική ροή στην ανταπόκριση των αγγείων¹⁸⁴. Είναι έτσι πιθανόν, οι διαφορές των επιπέδων του ACE λόγω γενετικών

παραλλαγών, να μπορεί να επηρεάσει την εγκεφαλική αιματική ροή και κατά συνέπεια την έκταση της εγκεφαλικής βλάβης και την κλινική έκβαση. Η ταυτοποίηση των εν λόγω μηχανισμών στην παρούσα μελέτη, εμφανίζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον όσον αφορά το πεδίο της εξατομικευμένης θεραπείας, καθότι αναστολείς του ACE και αναστολείς των υποδοχέων της αγγειοτενσίνης ήδη χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη¹⁸⁵.

Τα αποτελέσματα από πειραματικά μοντέλα με πειραματόζωα, παρέχουν ισχυρές ενδείξεις ότι το σύστημα ρενίνης-αγγειοτασίνης στον εγκέφαλο εμπλέκεται στον βιοχημικό καταρράκτη μια πληθώρας παθολογικών καταστάσεων, συμπεριλαμβανομένης της ΚΕΚ. Μια μελέτη που αφορούσε μοντέλο ΚΕΚ σε χοίρους, συμπέρανε ότι η εκλεκτική παρεμπόδιση των υποδοχέων τύπου 1 (AT1) της αγγειοτενσίνης II και όχι των υποδοχέων τύπου 2 (AT2), οδήγησε σε βελτιωμένη εγκεφαλική αιματική ροή¹⁸⁶. Μια άλλη μελέτη ελεγχόμενης κάκωσης του εγκεφαλικού φλοιού σε ποντίκια, κατέδειξε ότι η αναστολή των υποδοχέων AT1, οδηγεί σε μειωμένη δευτεροπαθή βλάβη και βελτιωμένη κλινική έκβαση¹⁸⁷. Η διέγερση των AT2 υποδοχέων, σε ένα άλλο πειραματικό μοντέλο με ποντίκια μετά από κάκωση του νωτιαίου μυελού, συμπέρανε ότι βελτιώνει την λειτουργική έκβαση, μέσω της αυξημένης έκφρασης του BDNF¹⁸⁸. Σε μια μελέτη εστιακής εγκεφαλικής ισχαιμίας σε ποντίκια, η αναστολή του ACE βρέθηκε να προστατεύει την ακεραιότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού και να μετριάζει τον σχηματισμό αγγειογενούς οιδήματος¹⁸⁹.

Παρά τις προφανείς ευεργετικές επιδράσεις που προκύπτουν από την αναστολή του συστήματος ρενίνης αγγειοτασίνης σε διάφορες παθοφυσιολογικές οδούς μετά από μια ΚΕΚ, σε ένα πειραματικό μοντέλο με ποντίκια και διάχυτη ΚΕΚ, βρέθηκε ότι η αναστολή του ACE επιδεινώνει την εγκεφαλική βλάβη και τα κινητικά ελείμματα¹⁹⁰. Αυτή η βλαβερή επίδραση φαίνεται να διαμεσολαβείται από την αυξημένη έκφραση της ουσίας P, η οποία αποικοδομείται από την ACE. Η ουσία P είναι γνωστό ότι επιδεινώνει το εγκεφαλικό οίδημα, τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο και την τελική έκβαση μετά από ΚΕΚ¹⁹¹. Για το εύρημα αυτό δεν φαίνεται να υπάρχει μια εμφανής εξήγηση. Είναι πιθανό ότι η διαφορετική χρονική και χωρική κατανομή της αγγειοτενσίνης II και των υποδοχέων της μπορεί να επηρεάσει με διαφορετικό τρόπο τις οδούς που εμπλέκονται στην ΚΕΚ.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ακουοπορίνη 4 (Aquaporin 4 – AQP4)

Η παρούσα μελέτη παρέχει ενδείξεις για πιθανή συμμετοχή γενετικών παραλλαγών της AQP4 στην λειτουργική έκβαση των ασθενών με ΚΕΚ. Η συσχέτιση αυτή παρουσιάζει ιδιαίτερο επιστημονικό ενδιαφέρον: η AQP4 μπορεί να θεωρηθεί ως ένας πιθανός θεραπευτικός στόχος σε ασθενείς με ΚΕΚ, για την πρόληψη και τη θεραπεία του εγκεφαλικού οιδήματος. Συγκεκριμένα, οι αναστολείς της AQP4 αναμένεται να προστατεύσουν τον εγκέφαλο από την ανάπτυξη κυτταροτοξικού οιδήματος, ενώ οι ενεργοποιητές της AQP4 θα περιορίσουν το αγγειογενές οίδημα. Αν και η αναγνώριση

συγκεκριμένων τροποποιητών της AQP4 παραμένει ακόμα αδύνατη, οι εξελίξεις στον τομέα αυτό αναμένεται μελλοντικά να έχουν σημαντική επίδραση στη θεραπεία των ασθενών με ΚΕΚ και να επηρεάζουν ευνοϊκά την τελική τους έκβαση.

Αγγιοτενσίνη (Angiotensin – ACE)

Συμπερασματικά, η μελέτη μας εντόπισε μια στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ παραλλαγών στην κατάντη 3' γονιδιακή περιοχή του ACE και την λειτουργική έκβαση των ασθενών με ΚΕΚ 6 μήνες μετά. Η συσχέτιση αυτή μπορεί να οδηγήσει στην ταυτοποίηση εκείνης της υπομάδας ασθενών με ΚΕΚ, η οποία μπορεί να οφειθεί ή να ζημιωθεί από την αναστολή του ACE ή των υποδοχέων της αγγιοτενσίνης. Παρολαυτά, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες σε πειραματικά μοντέλα για την καλύτερη κατανόηση του πιθανού ρόλου των πολυμορφικών του γονιδίου ACE στην παθοφυσιολογία της ΚΕΚ και τις πιθανές φαρμακογενετικές προεκτάσεις.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Δ. Σακάς. Εισαγωγή στη Νευροχειρουργική, εκδόσεις Παρισιάνου 2003; σ.175-200
2. Faul M, Xu L, Wald MM, Coronado VG. Traumatic brain injury in the United States: emergency department visits, hospitalizations, and deaths. Atlanta (GA): Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Injury Prevention and Control; 2010
3. Finkelstein E, Corso P, Miller T and associates. The Incidence and Economic Burden of Injuries in the United States. New York (NY): Oxford University Press; 2006
4. Κλειστές Κρανιοεγκεφαλικές Κακώσεις. Νευροχειρουργική Κλινική, Τμήμα, Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας; <http://neurosurgery-uth.gr/neurotraumatology/closed-head-injuries>
5. S. Rengachary, R. Ellenbogen. Principles of Neurosurgery, Second Edition, Elsevier 2005; p.301-317
6. Hutchinson PJ, Kolas AG, Timofeev IS, Corteen EA, Czosnyka M, Timothy J, Anderson I, Bulters DO, Belli A, Eynon CA, Wadley J, Mendelow AD, Mitchell PM, Wilson MH, Critchley G, Sahuquillo J, Unterberg A, Servadei F, Teasdale GM, Pickard JD, Menon DK, Murray GD, Kirkpatrick PJ; RESCUEicp Trial Collaborators. Trial of Decompressive Craniectomy for Traumatic Intracranial Hypertension. *N Engl J Med*. 2016 Sep 22;375(12):1119-30.
7. Δ. Σακάς. Εισαγωγή στη Νευροχειρουργική, εκδόσεις Παρισιάνου 2003; σ.107-119
8. Dardiotis E, Fountas KN, Dardioti M, Xiromerisiou G, Kapsalaki E, Tasiou A, Hadjigeorgiou GM. Genetic association studies in patients with traumatic brain injury. *Neurosurg Focus*. 2010 Jan;28(1): E9. doi: 10.3171/2009.10.FOCUS09215. Review.
9. Δ. Σακάς. Εισαγωγή στη Νευροχειρουργική, εκδόσεις Παρισιάνου 2003; σ.136-141
10. Greve MW, Zink BJ. Pathophysiology of traumatic brain injury. *Mt Sinai J Med*. 2009 Apr;76(2):97-104
11. Werner C, Engelhard K. Pathophysiology of traumatic brain injury. *Br J Anaesth*. 2007 Jul;99(1):4-9. Review
12. Madikians A, Giza CC. A Clinician's Guide to the Pathophysiology of Traumatic Brain Injury. *IJNT* 2006; Vol. 3, No. 1, pp. 9-17
13. Kontos HA, George E. Brown memorial lecture. Oxygen radicals in cerebral vascular injury. *Circ Res* 1985; 57:508-16
14. Kontos HA. Oxygen radicals in CNS damage. *Chem Biol Interact* 1989; 72:229-55
15. Kontos HA, Povlishock JT. Oxygen radicals in brain injury. *Cent Nerv Syst Trauma* 1986; 3:257-63.
16. Houlston RS, Snowden C, Green F, Alberti KG, Humphries SE. Apolipoprotein (apo) E genotypes by polymerase chain reaction and allele-specific oligonucleotide probes: no detectable linkage disequilibrium between apo E and apo CII. *Hum Genet* 1989; 83:364-8

17. Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science* 1988; 240:622-30
18. Roses AD. Apolipoprotein E alleles as risk factors in Alzheimer's disease. *Annu Rev Med* 1996; 47:387-400.
19. Μ. Δαρδιώτη. Γενετική μελέτη συσχέτισης πολυμορφισμών σε γονίδια ιντερλευκινών σε ασθενείς με κρανιοεγκεφαλική κάκωση. Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας 2010.
20. Hatters, Danny M., Clare A. Peters-Libeu, and Karl H. Weisgraber. Apolipoprotein E structure: insights into function. *Trends in biochemical sciences* 31, no. 8 (2006): 445-454.
21. Graham DI, Horsburgh K, Nicoll JA, Teasdale GM. Apolipoprotein E and the response of the brain to injury. *Acta Neurochir Suppl* 1999; 73:89-92
22. Herz J. Lipoprotein receptors: beacons to neurons? *Trends Neurosci* 2001; 24:193-5
23. Nicoll JA, Roberts GW, Graham DI. Apolipoprotein E epsilon 4 allele is associated with deposition of amyloid beta-protein following head injury. *Nat Med* 1995; 1:135-7
24. Liberman JN, Stewart WF, Wesnes K, Troncoso J. Apolipoprotein E epsilon 4 and short-term recovery from predominantly mild brain injury. *Neurology* 2002; 58:1038-44
25. Nathoo N, Chetry R, van Dellen JR, Connolly C, Naidoo R. Apolipoprotein E polymorphism and outcome after closed traumatic brain injury: influence of ethnic and regional differences. *J Neurosurg* 2003; 98:302-6.
26. B. Vogelstein, D. Lane, A.J. Levine. Surfing the p53 network. *Nature* 2000; 408: 307-310.
27. Greenfeder SA, Nunes P, Kwee L, Labow M, Chizzonite RA, Ju G. Molecular cloning and characterization of a second subunit of the interleukin 1 receptor complex. *J Biol Chem* 1995; 270:13757-13765
28. Stevenson FT, Torrano F, Locksley RM, Lovett DH. Interleukin 1: the patterns of translation and intracellular distribution support alternative secretory mechanisms. *J Cell Physiol* 1992; 152:223-231
29. Kobayashi Y, Yamamoto K, Saido T, Kawasaki H, Oppenheim JJ, Matsushima K. Identification of calcium-activated neutral protease as a processing enzyme of human interleukin 1 alpha. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87:5548-5552
30. Miller AC, Schattenberg DG, Malkinson AM, Ross D. Decreased content of the IL1 alpha processing enzyme calpain in murine bone marrow-derived macrophages after treatment with the benzene metabolite hydroquinone. *Toxicol Lett* 1994; 74:177-184
31. Watanabe N, Kobayashi Y. Selective release of a processed form of interleukin 1 alpha. *Cytokine* 1994; 6:597-601
32. Stevenson FT, Bursten SL, Fanton C, Locksley RM, Lovett DH. The 31-kDa precursor of interleukin 1 alpha is myristoylated on specific lysines within the 16-kDa Nterminal propeptide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90:7245-7249
33. Labriola-Tompkins E, Chandran C, Varnell TA, Madison VS, Ju G. Structure-function analysis of human IL-1 alpha: identification of residues required for binding to the human type I IL-1 receptor. *Protein Eng* 1993; 6:535-539

34. Grutter MG, van Oostrum J, Priestle JP, et al. A mutational analysis of receptor binding sites of interleukin-1 beta: differences in binding of human interleukin-1 beta muteins to human and mouse receptors. *Protein Eng* 1994; 7:663-671
35. Fenton MJ, Vermeulen MW, Clark BD, Webb AC, Auron PE. Human pro-IL-1 beta gene expression in monocytic cells is regulated by two distinct pathways. *J Immunol* 1988; 140:2267-2273
36. Jarrous N, Kaempfer R. Induction of human interleukin-1 gene expression by retinoic acid and its regulation at processing of precursor transcripts. *J Biol Chem* 1994; 269:23141-23149
37. Schindler R, Ghezzi P, Dinarello CA. IL-1 induces IL-1. IV. IFN-gamma suppresses IL-1 but not lipopolysaccharide-induced transcription of IL-1. *J Immunol* 1990; 144:2216-2222
38. Serkkola E, Hurme M. Synergism between protein-kinase C and cAMP-dependent pathways in the expression of the interleukin-1 beta gene is mediated via the activatorprotein-1 (AP-1) enhancer activity. *Eur J Biochem* 1993; 213:243-249
39. Jobling SA, Auron PE, Gurka G, et al. Biological activity and receptor binding of human prointerleukin-1 beta and subpeptides. *J Biol Chem* 1988; 263:16372-16378.
40. Black RA, Kronheim SR, Cantrell M, et al. Generation of biologically active interleukin-1 beta by proteolytic cleavage of the inactive precursor. *J Biol Chem* 1988; 263:9437-9442
41. Ε. Δαρδιώτης. Γενετική μελέτη σε γονίδια που σχετίζονται με αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια. Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας 2007.
42. Bakouche O, Brown DC, Lachman LB. Subcellular localization of human monocyte interleukin 1: evidence for an inactive precursor molecule and a possible mechanism for IL 1 release. *J Immunol* 1987; 138:4249-4255
43. Kishimoto T, Akira S, Narazaki M, Taga T. Interleukin-6 family of cytokines and gp130. *Blood* 1995; 86:1243-54.
44. Gadiant RA, Otten U. Expression of interleukin-6 (IL-6) and interleukin-6 receptor (IL-6R) mRNAs in rat brain during postnatal development. *Brain Res* 1994; 637:10-4
45. Gadiant RA, Otten U. Identification of interleukin-6 (IL-6)-expressing neurons in the cerebellum and hippocampus of normal adult rats. *Neurosci Lett* 1994; 182:243-6
46. Schobitz B, Voorhuis DA, De Kloet ER. Localization of interleukin 6 mRNA and interleukin 6 receptor mRNA in rat brain. *Neurosci Lett* 1992; 136:189-92
47. Schobitz B, de Kloet ER, Sutanto W, Holsboer F. Cellular localization of interleukin 6 mRNA and interleukin 6 receptor mRNA in rat brain. *Eur J Neurosci*. 1993 Nov 1;5(11):1426-35
48. Allan SM: The role of pro- and antiinflammatory cytokines in neurodegeneration. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 917:84-93
49. Arend WP: Interleukin 1 receptor antagonist. A new member of the interleukin 1 family. *J Clin Invest* 1991; 88:1445-1451
50. Dinarello CA: Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood* 1991; 77:1627-1652
51. McIntosh TK, Saatman KE, Raghupathi R, Graham DI, Smith DH, Lee VM, et al. The Dorothy Russell Memorial Lecture. The molecular and cellular sequelae

- of experimental traumatic brain injury: pathogenetic mechanisms. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1998; 24:251–267
52. Morganti-Kossmann MC, Lenzlinger PM, Hans V, Stahel P, Csuka E, Ammann E, et al. Production of cytokines following brain injury: beneficial and deleterious for the damaged tissue. *Mol Psychiatry* 1997; 2:133–136
 53. Morganti-Kossmann MC, Rancan M, Stahel PF, Kossmann T: Inflammatory response in acute traumatic brain injury: a double-edged sword. *Curr Opin Crit Care* 8:101–105, 2002
 54. Patel HC, Boutin H, Allan SM: Interleukin-1 in the brain: mechanisms of action in acute neurodegeneration. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 992:39–47
 55. El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, McColl KE, Bream JH, Young HA, et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature* 2000; 404:398–402
 56. Emsley HC, Smith CJ, Georgiou RF, Vail A, Hopkins SJ, Rothwell NJ, et al. A randomised phase II study of interleukin-1 receptor antagonist in acute stroke patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005; 76:1366–1372
 57. Pociot F, Mølvig J, Wogensen L, Worsaae H, Nerup J. A Taq polymorphism in the human interleukin-1 beta (IL-1 beta) gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro. *Eur J Clin Invest* 1992; 22:396–402
 58. Hadjigeorgiou GM, Paterakis K, Dardiotis E, Dardioti M, Aggelakis K, Tasiou A, et al. IL-1RN and IL-1B gene polymorphisms and cerebral hemorrhagic events after traumatic brain injury. *Neurology* 2005; 65:1077–1082
 59. Uzan M, Tanriverdi T, Baykara O, Kafadar A, Sanus GZ, Tureci E, et al. Association between interleukin-1 beta (IL-1beta) gene polymorphism and outcome after head injury: an early report. *Acta Neurochir (Wien)* 2005; 147:715–720
 60. Dardiotis E, Dardioti M, Hadjigeorgiou GM, Paterakis K: Re: Lack of association between the IL1A gene (-889) polymorphism and outcome after head injury. Tanriverdi T et al. *Surg Neurol* 2006; 65:7-10; discussion 10. *Surg Neurol* 2006; 66:334–335
 61. Tanriverdi T, Uzan M, Sanus GZ, Baykara O, Is M, Ozkara C, et al. Lack of association between the IL1A gene (-889) polymorphism and outcome after head injury. *Surg Neurol* 2006; 65:7–10
 62. Johnson VE, Murray L, Raghupathi R, Stewart J, Nicoll JA, MacKinnon MA, et al. No evidence for the presence of apolipoprotein epsilon4, interleukin-1alpha allele 2 and interleukin-1beta allele 2 cause an increase in programmed cell death following traumatic brain injury in humans. *Clin Neuropathol* 2006; 25:255–264
 63. Allan SM, Rothwell NJ. Cytokines and acute neurodegeneration. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2:734–744
 64. Mortimer JA, van Duijn CM, Chandra V, Fratiglioni L, Graves AB, Heyman A, et al. Head trauma as a risk factor for Alzheimer's disease: a collaborative re-analysis of case-control studies. *Int J Epidemiol* 1991; 20 (Suppl 2): S28–S35
 65. Miñambres E, Cemborain A, Sánchez-Velasco P, Gandarillas M, Díaz-Regañón G, Sánchez-González U, et al. Correlation between transcranial interleukin-6 gradient and outcome in patients with acute brain injury. *Crit Care Med* 2003; 31:933–938
 66. Chiaretti A, Antonelli A, Mastrangelo A, Pezzotti P, Tortorolo L, Tosi F, et al.

- Interleukin-6 and nerve growth factor upregulation correlates with improved outcome in children with severe traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2008; 25:225–234
67. Axelrod J. O-Methylation of Epinephrine and Other Catechols in vitro and in vivo. *Science* 1957 Aug; 126 (3270): 400–1
 68. Ulmanen I, Peränen J, Tenhunen J, Tilgmann C, Karhunen T, Panula P, Bernasconi L, Aubry JP, Lundström K. Expression and Intracellular Localization of Catechol O-methyltransferase in Transfected Mammalian Cells. *European Journal of Biochemistry* 1997; 243 (1–2): 452–9
 69. D.Golan, A. Tashjian Jr. Principles of pharmacology, Third Edition. Philadelphia: Wolters Kluwer Health. p. 210
 70. Madras BK. History of the discovery of the antipsychotic dopamine D2 receptor: a basis for the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Journal of the History of the Neurosciences* 2013; 22 (1): 62–78
 71. Ritchie T, Noble EP. Association of seven polymorphisms of the D2 dopamine receptor gene with brain receptor-binding characteristics. *Neurochem Res* 2003; 28:73-82
 72. Small GW, Noble EP, Matsuyama SS, Jarvik LF, Komo S, Kaplan A, Ritchie T, Pritchard ML, Saunders AM, Conneally PM, Roses AD, Haines JL, Pericak-Vance MA. D2 dopamine receptor A1 allele in Alzheimer disease and aging. *Arch Neurol* 1997; 54:281-5
 73. McAllister TW, Rhodes CH, Flashman LA, McDonald BC, Belloni D, Saykin AJ. Effect of the dopamine D2 receptor T allele on response latency after mild traumatic brain injury. *Am J Psychiatry* 2005; 162:1749-51
 74. McAllister TW, Flashman LA, Harker Rhodes C, Tyler AL, Moore JH, Saykin AJ, et al: Single nucleotide polymorphisms in ANKK1 and the dopamine D2 receptor gene affect cognitive outcome shortly after traumatic brain injury: a replication and extension study. *Brain Inj* 2008; 22:705–714
 75. Sayed-Tabatabaei F.A., Houwing-Duistermaat J.J., van Duijn C.M. & Witteman J.C. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and carotid artery wall thickness: a meta-analysis. *Stroke* 2003; 34, 1634-9
 76. Hubert C., Houot A.M., Corvol P. & Soubrier F. Structure of the angiotensin I-converting enzyme gene. Two alternate promoters correspond to evolutionary steps of a duplicated gene. *J Biol Chem* 1991; 266, 15377-83
 77. Riordan J.F. Angiotensin-I-converting enzyme and its relatives. *Genome Biol*, 2003; 4, 225
 78. Erdos EG, Skidgel RA. The angiotensin I-converting enzyme. *Lab Invest* 1987; 56:345-8
 79. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990; 86:1343-6.
 80. Ueda S, Elliott HL, Morton JJ, Connell JM. Enhanced pressor response to angiotensin I in normotensive men with the deletion genotype (DD) for angiotensin-converting enzyme. *Hypertension* 1995; 25:1266-1269
 81. Murphey LJ, Gainer JV, Vaughan DE, Brown NJ. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism modulates the human in vivo metabolism of bradykinin. *Circulation* 2000; 102:829-832.

82. Ariza M, Matarin MD, Junque C, Mataro M, Clemente I, Moral P, Antonia Poca M, Garnacho A, Sahuquillo J. Influence of Angiotensin-converting enzyme polymorphism on neuropsychological subacute performance in moderate and severe traumatic brain injury. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 2006; 18:39-44.
83. Hu J, Igarashi A, Kamata M, Nakagawa H. Angiotensin-converting enzyme degrades Alzheimer amyloid beta-peptide (A beta); retards A beta aggregation, deposition, fibril formation; and inhibits cytotoxicity. *J Biol Chem* 2001; 276:47863-8.
84. Pfohl M, Athanasiadis A, Koch M, et al. Insertion/deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is associated with coronary artery plaque calcification as assessed by intravascular ultrasound. *J Am Coll Cardiol*. 1998 Apr;31(5):987-91
85. Staessen JA, Wang JG, Ginocchio G, et al. The deletion/insertion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and cardiovascular-renal risk. *J Hypertens* 1997; 15:1579-1592
86. Agerholm-Larsen B, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. ACE gene polymorphism in cardiovascular disease: meta-analyses of small and large studies in whites. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:484-492
87. Papadopoulos MC, Verkman AS. Aquaporin water channels in the nervous system. *Nat Rev Neurosci*. 2013 Apr;14(4):265-77
88. Carbre JM, Agre P. Discovery of the aquaporins and development of the field. *Handb Exp Pharmacol*. 2009; 190:3–28
89. Verkman AS. Aquaporins in clinical medicine. *Annu Rev Med*. 2012; 63:303 316
90. Soveral G, Prista C, Moura TF, Loureiro-Dias MC. Yeast water channels: an overview of orthodox aquaporins. *Biol Cell*. 2010; 103:35–54
91. Tanghe A, Van Dijck P, Thevelein JM. Why do microorganisms have aquaporins? *Trends Microbiol*. 2006; 14:78 85
92. Wu B, Beitz E. Aquaporins with selectivity for unconventional permeants. *Cell Mol Life Sci*. 2007; 64:2413–2421
93. Rojek A, Praetorius J, Frokiaer J, Nielsen S, Fenton RA. A current view of the mammalian aquaglyceroporins. *Annu Rev Physiol*. 2008; 70:301–327
94. Herrera M, Garvin JL. Aquaporins as gas channels. *Pflugers Arch*. 2011; 462:623–630
95. Geers C, Gros G. Carbon dioxide transport and carbonic anhydrase in blood and muscle. *Physiol Rev*. 2000; 80:681–715
96. Γ. Κοτσόβολης, Μ. Γκιάλα, Γ. Ευστρατιάδης. Ο ρόλος των ακουαπορινών στην ομοιόσταση του νερού και η σχέση τους με τα συστήματα του ανθρώπου. *Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής* 2009; 26(3):307-315
97. Walz T, Fujiyoshi Y, Engel A. The AQP structure and functional implications. *Handb Exp Pharmacol*. 2009; 190:31–56
98. Ho JD, et al. Crystal structure of human aquaporin 4 at 1.8 Å and its mechanism of conductance. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009; 106:7437–7442
99. Papadopoulos MC, Manley GT, Krishna S, Verkman AS. Aquaporin-4 facilitates reabsorption of excess fluid in vasogenic brain edema. *FASEB J*. 2004; 18:1291–1293
100. Oshio K, et al. Expression of aquaporin water channels in mouse spinal cord. *Neuroscience*. 2004; 127:685–693

101. Nagelhus EA, et al. Aquaporin-4 water channel protein in the rat retina and optic nerve: polarized expression in Müller cells and fibrous astrocytes. *J Neurosci.* 1998; 18:2506–2519
102. Nielsen S, et al. Specialized membrane domains for water transport in glial cells: high-resolution immunogold cytochemistry of aquaporin-4 in rat brain. *J Neurosci.* 1997; 17:171–180
103. Neely JD, et al. Syntrophin-dependent expression and localization of Aquaporin-4 water channel protein. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001; 98:14108–14113
104. Noell S, et al. Effects of agrin on the expression and distribution of the water channel protein aquaporin-4 and volume regulation in cultured astrocytes. *Eur J Neurosci.* 2007; 26:2109–2118
105. Wolburg H, Noell S, Wolburg-Buchholz K, Mack A, Fallier-Becker P. Agrin, aquaporin-4, and astrocyte polarity as an important feature of the blood–brain barrier. *Neuroscientist.* 2009; 15:180–193
106. Saadoun S, Papadopoulos MC, Davies DC, Krishna S, Bell BA. Aquaporin-4 expression is increased in oedematous human brain tumours. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2002; 72:262–265. This is the first demonstration of increased AQP expression in tumours
107. Solenov E, Watanabe H, Manley GT, Verkman AS. Sevenfold-reduced osmotic water permeability in primary astrocyte cultures from AQP-4-deficient mice, measured by a fluorescence quenching method. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2004; 286:C426–C432
108. Nicchia GP, et al. Aquaporin-4-containing astrocytes sustain a temperature- and mercuryinsensitive swelling in vitro. *Glia.* 2000; 31:29–38.
109. Oshio K, Watanabe H, Yan D, Verkman AS, Manley GT. Impaired pain sensation in mice lacking Aquaporin-1 water channels. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006; 341:1022–1028
110. Gao H, et al. Localization of aquaporin-1 water channel in glial cells of the human peripheral nervous system. *Glia.* 2006; 53:783–787
111. Nandasena BG, et al. Immunolocalization of aquaporin-1 in the mechanoreceptive Ruffini endings in the periodontal ligament. *Brain Res.* 2007; 1157:32–40
112. Nagahama M, Ma N, Semba R, Naruse S. Aquaporin 1 immunoreactive enteric neurons in the rat ileum. *Neurosci Lett.* 2006; 395:206–210
113. Arciszewski MB. Neurochemical properties of aquaporin 1-expressing sensory neurons from the ovine trigeminal ganglion. *Anat Histol Embryol.* 2012; 41:184–189
114. Thi MM, Spray DC, Hanani M. Aquaporin-4 water channels in enteric neurons. *J Neurosci Res.* 2008; 86:448–456.
115. Ishihara E, et al. Neuropathological alteration of aquaporin 1 immunoreactive enteric neurons in the streptozotocin-induced diabetic rats. *Auton Neurosci.* 2008; 138:31–40.
116. Richardson SM, Knowles R, Marples D, Hoyland JA, Mobasheri A. Aquaporin expression in the human intervertebral disc. *J Mol Histol.* 2008; 39:303–309
117. Aharon R, Bar-Shavit Z. Involvement of aquaporin 9 in osteoclast differentiation. *J Biol Chem.* 2006; 281:19305–19309
118. Fischbarg J, et al. Glucose transporters serve as water channels. *Proc Natl*

- Acad Sci USA. 1990; 87:3244–3247
119. Iwamoto M, Oiki S. Counting ion and water molecules in a streaming file through the open-filter structure of the K channel. *J Neurosci*. 2011; 31:12180–12188
 120. Papadopoulos MC, Verkman AS. Aquaporin-4 gene disruption in mice reduces brain swelling and mortality in pneumococcal meningitis. *J Biol Chem*. 2005; 280:13906–13912
 121. Badaut J, et al. Brain water mobility decreases after astrocytic aquaporin-4 inhibition using RNA interference. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2011; 31:819–831
 122. Manley GT, et al. Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after acute water intoxication and ischemic stroke. *Nature Med*. 2000; 6:159–163.
 123. Thrane AS, et al. Critical role of aquaporin-4 (AQP4) in astrocytic Ca²⁺ signaling events elicited by cerebral edema. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011; 108:846–851
 124. Yang B, Zador Z, Verkman AS. Glial cell aquaporin-4 overexpression in transgenic mice accelerates cytotoxic brain swelling. *J Biol Chem*. 2008; 283:15280–15286
 125. Bloch O, Papadopoulos MC, Manley GT, Verkman AS. Aquaporin-4 gene deletion in mice increases focal edema associated with staphylococcal brain abscess. *J Neurochem*. 2005; 95:254–262
 126. Tait MJ, Saadoun S, Bell BA, Verkman AS, Papadopoulos MC. Increased brain edema in aqp4-null mice in an experimental model of subarachnoid hemorrhage. *Neuroscience*. 2010; 167:60–67.
 127. Lee DJ, et al. Aquaporin-4-dependent edema clearance following status epilepticus. *Epilepsy Res*. 2012; 98:264–268
 128. Liff JJ, et al. A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid β . *Sci Transl Med*. 2012; 4:147
 129. Filippidis AS, Kalani MY, Rekte HL. Hydrocephalus and aquaporins: the role of aquaporin-4. *Acta Neurochir Suppl*. 2012; 113:55–58
 130. Feng X, et al. Sporadic obstructive hydrocephalus in Aqp4 null mice. *J Neurosci Res*. 2009; 87:1150–1155
 131. Bloch O, Auguste KI, Manley GT, Verkman AS. Accelerated progression of kaolin-induced hydrocephalus in aquaporin-4-deficient mice. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2006; 26:1527–1537
 132. Loitto VM, Magnusson KE. Hg²⁺ and small-sized polyethylene glycols have inverse effects on membrane permeability, while both impair neutrophil cell motility. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004; 316:370–378
 133. Saadoun S, Papadopoulos MC, Hara-Chikuma M, Verkman AS. Impairment of angiogenesis and cell migration by targeted aquaporin-1 gene disruption. *Nature*. 2005; 434:786–792
 134. Papadopoulos MC, Saadoun S, Verkman AS. Aquaporins and cell migration. *Pflugers Arch*. 2008; 456:693–700
 135. Hu J, Verkman AS. Increased migration and metastatic potential of tumor cells expressing aquaporin water channels. *FASEB J*. 2006; 20:1892–1894
 136. Saadoun S, et al. Involvement of aquaporin-4 in astroglial cell migration and glial scar formation. *J Cell Sci*. 2005; 118:5691–5698

137. Auguste KI, et al. Greatly impaired migration of implanted aquaporin-4 deficient astroglial cells in mouse brain toward a site of injury. *FASEB J.* 2007; 21:108–116.
138. Binder DK, Oshio K, Ma T, Verkman AS, Manley GT. Increased seizure threshold in mice lacking aquaporin-4 water channels. *Neuroreport.* 2004; 15:259–262
139. Lee DJ, Hsu MS, Seldin MM, Arellano JL, Binder DK. Decreased expression of the glial water channel aquaporin-4 in the intrahippocampal kainic acid model of epileptogenesis. *Exp Neurol.* 2012; 235:246-255
140. Binder DK, Nagelhus EA, Ottersen OP. Aquaporin-4 and epilepsy. *Glia.* 2012; 60:1203–1214
141. Strohschein S, et al. Impact of aquaporin-4 channels on K⁺ buffering and gap junction coupling in the hippocampus. *Glia.* 2011; 59:973–980
142. Nicholson C, Sykova E. Extracellular space structure revealed by diffusion analysis. *Trends Neurosci.* 1998; 21:207–215
143. Nagelhus EA, et al. Immunogold evidence suggests that coupling of K⁺ siphoning and water transport in rat retinal Müller cells is mediated by a coenrichment of Kir4.1 and AQP4 in specific membrane domains. *Glia.* 1999; 26:47–54
144. Ruiz-Ederra J, Zhang H, Verkman AS. Evidence against functional interaction between aquaporin-4 water channels and Kir4.1 potassium channels in retinal Müller cells. *J Biol Chem.* 2007; 282:21866–21872
145. Jin BJ, Zhang B, Binder DK, Verkman AS. Aquaporin-4 dependent K⁺ and water transport modeled in brain extracellular space following neuroexcitation. *J Gen Physiol.* 2013; 141:261–272.
146. Wingerchuk DM, Lennon VA, Lucchinetti CF, Pittock SJ, Weinshenker BG. The spectrum of neuromyelitis optica. *Lancet Neurol.* 2007; 6:805–815
147. Lennon VA, et al. A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Lancet.* 2004; 364:2106–2112
148. Lennon VA, Kryzer TJ, Pittock SJ, Verkman AS, Hinson SR. IgG marker of optic-spinal multiple sclerosis binds to the aquaporin-4 water channel. *J Exp Med.* 2005; 202:473–477
149. Johnson DR, O'Neill BP. Glioblastoma survival in the United States before and during the temozolomide era. *J Neurooncol.* 2012; 107:359–364
150. Ikota H, Kinjo S, Yokoo H, Nakazato Y. Systematic immunohistochemical profiling of 378 brain tumors with 37 antibodies using tissue microarray technology. *Acta Neuropathol.* 2006; 111:475–482
151. Warth A, et al. Expression pattern of the water channel aquaporin-4 in human gliomas is associated with blood–brain barrier disturbance but not with patient survival. *J Neurosci Res.* 2007; 85:1336–1346
152. Badaut J. Aquaglyceroporin 9 in brain pathologies. *Neuroscience.* 2010; 168:1047–1057
153. Nico B, et al. Aquaporin-4 contributes to the resolution of peritumoural brain oedema in human glioblastoma multiforme after combined chemotherapy and radiotherapy. *Eur J Cancer.* 2009; 45:3315–3325
154. Verkman AS, Hara-Chikuma M, Papadopoulos MC. Aquaporins — new players in cancer biology. *J Mol Med.* 2008; 86:523–529
155. Carter, K.W., McCaskie, P.A., and Palmer, L.J. SimHap GUI: an intuitive

- graphical user interface for genetic association analysis. *BMC Bioinformatics* 2008; 9, 557
156. Li, Z., Zhang, Z., He, Z., Tang, W., Li, T., Zeng, Z., He, L., and Shi, Y. A partition-ligation-combination-subdivision EM algorithm for haplotype inference with multiallelic markers: update of the SHEsis (<http://analysis.bio-x.cn>). *Cell Res.* 2009; 19, 519–523
157. Carter, K.W., McCaskie, P.A., and Palmer, L.J. JLIN: a java based linkage disequilibrium plotter. *BMC Bioinformatics* 2006; 7, 60
158. Dardiotis, E., Jagiella, J., Xiromerisiou, G., Dardioti, M., Vogiatzi, C., Urbanik, A., Paterakis, K., Komnos, A., Fountas, K.N., Slowik, A. and Hadjigeorgiou, G.M. Angiotensin-converting enzyme tag single nucleotide polymorphisms in patients with intracerebral hemorrhage. *Pharmacogenet. Genomics* 2011; 21, 136–141
159. Dardiotis E, Paterakis K, Tsivgoulis G, Tsintou M, Hadjigeorgiou GF, Dardioti M, Grigoriadis S, Simeonidou C, Komnos A, Kapsalaki E, Fountas K, Hadjigeorgiou GM. AQP4 tag single nucleotide polymorphisms in patients with traumatic brain injury. *J Neurotrauma.* 2014 Dec 1;31(23):1920-6
160. Dardiotis E, Paterakis K, Siokas V, Tsivgoulis G, Dardioti M, Grigoriadis S, Simeonidou C, Komnos A, Kapsalaki E, Fountas K, Hadjigeorgiou GM. Effect of angiotensin-converting enzyme tag single nucleotide polymorphisms on the outcome of patients with traumatic brain injury. *Pharmacogenet Genomics.* 2015 Oct;25(10):485-90
161. Golding, E.M. Sequelae following traumatic brain injury. The cerebrovascular perspective. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 2002; 38, 377–388
162. Klatzo, I. Evolution of brain edema concepts. *Acta Neurochir. Suppl. (Wien)* 1994; 60, 3–6
163. Liang, D., Bhatta, S., Gerzanich, V., and Simard, J.M. Cytotoxic edema: mechanisms of pathological cell swelling. *Neurosurg. Focus* 2007; 22, E2
164. Donkin, J.J., and Vink, R. Mechanisms of cerebral edema in traumatic brain injury: therapeutic developments. *Curr. Opin. Neurol.* 2010; 23, 293–299
165. Papadopoulos, M.C., and Verkman, A.S. Aquaporin-4 and brain edema. *Pediatr. Nephrol.* 2007; 22, 778–784
166. Verkman, A.S., Binder, D.K., Bloch, O., Auguste, K., and Papadopoulos M.C. Three distinct roles of aquaporin-4 in brain function revealed by knockout mice. *Biochim. Biophys. Acta* 2006; 1758, 1085–1093
167. Park, T.J., Kim, J.H., Kim, H.J., Bae, J.S., Cheong, H.S., Park, B.L., Shin, H.D. Lack of association between AQP4 polymorphisms and risk of inflammatory demyelinating disease in a Korean population. *Gene* 2013; 536, 302–307
168. Kerty, E., Heuser, K., Indahl, U.G., Berg, P.R., Nakken, S., Lien, S., Omholt, S.W., Ottersen, O.P., and Nagelhus, E.A. Is the brain water channel aquaporin-4 a pathogenetic factor in idiopathic intracranial hypertension? Results from a combined clinical and genetic study in a Norwegian cohort. *Acta Ophthalmol.* 2013; 91, 88–91
169. Li W., Hu B., Li G.L., Zhao X.Q., Xin B.Z., Lin J.X., Shen, Y., Liang X.H., Liu G.F., Gao H.Q., Liao X.L., Liang Z.G., and Wang Y.J. Heterozygote genotypes at rs2222823 and rs2811712 SNP loci are associated with cerebral small vessel disease in Han Chinese population. *CNS Neurosci. Ther.* 2012; 18, 558–565

170. Rubino, E., Rainero, I., Vaula, G., Crasto, F., Gravante, E., Negro, E., Brega, F., Gallone, S., and Pinessi, L. Investigating the genetic role of aquaporin4 gene in migraine. *J. Headache Pain* 2009; 10, 111–114
171. Kleffner, I., Bungeroth, M., Schiffbauer, H., Schabitz, W.R., Ringelstein, E.B., and Kuhlenbaumer, G. The role of aquaporin-4 polymorphisms in the development of brain edema after middle cerebral artery occlusion. *Stroke* 2008; 39, 1333–1335
172. Mai, W., Hu, X., Lu, Z., Qiu, W., Peng, F., and Wang, Y. Preliminary study on the association of AQP4 promoter polymorphism with anti-aquaporin-4 antibody positivity in southern Han Chinese patients with idiopathic demyelinating disorders of central nervous system. *J. Neuroimmunol* 2013; 255, 75–80
173. Opdal, S.H., Vege, A., Stray-Pedersen, A., and Rognum, T.O. Aquaporin-4 gene variation and sudden infant death syndrome. *Pediatr. Res.* 2010; 68, 48–51
174. Romeiro, R.R., Romano-Silva, M.A., De Marco, L., Teixeira, A.L., Jr., and Correa, H. Can variation in aquaporin 4 gene be associated with different outcomes in traumatic brain edema? *Neurosci. Lett.* 2007; 426, 133–134
175. Sorani, M.D., Zador, Z., Hurowitz, E., Yan, D., Giacomini, K.M., and Manley, G.T. Novel variants in human Aquaporin-4 reduce cellular water permeability. *Hum. Mol. Genet.* 2008; 17, 2379–2389
176. Umenishi, F., and Verkman, A.S. Isolation and functional analysis of alternative promoters in the human aquaporin-4 water channel gene. *Genomics* 1998; 50, 373–377
177. Saadoun, S., Bell, B.A., Verkman, A.S., and Papadopoulos, M.C. Greatly improved neurological outcome after spinal cord compression injury in AQP4-deficient mice. *Brain* 2008; 131, 1087–1098
178. Robertson, C.S., Gopinath, S.P., Valadka, A.B., Van, M., Swank, P.R., Goodman, J.C. Variants of the endothelial nitric oxide gene and cerebral blood flow after severe traumatic brain injury. *J. Neurotrauma* 2011; 28, 727–737
179. Zhou, J., Kong, H., Hua, X., Xiao, M., Ding, J., and Hu, G. Altered blood-brain barrier integrity in adult aquaporin-4 knockout mice. *Neuroreport* 2008; 19, 1–5
180. Bird, T.D., Jarvik, G.P., and Wood, N.W. Genetic association studies: genes in search of diseases. *Neurology* 2001; 57, 1153–1154
181. Zhu X, McKenzie CA, Forrester T, Nickerson DA, Broeckel U, Schunkert H, et al. Localization of a small genomic region associated with elevated ACE. *Am J Hum Genet* 2000; 67:1144–1153
182. Sayed-Tabatabaei FA, Oostra BA, Isaacs A, van Duijn CM, Witteman JC. ACE polymorphisms. *Circ Res* 2006; 98:1123–1133
183. Graham DI, McIntosh TK, Maxwell WL, Nicoll JA. Recent advances in neurotrauma. *J Neuropathol Exp Neurol* 2000; 59:641–651
184. Démolis P, Carville C, Giudicelli JF. Effects of an angiotensin-converting enzyme inhibitor, lisinopril, on cerebral blood flow autoregulation in healthy volunteers. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 22:373–380
185. Friedman A, Bar-Klein G, Serlin Y, Parmet Y, Heinemann U, Kaufer D. Should losartan be administered following brain injury? *Expert Rev Neurother* 2014; 14:1365–1375

186. Baranov D, Armstead WM. Selective blockade of AT1 receptor attenuates impairment of hypotensive autoregulation and improves cerebral blood flow after brain injury in the newborn pig. *Anesthesiology* 2003; 99:1118–1124
187. Timaru-Kast R, Wyschkon S, Luh C, Schaible EV, Lehmann F, Merk P, et al. Delayed inhibition of angiotensin II receptor type 1 reduces secondary brain damage and improves functional recovery after experimental brain trauma. *Crit Care Med* 2012; 40:935–944
188. Namsolleck P, Boato F, Schwengel K, Paulis L, Matho KS, Geurts N, et al. AT2-receptor stimulation enhances axonal plasticity after spinal cord injury by upregulating BDNF expression. *Neurobiol Dis* 2013; 51:177–191
189. Panahpour H, Dehghani GA, Bohlooli S. Enalapril attenuates ischaemic brain oedema and protects the blood–brain barrier in rats via an antioxidant action. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2014; 41:220–226.
190. Harford-Wright E, Thornton E, Vink R. Angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors exacerbate histological damage and motor deficits after experimental traumatic brain injury. *Neurosci Lett* 2010; 481:26–29
191. Donkin JJ, Nimmo AJ, Cernak I, Blumbergs PC, Vink R. Substance P is associated with the development of brain edema and functional deficits after traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 2009; 29:1388–1398