

# Neuroprotektivni učinak egzogenog pentadekapeptida BPC 157 pri eksperimentalnoj kraniocerebralnoj ozljedi

---

**Tudor, Mario**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2010**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:474415>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-19**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)





## **Središnja medicinska knjižnica**

**Tudor, Mario (2010) *Neuroprotektivni učinak egzogenog pentadekapeptida BPC 157 pri eksperimentalnoj kranio cerebralnoj ozljedi*. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.**

<http://medlib.mef.hr/925>

University of Zagreb Medical School Repository

<http://medlib.mef.hr/>



Sveučilište u Zagrebu

**Medicinski fakultet**

**Mario Tudor**

Neuroprotektivni učinak egzogenog  
pentadekapeptida BPC 157 pri eksperimentalnoj  
kranio-cerebralnoj ozljedi

**Doktorska disertacija**

Zagreb, listopad 2010. godine

## KAZALO:

Kratice .....	0
Zahvala .....	1
1. Uvod .....	1
Javno zdravstveno značenje traumatske ozljede mozga (TBI) .....	4
Epidemiološki podaci .....	4
Patofiziologija .....	10
Fizikalni mehanizmi traumatske ozljede mozga .....	10
Patofiziologija unutarlubanjskog prostora .....	11
Mozgovni perfuzijski tlak krvi .....	13
Unutarlubanjski tlak (ICP) .....	14
Mozgovni protok krvi .....	16
Patomorfološke promjene .....	20
Mozgovni edem – krvno-mozgovna barijera .....	20
Mozgovna uklještenja (inkarceracije, hernijacije) .....	21
Subcelularna – molekularna razina .....	25
Neuronska apoptoza .....	26
Podjela traumatske ozljede mozga .....	32
Podjela TBI prema Petit-u .....	32
Glasgowska ljestvica kome .....	32
Primarna i sekundarna TBI .....	33
Fokalna i difuzna .....	34
Klinički utemeljena (kombinirana) podjela TBI .....	34
Podjela temeljem posttraumatske amnezije (PTA) .....	35
Rancho Los Amigos ljestvica .....	35
Klinička slika .....	36
Dijagnostička obrada .....	37
Laboratorijske pretrage .....	37
Neuroradiološke pretrage .....	38
Liječenje .....	39
Prevenција sekundarne TBI .....	39
Lund koncept .....	40
Neuroprotekcija .....	43
P e n t a d e k a p e p t i d B P C 1 5 7 .....	46
Modeli traumatske ozljede mozga u pokusima na životinjama .....	51
Ishod .....	52
2. Hipoteza i ciljevi .....	54
3. Materijali i metode .....	55
Životinje .....	55
Primjenjene tvari .....	56
Izazivanje ozljede i primjena BPC 157 .....	56
Procjena učinaka ozljede .....	57
Neposredni učinci .....	57
Histološka obrada .....	58
Procjena histoloških promjena kod TBI .....	58
Statistička obrada podataka .....	59
4. Rezultati .....	60
Neposredno nakon nanošenja ozljede .....	60

Procjena ishoda nakon 24 sata .....	62
5. Rasprava .....	69
6. Zaključak .....	73
7. Sažetak.....	74
8. Summary .....	75
9. Literatura .....	76
10. Životopis.....	105

Ovaj je rad izrađen u Zavodu za farmakologiju Medicinskog fakulteta u Zagrebu, pod vodstvom Prof. dr. Predraga Sikirića

## **Zahvala**

Zahvaljujem se svojem mentoru prof dr. sc. Predragu Sikiriću na strpljivosti i izdržljivosti pri izradi ove disertacije i za svu pomoć, podršku te savjete i kolegijalan odnos pri izradi ovog rada.

Istinska hvala prof. dr. sc. Kameliji Žarković i njenim suradnicima iz Zavoda za neuropatologiju KBC „Zagreb“ na izradi vrlo korisnih histopatoloških preparata i fotografija.

Hvala svima koji su na bilo koji način pomogli pri izradi ovog rada.

## **Kratice**

AANS – American Association of Neurological Surgeons

BPC – body protective compound

Caspase – Cysteinil aspartat protease

CBF – cerebral blood flow

CNS – the Congress of Neurological Surgeons

CPP- cerebral perfusion pressure

CT – computed tomography

GCS - Glasgow coma scale

GOS - Glasgow outcome scale

EANS – European Association of Neurological Societies

ICP - intracranial pressure

MPTP – mitochondrial permeability transport pores

NMDA – N-Methyl-D-Aspartat

Smac/DIABLO- Second Mitochondria-derived Activator of Caspases

TBI (Traumatic brain injury -Traumtaska ozljeda mozga)

UCLA (University of California Los Angeles)



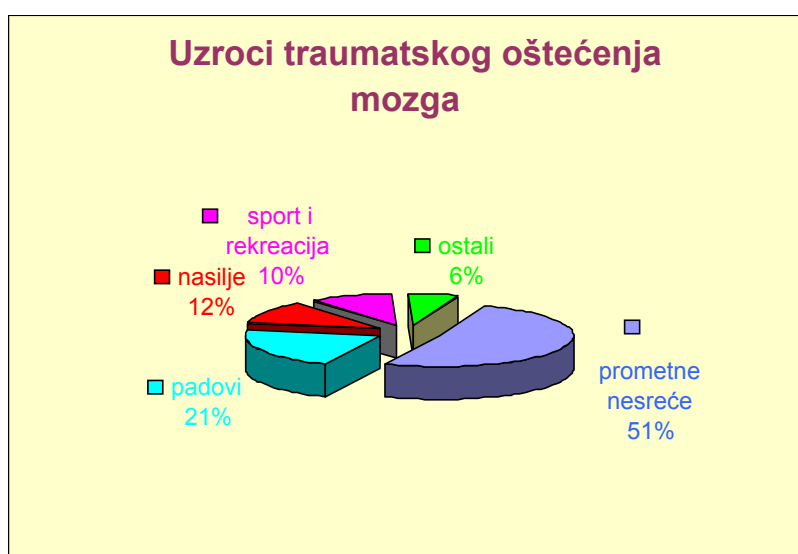
## 1. Uvod

Ozljede su jedan od vodećih uzroka smrti. Kako novoozljedenih s traumatskom ozljedom mozga (traumatic brain injury - TBI) ima godišnje preko 2 000 000 (1 svakih 15"), od čega preko 150 000 umre (1 svakih 5'), dok su preživjeli znatno onesposobljeni (1 svakih 5'), TBI predstavlja ozbiljno gospodarstveno breme<sup>244</sup>. Procijenjeni društveni gubici, uzimajući u obzir produktivne godine i izostalu zaradu, premašuju na desetke milijardi eura godišnje<sup>14</sup>. Ovaj ozbiljan društveni problem doveo je do nastanka specijaliziranih zaklada (Brain Trauma Foundation; Neurotrauma Foundation; European Brain Injury Consortium i dr.)<sup>24,25,123</sup>. One u suradnji s pripadajućim neurokirurškim udrugama (American Association of Neurological Surgeons – AANS, The Congress of Neurological Surgeons – CNS i European Association of Neurological Surgeons - EANS), provode kritički pregled objavljene građe, kako o uvriježenim postupcima liječenja, tako i o onim vrstama liječenja čija učinkovitost nije dokazana iako se iskustveno primjenjuju. Dogovorno predlažu, na dokazima utemeljene, smjernice i standarde neurokirurškog liječenja TBI, stvarajući tako osnovu za daljnja znanstvena istraživanja. Povijesno je, utemeljenjem baze podataka bolesnika s TBI pred 50 godina od strane glasgowske skupine, te zahvaljujući multicentričnoj studiji (Škotska, Nizozemska, SAD) i dr., omogućeno definiranje čimbenika rizika ishoda nakon TBI<sup>98</sup>. Revolucionarnom je potom primjenom kompjuterizirane tomografije - CT 1972. (Godfrey N. Hounsfield 1919.-2004.), bio omogućen izravan, do tada nezamisliv, uvid u ozljedu mozga. Dvije godine kasnije u Lancetu objavljena glasgowska podjela kome (Glasgow Coma Scale - GCS, 1974.)<sup>238</sup>, postala je ubrzo općeprihvaćena (neurotraumatološka lingua franca), omogućivši tako pouzdanu usporedbu postupaka liječenja i među udaljenim neurokirurškim ustanovama. Nakon prihvaćanja podjele na primarnu i sekundarnu TBI koncem 70ih godina, sva su se kliničko-terapijska nastojanja usmjerila na sprječavanje sekundarne ozljede, uz intenzivnu farmaceutsku provjeru/ponudu novih pripravaka u svrhu neuroprotekcije<sup>169-171</sup>. Becker je istodobno objavio ohrabrujući

agresivan pristup neurokirurškog liječenja TBI<sup>13</sup>. Ključne su točke u liječenju TBI tako postale: rano neurokirurško uklanjanje komprimirajućih hematoma, monitoring intrakranijskog tlaka (ICP), strojna ventilacija, te barbiturati, osmoterapeutici i steroidi. Tijekom vremena su ipak, neke od primjenjivanih „doktrina“ sprječavanja sekundarne ozljede mozga, usprkos velikom napretku u liječenju TBI, došle pod znak pitanja ili su iščeznule (na pr. steroidi ne smanjuju ICP). Najprije u UK (1984. i 1993.)<sup>294</sup>, a potom i u SAD (1995.) i Europi (1997.)<sup>123</sup>, (Addenbrooke protokol; Cambridge)<sup>158</sup> uvedene su smjernice za liječenje teške traumatske ozljede mozga<sup>243,244,284-287</sup>, temeljene na mnogobrojnim kliničkim i laboratorijskim pokusima. One u rasponu od vrlo vjerojatno, vjerojatno i nesigurno navode mogućnosti terapijske učinkovitosti za 14 parametara poput: početnog oživljavanja do indikacije za praćenje intrakranijskog tlaka (intracranial pressure - ICP monitoring), smjernica za održavanje optimalnog perfuzijskog tlaka mozga (cerebral perfusion pressure – CPP), uporabu hiperventilacije, manitola ili uloge steroida i dr.<sup>24,25</sup>. Smjernice u liječenju TBI su bile probno uvedene u Hrvatsku, Mađarsku, Slovačku i Sloveniju 1999. godine, gdje dotada, obzirom na malen uzorak, nisu postojali općeprihvaćeni protokoli za liječenje TBI<sup>244</sup>. Primjenom smjernica poboljšala se je zdravstvena skrb, a ozljeđeni su imali značajno bolji posljedak<sup>256</sup>. Ipak će od smjernica do prokušanih zlatnih standarda u liječenju TBI proći nažalost još vremena, što govori da svaki napor u poboljšanju postojećih i razvijanju novih terapijski mogućnosti, ima svoje znanstveno i praktično opravdanje.

Traumatska je ozljeda mozga<sup>14</sup>, (kraniocerebralne ozljede), najčešće bolesno stanje (neurotraumatologija) s kojima se neurokirurg susreće u svakodnevnom radu – hitnoj službi, a predstavlja istovremeno ozbiljan javno-zdravstveni problem<sup>14,144</sup>. Predskazuje se da će od 2020. godine one biti vodeći uzrok smrti u razvijenom svijetu<sup>247,274</sup>. Pod TBI podrazumijevamo bilo koji učinak (udar) vanjske sile na mozak koji vodi privremenom ili trajnom poremećaju kognitivnih sposobnosti ili fizičkog i psihosocijalnog ustroja, a praćen je promjenom stanja

svijesti<sup>14,268</sup>. Velika motoriziranost u cestovnom prometu i tehnološki napredak na radnim mjestima dovode, usprkos primjene boljih mjera zaštite, do povećanja učestalosti TBI («traumatska epidemija ili epidemija traume», tzv. nečujna/nevidljiva epidemija<sup>81,244</sup>)<sup>41</sup>. Učestalost TBI procjenjuje se na oko 0,5-1% u razvijenim zemljama<sup>41,108,109</sup>. Od toga broja jedna polovina otpada na prometne nesreće, a ostatak na padove, nesreće na poslu i u kući, nasilje, te pri sportskim aktivnostima (jahanje konja, rugby, američki nogomet, boks) i igri<sup>41,84,85</sup>.



**Slika 1 Uzroci traumatskog mozgovnog oštećenja**

Iako celularni i molekularni mehanizmi posttraumatskih promjena nisu još do kraja istraženi, poznato je da je TBI okidač za čitav niz događanja koja vode smetnjama mozgovnog protoka (ishemiji) i metabolizma, tkivnom edemu, degeneraciji neurona i konačno staničnoj smrti. Nakon trenutne primarne ozljede (udara), očekivati je dakle kasniji nadolazak opasnih sekundarnih promjena mozgovnog parenhima. Razumljivo je stoga da će potencijalna mjesta farmakološkog djelovanja (neuroprotekcija<sup>169-171,233</sup>), nakon početnog neurokirurškog i intenzivno-medicinskog otklanjanja/smanjenja opsežnosti primarnog udara, biti ona, gdje ishemijskim (hipoksidozom) pobuđeni/oštećeni subcelularni mehanizmi, dovode do citolize. Sve do sada eksperimentalno provjerene potencijalno neuroprotektivne tvari (>20), ili terapijski postupci, u

preko 50 studija, u zadnjih 20ak godina, nisu ispunili klinička očekivanja<sup>26,39,55,59,122,144,247,295</sup>! Kako je u brojnim prijašnjim istraživanjima povoljno terapijsko/zaštitno djelovanje pentadekapeptida BPC 157 u/na drugim tkivima<sup>16,80,95,96,166,168,185,186,197-216,225,226,252,253</sup> bilo višestruko dokazano, to je i kod traumatske ozljede mozga, opravdano očekivati njegovo neuroprotektivno djelovanje.

## **Javno zdravstveno značenje traumatske ozljede mozga (TBI)**

### **Epidemiološki podaci**

#### **Pobol**

U europskim se bolnicama, zbog traumatske ozljede mozga (TBI), godišnje zaprimi 1 600 000 ozljeđenih<sup>14</sup>, a u SAD 1 700 000<sup>299</sup>. Na populaciju od 683 000 000 to čini 235 novih slučajeva na 100000 stanovnika/god. (Švedska 365 na 10<sup>5</sup> stanovnika/god. – Škotska 83 na 10<sup>5</sup>/stanovnika/god.)<sup>14</sup>, u SAD 130 na 100000 stanovnika/god<sup>299</sup>. Dobno su najzastupljeniji adolescenti i seniori.

**Europa - 235 novih traumatskih ozljeda mozga na 10<sup>5</sup> na god.; SAD - 130 na 10<sup>5</sup>**<sup>14,41,108,109,299</sup>.

#### **Prevalencija**

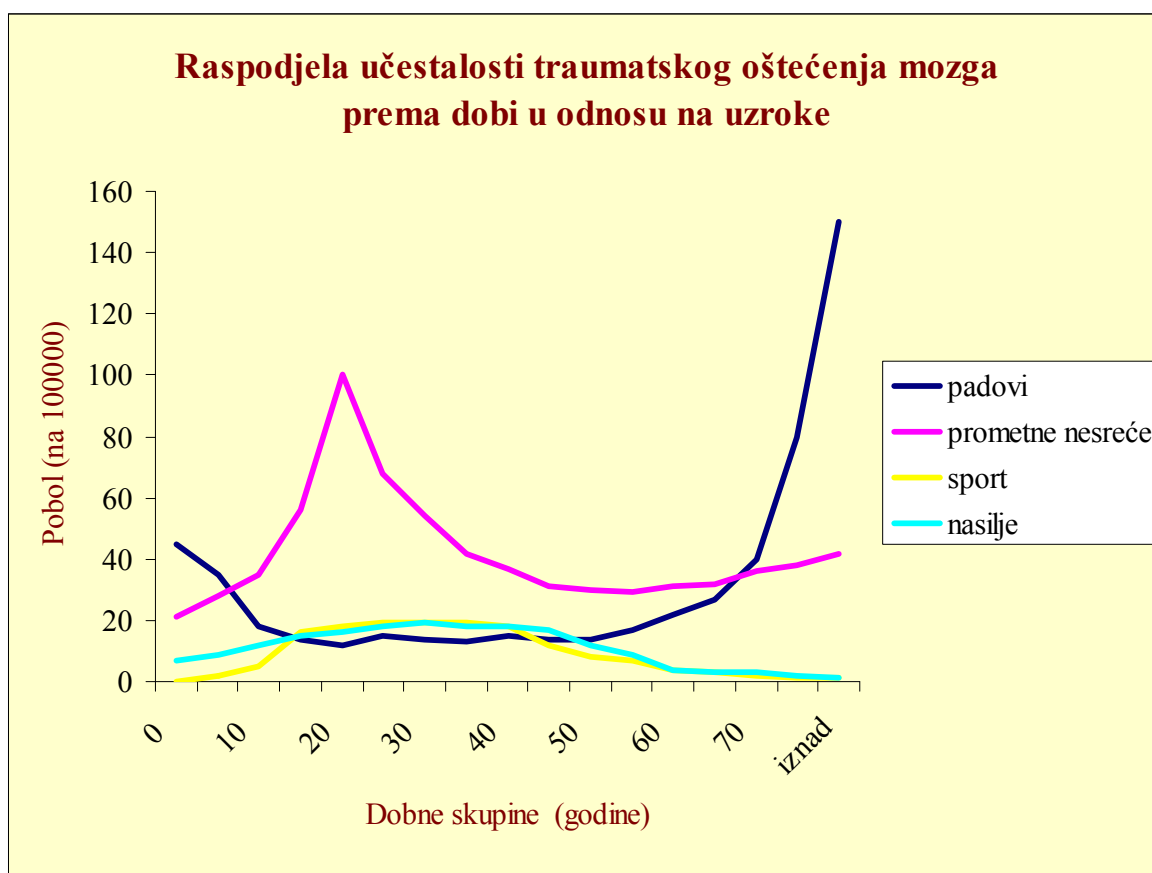
Kako podatke o „bolujućima“/i trajno onesposobljenim nije jednostavno prikupiti („tiha epidemija“) to se oni većinom procjenjuju. Mnoge ozljede glave nažalost ostanu neregistrirane u zdravstvenim ustanovama, jer srazmjerno velik broj ozljeđenih uopće ne traži stručnu pomoć. Drži se da je trajno preko 5,5 milijuna Amerikanaca ozbiljno onesposobljeno uslijed traumatske ozljede glave<sup>299</sup>. Za Europu (pa i Republiku Hrvatsku nema podataka)<sup>14</sup>.

#### **Bolnička smrtnost**

Od navedenog broja novoozljeđenih godišnje podlegne 66 000<sup>14,41,108</sup> (jedna trećina s teškom TBI – Glasgow Coma Scale<sup>35,230,236-240,281</sup> –GCS<8), u SAD 52000<sup>108,299</sup>. Bolnička smrtnost ozljeđenih s TBI u Europi iznosi 9,7 na 10<sup>5</sup> (Njemačka - 11,5 na 10<sup>5</sup> stanovnika/god. – UK - 2 na 10<sup>5</sup> stanovnika/god.). U SAD-u 17 ozljeđenih na 10<sup>5</sup> stanovnika/god. podlegne prije nego li

prispije u bolnicu, a 6 ozljeđenih na  $10^5$  stanovnika/god. umre u bolnici. Najveću učestalost (smrtnosti za TBI) imaju rizične dobne skupine: mala djeca ispod 5 godina, seniori preko 70 godina te adolescenti od 15-25 godina. Pri tome je za najmlađu (<5) i najstariju dobnu skupinu (>70) karakterističan visok rizik za pad, dok se vršak prometnih nesreća nalazi u skupini adolescenata<sup>299</sup>.

Europa 9,7 na  $10^5$ /god.; SAD 30 na  $10^5$ ; Južna Afrika 81 na  $10^5$ <sup>14,108,145,231</sup>



**Slika 2**  
**Prikaz dobne zastupljenosti ozljede mozga (TBI) u odnosu na uzroke**

Zanimljivo je da su padovi češći uzrok na sjeveru Europe dok su prometne nesreće češće na njenom jugu<sup>14</sup>. Prema Središnjoj službi za nadzor i sprječavanje bolesti (SAD), ozljede glave čine 1% svih smrti, 40% svih smrti politraumatiziranih i skoro polovicu smrtnih slučajeva u

prometnim nesrećama<sup>41,108</sup>. Pretjeranom korištenju alkoholnih napitaka pripisuje se utjecaj u oko 15-20% slučajeva. Alkohol je doprinoseći čimbenik u najmanje polovine svih fatalnih prometnih nesreća. Padovi su češći kod bolesnika s (grand mal) epilepsijom, kardio- i angio-pata, hipertoničara, dijabetičara, bolesnika na antikoagulancijama i antiagregacijskim lijekovima i sl., ili u godišnja doba branja maslina, trešanja i sl. Nasilje (tuče, prepadi i dr.) je isto tako važan uzrok TBI – naročito u UK. Muškarci imaju triput veći rizik za TBI od žena. Povećani rizik za TBI imaju također adolescenti, siromašni, neoženjeni/neudate, etničke manjine, stanovnici središnjih dijelova gradova, ovisnici o opojnim drogama, odnosno osobe koje su već imale TBI<sup>268</sup>.

Prema 10 inačici međunarodne klasifikacije (ICD10) bolesti označavaju se ozljede glave:

Lom lubanje (svod i temelj)	S02.0, S02.1
Traumatska ozljeda mozga	S06.2

#### Troškovi liječenja

Troškovi neposrednog bolničkog liječenja za TBI uslijed prometnih nesreća iznose u SAD-a približno 20 000\$ po bolesniku<sup>134</sup>. Sveukupni troškovi SAD-a za ozljeđene s TBI iznose preko 56 milijardi dolara godišnje (2009.) pri prevalenciji od 5,5 milijuna<sup>299</sup>. Liječenje preživjelih nakon teške ozljede mozga u jedinicama za intenzivnu njegu i rehabilitacijskim ustanovama traje (produljeno) u prosjeku 5-10 godina, a individualni troškovi često premašuju iznose od 600 000-1 800 000\$ pa sve do 4 000 000\$. Cijena liječenja TBI u Europi/Hrvatskoj se može samo naslućivati<sup>14</sup>, jer prevalencija TBI u Europi/Hrvatskoj nije poznata.

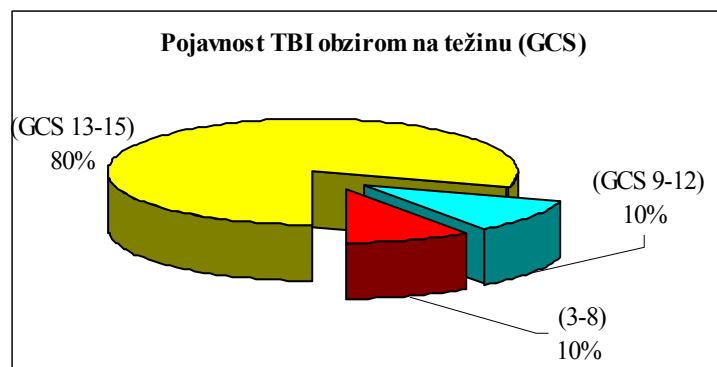
#### Usporedba Europa – SAD

Stopa prijema u bolnicu u Europi za TBI je veća (235 na 10<sup>5</sup> god.) u usporedbi s onom u SAD (98 na 10<sup>5</sup>/god.<sup>14,241</sup>), vjerojatno uslijed proširenih kriterija za prijem lake TBI (GCS 14,15) u

bolnicu. Smrtnost od 9,7 na  $10^5$ /god. je manja od one zabilježene u SAD (30 na  $10^5$ god.) ili one u Južnoj Africi od čak 81 na  $10^5$ /god.<sup>14,108,145,231</sup>.

Podaci s University of California Los Angeles – „UCLA“ (SAD)<sup>296</sup>

Prema podacima sveučilišta UCLA ozljede (trauma) su vodeći uzrok smrti u osoba mlađih od 45 godina. Od 24 pregledana bolesnika, na hitnom neurokirurškom prijemu, 6 će zbog TBI biti primljena u bolnicu, a od njih će jedan podleći. Godišnje se u SAD-u očekuje 1,5 milijuna novoozljeđenih. Od toga broja će 10% ozljeđenika imati tešku TBI (GCS od 3-8), 10% srednje tešku (GCS od 9-12), a ostatak laku ozljedu mozga (GCS od 13-15)<sup>143</sup>.



**Slika 3 Pojavnost traumatske ozljede mozga u odnosu na njenu težinu (GCS)**

Sezonski je najveća stopa pogibelji od TBI uslijed prometnih nesreća tijekom ljetnih mjeseci i u ranu jesen (lipanj - rujan). Tjedne i dnevne fluktuacije su izražene najviše koncem tjedna (petak, subota, nedjelja) i u noćnim satima (od 17 sati do 3 ujutru). Kod pješaka ozljede glave čine približno 15% udjela od sveukupnih ozljeda. Stopa poginulih pri vožnji motorkotačem je za 15 puta veća nego li je stopa za putnike u automobilima. U SAD godišnje smrtno nastrada približno i 800 ozljeđenih biciklista, a 17 000 ih se hospitalizira. U Republici Hrvatskoj je pobol TBI tijekom 5 godina (2001.-2005.) iznosio prosječno 210 na  $10^5$ , a mortalitet 13 na  $10^5$  tako da se može očekivati oko 10000 novoozljeđenih/godišnje, a oko 500 ozljeđenih od TBI će podleći

**Tablica 1 Bolnički pobol zbog ozljeda glave (MKB, X. REVIZIJA: S00-S09) u Republici Hrvatskoj u razdoblju 2001. - 2005. godine** (apsolutan broj i stope na 100 000 stanovnika); Izvor podataka: Baza bolničkog pobola, HZJZ \*Stope su izračunate prema popisu stanovništva RH iz 2001. g.

	2001.g.		2002.g.		2003.g.		2004.g.		2005.g.	
	aps.br.	stopa	aps.br.	stopa	aps.br.	stopa	aps.br.	stopa	aps.br.	stopa
<b>Ukupno</b>	9289	209,33	10264	231,30	10117	227,99	7797	175,71	8987	202,53
<b>Muški</b>	6352	297,39	7094	332,13	6957	325,72	5375	251,65	6086	284,94
<b>Ženski</b>	2937	127,61	3170	137,73	3160	137,30	2422	105,23	2901	126,04

**Tablica 2 Umrli zbog ozljeda glave (S00-S09) u Republici Hrvatskoj u razdoblju 2001.- 2005. godine** (apsolutan broj i stope na 100 000 stanovnika); Izvor podataka: Tablice mortaliteta, DZS, HZJZ; \*Stope su izračunate prema popisu stanovništva RH iz 2001. g.

	2001.g.		2002.g.		2003.g.		2004.g.		2005.g.	
	aps.br.	stopa	aps.br.	stopa	aps.br.	stopa	aps.br.	stopa	aps.br.	stopa
<b>Ukupno</b>	520	11,72	551	12,42	637	14,36	598	13,48	603	13,59
<b>Muški</b>	416	19,48	433	20,27	501	23,46	459	21,49	472	22,10
<b>Ženski</b>	104	4,52	118	5,13	136	5,91	139	6,04	131	5,69

#### Prevenција

Sprječavanje TBI može se provesti i državnim programima poticanja tehnološkog napretka (sigurnija vozila, bolje prometnice) i legislativno: pooštrenjem odredbi u prometu (nošenje



šljemova, obaveznim korištenjem sigurnosnog pojasa, naslona za glavu, ugradbom zračnih jastuka, ograničavanjem brzine), zaštitnih mjera na radu i sl. U Republici Hrvatskoj je 13. lipnja 2008. godine stupio na snagu Novi zakon o sigurnosti prometa. Preventivne liječničke mjere odnose se na redovite preglede budućih vozača te izvanredne preglede vozača koji tijekom vozačkog vijeka (od 18.-80. godine), razviju neku bolest (padavica, slabovidnost i sl.) ili poremećaj (duševne smetnje), ili kad se policijskim pregledom kod njih ustanovi zloraba opojnih droga ili alkohola (iznad granice od 0,5‰). Sigurnosni pojasi i zračni jastuci sprječavaju ozljede glave u prometu. U sumrak pješaci (osobito djeca) moraju nositi fluorescentni prsluk, pojas. Vozači se moraju vezati sigurnosnim pojasom i upaliti kratka svjetla. Ne smije se koristiti mobitel (samo „handsfree“). Mnoge ozljede glave se nošenjem šljemova – najjednostavniji i najjeftiniji način samozaštite -, mogu spriječiti. Šljemovi su ključni u zaštiti i treba ih uvijek koristiti tijekom vožnje jer smanjuju ozbiljnost ozljede, vjerojatnost pogibli i sveukupno koštanje medicinske skrbi. Polovica umrlih vozača motorkotača uslijed prometnih nesreća imala je ozljedu mozga. Šljem smanjuje vjerojatnost pogibelji pri nesrećama biciklom za 85-88%, a pri onima motorkotačem za 35 - 50%<sup>286-289</sup>. Mortalitet kod teške TBI pokazuje tendenciju pada (za 20% od 1980.)<sup>244</sup>. Ovaj povoljan trend zahvaljujemo široj dostupnosti mjerâ hitne medicinske pomoći i intenzivnog liječenja kojima je glavna zadaća spriječiti sekundarnu ozljedu mozga<sup>36,139</sup>. U SAD i Kanadi i drugdje, organiziranjem obrazovnih tečajeva za široke mase o zbrinjavanju ozljeda glave i kralješnice, primjerice “Think First“ kao najpoznatijeg, te primjena pozitivnih zakona o sigurnosti, znatno su doprinjeli društvenom shvaćanju važnosti ovih ozljeda. Od 1982. – 1992. se je u SAD-u korištenje automobilske sigurnosne pojase među vozačima i putnicima povećalo s 11% na 66%. Samo u 1992. zračni jastuci su spasili preko 550 života i spriječili 40 000 teških ozljeda. Pogibelj od motorkotača se je smanjila s preko 4600 poginulih u 1982. godini na 2400 u 1992. – isključivo uslijed striktno primjene zakona o obvezatnom korištenju šljema<sup>286-289</sup>. Povećanje

korištenja posebnih dječjih sjedala od 1982. do 1992. spasilo je najmanje 2000 dječjih života. Pri naizgled nerješivom problemu prometnih nesreća uzrokovanih korištenjem alkoholnih napitaka, zahvaljujući intenzivnim obrazovnim tečajevima za široke mase i pozitivnim zakonima o zabrani točenja alkoholnih napitaka pri vožnji, u 1992. godini smrtnost u SAD je pala za 30% u odnosu na 1982., unatoč porastu broja vozila u tom istom periodu. Zbog toga što može bitno sprječava ekscitotoksičnost, konzumacija alkohola neposredno prije ozljede, smanjuje vjerojatnost lošeg ishoda. U drugim je opet studijama utvrđeno da je kod bolesnikâ koji su u anamnezi imali pad, a koji su praktično bili intoksicirani alkoholom (>200 mg/dL) ishod bio bolji <sup>266</sup>. Padovi se sprječavaju osiguravanjem rizičnih mjesta: okućnice, stubišta, kada za kupanje, uvrnuti tepisi i niski dijelovi kućnog namještaja! Potrebno je javno/medijskim putem upozoravati pučanstvo tijekom sezone branja trešanja (travanj; svibanj) ili maslina (studenj) i sl.

## **Patofiziologija**

### **Fizikalni mehanizmi traumatske ozljede mozga**<sup>64-66,68-77,150-153</sup>

Pri razvoju/nastanku morfoloških promjena sudjeluju akceleracijsko-deceleracijske, translacijske, rotacijske i/ili distorzijske sile, dakle one koje vode kidanju/lomljenju/stlačenju, savijanju/istezanju -vlaku, i/ili uvrtnanju – smaku, tkiva.

U osnovi svake TBI postoje tri osnovna fizikalna mehanizma ili njihove kombinacije i to:

- ozljeda nastaje izravnim udarcem čvrstim tijelom u/o glavu i/ili glava izravno udara u/o podlogu (čvrsto tijelo).
- ozljeda nastaje naglim ubrzanjem ili usporenjem glave (akceleracijske i deceleracijske sile (dakle udarac - dodir lubanje s čvrstim tijelom ne mora niti postojati).
- Ozljeda nastaje rotacijom i distorzijom (uvrtnanjem).

## Patofiziologija unutarlubanjskog prostora

Pri normalnim okolnostima vrijedi:

Tablica 3 Kvantitativan prikaz lubanjskih sastojaka

<i>Lubanjski sastojak</i>	<i>Obujam (ml)</i>	<i>Postotak (%)</i>
<i>mozak (M)</i>	1400 ml	80%
<i>cirkulirajuća krv (K)</i>	150 ml	10%
<i>cerebrospinalni likvor (csl)</i>	150 ml	10%
<i>Ukupno</i>	1700 ml	100%

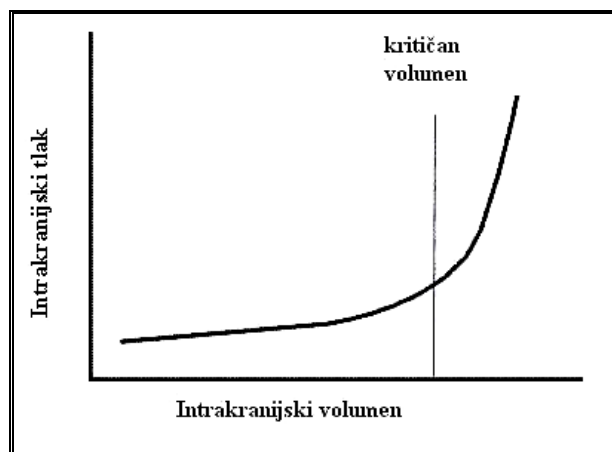
Prema Monroe–Kellyevoj (Monroe–Kelly–Burrows–Abercrombie-1783.) doktrini su čvrste kosti lubanje u odraslog, fizikalno nestlačive, a zbroj obujama nestlačivih (tekućih) sastojaka unutar nje stalan, omogućavajući ravnotežu (homeostazu)<sup>102,140</sup>.

$$V_{\text{mozga}} + V_{\text{csl}} + V_{\text{krvi}} = K_{\text{intrakranijskog volumena}}$$

Nasuprot tome je u patološkim uvjetima (novonastalo zauzimanje prostora – Spaceoccupying, Raumforderung), unutarlubanjski obujam

$$V_{\text{mozga}} + V_{\text{csl}} + V_{\text{krvi}} + (\text{spaciokompresivni}) V = \text{intrakranijski } V$$

povećan za vrijednost novog volumena koji se „nasilno ugurava“ u unutrašnjost lubanje. Pojedinačan porast obujma jedne komponente (krvi, cerebrospinalnog likvora ili mozgovnog tkiva) se u normalnim uvjetima kompenzira smanjenjem obujma (kompresijom) drugog sastojka da bi se zadovoljila formula. Ako se to (više) ne može postići, onda intrakranijski tlak (ICP) raste i u trenutku kada se rezerva elastičnosti (compliance) intrakranijskog tlaka potroši već će i male pomjene unutarlubanjskog volumena voditi pogubnom porastu ICP.



**Slika 4**  
**Odnos intrakranijskog tlaka i intrakranijskog volumena**

Ovo vrijedi jednako za sve patološke (ekspanzivne) procese koji se razvijaju unutar lubanje! Prvi kompenzacijski mehanizam Monroe-Kellyeve doktrine volumenske konstante, pri razvijanju „novog“ volumena u lubanji je, zatvaranje/utrošak likvorskih prostora (arahnoidalnih cisterni) temelja i periferije mozga („istiskivanje“ cerebrospinalnog likvora iz subarahnoidalnih prostora lubanje u spinalni prostor, smanjenje sekrecije CSL). Navedeno prelijevanje tekućine/tkiva iz jednog odjeljka (kompartmenta) u drugi, povezano je s početnim porastom unutarlubanjskog tlaka (ICP), uslijed kojega se jednim dijelom smanjuje protok krvi kroz mozak (CBF), odnosno perfuzija mozgovnog parenhima (CPP). Pri daljnjem širenju-ekspanziji novonadolazećeg volumena istiskuje se venska krv iz lubanje. Uslijed promjene Starlingove ravnoteže na venskom kraju kapilare tekućina se zadržava u tkivu, razvija se edem mozga, čime se dodatno zauzima unutarlubanjski prostor i povećava intrakranijski tlak. Nastavlja se daljnje istiskivanje CSL sve dok se ovaj mehanizam ne potroši – dok sav likvor iz lubanje ne bude istisnut, a venski sinusi postanu neprohodni - smanjenje protoka krvi kroz mozak (hipoperfuzija, ishemija). Dolazi dakle do gubitka mozgovne vaskularne autoregulacije (kad daljnji porast krvnog tlaka, više nema učinka na protok krvi -CBF). Ovaj posljednji prirodni porast krvnog tlaka je moguć jedino preko, prije više od stotinu godina otkrivena Cushingova refleksa (hipertenzija, bradikardija, centralne smetnje disanja), kako bi se nadvladao porast

ICP, ali taj je napor uzaludan, jer će se ICP nažalost uskoro izjednačiti, ili postati veći od sustavnog arterijskog tlaka! Tijekom navedenih promjena dolazi usporedno i do potis-kivanja mozgovnih masa (mozgovne hernijacije, uklještenja). Ako je dinamika razvoja novonastalog obujma u lubanji nagla, kao kod akutnih procesa: (ozljede, hematomi, hemoragije i dr.) onda je kompenziranje novonastalih promjena autoregulacijom teško moguće, jer distorzija/uklještenje mozgovnog debla vodi brzo u smrt bilo izravno, bilo preko razvoja sekundarnih promjena. Tome nasuprot, pri kronično razvijajućim procesima (tumori, kronični hematomi) mozak se, zanimljivo može prilagođavati do ponekad neshvatljivih granica. Ako se novonastali obujam pravovremeno ukloni (operacijom) mogućnost povratka homeostaze je vjerojatna, dok njegovim daljnim napredovanjem, perfuzija tkiva prestaje (nastaje mozgovna smrt).

### **Mozgovni perfuzijski tlak krvi**

(CPP – cerebral perfusion pressure)<sup>174,175,254,277</sup>

Krvni protok mozga (2-4% mase tijela) na kojega otpada čak 20% minutnog volumena srca ovisan je o (srednjem) arterijskom tlaku i o unutarlubanjskom tlaku.

$$\boxed{\text{SAT} - \text{ICP} = \text{CPT (CPP)}}$$

(SAT – srednji arterijski tlak, ICP – intrakranijski tlak, CPT – cerebralni perfuzijski tlak). U normalnim uvjetima, pri sistemskom tlaku od 100 mm Hg, ICP-u od 5-10 mm Hg, CPP iznosi 70-85 mm Hg. Uz očuvanu autoregulaciju mozgovni je protok (CBF) u eksperimentalnim uvjetima stalan ( $45-50 \text{ ml } 100\text{g}^{-1} \text{ min}^{-1}$ ) i pri varijacijama CPP od 60-140 mm Hg. Kada CPP padne ispod vrijednosti od 50 mm Hg, protok krvi prestaje i nastaje mozgovna ishemija. Nakon ozljede mozga, a osobito kod politraumatiziranih, zbog gubitka autoregulacije, CPP može pasti do praga ishemije<sup>254</sup>. U tim slučajevima protok dobro oksigenirane arterijske krvi (CBF) treba što brže ponovno uspostaviti da bismo spriječili razvoj sekundarne ozljede mozga<sup>36,37</sup>. To znači

treba uspostaviti i optimalan CPP. Obzirom na gubitak autoregulacije nije uvijek jasno koja je to razina. Prema više studija drži se da je 60-70 mm Hg optimalna vrijednost ispod koje se ne smije spustiti<sup>36,37,174,175,254</sup>! Preporuča se stoga održavati srednji arterijski tlak iznad 100 mm Hg. Mortalitet raste za po 20% na svakih 10 mm Hg smanjenja CPP<sup>36,135,174,175</sup>. U izvješćima gdje je CPP održavan iznad 70 mmHg smanjenje smrtnosti je iznosilo preko 35% za tešku TBI<sup>29-32,36,37,135,174,300</sup>. Kritične vrijednosti CPP i ICP za preživljavanje ozljeđenih su: najmanji perfuzijski tlak (CPP) od 65 mm Hg uz najveći intrakranijski tlak (ICP) od 17 mm Hg.

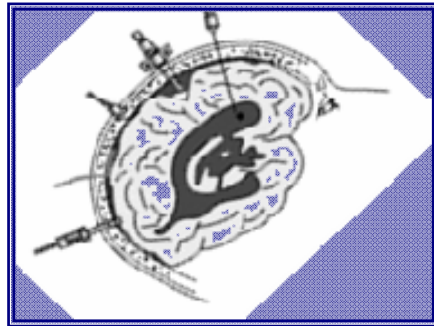
Tablica 4

**Usporedba mozgovnog perfuzijskog tlaka (CPP) i intrakranijskog tlaka u umrlim i preživjelih nakon TBI**

	<b>Najmanji CPP (mm Hg)</b>	<b>Najveći ICP (mm Hg)</b>
Preživjeli	65,5±8,5	16,9±3,1
Umrli	6,0±3,9	53,7±10,8

**Unutarlubanjski tlak (ICP)** <sup>36,37,78,112,127,143,278</sup>

Normalan tlak izmjeren u intrakranijskom prostoru mora biti manji od 1,3 kPa (10-15mmHg). Krivulja ICP-a je pulsirajući val koji sadržava arterijske pulzacije i respiracijske ekscurzije. Razlikujemo: A, B i C valove (Lundberg 1960.). Kontinuirana mjerenja su prvi provodili Guillaume i Janny 1951.



**Slika 5 Načini i mjesta mjerenja intrakranijskog tlaka (intraventrikularno, epiduralno, subduralno)**

Svaki porast ICP preko 20-25 mm Hg vodi hipoperfuziji, hipoksiji, hiperkapniji, acidozi, tkiva, uslijed toga edemu koji opet povećava ICP čime se zatvara začarani krug. Sistemska hipotenzija i visoki ICP su najlošija kombinacija, a udruženi s hipoksemijom (prohodnost dišnih puteva) znače lošu prognozu. Uzroci porasta ICP mogu biti mozgovni edem, spaciokompresijski hematomi, nagnječenja mozga i dr. Odstraniti hematome, ukloniti koštane ulomke, vanjska drenaža cs likvora i/ili dekompresijske osteoklastične kraniotomije u mlađih osoba i dr. načini su smanjenja ICP kirurškim putem. Podignuto uzglavlje pod 30°, dobra sedacija i relaksacija (smanjenje mišićnog rada), afebrilnost, hiperventilacija, lijekovi (osmoterapeutici, barbiturati i dr.) su načini konzervativnog smanjenja ICP u intenzivnoj njezi. Indikacije za mjerenje intrakranijskog tlaka su navedene u tablici.

Tablica 5<sup>278</sup>

Indikacije za mjerenje intrakranijskog tlaka

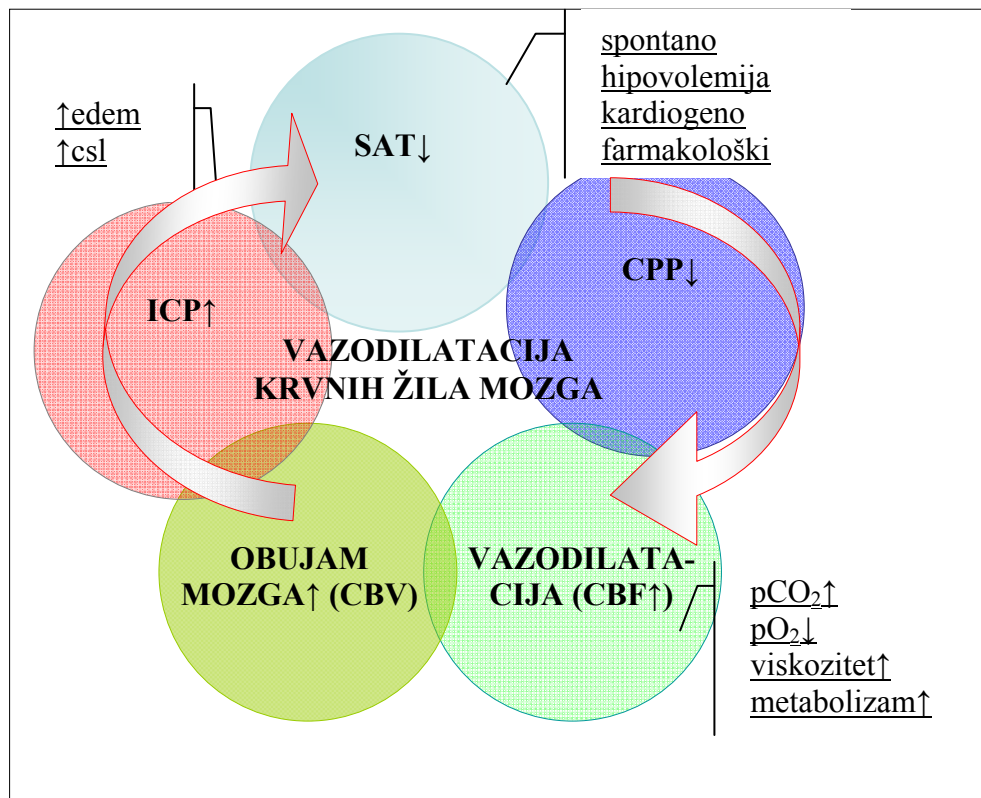
Indikacije za mjerenje ICP	Rizik porasta ICP
<b>Teška TBI (GCS 3-8)</b>	
Patološki CT	50-60%
Uredan CT Dob > 40, ili krvni tlak < 90mmHg ili fleksijski/ekstenzijski grčevi	50-60%
Uredan CT scan Bez faktora rizika	13%
<b>Srednje teška TBI (GCS 9-12)</b>	
Ako je anesteziran/sedirani Patološki CT	Približno 10-20% će se pogoršati prema teškoj TBI
<b>Laka TBI (GCS 13-15)</b>	
Rijetka indikacija za mjerenje ICP	Tek će 3% prijeći u tešku TBI

**Mozgovni protok krvi (Cerebral Blood Flow-CBF)**

Poznavanje/mjerenje protoka krvi kroz mozak (CBF) je od iznimne važnosti kod TBI. CBF normalno iznosi 45-50ml/100g<sup>-1</sup>min<sup>-1</sup>. Padne li ispod vrijednosti 18-20ml/100g<sup>-1</sup>min<sup>-1</sup> električna aktivnost stanica počima nestajati (EEG). Poraste li cerebralni protok, ili se on smanji, nadoći će više, ili manje, arterijske krvi u intrakranijski prostor te će se tako povećati volumen mozga (cerebral blood volume - CBV). U patološkim uvjetima će stoga ovakve promjene protoka imati snažan utjecaj na porast ili pad ICP. Hipoksija i/ili hiperkapnija već u fiziološkim uvjetima vode porastu ICP preko porasta CBF. Hipotenzija također doprinosi porastu ICP. Autoregulacija, još nepotpuno istražen vaskularni mehanizam specifičan mozgu, održava CBF konstantnim, unatoč varijacijama arterijskog tlaka (normalno između SAT = 50 – 150 mm Hg). Uslijed TBI, CBF može postati ovisan o krvnom tlaku, pa tada kažemo da se je autoregulacija izgubila, što znači da onako kako krvni tlak raste, jednako se povećava i CBF, uslijed čega volumen mozga raste, a posljedica čega je porast ICP (grafički prikaz 4). Neki autori navode opažanja kod nastradalih s TBI, da je autoregulacija bila očuvana u čak 69% slučajeva<sup>31,32</sup>. Pad



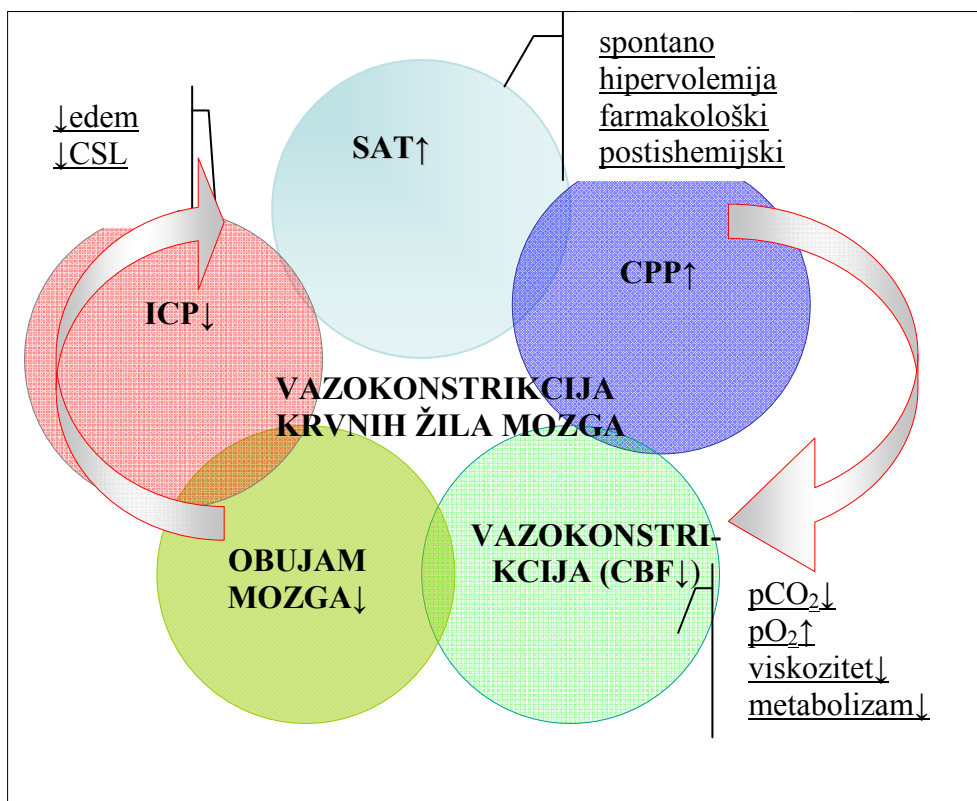
CPP ispod kritične vrijednosti od 50 mmHg vodi neprimjerenom perfuziji mozgovnog tkiva. Autoregulacija tada preko vazodilatacije dovodi do porasta volumena mozga, uslijed čega raste ICP. Začarani se krug time zatvara, krajnji rezultat čega je cerebralna ishemija.



**Slika 6**  
**Utjecaj vazodilatacije na CBF (CPP i ICP)**

SAT – srednji arterijski tlak, ICP – intracranial pressure, CPP – cerebral perfusion pressure, CBV – cerebral blood volume, CBF- cerebral blood flow, csl – cerebrospinalni liquor, pO<sub>2</sub> - parcijalni tlak kisika, pCO<sub>2</sub> – parcijalni tlak ugljik dioksida

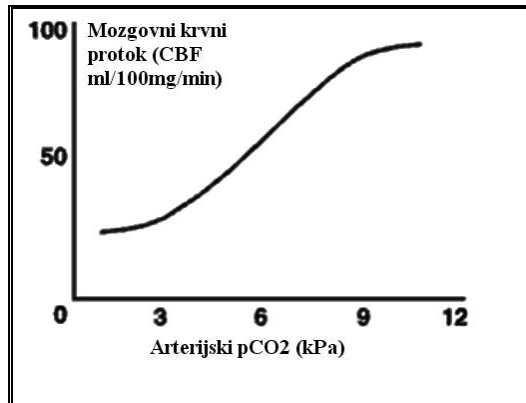
Jasno je da se ovdje može terapijski zahvatiti sredstvima koja podižu arterijski tlak i popravljaju CPP preko vaskonstriktorske kaskade.



**Slika 7**  
**Utjecaj vazokonstrikcije na CBF**

SAT – srednji arterijski tlak, ICP – intracranial pressure, CPP – cerebral perfusion pressure, CBV – cerebral blood volume, CBF- cerebral blood flow, csl – cerebrospinalni liquor, pO<sub>2</sub> - parcijalni tlak kisika, pCO<sub>2</sub> – parcijalni tlak ugljik dioksida

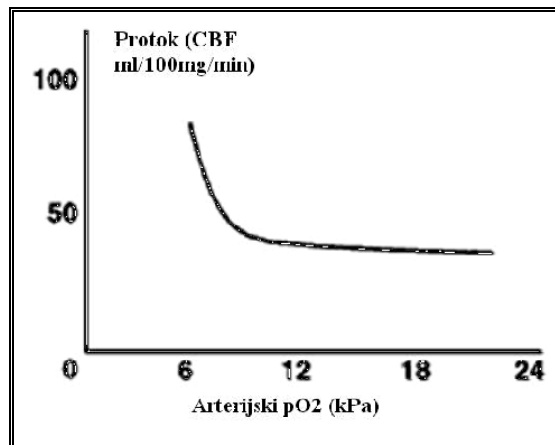
Odnos CBF i pCO<sub>2</sub> je upravo proporcionalan. Ugljik dioksid izaziva vazodilataciju, odnosno hipokapnija će izazvat vazokonstrikciju. Kad se uslijed vazokonstrikcije CBF smanji, tomu je dakle razlog hiperventilacijom uzrokovan pad pCO<sub>2</sub>. Učinak se postiže u roku od 2-30 minu-ta, a može smanjiti ICP za oko 50%. No hipokapnija ispod 25 mmHg (3,3 kPa) nema daljnjeg učinka na smanjenje CBF, nego će samo pomaknuti disocijacijsku krivulju kisika ulijevo, pa će tkivo biti hipoksično!



**Slika 8 Odnos pCO<sub>2</sub> i CBF**

(parcijalnog tlaka ugljik dioksida i protoka krvi kroz mozak)

Ovaj vazokonstriksijski učinak hipokapnijom, kratkog je trajanja i prestaje nakon 5 sati! Dok se hipokapnija terapijski održava, CBF se ipak postupno penje do normalnih vrijednosti, pa će, u trenutku brzog vraćanja pCO<sub>2</sub> na normalne vrijednosti, nastati hiperperfuzija (cerebralna hiperemija). Stoga je pri dugotrajnim ventilacijama najbolje izabrati umjerenu hipokapniju od 34-38 mmHg (4,5-5,1 kPa).



**Slika 9 Odnos pO<sub>2</sub> prema CBF**

Nizak pO<sub>2</sub> također ima značajan učinak na CBF. Kada padne ispod 50 mmHg (6,7 kPa), odmah dolazi do brzog rasta CBF i arterijskog krvnog volumena.

## Patomorfološke promjene

### Mozgovni edem – krvno-mozgovna barijera (BBB)<sup>126-129,160-165,190,219</sup>

Mehanizam nadziranja obujma cirkulirajuće krvi mozga razlikuje se od onog u drugim tjelesnim organima zbog postojanja krvno-mozgovne barijere (BBB) koja je glavni regulator. Njena posebnost se očituje već u činjenici da prolazak vode kroz BBB u bilo kojem smjeru neće biti praćen i prolaskom kristaloida. S druge strane ako uslijed razlike hidrostatskog tlaka, voda prolazi BBB, odmah se stvara osmotski gradijent koji se tome suprotstavlja!

Mozgovni je edem definicijski povećano nakupljanje tekućine kako u izvanstaničnom tako i unutarstaničnom prostoru mozgovnog tkiva. Oticanje mozga je kritičan problem kod TBI jer, kroz daljnje povećanje obujma mozga, vodi porastu ICP, što je uzrok, ili smrti, ili znatne onesposobljenosti kod preživjelih, budući još uvijek nema učinkovitog liječenja. Naime, liberalna primjena kontrolirane hiperventilacije, nerijetko dovodi do mozgovne ishemije, upo-raba osmoterapeutika manitola do hipotenzije, bubrežne insuficijencije i rebound povećanja ICP, barbiturata do depresije kardiovaskularnih i respiracijskih funkcija i duboke kome, dok ventrikularna punkcija i drenaža CS likvora mogu izazvati intrakranijsko krvarenje i/ili infekciju. Kako je značajnost nabreknuća mozga (četiri stupnja– Traumatic Coma Data Bank) koja se vidi na prvom CT, odmah nakon ozljede, najbolji predskazatelj posljedka, to je poznavanje patofiziologije BBB i mozgovnog edema, od velike važnosti!

Prema Klatzo-u (1979.) razlikujemo dvije vrste:

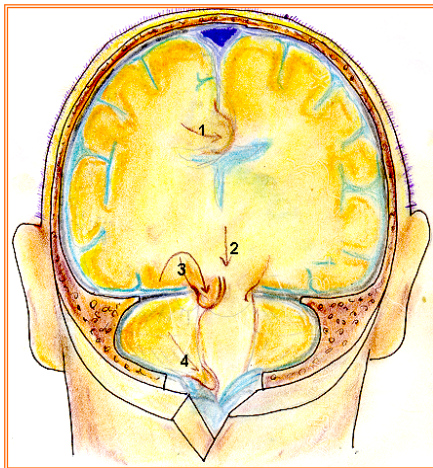
*Vazogeni edem* (Hirnödem po Reichartu), izvanstanično nakupljanje tekućine uslijed povećane propusnosti (proširenja pripijenih spojnica – od engl. “tight junctions“) endotelnih stanica mozgovnih kapilara (BBB) – pa ga nazivlju i ”*open barrier edema*“ (Betz 1989.)<sup>294</sup>, zahvaćajući pretežno bijelu tvar i *citotoksični edem* (Hirnschwellung po Reichartu), gdje uslijed oskudice ATP, nastaje slom  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  crpke, pa nastaje unutarstanično bubrenje stanica glije, neurona i endotela, zahvaćajući većinom sivu tvar – pa ga nazivlju ”*closed barrier edema*“<sup>294</sup>.

Na prerezu je ovo tkivo „suho“, za razliku od onoga kod vazogenog koje je „vlažno, kapajuće“. Fishman je uveo i treću vrstu, *intersticijski (periventricular lucency)* pri unutarnjem hidrocefalusu- bijeg kroz ependim. Sve tri vrste mogu postojati udruženo, istovremeno. Iako se tradicijski misli da se kod TBI prvenstveno radi o vazogenom edemu uslijed povećanja propusnosti BBB, novija istraživanja govore da se npr. kod difuzne aksonske ozljede (uslijed unutarstaničnog prodora kalcijevih iona kroz ekscitatornim aminokiselinama pobuđene membranske otvore) uglavnom radi o unutarstaničnom bubrenju<sup>126,190,219</sup>. Patofiziologija je edema na staničnoj razini složena. Oštećena stanica bubri, stijenke ozljeđenih krvnih žila propuštaju makromolekule, a zapriječeni resorpcijski putevi potiskuju tekućinu u mozgovno tkivo. Kaskada započne oslobađanjem ekscitacijske aminokiseline, neuroprijenosnika glutamata u izvanstanični prostor koji otvara stanične kanaliće za nagli unutarstaničan prodor kalcija i natrija. Osmozom pak u unutarstaničan prostor potom navučena voda izaziva stanično bubrenje. Unutarstanična akumulacija kalcija vodi daljnjoj citotoksičnosti, izazivajući pobuđenje *upalnog odgovora*, oblikovanjem ranih gena *c-fos* i *c-jun*, citokina i dr. međutvari. Stanice mikroglije oslobađaju potom slobodne radikale i proteaze koje napadaju staničnu membranu i kapilare. Reaktivni spojevi kisika (ion superoksida, hidrogen peroksid i hidroksil ion) nastaju u kaskadi oslobođenih masnih kiselina (FFA) – arahidonska, ili putem NO. Nadalje spojevi kao bradikinin, kalikrein-kininogen-kinin sustav, histamin i dr. također doprinose nastanku edema.

### **Mozgovna uklještenja (inkarceracije, hernijacije)**

Uslijed lokalnog i/ili općeg porasta intrakranijskog tlaka iznad kompenzacijskih granica, zbog gradijenta tlaka, dolazi do potiskivanja mozgovnih masa u lubanjske, duplikaturama dure mater, podijeljene odjeljke s manjim tlakom (supratentorijski parni odjeljci odvojeni mozgovnim srpom, te infratentorijski odjeljak povezan uspravno preko incisura tentorii s prvim odjeljkom, odnosno s velikim zatiljnim otvorom prema izvanlubanjskom prostoru). Tako pro-

gresivno nastajuća utisnuća/uklještenja pojedinih dijelova mozga nerijetko dovode do ireverzibilnih tkivnih promjena. Postoji više vrsta uklještenja mozga: cingularna, unkalna, središnja, tonzilarna<sup>267</sup>.



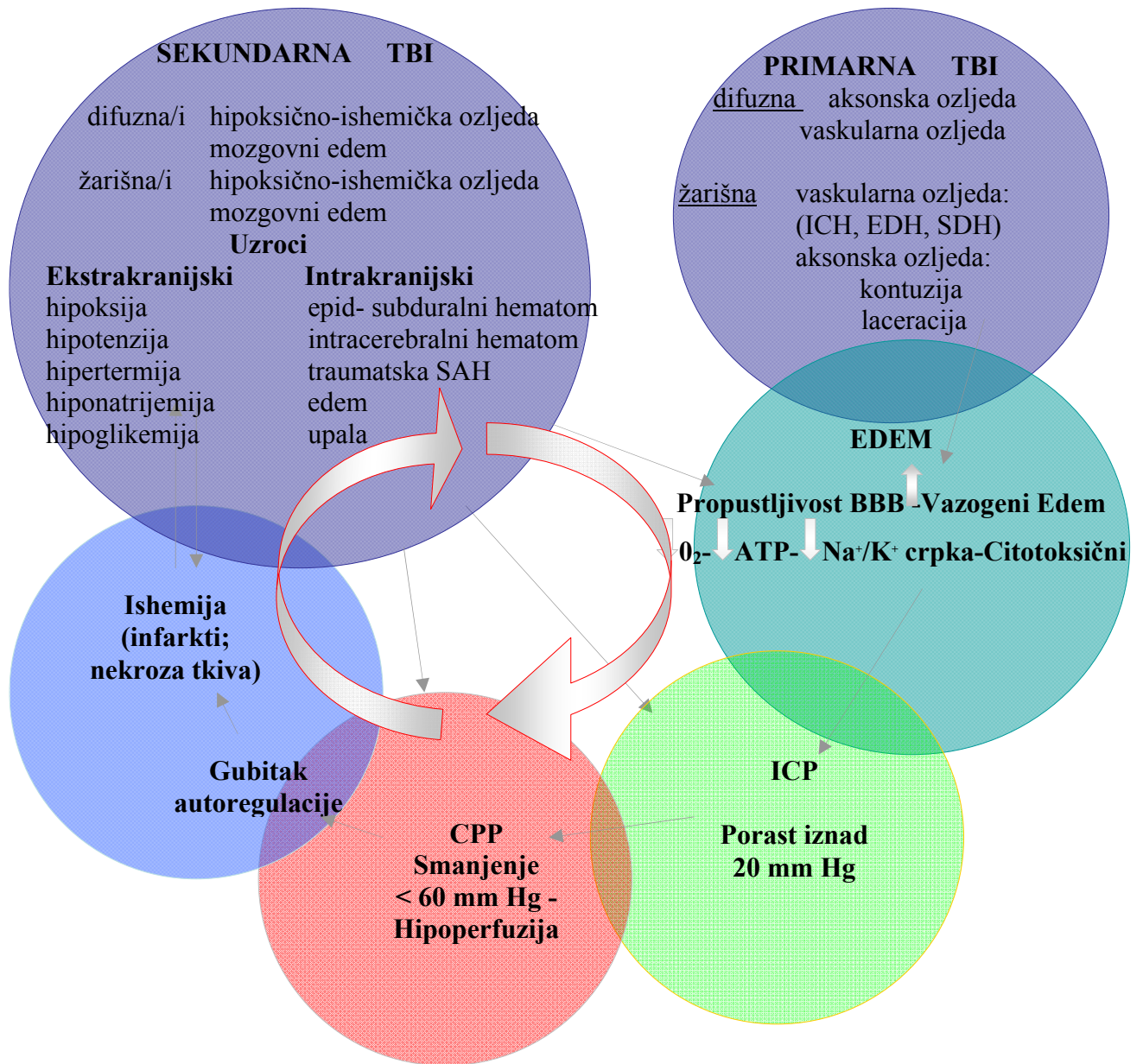
1. subfalksna (cingularna),
2. središnja (aksijalna)
3. unkalna (mezencefalička),
4. tonzilarna (medularna)

**Slika 10 Uklještenja mozga**

Pri porastu intrakranijskog tlaka dolazi do (1) subfalksne ili cingularne (gyrus cinguli-diencefalon) inkarceracije s jedne strane lubanje prema drugoj (što će dovesti do kompresije istostrane lateralne komore, a proširenja kontralateralne (zastoj cerebrospinalnog likvora), hipoperfuzije u irigacijskom području aa. cerebri anteriores (frontoparijetalno, parasagitalno), smetnji rada osovine hipotalamusa i hipofize (hipopituitarizam, diabetes insipidus), te limbičkog (cingulum, forniks) sustava (pospanost/somnolencija - sopor, smetnje zapamćivanja/dezorijentiranost, nemir/strah/ tjeskoba, verbalne i motoričke perseveracije i dr. Pri razvoju novopridošlog, stranog obujma u sljepoočnoj regiji razvit će se (3) unkalna odnosno mezencefalička inkarceracija (Uncus gyri parahippocampalis), dovodeći do potiskivanja mozgovnog debla (retikularne supstancije, – koma, motoričkih puteva – klijenuti, ekstrapiramidnog sustava-fleksijski i/ili ekstenzijski grčevi) u smjeru kontralateralnog ruba tentorija (i zatvaranja akvedukta – hidrocefalus), pritiska na istostrani treći kranijski živac (ptoza, midrijaza) preko a. cerebri post. (posterior infarkt), stisnuća v. basalis Rosenthali prekidajući drenažu (žarišna leukomalacija mozgovnog debla) i dr. Ako se uklještenje razvija iz

smjera tjemene regije dolazi do tzv. aksijalnog šuba, tj. do brzog transtentorijskog uklještenja (2). Konačno kada tonzile malog mozga, kroz veliki zatiljni otvor, prodru u verte-bralni kanal, uklještit će se produljena moždina dovodeći do zastoja disanja i rada srca (4).

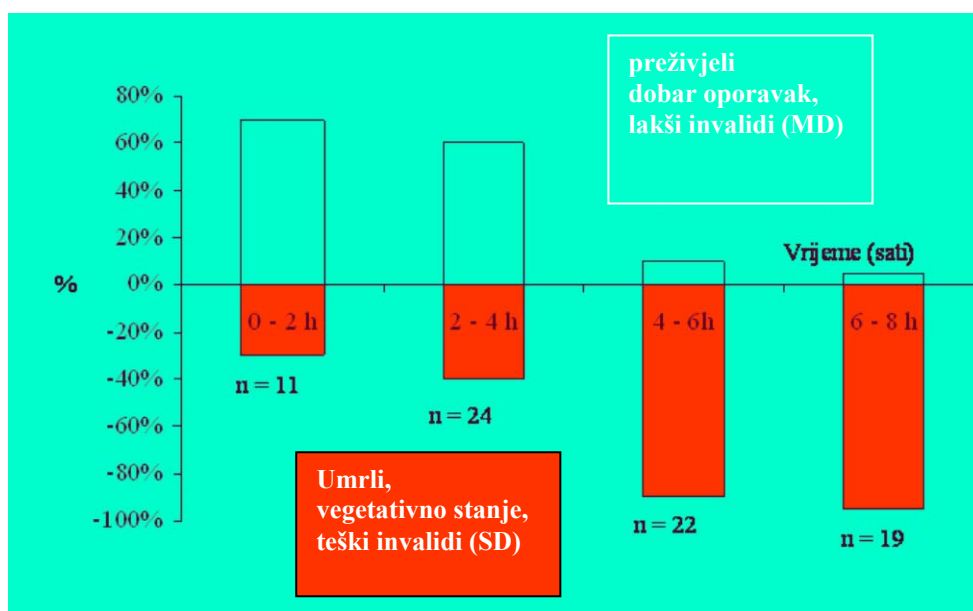
**Primarna i sekundarna ozljeda** <sup>17,20,21,36,37,65,139,294</sup>



Slika 11  
**Međuodnosi primarne i sekundarne traumatske ozljede mozga (TBI)**

SAH – subarahnoidalna hemoragija, EDH – epiduralni hematoma, SDH - subduralni hematoma, ICH – intracerebralni hematoma, CPP – cerebral perfusion pressure, ICP – intracranial pressure, ATP - adenzinotriofosfat

terapijske mogućnosti. Primarna TBI nastaje uslijed izravnog djelovanja mehaničkih sila koje izazivaju prekomjerno tkivno izobličavanje oštećujući krvne žile, neurone, aksone i gliju u razmjerima ograničenog žarišta, multifokalno ili difuzno. Promjene su uglavnom ireverzibilne. Traumatski izazvani dinamički i evoluirajući tkivni procesi dovode do složenih celularnih, upalnih, neurokemijskih i metaboličkih reakcija. (Žarišno aksonsko oticanje razvija se npr. unutar 15 minuta od TBI. Do sloma BBB dolazi već 3 minute nakon ozljede)<sup>294</sup>. Tome nasuprot je sekundarna TBI posljedica primarne TBI gdje u uvjetima hipoksija/ishemija dolazi do izraženog mozgovnog edema, što ima za posljedicu porast intrakranijskog tlaka. Razvoj sekundarne TBI ovisi o njenom uzroku. Krajnja je žurnost evakuacije intrakranijskih hematoma opće prihvaćena. Svako kašnjenje evakuacije hematoma završava lošim ishodom! Nastradali s epiduralnim hematomom, imali su dobar posljedak ako je od početka poremetnje svijesti do neurokirurške operacije proteklo manje od dva sata. Oni pak s akutnim subduralnim hematomom, operirani 4 sata nakon nastanka ozljede, imali su loš ishod.



Slika 12

Utjecaj kašnjenja evakuacije subduralnog hematoma na ishod (Glasgow outcome scale -GOS)<sup>97</sup>

Uslijed *compressio cerebri* u oba navedena slučaja dolazi do žarišnih ishemijskih sekundarnih ozljeda mozga i/ili pomicanja mozgovnih masa (hernijacijâ) koje dalje vode lokalnoj ishemiji u



cingulumu, deblu, i bazalnim dijelovima. Iako je ovakva ishemija većinom lokalna/žarišna, pri daljnjem porastu ICP, uslijed hipoperfuzije (CPP↓) nastaje opće ishemijsko oštećenje parenhima. Smrt neurona posljedica je smanjenja ATP, s oštećenjem  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  crpke, što vodi naglom prodoru  $\text{Ca}^{2+}$  iona u unutarstaničan prostor izazivajući staničnu smrt. Ekscitotoksične aminokiseline (glutamat, aspartat) koje otvaraju preostale  $\text{Ca}^{2+}$  kanaliće, omogućavaju daljnji nezaustavljivi prodor kalcija i doprinose citolizi.

### **Subcelularna – molekularna razina** <sup>15,40,53,90,103,104,114,116,138,154,166,195,196,260,264,269</sup>

Unutarstanične promjene u TBI uključuju:

— *membransku depolarizaciju* (pobuđenje **N-Methyl-D-Aspartat - NMDA** receptora), i o naponu ovisnih  $\text{Ca}^{2+}$  kanala; **2-Amino-3-hidroksi 5-Metil izooksazol Propionska kiselina - AMPA** i dr. receptora) *putem ekscitacijskih aminokiselina*, a najvažnije mjesto među njima ima kemijski glasnik - *glutamat*), *intracelularni prodor  $\text{Ca}^{2+}$*  koji dovodi do: aktivacije fosfolipaza, slobodnih masnih kiselina te aktivacije ksantin oksidaze, i dr. lipaza, proteaza<sup>101</sup>.

— *stvaranje unutarstaničnih slobodnih radikala kisika (SR)*, arahidonske kiseline, nastanak slobodnog molekularnog kisika, nastanak hidrogen peroksida i superoksida iz kojega uz prisutnost NO može nastati opasni peroksinitrit, pretvorba  $\text{Fe}^{3+}$  iona u  $\text{Fe}^{2+}$ , izuzetno destruktivnih proizvoda metabolizma ( $\text{O}_2^-$ ,  $\text{OH}^\circ$ ). Osobita meta SR jesu lipoproteinske membrane stanica i to naročito masne komponente koje podliježu peroksidaciji: pucanjem membrane stanica propada, a proces se nastavlja na susjednoj,

— *oštećenje mitohondrijskih enzima disanja (Citokrom C)*. Drži se da kaskada *komplementa* sudjeluje u nastanku sekundarnih promjena pri nagnječenjima mozga. Traumatsko oštećenje mozga pokreće središnji *upalni odgovor* koji rezultira u povećanoj proizvodnji prostaglandina i reaktivnih kisikovih spojeva koji vode sekundarnoj ozljedi. Ciklooksigenaze kataliziraju prvi korak u nastanku prostaglandina iz arahidonske kiseline pri čemu

se oslobađaju reaktivni nuspojevi kisika<sup>83</sup>. Ciklooksigenazu 1 (COX1) sadrže mnoga tkiva (sluznica želuca, važna je za bubrežnu funkciju, hemostazu utjecajem na trombocite i dr.). COX2 se nalazi u zdravom mozgu, dok je u drugim tkivima, pod normalnim uvjetima, rijetka ili odsutna! COX2 je regulirana citokinima koji dovode do povećanja njena stvaranja uslijed čega se povećava nastanak prostaglandina<sup>83</sup>. Traumatski izazvana stanična smrt je u svojoj osnovi nekroza karakterizirana nabreknućem jezgre i citoplazmatskih organela kao i ranim prsnućem stanične membrane s posljedičnom citolizom.

**Neuronska apoptoza** – programirana stanična smrt neurona (grč. *apo* = iz, od; *ptosis* = padati, pasti) Brenner, Kerr<sup>103,104</sup>, morfološka slika programirane stanične smrti, povezana je s normalnim razvojem<sup>40,154</sup>, a za razliku od nekroze, u stanica koje podliježu apoptozi nastaje pravilno komadanje internukleosomalne DNA, skvrčavanje jezgre, zgušnjavanje kromatina kao i citoplazmatska kondenzacija i dezintegracija, te nakon što se stanična membrana prekine nastaju okrugla apoptotska tjelešca koja okolne stanice brzo fagocitiraju. Raznovrsni čimbenici (vanjski i unutarnji) mogu pokrenuti ovu sekundarnu i autodestruktivnu reakciju i to: slobodni radikali kisika, ekscitacijske aminokiseline, eikosanoidi, raspadni produkti lipida, tkivni kationi, upalni i imunosni odgovori<sup>40,104,248,260,269</sup>.

Tablica 6

**Signali koji pobuđuju apoptozu**

Izvanstanični signali	Unutarstanični signali
<b>hormoni</b> (tiroksin i dr.)	<b>ionizacijsko zračenje</b>
<b>manjak signala preživljavanja</b> (inhibitori apoptoze) - hormon rasta	<b>infekcija virusom</b>
<b>stanica-stanica kontakt</b> (domino efekt)	<b>oksidacijsko oštećenje slobodnim radikalima</b>

Ovi se čimbenici sekundarne ozljede oslobađaju/pobuđuju bilo odmah - u nadolazećim sekundama (lipidi, kationi), ili odloženo - u satima/danima (upalni i imunosni odgovori) nakon djelovanja nokse. Prvi put opisana u hermafrodita nematode *Caenorhabditis elegans* apoptoza je evolucijski rezervirana samo za više organizme<sup>90</sup>. Kaspaze (cysteinski aspartic acid protease), proteolitički zimogeni, jednom aktivirani započinju kaskadu te dovode do apoptoze<sup>114,264</sup>. Od njih sveukupno 14 (kaspaza) identificiranih u sisavaca, najsnažniji neuronski apoptotički učinak ima kaspaza 3. Postoji i neuronska apoptoza neovisna o kaspazama (AIF–apoptosis inducing factor, mitohondrijska endonukleaza G<sup>116</sup>, Omi/HtrA2<sup>89</sup>, Smac/DIABLO<sup>52,53,148,172,193,223,264</sup>). Kalpaini i katepsini su cisteinske proteaze koje jednom aktivirane doprinose neuronskoj staničnoj smrti pri traumatskoj ozljedi mozga<sup>100,138,260</sup>. Tradicijski je neuroprotekcija, usmjerena bilo na jedan receptor ili na pojedinačni štetni čimbenik, imala za svrhu smanjiti stopu nekroze ozljeđenih neurona. Kako je smrt stanica pri ozljedi neposredni rani događaj, a bolesnika se većinom može liječiti tek satima nakon ozljede, sve su se potencijalno neuroprotektivne, u pokusima testirane, tvari, pokazale neučinkovitima. Za razliku od navedenog, suvremeni eksperimentalni napori, usmjereni na moduliranje kaspazama posredovane apoptoze, imaju izvjesnog opravdanja, budući je programirana stanična smrt odložen, sekundarni događaj. Međutim postoje dokazi o tome da se smanjenjem stope apoptoze povećava stopa „nekrozom umrlih“ stanica ili onih uslijed djelovanja kalpaina. Stoga neuroprotekcija mora biti istovremeno usmjerena prema više puteva stanične smrti (kombinirani pristup, a ne pojedinačni cilj)<sup>8,122,274</sup>. Prototip ovakva djelovanja ima TRH (Thyrotropin Releasing Hormone) koji je antagonist endogenih opijata, peptidil leukotriena i trombocitnog aktivirajućeg čimbenika koji su svi uključeni u razvoju sekundarne tkivne ozljede, a isto tako poboljšavaju cerebralni protok (CBF), ionsku homeostazu i staničnu energetska rezervu<sup>57,274</sup>. I druge su nedavno testirane tvari pokazale povoljno kombinirano djelovanje kao: Dexanabinol (HU-211)<sup>113</sup>, AM36 i 35b<sup>33,34,58,274</sup>. Genetski regulatori apoptoze

*bcl-2* (porast koncentracije nakon žarišne ozljede) i *bax* (porast koncentracije nakon difuzne ozljede) su pobuđeni nakon traumatske ozljede mozga, složeni spojevi čijem nastanku posreduju su *Bax*, *Bid* i *Bad*. Ovi opet olakšavaju oslobađanje citokroma *c* iz mitohondrija. Antiapoptotički čimbenici kao što su *Bcl-2*, *Bcl-xL* i *Mcl-1L* sprječavaju oslobađanje citokroma *c*, endonukleaze *G* i *AIF-a*, susprežući funkciju pora. U eksperimentu apoptoza nastaje već unutar 12-72 sata od nastanka ozljede mozga<sup>40</sup>. Tome nasuprot vremenska i prostorna pojavnost/raspodjela apoptotske stanične smrti koja se bez prekida značajno vidi i u kroničnom posttraumatskom periodu u pojedinim dijelovima mozga, još uvijek nije razjašnjena. Upravo je ovaj posttraumatski (kasniji) vremenski period (od maksimuma tijekom prva 2 tjedna, pa sve do 2. mjeseca od ozljede, kada konačno pada na zanemarivu razinu) zanimljiv za terapijske mogućnosti u svrhu smanjenja stope apoptotske stanične smrti (neuroprotekcije)<sup>40</sup>. Čini se da neuronska apoptoza nastaje najprije u kori, a u kasnijem vremenskom periodu progredira u dublje subkortikalne strukture<sup>40</sup> (dokazano prethodno i na modelu padajućeg utega na glavu miša)<sup>166</sup>. Talamus je jezgra najviše izložena odloženoj i perzistirajućoj apoptozi nakon ozljede mozga<sup>40</sup>. Ostaje nejasno da li apoptoza predstavlja uništavajuću ili adaptativnu komponentu u histopatološkim zbivanjima nakon mozgovne ozljede?

Patološka slika<sup>1,79,94,130,131</sup>

Nagnječenje je mozga patološki gledano hemoragijska nekroza tkiva. Kada ono nastaje naglo, zaustavljanjem gibanja glave prema nekom čvrstom predmetu, mozak se na trenutak nastavlja dalje gibati udarajući u unutrašnjosti sada mirujuće lubanje. Mekano se tkivo tako jednostavno razdere i/ili nagnječi od strane čvrstih i oštih bridova temelja lubanje, rubova šatora malog mozga ili mozgovnog srpa. Prirodni tijek mozgovne kontuzije uključuje fazu akutnog oštećenja, likvefakciju s edemom, stupanj popravka i završnu cističnu degeneraciju. Nagnječenja obično pogode površinske dijelove mozga osobito frontobazalno te frontopolarno, iznad

orbita, i temporopolarno. Akutna nagnječenja pokazuju hemoragijsku nekrozu i edem. Postupno potom makrofagi fagocitiraju nekrotične dijelove tkiva i krv. Konačno se nagnječenje pretvara u žučkasti plak s gubitkom stanica i atrofijom mozgovnog tkiva glioznim ožiljavanjem, nagomilavanjem hemosiderina i gubitkom aksona u bijeloj tvari. Za razliku od mozgovnog infarkta gdje je korteks većinom sačuvan, kod nagnječenja je on prvi pogođen. Nagnječenja mogu odgovarati mjestu udara - coup (franc. - udar), ali se mogu razviti i udarci na suprotnoj strani (contré coup franc. - protuudar). Contré coup je češći prilikom pada! Pad nauznak i udarac zatiljnom regijom o pod, će tako tipično uz coup kontuzije u zatiljnoj regiji, dovesti do contré coup kontuzija u frontobazalnim regijama i temporalnim polovima (isto tako sklonost slabovidnosti kod boksača - zatiljno area calcarina).

Difuzna aksonska ozljeda (DAO)<sup>1,18</sup>

Dok se mozak, u trenutku ozljede, zbog svoje želatinozne konzistencije pod djelovanjem sila obrće i uvrće, aksoni se primarno istegnu (sile vlaka) preko mjere. Kako se aksoni od ove početne lezije ne uspijevaju oporaviti, ta deformacija uzrokuje promjene aksonskog citoskeleta (gubitak mikrotubula, zgušnjavanje mikrofilamenata) što konačno dovede do zastoja brzog aksoplazmatskog protoka signala. Glavni sudionici ovih događanja su mitohondriji i dr. organele koji se nakupljaju proksimalno od lezije dovodeći time do aksonskog oticanja. Mnogi aksoni koji su manje ozljeđeni se moguće još i oporave, ali većina ih se raspukne. Vremenski prođe i nekoliko sati od ozljede do pucanja aksona! Kaskada reakcija koje vode aksonskom oticanju započinje prodorom  $Ca^{2+}$  kroz istegnutu aksolemu. Oteknuća su smještena na Ranvierovim čvorićima gdje je aksolema ranjivija, jer tamo nema mijelina. Ozljeda je mozga najozbiljnija duž medio-sagitalnih struktura (corpus callosum, fornices, capsula interna, truncus cerebri) gdje su sile vlaka najjače, kao i na spojnici bijele tvari i kore, zbog razlike u konzistenciji ovih struktura. Oticanje aksona se može uočiti oko 15 sati nakon ozljede bilo

bojenjem hemalaun eozinom (HE) ili pak srebrenim bojanjima. Imunobojanje antitijelima na Beta Amyloid Precursor Protein (BAPP)<sup>19,42,133,142</sup> može otkriti aksonsku leziju već 2-3 sata nakon ozljede. Akson naime proizvodi BAPP kao reakciju na ozljedu. On teče niz akson i nagomilava se na mjestima aksonskog sužavanja ili prekinuća. Oticanja aksona mogu perzistirati godinama. Distalno od toga mjesta akson i mijelinska ovojnica degeneriraju pa se s vremenom stvara gliozna. Teška difuzna aksonska ozljeda dovodi konačno do sveukupnog smanjenja volumena/mase bijele tvari, atrofije žuljevita tijela/forniksa i proširenja ventrikularnog sustava (hydrocephalus ex vacuo). Novija temeljna istraživanja pokazuju da aksonsko bubrenje nastaje već nakon 15 minuta od TBI uslijed nepravilnog redanja mikrotubula, a zbog njihova prekida, nastaju – grudice na (Ranvierovim) čvorićima, unutar sljedeća 2 sata. Nešto kasnije mijenja se propustljivosti aksoleme koja nakon 6 sati vodi retro- i anterogradnom poremećaju redanja mikrotubula<sup>294</sup>. Slično tome i krvno-mozgovna prepreka (BBB) puca već 3 minuta nakon ozljede omogućavajući izlazak albumina

Osim nekroze, kao izravne smrti stanica nakon primarne TBI, postoji, kako je to već prethodno spomenuto, i drugi oblik odumiranja stanice tzv. programirana stanična smrt ili apoptoza, finale (danza macabre) sekundarnih promjena. Neurokemijski gledano nakon TBI mozak „pliva u otopini potencijalno toksičnih neurokemijskih spojeva“ – sastavljenih od kateholamina, serotonina, slobodnih radikala, membranskih lipida i njima aktiviranih medijatora upale, prostaglandina, ekscitotoksičnih aminokiselina, (porasta T stanica) i dr. Patološki gledano, nakon što se apoptoza pobudi prodorom  $Ca^{2+}$  u unutarstaničan prostor, uskoro dolazi do staničnog raspada čiji su stupnjevi:

— zgušnjavanje stanične jezgre i njen raspad, stanica se zaobli zbog raspada njenog citoskeleta liziranog kaspazama.

— kromatin se zgušnjava - *piknoza*, i puca - *karioreksa*, a dijelovi raspadnute jezgre se obavijaju ostacima jezgrine ovojnice

— jezgra se raspadne na nekoliko nukleosomalnih jedinica.

— puca stanična membrana

— nastaju (apoptotska) tjelešca obavijena membranom koje onda makrofagi fagocitiraju.

## Podjela traumatske ozljede mozga

### Podjela TBI prema Petit-u

Još u 18. stoljeću na temeljima istraživanja utemeljitelja suvremene kirurgije i kirurga četiriju francuskih kraljeva, A. Paréa, uveo je Petit (J. L. Petit) podjelu lomova lubanje i intrakranijskih hematoma u svoje kirurško naučavanje. Opisao je *contré coup* ozljede i istaknuo barem dva razloga za gubitak svijesti i to: potres mozga i nakupljanje krvi u unutrašnjosti lubanje. Njegova stara klinička podjela na: *commotio cerebri* (potres mozga), *contusio cerebri* (nagnječenje mozga) i *compressio cerebri* (potiskivanje mozga) održala se je do danas<sup>159</sup>, iako se je tijekom posljednjih trideset godina uvriježila postreanimacijska procjena inicijalnog neurološkog statusa uporabom:

**Glasgowska ljestvica kome - G(lasgow) C(oma) S(cale)** od 3-15 najboljih odgovora- bodova (Očni -1-4, Govorni 1-5, i Motorni 1-6<sup>35,224,230,236-240,281</sup>).

**Tablica 7**  
**Glasgowska ljestvica kome**<sup>36,236-240</sup>

<b>bod</b>	<b>Motorni odgovor M</b>	<b>Govor G (V)</b>	<b>Oči O</b>
1	ne miče	ne govori	ne otvara
2	ekstenzijski grčevi	nerazumljiv	na bol
3	fleksijski grčevi	naprikladan	na poziv
4	povlači na bol	zbunjen	spontano
5	lokalizira bol	orijentiran	
6	sluša zapovijedi		

Prema njoj klasificiramo TBI na laku (od 13-15 bodova), srednje tešku (9-12 bodova) i tešku (3-8 bodova). U slučaju intubiranosti navesti T(ubus)GCS. Sensu strictiori samo su bolesnici s GCS manje od 8 komatozni, a ostali to nisu (pa naziv ”coma“ score nije sasvim točan). GCS ne uzima u obzir zjenice (širinu, oblik i fotomotorne reakcije). Inicijalni postreanimacijski GCS



je najbolji predskazatelj ishoda kod traumatskih ozljeda mozga. U medicinskim izvješćima bolje je ne zbrajati bodove (“to sum or not to sum”<sup>236</sup>, apostrofirajući Hamletovsko pitanje) nego navesti pojedinačne komponente (O-2, G-4, M-5).

### Primarna i sekundarna TBI

Miller je pred 25 godina uveo podjelu TBI na *primarnu* - koja nastaje izravno u trenutku udara, pokazuje odmah svoje kliničke učinke, a otporna je na većinu terapijskih postupaka (nekroza), i *sekundarnu* – koja se počinje razvijati, unutar minuta, sati ili čak dana, nakon početne ozljede, i koja vodi daljnjoj ozljedi živčanog tkiva - trajnim neurološkim poremećajima<sup>36,37,139,294</sup>. Stoga je važno reagirati žurno i stručno u sprječavanju sekundarnih promjena. Postoje ekstrakranijski i intrakranijski uzroci sekundarne ozljede. U idealnim uvjetima sekundarna ozljeda ne bi ni smjela postojati<sup>294</sup>.

**Tablica 8**

**Uzroci sekundarne traumatske ozljede mozga<sup>294</sup>**

ekstrakranijski	intrakranijski	
<p style="text-align: center;"><b>hipoksija</b> <b>hipotenzija</b> <b>hipertermija</b> <b>hiponatrijemija</b> <b>hipoglikemija</b></p>	<p>Krvarenja</p>	<p>epiduralni hematom, subduralni hematom traumatska SAH, intracerebralni hematom intraventrikularno krvarenje</p>
	<p>Edem</p>	<p>vazogeni, citotoksični, intersticijalni</p>
	<p>Upala</p>	<p>meningitis, encefalitis, ventrikulitis, absces</p>

## **Fokalna i difuzna<sup>224</sup>**

Žarišna TBI predstavlja lokalno ograničenu ozljedu koja usprkos mogućoj svojoj težini (otvorena dura mater, imprimat i sl), većinom, nije povezana s ozbiljnim poremećajem svijesti.

Difuzna aksonska ozljeda je posebna traumatska lezija mozga uzrokovana naglom, kutnom rotacijom glave. Ona je najčešća kod motociklista pri prometnim nesrećama, a rjeđa kod pada!

Pripada u teške tjelesne ozljede uz česte komplikacije i zaostatak ozbiljnih i trajnih posljedica.

Potres mozga je nasuprot tome laka DAO, bez posljedica.

**Tablica 9**

### **Klinički utemeljena (kombinirana) podjela TBI**

<b>Laka</b>	<b>gubitak svijesti, (anterogradna i/ili posttraumatska) amnezija za događaj, smetnje zapamćivanja/duševne smetnje u trenutku nesreće, žarišni neurološki ispadi, GCS&gt;12, uredan CT, bez neurokirurškog supstrata, hospitalizacija&lt;48 sati.</b>
<b>Srednje teška</b>	stacionarno liječenje dulje od 48 sati, GCS od 9-12 ili viši, operacijski supstrat, patološki CT.
<b>Teška</b>	GCS manji od 8, patološki CT, operacijski supstrat je moguć, potreba za umjetnom ventilacijom.

**Tablica 10****Podjela temeljem posttraumatske amnezije (PTA)**

<b>Duljina posttraumatske amnezije (PTA)</b>	<b>Vrsta traumatske ozljede mozga TBI</b>
< 1 sat	Laka
1-24 sata	Srednje teška
1-7 dana	Teška
> 7 dana	Vrlo teška

**Tablica 11****Ranchos Los Amigos ljestvica za procjenu kognitivnog funkcioniranja<sup>268</sup>**

<b>Težina</b>	<b>Odgovor</b>
I	bez odgovora
II	generalizirani odgovor
III	lokalizirani odgovor
IV	smeten-agitiran
V	smeten-neprikladan
VI	smeten-prikladan situaciji
VII	automatski-suvislo
VIII	svrhovit-suvisao

## **Klinička slika**

Nagnječenja se mozga razvijaju najčešće na njegovoj donjoj – bazalnoj - plohi te u čeonim i sljepoočnim polovima. Ona su najčešća na površini/kori jer nastaju uslijed udarca mozga o izbočinu/e unutarnje ploštine lubanje ili o list tvrde mozgovne ovojnice. Ove „modrice” mozga mogu nastati bez drugih vrsta krvarenja ili pak biti udružene s epiduralnim ili sub-duralnim hematomima. Većina je ozljeđenika s nagnječenjem mozga doživjela tešku ozljedu glave s gubitkom svijesti. Dode li do porasta unutarlubanjskog tlaka i znakova razvoja potis-kivanja i uklještenja mozga, biti će potrebna žurna neurokirurška dekompresijska kraniotomi-ja i evakuacija. Stoga je potrebno intenzivno tragati za znacima porasta intrakranijskog tlaka. Naime oko 30-40% ozljeđenika (svaki treći) sa srednje teškom i teškom ozljedom glave (GCS 3-12), razviti će intrakranijski hematoma (epiduralni, subduralni ili intracerebralni) koji zahtijeva daljnje neurokirurške mjere. Klinički je najvažnije upravo rano prepoznati ozbiljne znake kompresije mozga uslijed intrakranijskog hematoma (npr. kao kod mezencefaličkog uklještenja: ipsilateralna midrijaza, kontralateralna hemiplegija i koma). Stoga je presudno čim prije načiniti CT-neurokranija da se utvrdi neuroradiološka dijagnoza bolesti, kako bi se neurokirurški postavila indikacija. Obratiti pažnju i na slobodan (lucidan) interval kod početno lake TBI. Većina hematoma je subduralna, a ostatak čine epiduralna i intracerebralna krvarenja.

## **Difuzna aksonska ozljeda (DAO)**

Klinički je bolesnik s DAO odmah nakon TBI u dubokoj nesvijesti i/ili ostaje komatozan ili prelazi u perzistentno vegetativno stanje (apaličan sindrom). Za potres mozga se drži da je to laki oblik DAO s izostankom trajnih patoloških promjena/posljedica. Gubitak je svijesti vjerojatno povezan s retikularnom aktivirajućom supstancijom u gornjem dijelu mozgovnog debla. Ovaj je dio mozga podložan najvećim silama uvrtnja tijekom sagitalnog (naprijed-natrag) rotiranja hemisfera! DAO u produljenoj moždini vodi srčano-disajnom zastoju! Ona je nerijetko udružena s vaskularnim i dr. traumatskim ozljedama koje vode edemu. Rijetko je

čista lezija i nije je jedino temeljem kliničkog pregleda lako razlikovati od drugih sličnih patoloških stanja. U akutnoj fazi može dovesti do gubitka svijesti, u kroničnoj do poremećaja sjećanja i kognitivnih smetnji. MRI pokazuje sitna hipointenzivna traumatska mikrokrvarenja koja nisu apsolutni korelat aksonske ozljede. Pri DAO je mozak ili sasvim normalan ili pokazuje tek malene petehijalne hemoragije u corpus callosum, centrum semiovale, deblu i drugdje uslijed trganja krvnih žila. Ova krvarenja su drugačija od onih koja nastaju uslijed hernijacija mozgovnih masa. Glavni znak ozljede mozga je smanjenje prisvjesnosti. Diferencijalna dijagnoza promjene stanja svijesti se mnemotehnički može izraziti kao: **TIPPS** i **VOKALI**:

(**TIPPS** = **T** = Trauma, - **I** = Infekcija, - **P** = Psihološki problem, - **P** = Poisons (intoksikacija), - **S** = Shock);

(**VOKALI** = **A** = Alkohol, - **E** = Epilepsija, - **I** = Inzulin, **O** = Opijati, - **U** = Urea).

## **Dijagnostička obrada**

### **Laboratorijske pretrage**

Hiponatrijemija može nastati poradi SIADH (syndrome of inappropriate antidiuretic hormone) ili zbog mozgovnog gubitka natrija. Kod oba sindroma je serumski  $\text{Na}^+$  nizak, a urinska koncentracija visoka. Hiponatrijemija vodi arterijskoj hipotenziji, a ona opet niskom CPP te niskom CBF, što može izazvati vazodilataciju i povećati CBV, ICP i tako doprinjeti lošem ishodu! Nasuprot SIADH kod mozgovnog gubitka  $\text{Na}^+$  postoji i hipovolemija. Uzrok je natriuretički hormon kojega se može mjeriti u serumu (veže se na digoksinna antitijela). Hipernatrijemija govori ili za manjak tekućine ili za diabetes insipidus. Pažljivo praćenje magnezijemije može povoljno utjecati na posljedak. Naime magnezij blokira ekscitotoksičnost u akutnoj fazi TBI uslijed čega nastaje hipomagnezijemija. Rano davanje magnezija nakon TBI smanjuje opseg eksperimentalno izazvane TBI u životinja. Potrebno je isključiti koagulopatije (serumski čimbenici zgrušavanja), intoksiciranost alkoholom (serumski alkohol), isključiti

bubrežnu insuficijenciju, ispitati razinu kreatin kinaze (rabdomioliza, rigiditet). Serumske razine neuronske specifične enolaze i serumske bjelančevine S-100 $\beta$  povećani su nakon TBI već unutar 24 sata. Oni su dobri predskazatelji trajnog oštećenja kognitivnih funkcija 6 mjeseci nakon srednje teške i teške TBI.

### **Neuroradiološke pretrage**

TBI je jedan od glavnih razloga za provođenje brze (3-5') kompjuterizirane (spiralne ili višeslojne) tomografije (CT) neurokranija. Magnetska rezonancija (MRI), zbog duljeg je trajanja pretrage, rezervirana za slučajeve gdje CT nije uspio dokazati tražene promjene (mozgovno deblo). Svakom ozljeđeniku koji je pri pregledu sužene svijesti, uz žarišne neurološke ispade, s radiološki dokazanim lomom lubanje u blizini tijeka srednje meningealne arterije, i/ili s gubitkom svijesti >2', treba načiniti CT pregled. Čak i ako je CT uredan, a ako je primarna nesvjestica bila >5', potrebno je bolesnika primiti u bolnicu. U akutnoj fazi obični CT je sasvim dovoljan za postavljanje dijagnoze nagnječenja mozga, intrakranijskog krvarenja ili loma lubanje. Suvremeno se svakodnevno postavlja pitanje neurokirurgu da li i kod lake TBI provesti CT neurokranija? Vjerojatno je (ili će to ubrzo biti) da sve osobe s gubitkom svijesti trebaju imati CT mozga. U jednoj studiji bolesnikâ koji su imali laku TBI (GCS=15) nađeno je 57% (!) patoloških CT, temeljem nekih od sljedećih kliničkih podataka/znakova: povraćanje, glavobolje, konzum alkohola ili opojnih droga, dob preko 60 godina, ozljeda iznad ključnih kosti, amnezija, padavica. Davanje kontrastnog sredstva može biti potrebno tek u subakutnoj i kroničnoj ozljedi glave kako bi se razlučilo postojanje izodenznog krvarenja (subduralni hematom) ili otkrilo komplikacije poput subduralnog empijema. Učestalost intrakranijskih kvarenja iznosila je 27%, tSAH 39%, difuznog edema 39% (u jednoj studiji CT slika kod 754 bolesnika). Ponovljeni CT je potreban u prvim danima nakon TBI (praćenje razvoja intrakranijskih hematoma, dinamike edema, hidrocefalusa i dr.). MRI će odlično prikazati

difuznu aksonsku ozljedu, a posebne MRI pretrage (Flair) mogu biti odlični predskazatelji posljedka.

## **Liječenje**

### **Prevenција sekundarne TBI**

Najvažnije žurne mjere liječenja TBI-a su: doprema dovoljne količine kisika i izbjegavanje hiponatrijemije i hipoglikemije. Oksigenacija parenhima je na prvom mjestu, ali je ometaju spaciokompresivno djelujući hematomi uz porast intrakranijskog tlaka, mozgovni edem, smanjenje sistemskog krvnog tlaka (zbog iskrvarenja ili šoka) i hipoksija uslijed plućnih komplikacija (aspiracije, nagnječenja i sl.). Potrebno je dakle neodložno, i na licu mjesta, provesti stručne **A**irway **B**reathing **C**irculation **D**rugs **E**vidence mjere akutnog zbrinjavanja ozljeđenih te osigurati brz i siguran prijevoz uz pratnju, do ustanove gdje će se nastaviti daljnje zbrinjavanje (dg. obrada, neurokirurška operacija, jedinica intenzivnog liječenja). ABCD mjere imaju prednost nad zbrinjavanjem same TBI. Hipotenzija (zbog loše perfuzije tkiva; CPP↓) i hipoksija (vodi edemu preko hiperkapnije jer povećava protok), intrakranijska hipertenzija ICP↑ (dovodi do hipoperfuzije; CBF↓, i konačno do ishemije) i napadaji padavice (troše kisik, vode hiperkapniji, edemu) najozbiljniji su i najčešće vidljivi uzroci sekundarnih promjena nakon ozljede glave. Hipoksija vodi laktatnoj acidozi, neurogenom plućnom edemu, rabdomiolizi, hiperkalijemiji, bubrežnoj insuficijenciji, nekrozi jetre, DIK-u. Približno 5% bolesnika s teškom TBI imaju lom vratne kralješnice, stoga treba paziti s podizanjem uzglavlja, osobito pri provedbi dg. obrade (premještanje bolesnika s nosila/transportera na CT stol npr.). Ozljeđene s teškom TBI treba intubirati (prethodno dan lidokain u dozi od 1 mg/kg i. v., sprječava štetan porast ICP pri intubaciji). Krvni tlak ne smije biti manji od 90 mmHg, a arterijska saturacija mora biti iznad 90%. Već samim uvođenjem ICP transducera i praćenjem dinamike ICP poboljšava se preživljavanje, jer je ICP nezavisna veličina. Čim ICP prijeđe vrijednosti od 20-25 mmHg potrebno je primijeniti Manitol 1gr/kg tj.tež. (50 grama za

prosječnog odrasloga) jer on može pripomoći smanjenju mozgovnog volumena (CBV↓) i tako dovesti do pada ICP privremenim „isušivanjem tkiva“. (U novije vrijeme dolazi u obzir i hipertonična otopina NaCl). Lasix 40 - 80 mg, može također pripomoći smanjenju visokog ICP. Hiperventilacija će preko vazokonstrikcije smanjiti nastanak edema. Težiti pCO<sub>2</sub> of 25-30 mmHg. Hiperventilacija ipak nije bezopasna, jer se perfuzija može smanjiti do opasnih granica pa nastaje ishemija. Kortikosteroidi nisu učinkoviti. Nemir uklanjati klorpromazinom 25 mg i. v. diazepamom ili lorazepamom. Za CT snimanje provesti mišićnu relaksaciju sukcinilholinom (1-2 mg/kg) ili pankuronium bromidom (0.1 mg/kg). Jedan od 20 ozljeđenika s TBI (5%) imati će napadaje padavice u prvim danima pa je potrebno dati difetoin 18 mg/kg kao profilaksu ako je krvni tlak stabilan.

### **Lund koncept liječenja TBI**<sup>262,290,300</sup>

Poseban terapijski koncept liječenja teške traumatske ozljede mozga bio je uveden između 1992.-1994. u Sveučilišnoj bolnici u gradu Lundu, Švedska<sup>262,290,300</sup>. Takvo liječenje ima dvije zadaće: spriječiti porast ICP i poboljšati perfuziju i oksigenaciju oko žarišta nagnječenog tkiva mozga regulacijom CBV i poboljšanjem tkivne mikrocirkulacije. To je nešto drugačije od uobičajenog postupka liječenja temeljenog na odnosu CPP/ICP. Resorpcija intersticijalne tekućine se, pri normovolemiji (normalni nalazi za albumin i hemoglobin), omogućava održavanjem normalnog koloidno-osmotskog- te smanjivanjem hidrostatskog tlaka. Intrakapilarni tlak se smanjuje uporabom malih doza tiopentala i dihidroergotamina u svrhu izazivanja prekapilarne vazokonstrikcije. Srednji se arterijski tlak smanjuje (ako je visok) metoprololom i klonidinom kako bi se smanjio edem koji bi nastao uslijed povišenog hidrostatskog tlaka. Klonidin pri normovolemiji smanjuje i razinu kateholamina u krvi te tako poboljšava mikrocirkulaciju. U svrhu boljeg uvida u metabolizam mozgovnog tkiva uvedena je metoda cerebralne mikrodijalize koja omogućava tekuća saznanja o glikolizi – glukoza, laktat, piruvat; raspadu glicerofosfolipida stanične membrane – glicerol; ili prekomjernoj razini ekscitacijskih



aminokiselina - glutamat. Omjer laktat/piruvat odlično govori o stanju redoks sustava citoplazme. Pri ishemiji/ hipoksiji tkiva, taj omjer odmah naraste, a ubrzo ga slijedi porast glutamata. Nakon resuscitacije se glukoza, piruvat i glutamat odmah normaliziraju, ali laktat i glicerol zaostaju. Ponekad treba uvesti i tri i više katetera u tkivna područja od interesa kako bi dobiveni uzorci bili točan odraz tkivnog metabolizma<sup>262,290</sup>. Nakon neurokirurške evakuacije spaciokompresivno djelujućih hematoma, liječenje edema mozga (mjere intenziv-nog liječenja: oksigenacija, hiperventilacija, antikonvulzivno djelovanje), slijedi primjena mjera zaštite tkiva od sekundarne ozljede. Nalazimo se u vrlo uzbudljivom periodu istraživanja neurotraume. Napori znanstvenika temeljnih i kliničkih disciplina doveli su do otkrića neuroprotektora od kojih neki prolaze i kliničku provjeru uporabe.

**Tablica 12**

**Sumarno prikazani terapijski postupci za tešku TBI prema konceptu iz Lunda**

<b>L u n d                      k o n c e p t</b>
<b>kirurško odstranjenje hematoma</b> i kontuzijskih žarišta uz postavljanje ICP transducera,
<b>mehanička ventilacija</b> uz normalan pCO <sub>2</sub> od 4,6-5,2 kP (35-39 mmHg) i normalan pO <sub>2</sub> od 12-14 kP (90-105 mm Hg), uz uporabu PEEP-a (od 4-8 cm H <sub>2</sub> O), povremeno propuhavanje (uz kontrolu ICP) i inhaliranje na pr. salbutamola (sprječavanje atelektaza), ne ekstubirati dok ICP nije sasvim uredan!
<b>normotermija.</b> Smanjivati porast tjelesne temperature (>38,5°) paracetamolom ili solumedorolom (izbjegavati aktivno hlađenje),
<b>niskokalorična prehrana</b> na NG sondu (15-20 kcal/kg/24 <sup>h</sup> ). Održavati GUK u normalnim granicama (5-8 mmol/L; inzulin). Izbjegavati hiponatrijemiju!
učinkovita <b>sedacija</b> (midazolam, propofol, /tiopental – dva dana/),
<b>normovolemija</b> (infuzija eritrocita) – S-Hb 125-140 g/L i transfuzije albumina do normalne granice (S-Alb 35-43g/L) kako bi se normalizirao onkotski tlak plazme. Izbjegavati kristaloidne otopine! (koristiti diuretike, ne manitol). Upotrijebiti ADH analoge kod poliurije.
<b>Kontrola ICP</b> normaliziranjem onkotskog tlaka plazme i krvnog tlaka. Krvni tlak smanjivati antihipertenzivima i liječenjem učinaka kateholamina uporabom beta1 antagonista (na pr. metoprolol 0,04-0,08 mg/kg x 6-8 i.v. ili u infuziji ili 50-100 mg p. o. i uporabom alfa2 agonista (clonidin 0,3-1 µg/kg) ili angiotenzin II inhibitora (cozaar 50 mg x 1-2 p.o.).
<b>Optimalan CPP</b> je 60-70 mm Hg (ako je on prenizak korigirati latentnu hipovolemiju, ne podizati uzglavlje visoko, ukloniti barbiturate i antihipertenzive!
Umjereno <b>podignuti uzglavlje</b> (30°)
<b>Izbjegavati drenažu CS likvora</b> , ali se drenaža može koristiti da se slomi početni Cushingov refleks ili kritično visok ICP.
<b>Produljeno trajanje ICP B valova, ili početno visok ICP ili Cushingov refleks prekinuti bolusom dihidroergotamina;</b> 3-4 µg/kg, 4x na dan tijekom 2 dana). Zadnja mogućnost prije kraniotomije.
<b>Ako se ICP penje do po život opasnih razina onda i uni ili bilateralna dekompresijska kraniotomija</b> dolazi u obzir.
Optimalno liječenje porasta ICP u nastavku spriječit će mozgovni edem i strangulaciju tkiva na rubovima kraniotomije.

**Neuroprotekcija:**(*citoprotekcija* (ojačavanje, zaštita stanice - pojam kojega je 1979. godine uveo André Robert<sup>169-171,261</sup>. Sandor Szabo 1982. uvodi pojam *organoprotekcija* kojim postulira protekciju endotela kao osnovu citoprotekcije, odnosno organoprotekcije)<sup>233</sup> učinkovito i sigurno sredstvo koje bi povećavalo mozgovnu toleranciju prema ishemiji bilo bi od izuzetna značenja pri raznim okolnostima (prekondicioniranje, mozga eksperimentalnih životinja kratkim intervalima ishemije dovodi do razvitka otpornosti prema nadolazećem duljem intervalu ishemije koji normalno izaziva neuronsko oštećenje « ishemička tolerancija»). U literaturi se navode mnogobrojna i raznovrsna sredstva ili metode neuroprotekcije<sup>15,23,26,28,29,30,33,34,3839,54-61,83,113,122,138,144,247,261,273,295</sup> umjerena hipotermija, salvialonska kiselina A, tetrandin, nicardipin, clorciclomen, lamotrigin, glutathion, propofol, pyridoindol stibadin, dekstrametorphan, dikloroacetat, alfa melanocitni stimulirajući hormon, melatonin, TNF alfa, 21 amino-steroid U 74389G, omega agatoskin IVA-P/Q tip, clenbuterol, GDNF (glial cell derived neurotrophic factor), masivne doze heparina, ciclosporine A, tirilazad mesilat itd. U tablici su prikazane do sada ispitivane tvari i rezultati/koristi njihove provjere u liječenju TBI. Osim djelomično triamcinolon acetonida i deksanabinola, ostale su ispitivane tvari dokazano neučinkovite kao neuroprotektori!

**Tablica 13**

**Učinkovitost testiranih neuroprotektivnih tvari/postupaka**

<b>Tvar/postupak</b>	<b>Vrsta tvari</b>	<b>Vrsta ispitivanja</b>	<b>Ishod/komentar</b>
Hipotermija	Do 33°C	Faza 3,DSPKR	Bez posebnog učinka, još traju ispitivanja
Steroidi	Inhibitori lipidne peroksidacije	Faza 2 i 3	Bez sigurnog učinka
Triamcinolon acetomid	steroid	Faza 3,DSPKR	poboljšanje u podgrupi s žarišnom lezijom s GCS< 8
Dexamethason (CRASH)	Inhibitor lipidne peroksidacije	Faza 3, DSPKR	još traje (planira se 1000 bolesnika)
Selfotel	Kompetitivan NMDA antagonist	Faza 3,DSPKR	Prekinuto zbog porasta smrtnosti
Cerestat	Nekompetitivan NMDA antagonist	Faza 3,DSPKR	Nikakav učinak
Eliprodil	antagonist NR2B podjedinice	Faza 3,DSPKR	Bolji posljedak pri edemu
CP 101-606	antagonist 2. generacije NR2B podjedinice	Faza 3,DSPKR	Obrada podataka
Tirilazad mesilat	Inhibitor lipidne peroksidacije i hvatač SR	Faza 3,DSPKR	mortalitet↓ u muškaraca s pratećom SAH
Nimodipine	Blokator kalcijevih kanala	Faza 3,DSPKR	Značajno poboljšanje u podgrupi sa SAH
D-CPP-ene	Kompetitivni NMDA antagonist	Faza 3,DSPKR	Bez učinka (doza?)
Bradycor	Antagonist bradikininskog receptora	Faza 3,DSPKR	Bez utjecaja na GOS, ali smanjenje ICP
Ziconotide SNX - 111	Blokator N-tipa kalcijevih kanala osjetljivih na napon	Faza 3,DSPKR	Prekinut zbog povećanog mortaliteta
Progesteron	Hormon	Faza 2,DSPKR	U tijeku
Topiramamat	Inhibitor AMPA/kainat re-ceptora	Faza 2	Dokazi neurokemijskog poboljšanja
Cyclosporin A	Blokator mitohondrijskih prijelaznih otvora (MPTP)	Faza 2/3,DSPKR	Ispitivanje još traje
Dexanabinol	nekompetitivan antagonist NMDA recept., hvatač SR inhibitor TNF $\alpha$	Faza 2,DSPKR	Smanjenje ICP, očekuje se korist, faza tri u toku
PEG-SOD	Hvatač SR	Faza 2/3, DSPKR	Bolji posljedak pri većim dozama
Magnesium sulfat	Antagonist NMDA recept. i stabilizator citoskeleta	Faza 3/DSPKR	Traje
ICP/CBF	perfuzijski tlak- intrakranijski tlak	Prospektivno randomizirano	CPP protkol bez značenja, respiracijske poteškoće s SR-slobodni radikali

DSPKR – dvostruko slijepo, prospektivno, kontrolirano, randomizirano;

SR-slobodni radikali

Najstarija metoda neuroprotekcije jest *hipotermija* koja se može pratiti već od starih Grka. O-ni su mozgovne udare držali posljedicom pretjerane/nagomilane tjelesne topline pa su ih, jednako kao i ozljede glave, liječili primjenom hladnoće. Moderna primjena hipotermije je povezana s napretkom kardiokirurgije (Cooley, Mahaffey, De Bakey) i neurokirurgije (Drake) u pedesetim

i šezdesetim godinama prošlog stoljeća. Umjerena hipotermija je metoda liječe-nja pri kojoj se potreba za kisikom smanjuje za 20-30% normalne razine (sa 37<sup>0</sup>C na 33<sup>0</sup>C). Nadalje upotreba *barbiturata* smanjuje korištenje energije dakle povećava toleranciju spram ishemije osobito ako se primijeni prije djelovanja nokse. Barbiturati usporavaju peroksidaciju lipida, hvatajući slobodne radikale oslobođene pri ishemiji/hipoksiji.

**Tablica 14**

**Mehanizmi i metode neuroprotekcije**

<b>Ciljevi i metode neuroprotekcije</b>	
<b>Mehanizam</b>	<b>Metoda neuroprotekcije</b>
oticanje stanica	diuretici
energetski poremećaj	barbiturati , hipotermija
neuroprijenosnici	antagonisti glutamata i dr.
kalcijevi ioni	antagonisti kalcijevih iona/kanalića
peroksidacija lipida	steroidi, aminosteroidi, indometacin
acidoza, laktat↑	tri hydroxymethyl-aminomethan (THAM)
slobodni radikali kisika (SR)	superoksid dismutaza (hvatači/lešinari SR) PEG-SOD

**Tablica 15**

**Novije neuroprotektivne tvari koje se još uvijek testiraju**

<b>Naziv supstancije</b>	<b>Vrsta tvari</b>	<b>Faza ispitivanja</b>	<b>Utjecaj na posljedak</b>
BAY 38-7271	Agonist kanabinoida	Faza I	Dobra neuroprotektivnost (osobito kod akutnog subduralnog hematoma)
NS 1209	AMPA antagonist	Faza I	Nema podataka
S-1746	AMPA antagonist	Faza I	Nema podataka
ARR-15896AR	NMDA antagonist	laboratorijski	Nema podataka
BAY 44-2041	Inhibitor ponovnog uzimanja adenoizina	laboratorijski	Nema podataka
Immunofilini	Supresori imunoodgovora	laboratorijski	Neuroprotektivne osobine
Inhibitori NAALADase	Inhibitori NAALADase	laboratorijski	Neuroprotektivne osobine

Obzirom na svoje antiekscitotoksično djelovanje magnezij klorid je korišten u eksperimentalnim uvjetima gdje je smanjio kortikalnu ozljedu. Melatonin je slobodan hvatač SR. Kanabi-

noidi su obećavajući derivati marihuane koji se nalaze u fazi tri kliničkog ispitivanja. Dijetni dodaci kreatina stabiliziraju mitohondrijsku membranu. Ciklosporin inhibira propusnost mitohondrijske membrane<sup>266</sup>.

### **Pentadekapeptid BPC 157**

Gastrički pentadekapeptid **B**<sub>ody</sub> **P**<sub>rotective</sub> **C**<sub>ompound</sub> 157 (GEPPPGKPADDALV, M.T. 1419) jest peptid koji se nalazi u fazi dva kliničkog ispitivanja u upalnoj bolesti crijeva (PL-10, PLD-116, PL-14736, Pliva). Postavili smo hipotezu da gastrički pentadekapeptid BPC 157 ima protektivni učinak kod eksperimentalne ozljede glave.

U početnom razmatranju treba napomenuti da do sada nije pokazano da bi samo određeni agensi koji pripadaju samo određenom mehanizmu djelovanja mogli djelovati na ozljede glave. Agensi koji terapijski povoljno djeluju na ozljede glave farmakološki pripadaju različitim skupinama, primjerice antikolinergici<sup>87,88,181</sup> amfetamini<sup>82,183</sup>, 5-HT<sup>181</sup>, NMDA antagonist (npr. 2,3-dihidroksi-6-nitro-7-sulfamoilbenzo[f] kvinoksalin<sup>15</sup>, MK-801, kalpain inhibitor AK295<sup>138</sup>, VA-045, derivat apovinkaminske kiseline, TRH<sup>149</sup>). Isto tako, koriste se različite procedure (primjerice, fetalni hipokampalni transplantanti smanjuju smrt CA3 piramidalnih stanica<sup>221</sup>). Stoga je vjerojatno da je mogući terapijski povoljni mehanizam kompleksan, i da uključuje različite mehanizme djelovanja na ozljedu mozga i njezine posljedice. Imajući u vidu kompleksnost djelovanja pentadekapeptida BPC 157 izgleda razumno pretpostaviti da bi i pentadekapeptid BPC 157 mogao terapijski korisno djelovati. Utemeljena na prethodnim istraživanjima, pretpostavka - da bi gastrički pentadekapeptid BPC 157 mogao imati terapijski povoljan učinak kod TBI -, čini se vjerojatnom.

**1. Djelovanje na ozljede živca i eksperimentalne poremetnje CNS-a.**<sup>16,80,95,96,99,166,168,185,186, 197-216,225,226,252,253</sup>

U studiji prikazanoj u časopisu Digestive Diseases and Sciences<sup>207</sup> istraživani su učinci pentadekapeptida kod oštećenja somatosenzornih živaca neurotoksinom kapsaicinom, gdje je

pokazan i protektivni učinak, i terapijski učinak. S time su u skladu i rezultati studije Kalogjere i sur<sup>99</sup>. Nedavno je prikazan i učinak na regeneraciju perifernog živca, i to nakon lokalne, te sistemske, intraperitonealne i intragastričke primjene<sup>80</sup>. Korišteni su različiti modeli, primjerice, potpune i djelomične transekcije živca, te anastomoze presječenih krajeva, te presjecanje živca bez anastomoze, uz stavljanje presječenih krajeva živca u cjevčicu s ispitivanom supstancijom. Isto tako, pokazano je da pentadekapeptid prevenira pa i uklanja posljedice dopaminske insuficijencije (primjerice, katalepsiju nakon blokade dopaminskih receptora haloperidolom, flufenazinom<sup>95,96</sup> deplecijom dopaminskih vezikula (rezerpinom) ili destrukcijom dopaminskih neurona nigrostriatuma (neurotoksin MPTP)<sup>200</sup>. Jednako tako je pokazano da sprječava kao i uklanja posljedice dopaminske hiperstimulacije, primjerice stereotipije (kao kod primjene amfetamina, i kod akutne<sup>95,96</sup> kronične primjene<sup>198</sup> ili tzv. *climbing behavior* (koje se vidi kod kasnije primjene amfetamina i prisutnosti povećanog broja i/ili osjetljivosti dopaminskih receptora u miševa prethodno tretiranih haloperidolom)<sup>95,96</sup>. Pentadekapeptid BPC 157 je također značajno umanjivao pasivnu nepokretnost, tzv. *helpless behavior*, u Porsoltovom modelu prisilnog plivanja, i kroničnog stresa, učinak koji se inače pripisuje agensima koji bi mogli djelovati kao potencijalni antidepresivi<sup>214</sup>. Isto tako istraživane su i posljedice insuficijencije GABA-ergičkog sustava, te je utvrđeno da pentadekapeptid BPC 157 odgađa i/ili oslabljuje toleranciju i/ili sindrom ustezanja koji nastaju nakon prolongirane primjene diazepama<sup>199</sup>. Od važnosti je pokazana interakcija s NO-sistemom, i to *in vitro* i *in vivo*<sup>209</sup>.

Ostavljajući po strani raspravu o prolasku odnosno (ne)prolasku peptida kroz krvno-mozgovnu barijeru (BBB)<sup>95,96</sup> za naglasiti je da je u svim navedenim radovima pentadekapeptid BPC 157 bio korišten periferno, parenteralno ili intragastrički, a navedeni učinci poglavito centralno posredovani. Dokazano je da BPC 157, želučani peptid, nakon periferne primjene, selektivno utječe na sintezu 5-HT u mozgu štakora<sup>246</sup>.

U navedenom radu su ispitivani učinci akutne i ponavljane primjene BPC 157 na sintezu serotonina (5-HT) u mozgu mjerenjem regionalne sinteze 5-HT u štakora korištenjem  $^{14}\text{C}$  [methyl-L-trip-tofana (-MTrp) autoradiografskom metodom<sup>246</sup>. U prvoj seriji eksperimenata, akutni tretman s BPC 157 (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$  t.t., i.p.) dat 40 minuta prije primjene -MTrp, značajno je smanjio obujam regionalne sinteze 5-HT u područjima dorzalnog talamusa, hipokampusu, lateralnih genikulatnih tjelešaca i hipotalamusa. Obujam sinteze 5-HT u retikularnoj supstanciji nigri i medijalnoj prednjoj olfaktornoj jezgri u štakora tretiranih BPC 157, je značajno veći nego u kontrolnih štakora. Nije bilo signifikantnih promjena u obujmu sinteze u raphe jezgrama. U drugoj seriji eksperimenata, nakon 7-dnevnog tretmana BPC 157 (10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  t. t. s. c.), opaženo je značajno smanjenje sinteze 5-HT dorzalnoj raphe jezgri, a signifikantan porast u supstanciji nigri, lateralnom caudatumu, accumbent jezgri i gornjoj olivi.

## ***2. Potencijal cijeljenja i djelovanje na kontuziju mišića.***

Gastroički pentadekapeptid BPC 157 pokazuje značajan potencijal cijeljenja rane. Zacjeljuje kako unutarne<sup>16,22,155,168,179,180,185,225,226,252,253</sup>, tako i vanjske rane, npr. koža<sup>186</sup> rožnica, anastomoze kolon-kolon, duboke opekline kože<sup>197-216</sup>, segmentalne osteoperiostalne defekte kosti<sup>185</sup>. Također, on ima angiogeni učinak<sup>213</sup> te, kako je već navedeno, modulira sintezu NO<sup>209</sup>. Od posebnog su međutim značenja nedavni podaci dobiveni na kontuziji mišića (Noviscak et al., 2002)<sup>147</sup>. Kod animalne tupe ozljede taj stabilni želučani pentadekapeptid primijenjen bilo sistemno, bilo lokalno, pokazuje povoljan terapijski učinak na cijeljenje ozljede mišića. Istraživano je cijeljenje i obnavljanje funkcije desnog gastroknemius kompleksa (gastroknemius, soleus i plantaris) nakon tupe ozljede utegom (150 g, visina 49 cm, sferični radius 8 mm). Muški Wistar štakori su primili agense (jedanput dnevno, (i) sistemski BPC 157 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ili 10  $\text{ng}/\text{kg}$  intraperitonealno ili (ii) topikalno, 1, 0,1 ili 0,01  $\mu\text{g}/\text{g}$  neutralne kreme, 0.9%NaCl (5.0 ml/kg i.p.), neutralna krema (Belobaza, Belupo, Hrvatska), ili ništa (kontrola) prva primjena neposredno nakon ozljede, zadnja 24 sata prije žrtvovanja (na 2 hr, 1, 2, 4, 7 i 14



dan nakon ozljede). Provedena istraživanja (analiza hoda, tzv. *sciatic function index (SFI)*<sup>11</sup> test obnavljanja motorne funkcije, nedavno opisani test *extensor postural thrust (EPT)*<sup>107</sup> makroskopsko utvrđivanje (hematom+edem+hiperemija) kao i mikroskopsko (vimentin, desmin) pokazala su brže cijeljenje kod primjene pentadekapeptida BPC 157 te brže obnavljanje funkcije mišića u svim ispitivanim intervalima.

Imajući u vidu sličnost modela korištenih kod tupih ozljeda glave<sup>44,182</sup> ovi bi podaci, mogli biti od indikativnog značenja.

***1. Primjena peptida, stabilnost i djelovanje bez nosača "carrier". Pentadekapeptid BPC 157 će se primijeniti samostalno, kao što je redovito i prije bio slučaj, bez dodatka ikakvog nosača. To je bitna činjenica, te ćemo je pobliže objasniti.***

Stabilnost. Važno je napomenuti da općenita ograničenja primjene peptida (Sanders and Hendren, 1997) (koja bi posebno mogla doći do izražaja kod predviđene primjene pentadekapeptida BPC 157 i to – periferne – kod ozljeda glave) bez obzira na njihovu moguću djelotvornost u postojećoj farmakoterapiji proistječu iz njihove nestabilnosti, i posljedično nemogućnosti primjene peptida peroralno, njihove brze razgradnje i skupe proizvodnje (Sanders and Hendren, 1997). Čini se, međutim, da to kod pentadekapeptida BPC 157 nije slučaj. Naime, radovi grupe Parke-Davis, Warner-Lambert<sup>252,253</sup> pokazali su da pentadekapeptid BPC 157 nije degradiran ni nakon 24 satne inkubacije u humanom želučanom soku, i mogao bi imati zadovoljavajuću stabilnost za rutinsku upotrebu. Nasuprot tome, referentni peptidi (npr. h-TGF, human transforming growth factor; h-EGF, human epidermal growth factor) bili su degradirani već nakon samo 15 minuta. Za naglasiti je da su svi peptidi bili stabilni u vodi. Takvi podaci su u potpunom skladu s želučanim porijeklom BPC-a i njegovom izolacijom iz humanog želučanog soka (Patent- Sikiric i sur. Pharmacologically active substance, the process for its preparation, and its use in the therapy. EP 0432400 ), te dosadašnjim istraživanjima pentadekapeptida BPC 157.

Nosač. Općenito, peptidi su lako raspadljivi, i stoga, u samostalnoj primjeni, slabo djelotvorni. Pitanje djelotvornosti se stoga relativno uspješno rješava rekombinacijom peptida, i poglavito, dodatkom nosača (“*carrier*”). S nosačem, peptidi djeluju brže ili djeluju značajno bolje. No to otvara cijeli niz zapravo nerješivih metodoloških i praktičnih pitanja.

Primjerice, u slučaju peptida nazvanih koštani morfogenetski proteini (od engl. bone morphogenetic proteins, BMPs Bone morphogenetic peptides (Urist, 1997.)), osim koštanog matriksa, korišteni su primjerice nosači: kalcijev fosfat, kolagen, glectin, škrob. Osim toga neki nosači ostaju u novostvorenom tkivu kosti, drugi se brzo resorbiraju, bez dovoljno vremena da ih prihvate stanice (vidi primjerice Kawakami et al., 1997, Cook et al., 1994, Gao et al., 1993; Katoh et al., 1993, Kawai et al., 1993; Miyamoto et al., 1992). Konačno, kako je navedeno od Urista mehanizmi otpuštanja peptida s nosača su još sasvim nejasni, i predmet su još uvijek širokog istraživanja. Ova se ograničenja mogu primijeniti na bilo koji kompleks peptid+nosač (Urist, 1996). Pojednostavljeno, nužnost primjene kompleksa (peptid+nosač), uz veliku različitost primjenjenih nosača, ostavlja nedefiniranu aktivnu supstanciju (peptid, nosač ili peptid+nosač), onemogućava nužnu generalizaciju dobivenih učinaka kod primjena pojedinih peptida (budući da su korišteni različiti nosači), i sasvim onemogućava ikakve zaključke o mogućem mehanizmu djelovanja. Stoga je sasvim nepravilno da se kod primjene pojedinog peptida generaliziraju učinci dobiveni korištenjem različitih nosača. Jednako, izgleda pogrešno da se aktivnost kod primjene kompleksa peptid+nosač redovito i potpuno pripisuje samo peptidu, ispuštajući u potpunosti (su)djelovanje nosača u dobivenom učinku, unatoč tome što se općenito priznaje da nosač, primjerice, štiti peptid od proteolize, dostavlja peptid na mjesto djelovanja, itd. (vidi primjerice Sanders and Hendren, 1997).

Kako je naprijed navedeno, pentadekapeptid BPC 157 se nije primjenjivao s nosačem. Njegova djelotvornost se redovito dobila nakon njegove samostalne primjene, pa dakle nemože biti problema s atribucijom dobivenih učinaka i posljedičnim razmišljanjem o njegovom

mehanizmu djelovanja. To je značajna prednost ovog istraživanja, koje se temelji na tako dobivenim prethodnim učincima.

## **2. Metodološka prihvatljivost modela.**

Ozljeda glave, izazvana padom utega dobro je poznati model. U opisanom modelu dolazi do stupnjevane ozljede sa svim karakteristikama prolaznog gubitka svijesti, i neurobihejviornih odgovora, edema mozga, deficita učenja i pamćenja<sup>87,88,181,234</sup>. Tako gledano, predviđeni model je sličan odgovarajućim poremetnjama u ljudi. Zaključujući, imajući kod predložene primjene gastričkog pentadekapeptida BPC 157 u vidu njegovo djelovanje na ozljede živca i eksperimentalne poremetnje CNS-a, potencijal cjeljenja i djelovanje na kontuziju mišića izazvanu tupom traumom, te primjenu peptida, stabilnost i djelovanje bez nosača (“*carrier*”), i konačno, metodološku prihvatljivost modela, predloženo istraživanje izgleda obećavajuće.

Uz primjenu gastričkog pentadekapeptida BPC 157, kao referentni agensi se navode atropin te haloperidol, temeljem podataka da blokada muskarinskih kolinergičkih sistema smanjuje neurološki deficit<sup>87,88,181</sup> te da metamfetamin smanjuje vrijeme do ponovnog uspostavljanja refleksa ustajanja, a haloperidol ga povećava<sup>181</sup>. Imajući u vidu antiulkusni učinak gastričkog pentadekapeptida BPC157, ranitidin isto tako dolazi u obzir.

**Modeli traumatske ozljede mozga u pokusima na životinjama**<sup>2-7,12,43,62-66,74-77,86,91,106,115,120,136,137</sup>

TBI može nastati udarcem glavom o/u podlogu/predmet, ili uslijed linearnih i kutnih akceleracijsko/deceleracijskih sila (istezanja/vlaka, striženja, uvrtnja) koje snažno utječu na mozak, ili kombinacijom navedenog<sup>65</sup>. U svrhu istraživanja patoloških zbivanja tijekom i nakon TBI, razvijeni su različiti modeli na laboratorijskim životinjama. Najpoznatiji modeli ispitivanja TBI na malim laboratorijskim životinjama su: ozljeda kortikalnim udarom (cortical compact injury – CCI), ozljeda mlazom tekućine (fluid percussion injury – FPI), te ozljeda padom utega (weight drop injury WDI)<sup>62-66,74-77</sup>. U većini modela je mehanički moment (jakost sile) koji izaziva

ozljedu kontroliran. Oštećenje parenhima se onda može mjeriti i ono je reproducibilno i „klinički“ značajno. Životinjski model nikako ne može pouzdano reproducirati čitav spektar događanja u čovjeka<sup>68-77,117-119,156,162</sup>, (na pr. kut između mozgovnog debla i leđne moždine!).

Naš postupak spada u skupinu udarno-akceleracijskih modela kod kojega se radi o slobodnom padu utega određene mase s točno određene visine na lubanju ispitivane životinje (WDI)<sup>46,47,151,153,187</sup>.

### Ishod<sup>97</sup>

Uspješnost liječenja bolesnika nakon TBI, uobičajeno je testirati procjenom posljedka. Najbolji predskazatelji posljedka su dob, težina ozljede (inicijalni stupanj GCS, trajanje kome, neurooftalmološki znaci, motorni znaci), pomak središnje linije i izgled subarahnoidalnih cisterni temelja mozga na početnom CT pregledu te sistemski razlozi (krvni tlak, cijanoza i dr.).

**Tablica 16**

### Glasgowska ljestvica ishoda (GOS)<sup>97</sup>

<b>I S H O D</b> (GOS)			
<b>POVOLJAN</b>	<b>G</b> GOS 5	Dobar oporavak (good recovery)	Vode <b>normalan život</b> kao i prije ozljede
	<b>MD</b> GOS 4	Umjerena invalidnost (moderately disabled)	Neovisni u svakodnevnicima, fizičke, ili psihičke smetnje
<b>NEPOVOLJAN</b>	<b>SD</b> GOS 3	Teška invalidnost (severely disabled)	Povrate neke kognitivne funkcije, <b>ovisni</b> u svakodnevnicima
	<b>VS</b> GOS 2	Vegetativno stanje (vegetative state)	Ostaju u <b>perzistentnoj komi</b> sve do smrti
	<b>D</b> GOS 1	Smrt (death)	

Dob i težina ozljede mozga najbolji su predskazatelji. Djeca i adolescenti imaju povoljniju prognozu nego odrasli. Postreanimacijski, inicijalni GCS <8 govori za nepovoljnu prognozu.

Brisane bazalne cisterne, pomak središnje linije, spaciokompresivni hematomi, generalizirani edem, ili kombinirano, na inicijalnom CT-u, uvjetuju nepovoljnu prognozu. Tako je pomak središnje linije za preko 15 mm uz brisanje bazalnih cisterni nerijetko povezan sa smrtnim ishodom. Ugašeni refleksi mozgovnog debla (fotomotorne reakcije zjenica, okulocefalni refleks – lutkine oči, okulovestibularni refleks), smanjena perfuzija/oksigenacija tkiva (hipoksija, hipotenzija (RR<90 mmHg), hiperkapnija, anemija, uz porast ICP>20 mmHg doprinose nepovoljnoj prognozi. Točna učestalost onesposobljenosti i invalidnosti, bilo trajne ili privremene, prilikom otpusta iz bolnice, nije poznata, ali se drži da skoro svi bolesnici s ozljedom glave imaju neku vrstu nesposobnosti. Preko 2000 preživjelih nakon TBI godišnje ostat će zauvijek u vegetativnom stanju. Kod onih s početnom lakom ozljedom mozga 2 od 3 unesrećenika su radno nesposobna. Najmanje 10% - 20% bolesnika otpuštenih kao dobro oporavljeni<sup>97</sup> imaju stalne neuropsihologijske poteškoće. Postojanje apolipoprotein E (APOE) E4 alela govori za 14 puta lošiju prognozu nakon TBI. Zanimljivo je da je incidencija APOE alela značajno veća u nastradalih s teškom TBI nego u općoj populaciji<sup>67</sup>. Poznato je također da je ovaj alel čimbenik rizika za razvoj Alzheimerove bolesti i posttraumatske encefalopatije. Serumska razina proteina S100β kao i odnos laktat/piruvat dobiven cerebralnom mikrodijalizom također su dobri predskazatelji posljedica nakon TBI (ishemije).

## **2. Hipoteza i ciljevi**

Temeljem do sada opisanih učinaka pentadekapeptida BPC 157 (npr. regeneracija perifernog živca, prevencija i uklanjanje posljedica dopaminske deplecije i prevencija i uklanjanje dopaminske hiperstimulacije – moguće antidepresivno djelovanje, interakcija s NO sustavom, cijeljenje ozljede mišića i dr.) ispitati njegov učinak u miševa podvrgnutih standardiziranoj zatvorenoj/tupoj ozljedi glave. Očekivani korisni učinak pentadekapeptida BPC 157 bio bi značajan znanstveni doprinos u budućoj farmakoterapiji i mehanizmu djelovanja peptida probavnog trakta na ozljede glave. Hipoteza je istraživanja da BPC 157 ima neuroprotektivni učinak kod eksperimentalnih kranio-cerebralnih ozljeda.

### 3. Materijali i metode

#### Životinje

Poteškoće u prihvaćanju zadovoljavajućih odgovora na pitanja u svezi neuropatologije mozgovne traume čovjeka dovele su prirodno do pokušaja oponašanja ozljeda glave uporabom eksperimentalnih životinja. Razlike između čovjeka i drugih vrsta (kut kojega mozgovno deblo čini prema hemisferama, oblik i struktura tentoriuma cerebelli, sfenoidnih krila, falksa cerebri, masa/volumen mozga itd.) ograničavaju bezrezervnu, univerzalnu primjenu dobivenih rezultata. Većina izvornih razmišljanja dolazi od Holburna koji je pretpostavljao da je ponašanje lubanje i mozga za vrijeme i nakon sraza određeno njihovim fizikalnim svojstvima i Newtonovim zakonima gibanja<sup>92</sup>.

Koristili smo muške, Hannover (The Naval Medical Research Institute) NMRI (25-30g), albino miševe uz valjanu privolu Etičkog povjerenstva ustanove. U kontrolnoj skupini upotrijebili smo po 30 pokusnih životinja u svakoj kategoriji (6 stupnjeva težine ozljede), a potom po 30 miševa posebno za doze BPC 157 u  $\mu\text{g}/\text{kg}$  i u  $\text{ng}/\text{kg}$  također za sve stupnjeve težine nanošenja traumatske ozljede mozga za onu skupinu pokusnih životinja gdje smo lijekove primjenjivali 30 minuta od nanošenja ozljede (N = 540). Također smo, testirajući utjecaj raznih vremena primjene medikacije u odnosu na trenutak ozljeđivanja (0' – primjena BPC 157 odmah nakon nanošenja ozljede, odnosno nakon latencije od 5', 10', 15', 20', 25' nakon nanošenja ozljede) kako bismo uočili trenutak nastupa povoljnog učinika BPC 157, upotrijebili po 30 pokusnih životinja za po 4 stupnja težine ozljeđivanja (N = 2160). Nepristrani ispitivač koji nije bio upoznat s načinom liječenja provodio je procjenjivanje učinka.

## **Primjenjene tvari.**

Pentadekapeptid BPC 157 (GEPPPGKPADDAGLV, M.T. 1419), (Diagen, d.o.o., Ljubljana, Slovenija) dio je proteina BPC izoliranog iz ljudskog želučanog soka, koji je topljiv u vodi kod pH 7,0, te u fiziološkoj otopini. U istraživanjima smo koristili peptid čistoće 99%, dobiven visokotlačnom kromatografijom – HPLC (1-des-Gly peptid kao onečišćenje), otopljen u fiziološkoj otopini, na način prethodno opisan u literaturi<sup>168,185,197-216,225,226</sup>. Pentadekapeptid BPC 157 smo otopljen u fiziološkoj otopini primijenjivali intraperitonealno 30 minuta prije izazivanja ozljede u dozama od 10.0 µg, 10.0 ng/kg tj. mase)<sup>95,96,99,166,168, 185,186,197-216</sup>. Kako bismo odredili vremensku povezanost između vremena primjene BPC 157 i pojave njegova povoljna učinka, primjena pripravka BPC 157 je bila izmjenična: neposredno prije izazivanja ozljede i zatim 5, 10, 15, 20, 25 ili 30 minuta prije izazivanja ozljede. Životinje kontrolne skupine dobijale su jednaki volumen (5.0 ml/kg) 0,9% NaCl intraperitonealno u istom vremenskom intervalu.

## **Izazivanje ozljede i primjena BPC 157**

Koristili smo model u kojem je teret (uteg) definirane mase (u gramima) i s utvrđene visine (u milimetrima) padao slobodnim padom kroz usku, metalnu cijev na glavu miša, fiksiranu vijcima u čeličnom, stereotaksijskom okviru. Model pripada u skupinu ozljeda nanesenih padom utega - (weight drop injury) WDI<sup>46-50,64,65</sup>.

Istraživali smo različiti stupanj ozljede, prilagođavajući visinu ispuštanja utega, te težinu padajućeg utega (promjer 18 mm, dužina 23 mm, težina 65 g), i izračunavali kinetičku i potencijalnu energiju i impuls sile koji oštećuju glavu miša. Kinetička energija jednaka je potencijalnoj, a ova je jednaka umnošku mase utega, konstante sile teže i visine utega.  $E_k = E_p = m$  (masa utega; kg) x  $g$  (konstanta sile teže – 9,8195m/s<sup>2</sup>) x  $h$  (visina utega; m). Impuls sile  $F_t = m$  (masa utega; kg) x  $v$  (brzina m/s =  $mx 2gh$ ). Rezultati ovih dvaju, za razine izračunavanih, fizikalnih veličina kojima je ozljeda bila nanesena, su:



**Tablica 17**

**Kinetička energija i impuls sile pri raznim visinama utega**

Stupanj ozljede	Visina (h) utega (mm)	Kinetička energija ( $E_k$ ) J	Impuls sile ( $F_t$ ) Ns
I.	$h = 55\text{mm}$	$E_k = 0,035\text{J}$	$F_t = 0,068\text{ Ns}$
II.	$h = 105\text{mm}$	$E_k = 0,067\text{J}$	$F_t = 0,093\text{ Ns}$
III.	$h = 155\text{mm}$	$E_k = 0,099\text{J}$	$F_t = 0,113\text{ Ns}$
IV.	$h = 205\text{mm}$	$E_k = 0,131\text{J}$	$F_t = 0,130\text{ Ns}$
V.	$h = 255\text{mm}$	$E_k = 0,163\text{J}$	$F_t = 0,145\text{Ns}$
VI.	$h = 305\text{mm}$	$E_k = 0,195\text{J}$	$F_t = 0,159\text{Ns}$

Da bismo odredili maksimalno moguću ozljedu koju miš još može podnijeti razina ozljede se je sukcesivno podizala, počevši s ozljedama I., II., III., IV., V., završavajući s najtežom ozljedom VI.

Odabrali smo težinu ozljede (II.) koju proizvede padajući uteg (visina 105 mm; kinetička energija 0.067 J, uz impuls sile od 0.093 Ns) i vrijeme primjene od 30 minuta prije nanošenja ozljede da bismo ispitali učinak nižih doza pentadekapeptida BPC 157, poput onih od 100.0 pg, 10.0 pg i 1.0 pg/kg, dok su kontrolne životnije istodobno dobijale jednaku dozu fiziološke otopine natrijeva klorida, 5 ml/kg.

**Procjena učinaka ozljede**

**Neposredni učinci**

Neposredno po ozljedi, ispitali smo koliki je broj eksperimentalnih životinja ostajao pri svijesti (zadržavao refleks ustajanja/uspravljanja), te broj životinja koji je bio u nesvijesti (tj. bez refleksa ustajanja), te koliko je životinja podleglo. Drugim je riječima prisutnost odnosno odsutnost refleksa ustajanja/uspravljanja oznaka svijesti odnosno nesvijesti.

Učinci nakon 24 sata

U životinja koje su primarno preživjele traumatsku ozljedu mozga izazvanu impulsom sile od 0.093 Ns (ozbiljnost ozljede II.) smrtnost smo izračunavali za 24 satni period nakon ozljede.

### **Histološka obrada**

Neposredno potom je provedena histološka obrada na sljedeći način. Mozgove žrtvovanih životinja smo fiksirali u 10% puferiranom formalinu u trajanju od 2 dana. Potom smo ih pregledali i opisali nakon makroskopske inspekcije. Mozak smo rezali na paralelne koronarne rezove debljine 2 mm. Mozgovno tkivo (presjeke) smo potom dehidrirali u etanolnom nizu otopina rastućih koncentracija u trajanju od po 2 sata (50%, 70%, 2x96%, 2x100%). Rezove mozgovnog tkiva smo potom uklopili u parafinsku smjesu. Na kliznom smo mikrotomu rezali parafinske blokove u rezove debljine 5 mikrometara. Histološki smo rezove potom deparafinirali u ksilenu te rehidrirali u etanolnim otopinama opadajućih koncentracija (100%, 96%, 70%, 50%) i obojali po jedan rez od svakog parafinskog bloka hematoksilin-eozinom (Kemika, Hrvatska), a drugi trikromnom metodom (kiseli fuksin, anilin plavilo, narančastaG, te fosfotungstensku kiselinu) po Malloryju. Histološki smo preparate analizirali pod svjetlosnim mikroskopom.

### **Procjena histoloških promjena kod TBI**

Traumatske ozljede mozgovnog tkiva i prateći edem smo analizirali semikvantitativno (0-3), tako što smo svakoj od pet analiziranih kvalitativnih morfoloških promjena pridružili apsolutni broj ovisno o njezinoj prisutnosti, odnosno jačini. Tako smo mozgovima životinja bez *edema* pridružili nulu (0), mozgovima sa slabim, odnosno perifokalnim edemom brojku 1, mozgovima životinja s umjerenim edemom pribrojili smo brojku 2, a onima s jakim, generaliziranim edemom brojku 3. Odsutnost *laceracija* mozgovnog tkiva smo obilježavali nulom, malobrojne žarišne laceracije brojkom 1, a brojne laceracije brojkom 2. Odsutnost *hemoragične laceracije* mozgovnog tkiva smo obilježavali s 0, a male ili malobrojne hemoragične laceracije brojkom 1, a velike i brojne brojkom 2. Odsutnost *subarahnoidalnog krvarenja (SAH)* obilježena je 0,

dok će žarišno SAH biti obilježena brojkom 1, a difuzno brojkom 2. Prisutnost velike količine krvi u ventrikularnom sustavu označili smo brojkom 2, prisutnost tankog sloja krvi po ependimu komore brojkom 1, a odsutnost intraventrikularnog krvarenja (IVK) nulom.



### **Statistička obrada podataka.**

Dvosmjernim Fisherovim testom vjerojatnosti usporedili smo proporcije skupina. Rasčlambu različitosti između pojedinih skupina provodili smo Kruskal Wallisovim i post hoc Mann Whitney U testom. Vrijednosti P manje od 0.05 smatraju se statistički značajnim.

## 4. Rezultati

### Neposredno nakon nanošenja ozljede

Obično je postupak nanošenja TBI (impuls sile od 0.068 Ns, 0.093 Ns, 0.113 Ns, 0.130 Ns, 0.145 Ns, i 0.159 Ns; težina ozljede od I. do VI. stupnja) završavao nesvjesticom kao i fatalnim ishodom. Uočeno je jasno stupnjevito povećavanje lošeg posljedka usporedno s rastom težine izazvane TBI (Tablica 18). Rasčlanjujući omjer budnih/komatoznih/uginulih miševa, uočili smo da je primjena raznih doza pentadekapeptida BPC 157 načelno dovodila do značajne redukcije komatoznih i uginulih i poboljšavala rani (neposredni) posljedak. Poboljšana proporcija posljedka u TBI-miševa postojala je kada je TBI bila izazvana impulsom sile od 0.068 Ns, 0.093 Ns, 0.113 Ns, 0.130 Ns, 0.145 Ns, i 0.159 Ns, tj. u stupnjevima od I. do VI. Suprotni je učinak (manje komatoznih, manje uginulih) uočen u dozama u  $\mu\text{g}$  i ng (I. do V., impulsom sile od 0.068-0.145 Ns) sve do maksimalnog porasta težine TBI (VI. stupanj; impuls sile od 0.159 Ns) gdje je učinak opažen jedino u  $\mu\text{g}$ -ramskim dozama (Tablica 17). Ovi učinci (omjer budnih/komatoznih/uginulih) nisu mogli biti postignuti pri uporabi nižih doza danih 30 minuta prije izazivanja ozljede (stupanj II., impuls sile od 0.093 Ns; tj. 24/6/0 (100 pg), 16/14/0 (10 pg), 18/12/0 (1 pg),  $p > 0.05$ , u odnosu na kontrolnu skupinu).

Tablica 18

Težina TBI i povoljni učinci primjene BPC 157 (10.0 µg, 10 ng/kg i.p.) u miševa. Vrijeme (min) od primjene medikacije do nanošenja ozljede iznosi 30 min. *P<0.05 prema kontrolnoj skupini pokazuje stupanj težine TBI i primjenjenu dozu BPC 157 kada se postigne povoljan učinak.*

Težina TBI (I.-VI.) Impuls sile	Primjena medikacije 30 minuta prije nanošenja ozljede								
	0.9%NaCl 5ml/kg i.p.			BPC 157 10.0 µg/kg i.p.			BPC 157 10.0 ng/kg i.p.		
	Broj miševa koji su bili			Broj miševa koji su bili			Broj miševa koji su bili		
	B	K	U	B	K	U	B	K	U
<b>I.</b> 0.068 Ns	21	9	0	<b>30</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>29</b>	<b>1</b>	<b>0</b>
<b>II.</b> 0.093 Ns	17	13	0	<b>28</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>27</b>	<b>3</b>	<b>0</b>
<b>III.</b> 0.113 Ns	12	18	0	<b>27</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>21</b>	<b>9</b>	<b>0</b>
<b>IV.</b> 0.130 Ns	9	18	3	<b>24</b>	<b>6</b>	<b>0</b>	<b>22</b>	<b>6</b>	<b>2</b>
<b>V.</b> 0.145 Ns	1	21	8	<b>12</b>	<b>15</b>	<b>3</b>	<b>9</b>	<b>15</b>	<b>6</b>
<b>VI.</b> 0.159 Ns	0	6	24	<b>3</b>	<b>17</b>	<b>10</b>	1	6	23

B= budni, K= komatozni, U= uginuli

Pretpostavljajući koliko je odnos vremenskog razmaka od trenutka nastanka ozljede u odnosu na početak povoljnog učinka na ozljeđeni mozak važan (npr. lakša TBI izazvana manjim impulsom sile trebala bi kraći vremenski period, dok bi teža TBI izazvana većim impulsom sile zahtijevala više vremena), pokazali smo da postoji zanimljiv pomak u fazi (vremenu) nakon započinjanja povoljnog učinka BPC 157. Tako je čak i primjena BPC 157 neposredno pred ozljeđivanje dovela do povoljnog učinka kod miševa izloženih impulsu sile od 0.093 Ns-TBI (II.). Kod težih TBI: IV., V., VI.; (veliĉine impulsa sile od 0.130 Ns, 0.145 Ns, 0.159 Ns), vrijeme potrebno za poboljšanje ishoda (odnosa budni/komatozni-/uginuli) iznosilo je 5 minuta, (kod IV. stupnja 0.130 Ns-TBI), 20 minuta (kod V. stupnja; 0.145 Ns-TBI), a 30 minuta (0.159 Ns TBI) (Tablica 19).

Tablica 19

Odnos vremena između primjene medikacije i nastupa povoljnog učinka BPC 157 (10.0 µg, 10ng/kg i.p.) u miševa s različitim težinom TBI. Vrijeme (min) proteklo između primjene medikacije i nanošenja TBI rastućim impulsom sile. *P<0.05 prema kontrolnoj skupini pokazuje vremenske intervale primjene doza BPC 157 kada se dosegne povoljan učinak.*

Procjena ishoda nakon 24 sata

Vrijeme (min)	Primijenjene tvari u raznim vremenskim intervalima											
	0,9% NaCl 5ml/kg i.p.				BPC 157 10.0 µg/kg i.p.				BPC 157 10.0 ng/kg i.p.			
	Broj miševa B/K/U				Broj miševa B/K/U				Broj miševa B/K/U			
	Težina TBI- (II.,IV.-VI.) Impuls sile				Težina TBI- (II.,IV.-VI.) Impuls sile				Težina TBI- (II.,IV.-VI.) Impuls sile			
	II. 0.093 Ns	IV. 0.130 Ns	V. 0.145 Ns	VI. 0.159 Ns	II. 0.093 Ns	IV. 0.130 Ns	V. 0.145 Ns	VI. 0.159 Ns	II. 0.093 Ns	IV. 0.130 Ns	V. 0.145 Ns	VI. 0.159 Ns
0	17 13 0	9 18 3	1 21 8	0 6 24	<b>28</b> <b>2</b> <b>0</b>	20 10 0	7 20 3	1 6 23	<b>28</b> <b>2</b> <b>0</b>	20 10 0	7 20 3	1 6 23
5	17 13 0	9 18 3	1 21 8	0 6 24	<b>28</b> <b>2</b> <b>0</b>	<b>24</b> <b>6</b> <b>0</b>	7 20 3	1 6 23	<b>28</b> <b>2</b> <b>0</b>	20 10 0	7 20 3	1 6 23
10	17 13 0	9 18 3	1 21 8	0 6 24	<b>28</b> <b>2</b> <b>0</b>	<b>24</b> <b>6</b> <b>0</b>	7 20 3	1 6 23	<b>28</b> <b>2</b> <b>0</b>	<b>24</b> <b>6</b> <b>0</b>	7 20 3	1 6 23
15	17 13 0	9 18 3	1 21 8	0 6 24	<b>28</b> <b>2</b> <b>0</b>	<b>24</b> <b>6</b> <b>0</b>	7 20 3	1 6 23	<b>28</b> <b>2</b> <b>0</b>	<b>24</b> <b>6</b> <b>0</b>	7 20 3	1 6 23
20	17 13 0	9 18 3	1 21 8	0 6 24	<b>28</b> <b>2</b> <b>0</b>	<b>24</b> <b>6</b> <b>0</b>	<b>12</b> <b>15</b> <b>3</b>	1 6 23	<b>28</b> <b>2</b> <b>0</b>	<b>24</b> <b>6</b> <b>0</b>	7 20 3	1 6 23
25	17 13 0	9 18 3	1 21 8	0 6 24	<b>28</b> <b>2</b> <b>0</b>	<b>24</b> <b>6</b> <b>0</b>	<b>12</b> <b>15</b> <b>3</b>	1 6 23	<b>28</b> <b>2</b> <b>0</b>	<b>24</b> <b>6</b> <b>0</b>	<b>12</b> <b>15</b> <b>3</b>	1 6 23

B= budni, K= komatozni, U = uginuli

### Odloženo procjenjivanje ishoda

Početno u skupini kontrolnih životinja nije bilo smrtnog ishoda. Nakon nanošenja TBI pri impulsu sile od 0.093 Ns, (II.), a bez primjene BPC 157, tijekom 24-satna perioda smrtnost je ipak porasla (Tablica 18, Slika 13, 14, 15).

Tablica 20

Jačina traumatskih promjena (SAH, IVH, laceracije mozga, hemoragičke laceracije te prateći edem) 24 sata nakon preživljavanja ozljede u miševa koji su preživjeli početnu TBI pri udaru sile od 0.093 Ns (II.) i koji su početno dobili BPC 157 (10.0 µg, 10 ng/kg i.p.) bilo neposredno ili 30 minuta prije nanošenja ozljede. *P<0.05 prema kontrolnoj skupini.*

Vrijeme primjene	Medikacija	Stopa mortaliteta (%) tijekom 24 h nakon ozljede		Jačina traumatskih ozljeda (SAH,IVH, laceracije mozga, hemoragičke laceracije te edem) u miševa 24h nakon ozljede min/med/maks				
		Uginuli miševi	Ukupan broj miševa	Edem	NHTL	HTL	SAH	IVH
30 min Prije ozljede	0.9%Na Cl 5ml/kg i.p.	15	30	1/3/3	1/2/2	1/2/2	1/2/2	1/2/2
	BPC 157 10ug/kg i.p.	1	30	0/1/2	1/2/2	0/1/2	1/2/2	0/0/1
	BPC 157 10ng/kg i.p.	2	30	1/1/2	1/2/2	0/1/2	1/2/2	0/0/1
Neposredno prije ozljede	0.9%Na Cl 5ml/kg i.p.	16	30	2/3/3	1/2/2	1/2/2	1/2/2	1/2/2
	BPC 157 10ug/kg i.p.	5	30	0/1/3	1/2/2	0/0/1	1/1/2	0/0/1
	BPC 157 10ng/kg i.p.	7	30	1/1/3	1/2/2	0/0/1	1/1/2	0/0/1

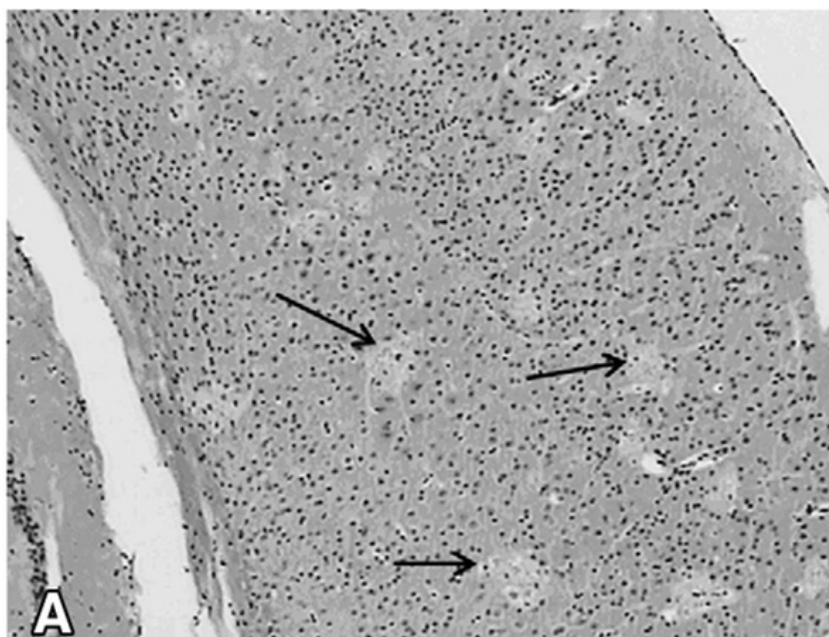
NHTL- nehemoragička traumatska laceracija; HTL – hemoragička traumatska laceracija

Obično 24 sata nakon ozljede, ozljeđene, ali preživjele životinje imaju, razderotine mozgovnog tkiva bez hemoragija u čeonotjemnom korteksu i subkortikalnoj bijeloj tvari ispod mjesta udara (coup). Također uobičajeno životinje imaju laceracije s hemoragijama u istoj regiji. Nismo uočili upalnog odgovora mozga pri obje vrsti lezija. Akutno intraventricularno krvarenje (IVH) je u pravilu bilo bez upalnog odgovora ependima. Subarahnoidalno kvarenje (SAH) je u pravilu bilo difuzno, a tek povremeno lokalizirano ispod mjesta udara u čeonotjemenoj regiji. Ni u toj podskupini nije bilo upalnog odgovora okolnog mozgovnog tkiva. Izraženi je difuzni intersticijski edem pratio sve navedene vrste patomorfoloških promjena (uglavnom perifokalno i u bijeloj tvari). Mortalitet je u skupini koja je primala BPC 157 u usporedbi s kontrolnom bio minimalan (Tablica 20, Slika 13, 14, 15). BPC 157 nije imao

nikakva utjecaja na nehemoragičke lezije mozga. Mozgovni edem te broj i veličina hemoragijskih traumatskih laceracija bili su slabije izraženi u onih miševa koji su BPC 157 primili 30 minuta prije nanošenja ozljede kao i u onih koji su ga dobili tek neposredno prije nanošenja ozljede. Izraženost SAH je bila smanjena kod miševa koji su BPC 157 primili neposredno prije ozljede, dok je IVH bila manje izražena u onih koji su BPC 157 primili 30 minuta prije ozljede.

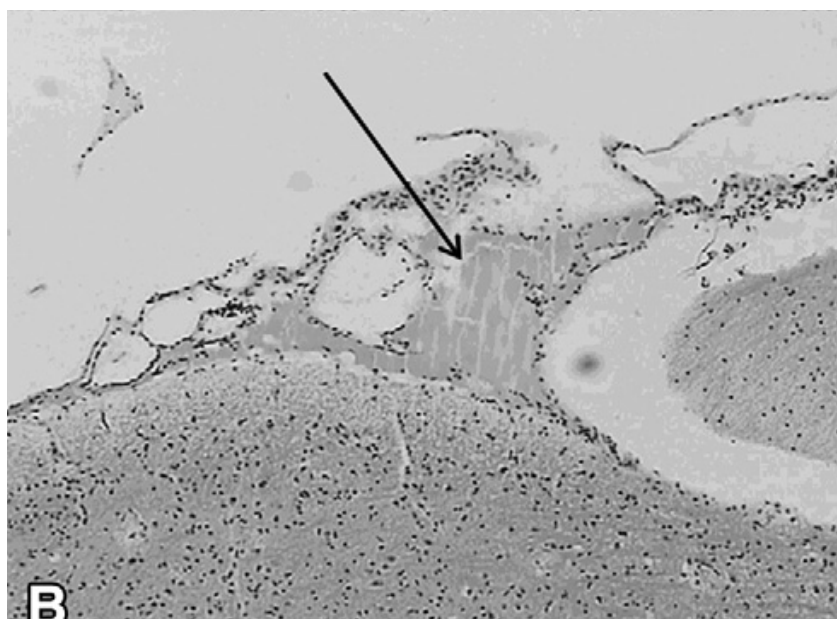


**Histološki prikaz traumatske lezije mozga u miša 24 h nakon ozljede, a bez primjene medikacije.**



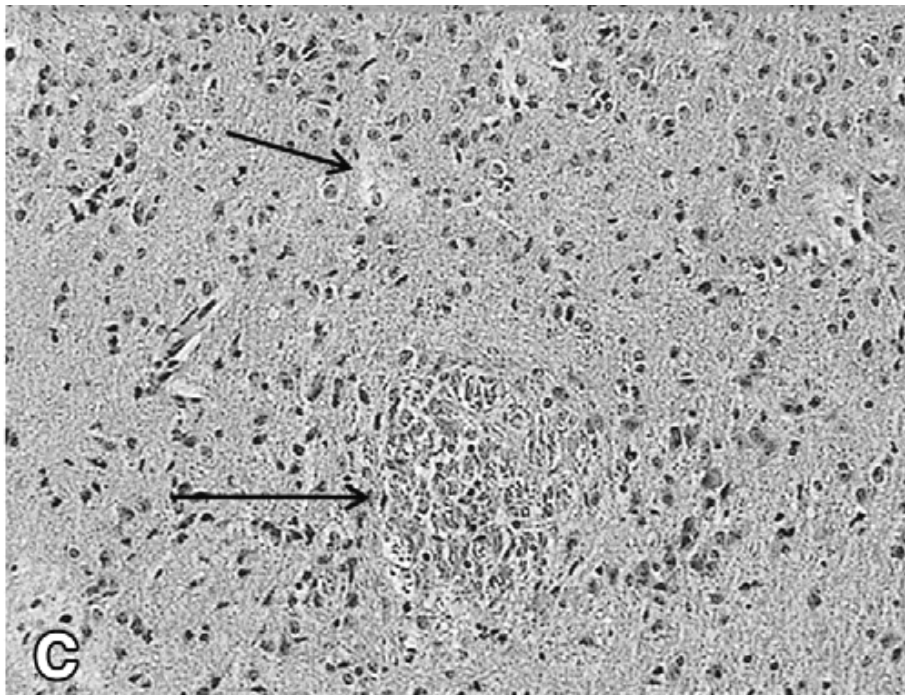
**Slika 13**

**A. Brojne razderotine-laceracije bez hemoragije u čeonotjemenoj kori i subkortikalnoj bijeloj tvari ispod mjesta udara u kontrolnih životinja (HE, 40x).**



**Slika 14**

**B. Subarahnoidalno krvarenje ispod mjesta udara u čeonotjemenoj regiji u kontrolnih životinja (HE, 40x).**



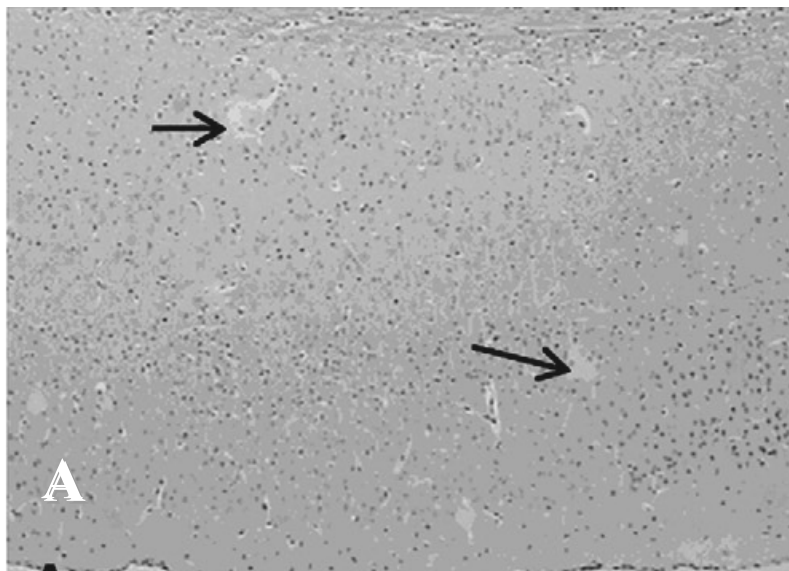
**Slika 15**

**C. Hemoragičke laceracije i difuzni edem u bazalnim regijama (contre coup lezija) u kontrolnih životinja (HE,**

**200)**

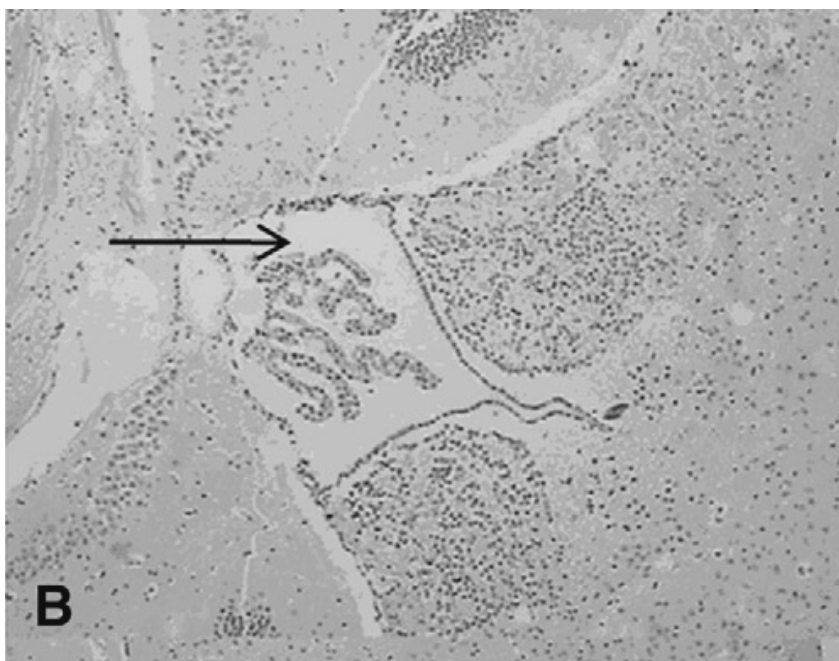
---

**Histološki prikaz TBI u miša 24 sata nakon nanošenja ozljede i primjene BPC 157**



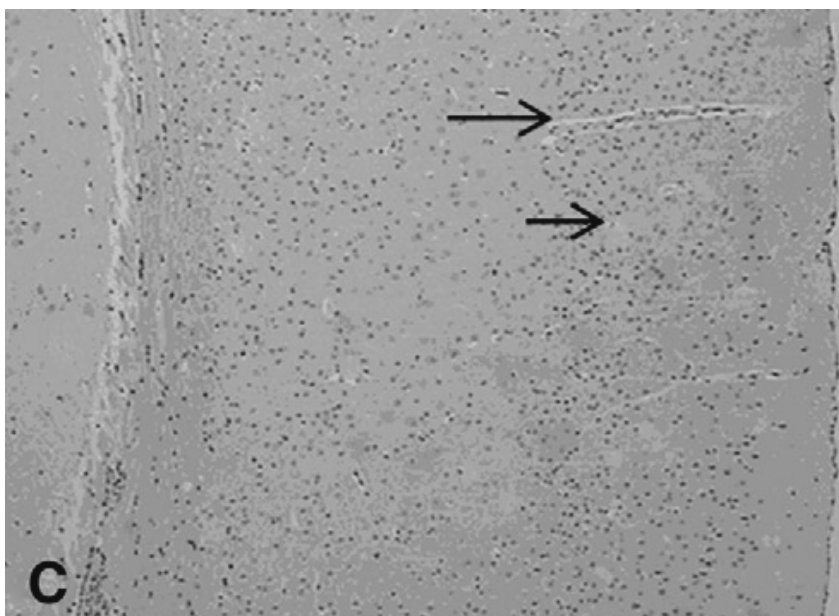
**Slika 16**

**A. Traumatske laceracije bez hemoragija u kortikosubokortikalnom sloju u čeonotjemenoj regiji ispod mjesta udara u životinja koje su primale BPC 157 prije nanošenja ozljede. (HE, 40x)**



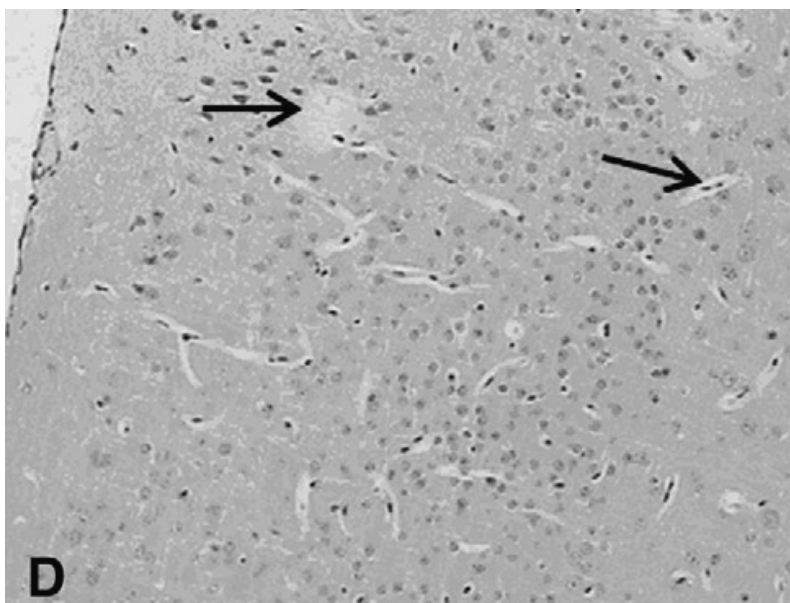
Slika 17

**B. Treća komora bez krvarenja u životinja koje su prethodno primale BPC 157. (HE, 40x).**



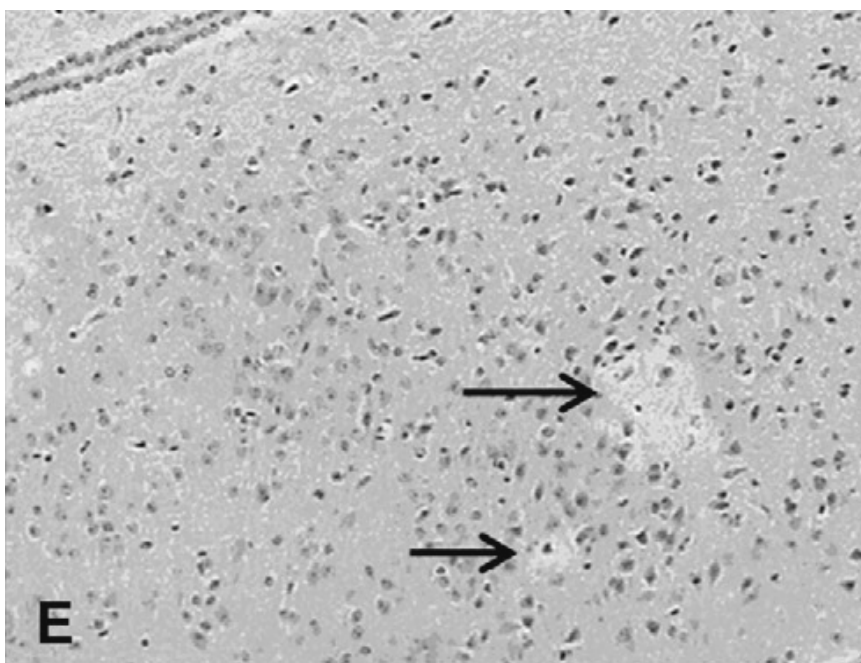
Slika 18

**C. Manja hemoragička laceracijska žarišta uz umjereni edem u kortikosubkortikalnom sloju u čeonotjemenoj regiji ispod mjesta udara u životinja koje su primale BPC 157 prije nanošenja ozljede. (HE, 40x).**



Slika 19

**D. Manja hemoragička laceracijska žarišta i umjereni edem u kortikosubkortikalnom sloju u čeonotjemenoj regiji ispod mjesta udara u životinja koje su primale BPC 157 kao kotretman. (HE, 100x**



Slika 20

**E. Nehemoragičke laceracije uz umjereni edem u periventrikularnoj regiji u životinja koje su primale BPC 157 (kotretman) (HE,100x).**

## 5. Rasprava

Postoji značajan (klinički i mikroskopski) povoljan zaštitni učinak BPC 157 nakon traumatskih ozljeda mozga u miševa. Ovome u prilog govori uobičajeni tijekom događanja nakon ozljeđivanja: neposredan razvoj nesvjestice (odsutnost refleksa uspravljanja) i nastup smrti te naknadan nepovoljan ishod (sadržan u: mozgovnom edemu, brojnim većim hemoragičkim razderotinama, subarahnoidalnom i intraventrikularnom krvarenju) s čestim smrtnim ishodom tijekom 24 satnog perioda. Sukladno tome kod primarne je ozljede (koja je izazivala sekundarnu traumatsku ozljedu mozga), BPC 157 dovodio do suprotnog učinka na neposredne posljedice teške ozljede mozga u miševa: očuvanje svijesti (i manji broj komatoznih i uginulih) kao i poboljšanje kasnijeg lošeg ishoda (slabiji edem, znatno smanjeni broj i veličina hemoragičkih traumatskih laceracija mozga, znatno smanjena jačina subarahnoidalnog krvarenja te znatno manje intraventrikularnih krvarenja –mikroskopski- te naposljetku zbirno smanjenjeni broj uginulih).

Jako je važno da pri procjenjivanju povoljnih učinaka BPC 157 u liječenju TBI nije korišten nikakav bjelančevinasti nosač pa stoga postignuti povoljan učinak pripisujemo izravnom djelovanju ovog peptida (za razliku od drugih peptida koji koriste nosač, a peptid+nosač -kompleks krije znatne metodološke dileme i pitanja djelotvornosti).

Usput, točnost alpha-[14C]methyl-L-tryptophan (alpha-MTrp) autoradiografske metode podržava činjenicu da bi BPC 157 primijenjen periferno imao povoljan i regionalno-specifičan utjecaj na mozgu (npr. primijenjen periferno, bilo akutno bilo kronično BPC 157 bi specifično utjecao na sintezu 5-HT u štakora (npr. stražnji teritorij talamusa, hipokampus, lateralno koljenasto tijelo, hipotalamus, stražnja raphe jezgra, substantia nigra, prednja medijalna olfaktorna jezgra, postranični kaudatus, nucleus accumbens, gornja oliva<sup>17</sup> Isto tako pouzdana primjena pentadekapeptida BPC 157 (nedosegnut LD1, negativan granični test, bez nuspojava u bolesnika<sup>22,254</sup> zajedno s povoljnim učincima dobivenim pri traumatskoj ozljedi mozga

sugeriraju da je njegovo djelovanje možebitno drugačije od sistemske primjene brojnih čimbenika (npr. NGF- nerve growth factor) za koje se zna da imaju teške nuspojave neovisno o težini ozljede živčanog tkiva<sup>249</sup>. Ipak precizan(i) mehanizam(i) povoljnog učinka pentadekapeptida BPC 157 ostaje(u) nerazjašnjen(i).

Bez obzira na tu činjenicu uvijek iznova se uočavao povoljan utjecaj na traumatsku ozljedu mozga (tj. smanjenje neposredne smrtnosti i stope komplikacija) i učinkovito cijeljenje ozljeda u miševa liječenih BPC 157, a povoljan učinak je ovisio o dozi, vremenu primjene i težini nanese ozljede. Zajedno se odatle nameće nekoliko mogućnosti. Učinak na primarnu mozgovnu ozljedu može biti od zanimanja, budući je primarna ozljeda povezana s inicijalnim mehaničkim udarom koji dovodi do neposredne i često ireverzibilne ozljede neurona, dendrita, aksona, glija stanica i mozgovnih krvnih žila. Općenito primarna ozljeda rezultira deformacijom i kompresijom tkiva dovodeći do napadaja, respiracijske depresije, apneje, ishemičke i hipoksičke ozljede – što zajedno dovodi do celularne ozljede<sup>26,27</sup>.

S druge strane sekundarna ozljeda je uzrokovana nepotpuno razjašnjenim kaskadnim kompleksom fizioloških i biokemijskih čimbenika što traje satima i danima nakon ozljede rezultirajući u progresivnom tkivnom oštećenju<sup>26,242</sup>.

U odnosu na navedene činjenice povoljnog učinka primjene BPC 157 30 minuta ili čak neposredno prije nanošenja ozljede pri djelovanju impulsa sile od 0.113 Ns-TBI (III.) zanimljivo je istaknuti podatak da nakon protoka vremena od 24 sata od ozljede, više nije bilo vidljivog povoljnog utjecaja BPC 157 na hemoragičke laceracije mozga. Broj i veličina hemoragičkih traumatskih lezija kao i mozgovni edem koji ih prati bili su slabije izraženi u onih miševa koji su tretirani BPC 157 30 min prije ozljede. U onih miševa koji su primali BPC 157 neposredno prije nanošenja ozljede izraženost SAH je bila znatno manja spram kontrolne skupine, dok je intraventrikularna hemoragija bila slabije izražena ako se je BPC 157 ubrizgao 30 min prije ozljede. Isto tako je smanjenje mozgovnog edema bilo izraženije u slučajevima u

kojima je BPC 157 dan nešto ranije. Gledano zajednički ovo možda sugerira da BPC 157 možebitno mijenja ekspresivnost primarne ozljede mozga i nadolazeće biokemijske procese koji iniciraju sekundarnu mozgovnu ozljedu.

Nadalje, vremenski vezana povoljnost učinka BPC 157 (neposredan učinak na TBI u miša do stupnja impulsa sile od 0.113 Ns-TBI (III.) pokazuje da se BPC 157 može suprotstaviti i težim TBI nanesenim jačim impulsom sile u miša (impuls sile od 0.130 Ns, 0.145 Ns, i 0.159 Ns, IV.-VI.). Čini se da se djelovanje BPC 157 na procese širi ovisno o vremenu primjene, da se povećava s proteklom vremenom (jer čak i na najteže lezije može dodatno utjecati). Vjerojatno je da ovaj vremenski odmak u dodatku na izravan učinak, odražava rastući lanac pokrenutih događanja koji se uključuju nakon primjene peptida kako bi se aktivirali, i pripremili mozak za nadolazeće veće ozljede.

Opetovano smo primjerice uočili da BPC 157 ( $\mu\text{g-ng/kg}$  raspon doza) nadmašuje učinke kortikosteroida<sup>105,147,185,213</sup> ( $\text{mg/kg}$ ) (tj. pretpostavku da su povoljni učinci kortikosteroida na ozljedu mozga vezani za smanjenje mozgovnog edema)<sup>45</sup>. Stoga je za očekivati da se povoljni učinci BPC 157 općenito nalaze unutar opisane traumatske ozljede mozga, kao otvaranje krvno-mozgovne prepreke (BBB), prodor leukocita unutar ozljeđenog mozga<sup>93,157</sup>, oslobađanje slobodnih radikala kisika uzrokujući ozljedu stanica i nastanak upalnih citokina, a osobito NO, te neuroglasnika imunomodulatora i vazoaktivnih tvari koji svi mogu igrati važnu ulogu u posttraumatskim sequelama<sup>220</sup> za koje se drži da su uključeni u posttraumatsku neuropatološku ozljedu.

Do sada uočeni učinci BPC 157 na strukture substantije nigre (compacta i reticulata) moguće su indikativni. Naime BPC 157 povećava sintezu 5-HT (akutno i kronično)<sup>17,245</sup>, umanjuje motoričke nepravilnosti (tremor, akinezija, katalapsija)<sup>95,121,200</sup>, uklanja smrtnost pri primjeni MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin) - Parkinsonergičnog neurotoksina koji izaziva ozljedu dopaminergičkih stanica substantije nigre slobodnim radikalima

kisika<sup>121</sup> pa se stoga nameće mogućnost da BPC 157 umanjuje učinke i pri drugim ozljedama izazvanim slobodnim radikalima<sup>160</sup> te je vjerojatno da se suprotstavlja slobodnim radikalima kisika koji dovode do celularnih oštećenja u TBI miševa. Isto tako pentadekapeptid BPC 157 smanjuje razinu LTB4 (inflamacijskog leukotriena B4), TXB2 Tromboksana B2), i MPO (lizozomske mijeloperoksidaze) kako u serumu tako i u upalnom tkivu<sup>245,253</sup> te njegovi povoljni učinci (npr. pri cijeljenju sluznica i rana osobito pri cijeljenju zgnječenog mišića, smanjenje nakupljanja upalnih stanica, nastanak edema i hematoma<sup>105,110,111,147,178,186,185,188, 211,213,227,228,245</sup> .

Konačno može biti od značenja da pentadekapeptid BPC 157 pokazuje međudjelovanje s nitro oksidom (NO) i NO-agensima te dovodi do redukcije visoke vrijednosti serumskog endotelina-1(BET-1)<sup>96,209,211,217</sup> i održava integritet endotela<sup>51,105,168,121,200,204,206,207, 209,211,213,253,257</sup> te su pokazali znatan angiogeni učinak<sup>105,211,213,253</sup> (prikazujući ulogu NO – cerebralni endotel kao izvor zaštitnog NO kako bi se obnovila rekativnost nakon ozljede mozga<sup>220</sup> i endotelinskog vazoaktivnog peptida pri pogoršanju cerebralne perfuzije<sup>9</sup>. Na kraju ovi terapijski učinci BPC 157 mogu biti i posljedica njegove drugdje istaknute važnosti u probavnom sustavu<sup>203,252,257</sup> tako da bi peptid indirektno djelovao od mjesta vezivanja u crijevu na nekom od visceralnih receptivnih releja za središnji živčani sustav<sup>124</sup> .



## 6. Zaključak

Ovi se rezultati moraju kritički promatrati zajedno s brojnim spojevima i neuroprotektivnim strategijama koji su *in extenso* raspravljeni, procijenjeni i sustavno pregledani drugdje<sup>10,125</sup>. Ipak traumatska ozljeda mozga (TBI) ogleda se u leziji mozgovnog parenhima i disfunkciji organa kako uslijed primarne traume (biomehanički učinci) tako i poradi nadolazeće sekundarne ozljede uslijed aktivacije patofiziološke kaskade<sup>141</sup>. Dokazali smo očuvanu svijest i smanjenje broja uginulih životinja neposredno nakon traume u miševa liječenih pentadekapeptidom BPC 157 te znatno reduciranu smrtnost ozljeđenih, slabije izražen mozgovni edem, manji broj i veličinu hemoragičkih, traumatskih laceracija, slabiji intenzitet subarahnoidalnog krvarenja te značajno manje intraventrikularnog krvarenja. S druge strane nakon nagnječenja tkiva, BPC 157 (primijenjen lokalno ili intraperitonealno) poboljšava cijeljenje zgnječenih mišića makroskopski (manje posttraumatskih haematoma i edema), mikroskopski, funkcijski (potpuni oporavak funkcije)<sup>147,160</sup>. Uočljivo je povoljno djelovanje pentadekapeptida BPC 157 pri ozljedi mozga (i drugih tkiva) osobito glede cijeljenja ozljede i smanjenja nepovoljnog ishoda (smrt, gubitak funkcije), te ga se može smatrati neuroprotektivnim lijekom.

## 7. Sažetak

Pokazano je da antiulkusni peptid, želučani pentadekapeptid BPC 157 (GEPPPGKPADDAGLV, u pokusima pri upalnim bolestima crijeva (PL 14736), bez toksičnosti), poboljšava cijeljenje zgnječnog mišićnog tkiva. Kod stupnjevito rastuće traumatske ozljede mozga (TBI) nanesene padajućim utegom u miša doze BPC 157 (10.0 µg, 10.0 ng/kg i. p.) pokazale su znatno smanjenje i poboljšanje ranog posljedka i tek minimalnu naknadnu smrtnost kroz 24-satni period nakon ozljede te konačno smanjenje jačine traumatske ozljede (subarahnoidalna i intraventrikularna hemoragija, laceracija mozga, hemoragička laceracija), znatno poboljšanje konsekutivnog edema mozga. Poboljšani omjer budni/komatozni/uginuli u miševa s TBI najčešće je uočen pri TBI nanesenom impulsom sile od 0.068 Ns, 0.093 Ns, 0.113 Ns, 0.130 Ns, 0.145 Ns, i 0.159 Ns. Suprotni učinak (više budnih, manje uginulih) kako s µg- tako i s ng-dozama viđen je pri primjeni impulsa sile od 0.068-0.145 Ns; maksimalnom težinom TBI (impuls sile od 0.159 Ns) samo pri µg - dozama. Da bi se odredio odnos vremena između primjene medikacije i pojave povoljnih učinaka primijenjenih tvari, dokazali smo da je primjena čak i samo jedne doze BPC 157 neposredno pred nanošenje ozljede djelovala povoljno u miša izloženog impulsu sile od 0.093 Ns-TBI. Za teže TBI (impuls sile 0.130 Ns, 0.145 Ns, 0.159 Ns), protok vremena potreban za poboljšanje omjera budni/komatozni/uginuli iznosio je: 5 min (0.130 Ns-TBI), 20 min (0.145 Ns-TBI) ili 30 min (0.159 Ns-TBI).

Ključne riječi: traumatska ozljeda mozga (TBI), pentadekapeptid BPC 157, neuroprotekcija.

## 8. Summary

Gastric pentadecapeptide BPC 157 (GEPPPGKPADDAGLV, an antiulcer peptide in inflammatory bowel disease trials (PL 14736), no toxicity reported) was shown to improve muscle crush injury. Now, after drop weight gradually induced traumatic brain injury (TBI) in mice, BPC 157 regimens (10.0 µg, 10.0 ng/kg i.p.) showed marked attenuation and improved early outcome, and then minimal postponed mortality throughout 24 h post-injury, and eventually, attenuated traumatic lesion's intensity (subarachnoidal and intraventricular hemorrhage, brain laceration, hemorrhagic laceration), consecutive brain edema considerably improved. The improved conscious/unconscious/death ratio in TBI-mice was commonly seen after TBI produced with force impulse of the 0.068 Ns, 0.093 Ns, 0.113 Ns, 0.130 Ns, 0.145 Ns, and 0.159 Ns. Counteraction (less unconsciousness, lesser mortality) with both µg- and ng-regimens included force impulse 0.068-0.145 Ns; maximal TBI-severity (force impulse 0.159 Ns) presented µg-regimen effectiveness only. Furthermore, to determine time-relation between the medication time and the onset of the beneficial effects, we showed that even one BPC 157 application immediately before injury was beneficial in mice subjected to force impulse of 0.093 Ns-TBI. For stronger TBIs (force impulse 0.130 Ns, 0.145 Ns, 0.159 Ns), the time relation to improve conscious/unconscious/death ratio was: 5 min (0.130 Ns-TBI), 20 min (0.145 Ns-TBI) or 30 min (0.159 Ns-TBI).

Key words: traumatic brain injury (TBI), pentadecapeptide BPC 157, neuroprotection.

## 9. Literatura

1. Adams JH, Doyle D, Ford I, et al. Diffuse axonal injury in head injury: definition, diagnosis, and grading. *Histopathology* 1989;15:49-59.
2. Adams JH, Graham DI, Gennarelli TA. Acceleration induced head injury in the monkey. II. Neuropathology. *Acta Neuropathol (Berl)* 1981;7: (Suppl) 26.
3. Adams JH, Graham DI, Gennarelli TA. Head injury in man and experimental animals—neuropathology. *Acta Neurochir Suppl* 1983;32:15-30.
4. Adams JH, Graham DI, Gennarelli TA. Neuropathology of acceleration-induced head injury in the subhuman primate. u *Head Injury: Basic and Clinical Aspects*, ur. Grossman RG, Gildenberg PL. Raven Press, New York, NY 1982. str. 141-150.
5. Adelson PD, Jenkins LW, Hamilton RL, et al. Histopathologic response of the immature rat to diffuse traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2001;18:967-976.
6. Adelson PD, Robichaud P, Hamilton RL, et al. A model of diffuse traumatic brain injury in the immature rat. *J Neurosurg* 1996;85:877-884.
7. Adelson PD. Animal models of traumatic brain injury in the immature rat: a review. *Exp Toxicol Pathol* 1999;51:130-136.
8. Allen JW, Knoblach SM, Faden AI. Combined mechanical trauma and metabolic impairment in vitro induces NMDA receptor-dependent neuronal cell death and caspase-3-dependent apoptosis. *FASEB J* 1999;13: 1875–1882.
9. Andersen J, Shafi NI, Bryan RM. Endothelial influences on cerebrovascular tone *J Appl Physiol* 2006;100:318-327.
10. Aziz Q, Thompson DG. Brain-gut axis in health and disease, *Gastroenterology* 1998;114:559–578.

11. Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg* 1989; 83:129-138.
12. Bakay L, Lee JC, Lee GC, et al. Experimental cerebral concussion. I. An electron microscopic study. *J Neurosurg* 1977;47:525-531.
13. Becker DP, Miller JD, Ward JD, et al. The outcome from severe head injury with early diagnosis and intensive management. *J Neurosurg* 1977;47:491-502.
14. Berg J, Tagliaferri, F, Servadei, F. Cost of trauma in Europe. *Eur J Neurolo* 2005;12:85-90.
15. Bernert H, Turski L. Traumatic brain damage prevented by the non-N-methyl-D-aspartate antagonist 2,3-dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoylbenzo[f] quinoxaline. *Proc Nat Acad Sci USA* 1996;93:5235-5240.
16. Bilic I, Zoricic I, Anic T, et al. Haloperidol-stomach lesions attenuation by pentadecapeptide BPC 157, omeprazole, bromocriptine, but not atropine, lansoprazole, pantoprazole, ranitidine, cimetidine and misoprostol in mice. *Life Sci.* 2001;68:1905-1912.
17. Blagaić AB, Blagaić V, Romić Z, et al. The influence of gastric pentadecapeptide BPC 157 on acute and chronic ethanol administration in mice. *Eur J Pharmacol* 2004;499:285-290.
18. Blumbergs PC, Jones NR, North JB. Diffuse axonal injury in head trauma. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1989;52:838-841.
19. Blumbergs PC, Scott G, Manavis J, et al. Staining of amyloid precursor protein to study axonal damage in mild head injury. *Lancet* 1994;344:1055-1056.
20. Blumbergs PC. Changing concepts of diffuse axonal injury. *J Clin Neurosci* 1998;5:123-124.

21. Blumbergs PC. Pathology. u: Head Injury. Pathophysiology and Management of Severe Closed Injury, ur. Reilly P, Bullock R. Chapman and Hall Medical, London, UK 1997. str. 39-70.
22. Boban Blagaić A, Blagaić V, Mirt M et al. Gastric pentadecapeptide BPC 157 effective against serotonin syndrome in rats. *Eur J Pharmacol* 2005;512:173-179.
23. Bodis B, Karadi O, Nagy L, et al. Direct cellular effects of some mediators, hormones and growth factor-like agents on denervated (isolated) rat gastric mucosal cells. *J Physiol* 1997;91:183-187.
24. The Brain Trauma Foundation. The American Association of Neurological Surgeons. The Joint Section on Neurotrauma and Critical Care. Use of mannitol. *J Neurotrauma* 2000;17:521-525.
25. The Brain Trauma Foundation: The American Association of Neurological Surgeons. The Joint Section on Neurotrauma and Critical Care: Guidelines for cerebral perfusion pressure. *J Neurotrauma* 2000;17:507–511.
26. Boyd JG, Gordon T. A dose-dependent facilitation and inhibition of peripheral nerve regeneration by brain-derived neurotrophic factor. *Eur J Neurosci* 2002;15:613-626.
27. Bramlett HM, Dietrich WD. Pathophysiology of cerebral ischemia and brain trauma: similarities and differences. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2004; 24:133-50.
28. Bullock MR, Lyeth BG, Muizelaar JP. Current status of neuroprotection trials for traumatic brain injury: lessons from animal models and clinical studies. *Neurosurgery* 45:207-217, 1999.
29. Bullock R, Chesnut RM, Clifton G, et al: Guidelines for the management of severe head injury. Brain Trauma Foundation. *Eur J Emerg Med* 1996;3:109-127.
30. Bullock R, Chesnut RM, Clifton G, et al. Guidelines for the management of severe traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2000;17:451-553.

31. Bouma GJ, Muizelaar JP, Choi SC, et al. Cerebral circulation and metabolism after severe traumatic brain injury: The elusive role of ischemia. *J Neurosurg* 1991;75:685-693.
32. Bouma GJ, Muizelaar JP, Stringer WA, et al. Ultra-early evaluation of regional cerebral blood flow in severely head-injured patients using xenon-enhanced computerized tomography. *J Neurosurg* 1992;77:360-358.
33. Callaway JK, Beart PM, Jarrott B, et al. Incorporation of sodium channel blocking and free radical scavenging activities into a single drug, AM-36, results in profound inhibition of neuronal apoptosis. *Br J Pharmacol* 2001;132:1691–1698.
34. Callaway JK, Knight MJ, Watkins DJ, et al. Delayed treatment with AM-36, a novel neuroprotective agent, reduces neuronal damage after endothelin-1-induced middle cerebral artery occlusion in conscious rats. *Stroke* 1999;30:2704–2712.
35. Carole Rush interviewing Bryan Jennett. The history of the Glasgow Coma Scale: an interview with professor Bryan Jennett. *Internat J Trauma Nurs* 1997;4:114-118.
36. Chesnut RM, Marshall LF, Klauber MR, et al. The role of secondary brain injury in determining outcome from severe head injury. *J Trauma* 1993;34:216-22.
37. Chesnut RM, Marshall SB, Pick J, et al. Early and late systemic hypotension as a frequent and fundamental source of cerebral ischaemia following severe brain injury. *u Traumatic Coma Data Bank. Acta Neurochir suppl (Wien)* 1993;19:1038-43.
38. Christman CW, Salvant JB, Walker SA, et al. Characterization of a prolonged regenerative attempt by diffusely injured axons following traumatic brain injury in adult cat: a light and electron microscopic immunocytochemical study. *Acta Neuropathol* 1997;94:329-337.
39. Cohadon F: Brain protection. *Adv Tech Stand Neurosurg* 1994;21:77-152.

40. Conti AC, Raghupathi R, Trojanowski JQ, et al. Experimental Brain Injury Induces Regionally Distinct Apoptosis during the Acute and Delayed Post-Traumatic Period. *J Neurosci* 1998;18:5663-5672.
41. Cooper P. *Head Injury*. 3<sup>rd</sup> ed. Williams and Wilkins, Baltimore, MD 1993.
42. Cornish R, Blumbergs PC, Manavis J, et al. Topography and severity of axonal injury in human spinal cord trauma using amyloid precursor protein as a marker of axonal injury. *Spine* 2000;25:1227-1233.
43. Cortez SC, McIntosh TK, Noble LJ. Experimental fluid-percussion brain injury: vascular disruption and neuronal and glial alterations. *Brain Res* 1989;482:271-282.
44. Crisco JJ, Jokl P, Heinen GT, et al. A muscle contusion injury model. *Biomechanics, physiology and histology*. *Am J Sports Med* 1994;22:702-710.
45. Debreuil CI, Marklund N, Deschamps K, et al. Activation of Rho after traumatic brain injury and seizure in rats. *Experimental Neurology* 2006;198:361–369.
46. Denny-Brown D, Russell WR. Experimental cerebral concussion. *Brain* 1941;64:93-164.
47. Denny-Brown D. Cerebral concussion. *Physiol Rev* 1945;25:296-325.
48. Dixon CE, Clifton CL, Lighthall JW, et al. A controlled cortical impact model of traumatic brain injury in the rat. *J Neurosci Methods* 1991;39:253-262.
49. Dixon CE, Lighthall JW, Anderson TE. Physiologic, histopathologic, and cineradiographic characterization of a new fluid-percussion model of experimental brain injury in the rat. *J Neurotrauma* 1988;5:91-104.
50. Dixon CE, Lyeth BG, Povlishock JT, et al. A fluid-percussion model of experimental brain injury in the rat. *J Neurosurg* 1987;67:110-119.



51. Dobric I, Drvis P, Petrovic I, et al. Prolonged esophagitis after primary dysfunction of the pyloric sphincter in the rat and therapeutic potential of the gastric pentadecapeptide BPC 157. *J Pharmacol Sci* 2007;104:7-18.
52. Du C, Fang M, Li Y, et al. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c–dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. *Cell*. 2000;102:33-42.
53. Duhaime AC, Margulies SS, Durham SR, et al. Maturation-dependent response of the piglet brain to scaled cortical impact. *J Neurosurg* 2000;93:455-462.
54. Faden AI, Demediuk P, Panter S, et al. The role of excitatory amino acids and NMDA receptors in traumatic brain injury. *Science* 1990;244:798-800.
55. Faden AI. Neuroprotection and traumatic brain injury: the search continues. *Arch Neurol* 2001;58:1553-1555.
56. Faden AI, Fox GB, Di X, et al. Neuroprotective and nootropic actions of a novel cyclized dipeptide following controlled cortical impact injury in mice. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003;23: 355–363.
57. Faden AI, Fox GB, Fan L, et al. Novel TRH analog improves motor and cognitive recovery after traumatic brain injury in rodents. *Am J Physiol* 1999;277:1196—1204.
58. Faden AI, Knoblach SM, Cernak I, et al. Novel diketopiperazine enhances motor and cognitive recovery after traumatic brain injury in rats and shows neuroprotection in vitro. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003;23: 342–354.
59. Faden AI. Neuroprotection and traumatic brain injury: theoretical option or realistic proposition. *Curr Opin Neurol* 2002;15:707–712.
60. Faden AI. Pharmacological treatment of central nervous system trauma. *Pharmacol Toxicol* 1996;78: 12–17.

61. Faden AI. Pharmacotherapeutic treatment approaches for brain and spinal cord trauma. u: Neurotrauma (Narayan RK, Wilberger J, Povlishock JT, ur.), str. 1479–1490. New York: McGraw-Hill, 1996.
62. Finnie JW, Lewis SB, Manavis J, et al. Traumatic axonal injury in lambs: a model for pediatric axonal damage. *J Clin Neurosci* 1999;6:38-42.
63. Finnie JW, Van den Heuvel C, Gebiski V, et al. Effect of impact on different regions of the head of lambs. *J Comp Pathol* 2001;124:159-164.
64. Finnie JW: Animal models of traumatic brain injury: a review. *Aust Vet J* 2001;79:628-633.
65. Finnie JW, Blumbergs PC. Animal Models. Traumatic Brain Injury. *Vet Pathol* 2002;39: 679.
66. Foda MA, Marmarou A. A new animal model of diffuse brain injury in rats. Part II. Morphological characterization. *J Neurosurg* 1994;80:301-313.
67. Friedman G, Fromm P, Sazbon L, et al. Apolipoprotein E-ε4 genotypes predicts a poor outcome in survivors of traumatic injury. *Neurology* 1999;52:244-248.
68. Gennarelli TA, Adams JH, Graham DI. Acceleration induced head injury in the monkey. I. The model, its mechanical and physiological correlates. *Acta Neuropathol* 1981;7:(Suppl) 23.
69. Gennarelli TA, Thibault LE, Adams JH, et al. Diffuse axonal injury and traumatic coma in the primate. *Ann Neurol* 1982;12:564-574.
70. Gennarelli TA, Thibault LE, Goldstein D. Axonal injury in the rat cerebral cortex in a modified rigid indenter cortical impact model. *J Neurotrauma* 1992;9:60.
71. Gennarelli TA, Thibault LE, Ommaya AK. Pathophysiologic responses to rotational and translational acceleration of the head. u: 16th Stapp Car Crash Conference Proceedings, SAE, New York, NY 1972. str. 296-308.

72. Gennarelli TA, Thibault LE, Ross DT, et al. Enhancement of axonal damage in the forebrain during contralateral craniectomy during controlled cortical impact injury in the rat. *Proceedings of the Society for Neuroscience* 15:1990.
73. Gennarelli TA, Thibault LE, Tipperman R, et al. Axonal injury in the optic nerve: a model simulating diffuse axonal injuries in the brain. *J Neurosurg* 1989;71:244-253.
74. Gennarelli TA, Thibault LE. Biological models of head injury. u: *Central Nervous System Trauma Status Report*, ur. Povlishock JT, Becker T. National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Strokes, National Institutes of Health, Bethesda, MD 1985. str. 392-405.
75. Gennarelli TA, Thibault LE. Experimental production of prolonged traumatic coma in the primate. In: *Advances in Neurotraumatology*, ur. Villiani R, Excerpta Medica, Amsterdam, Netherlands 1982. str. 53-58.
76. Gennarelli TA. Animate models of human head injury. *J Neurotrauma* 1994;11:357-368.
77. Gennarelli TA. Head injury in man and experimental animals: clinical aspects. *Acta Neurochirurg* 1983;32:(Suppl)1-13.
78. Ghajar JB, Hairiri RJ, Paterson RH. Improved outcome from traumatic coma using only ventricular CSF drainage for ICP control. *Adv in Neurosurg* 1993;21:173-177.
79. Giulian D. Microglia and tissue damage in the central nervous system. *Neurol Neurobiol* 1990;55:379-389.
80. Gjurasin M, Miklic P, Buljat G, et al. Pentadecapeptide BPC 157 enhances peripheral nerve regeneration in experimental models. 12<sup>th</sup> World Congress of Neurosurgery, Sydney 16-20 September 2001, Book of Abstracts, str. 104
81. Goldstein M: Traumatic brain injury: A silent epidemic (editorial). *Ann Neurol* 1990; 27:327.

82. Goldstein LB, Davis JN. Beam-walking in rats: studies towards developing an animal model of functional recovery after brain injury. *J Neurosci Met* 1990;31:101-107.
83. Gopez JJ, Yue H, Vasudevan R, et al. Cyclooxygenase-2-specific inhibitor improves functional outcomes, provides neuroprotection, and reduces inflammation in a rat model of traumatic brain injury. *Neurosurgery* 2005;56:590-604.
84. Graham DI, Ford I, Adams JH, et al. Fatal head injury in children. *J Clin Pathol* 1989;42:18-22.
85. Graham DI, McIntosh TK, Maxwell WL, et al. Recent advances in neurotrauma. *J Neuropath Exp Neurol* 2000;59:641-651.
86. Gutierrez E, Huang Y, Haglid K, et al. A new model for diffuse brain injury by rotational acceleration. I. Model, gross appearance, and astrocytosis. *J Neurotrauma* 2001;18:247-257.
87. Hayes RL, Katayama Y, Young HF, et al. Coma associated with flaccidity produced by fluid-percussion concussion in the cat. I. Is it due to depression of activity within the brainstem reticular formation? *Brain Inj* 1988;2:31-49.
88. Hayes RL, Stonnington HH, Lyeth BG, et al. Metabolic and neurophysiologic sequelae of brain injury: a cholinergic hypothesis. *CNS Trauma* 1986;3:163-173.
89. Hegde R, Srinivasula SM, Zhang Z, et al. Identification of Omi/HtrA2 as a mitochondrial apoptotic serine protease that disrupts inhibitor of apoptosis protein-caspase interaction. *J Biol Chem* 2002;277:432-438.
90. Hengartner MO. Programmed cell death in the nematode *C. elegans*: Recent Prog Horm Res 1999;54:213-222.
91. Hicks RR, Baldwin SA, Scheff SW. Serum extravasation and cytoskeletal alterations following traumatic brain injury in rats. Comparison of lateral fluid percussion and cortical impact models. *Mol Chem Neuropathol* 1997;32:1-16.

92. Holburn AHS: Mechanics of head injury. *Lancet* 1943;245:438-441.
93. Holmin S, Mathiesen T, Shetye J, et al. Intracerebral inflammatory response to experimental brain contusion. *Acta Neurochir* 1995;132:110-119.
94. Jane JA, Steward O, Gennarelli TA: Axonal degeneration induced by experimental noninvasive minor head injury. *J Neurosurg* 1985;62:96-100.
95. Jelovac N, Sikiric P, Rucman R, et al. Pentadecapeptide BPC 157 attenuates disturbances induced by neuroleptics: the effect on catalepsy and gastric ulcers in mice and rats. *European J Pharmacol* 1999;379:19-31.
96. Jelovac N, Sikiric P, Rucman R, et al. A novel pentadecapeptide BPC 157 blocks the stereotypy produced acutely by amphetamine and the development of haloperidol-induced supersensitivity to amphetamine. *Biol. Psych* 1998;43: 511-519.
97. Jennett B. Bond J. Assessment of outcome after severe brain damage. A practical scale. *Lancet* 1975;i:480-484.
98. Jennett B, Teasdale G, Galbraith S, et al. Severe head injuries in three countries. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1977;40:291-298.
99. Kalogjera L, Ries N, Baudoin T, et al. Dose dependent protective effect of BPC 157 in capsaicin induced rhinitis in rats. *European Arch Otorhynolaringol* 1997;254:9-11.
100. Kampfl A, Posmantur RM, Zhao X, et al. Mechanisms of calpain proteolysis following traumatic brain injury: implications for pathology and therapy: a review and update. *J Neurotrauma* 1997;14:121-134.
101. Katayama Y, Becker DP, Tamura T, et al. Massive increases in extracellular potassium and the indiscriminate release of glutamate following concussive brain injury. *J Neurosurg* 1990;73:889-900.
102. Kelly G. An account of the appearances observed in the dissection of two of three individuals presumed to have perished in the storm of the 3rd, and whose bodies were

- discovered in the vicinity of the Leith on the morning of the 4th of November 1821, with some reflections on the pathology of the brain, *Trans Med Chir Sci Edinb* 1824;1:84-169.
103. Kerr JF. A histochemical study of hypertrophy and ischaemic injury of rat liver with special reference to changes in lysosomes. *J Pathol Bacteriol* 1965;90:419-435.
104. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972;26:239–257.
105. Klicek R, Sever M, Radic B, et al. Pentadecapeptide BPC 157, in clinical trials as a therapy for inflammatory bowel disease (PL 14736, Pliva), is effective in the healing of colcutaneous fistulas in rats: the role of NO-system. *J Pharm Sci* 2008;108:7-17.
106. Kobrine AI, Kempe LG. Studies in head injury. I. An experimental model of closed head injury. *Surg Neurol* 1973;1:34-37.
107. Koka R, Hadlock TA. Quantification of functional recovery following rat sciatic nerve transection. *Exp Neurol* 2001;168:192-195.
108. Kraus J. Epidemiology of head injury u: Cooper P. *Head Injury*. Williams and Wilkins, Baltimore, MD 1987. 1-9.
109. Kraus JF, Black MA, Hessol N, et al. The incidence of acute brain injury and serious impairment in a defined population. *Am J Epidemiol* 1984;119:186–201.
110. Krivic A, Majerovic M, Jelic I, et al. Modulation of early functional recovery of Achilles tendon to bone unit after transection by BPC 157 and methylprednisolone. *Inflamm. Res.* 2008;57:205–210.
111. Krivic A, Anic T, Seiwerth S, et al. Achilles detachment in rat and stable gastric pentadecapeptide BPC 157: Promoted tendon-to-bone healing and opposed corticosteroid aggravation. *J Orthop Res* 2006;24:982-989.

112. Lang EW, Chesnut RM. Intracranial pressure and cerebral perfusion pressure in severe head injury. *New Horizons* 1995;3:400-409.
113. Lavie G, Teichner A, Shohami E, et al. Long-term cerebroprotective effects of dexanabinol in a model of focal cerebral ischemia. *Brain Res* 2001;901:195–201.
114. Lavrik IN, Golks A, Krammer PH. Caspases: pharmacological manipulation of cell death. *J Clin Invest* 2005;115:2665–2672.
115. Lewis SB, Finnie JW, Blumbergs PC, et al. A head impact model of early axonal injury in the sheep. *J Neurotrauma* 1996;13:505-514.
116. Li LY, Luo X, Wang X. Endonuclease G is an apoptotic DNase when released from mitochondria. *Nature* 2001;412:95–99.
117. Lighthall JW, Dixon CE, Anderson TE. Experimental models of brain injury. *J Neurotrauma* 1989;6:83-97.
118. Lighthall JW, Goshgarian HG, Pinderski CR. Characterization of axonal injury produced by controlled cortical impact. *J Neurotrauma* 1990;7:65-76.
119. Lighthall JW. Controlled cortical impact: a new experimental brain injury model. *J Neurotrauma* 1988;5:1-15.
120. Longhi L, Saatman KE, Raghupathi R, et al. A review and rationale for the use of genetically engineered animals in the study of traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 2001;21:1241-1258.
121. Lovric-Bencic M, Sikiric P, Hanzevacki JS, et al. Doxorubicine-congestive heart failure-increased big endothelin-1 plasma concentration: reversal by amlodipine, losartan, and gastric pentadecapeptide BPC157 in rat and mouse. *J Pharmacol Sci* 2004;95:119-126.
122. Maas AI. Neuroprotective agents in traumatic brain injury. *Expert Opin Investig Drugs* 2001;10:753–767.

123. Maas AI, Dearden M, Teasdale GM, et al. EBIC Guidelines for management of severe head injury in adults. European Brain Injury Consortium, *Acta Neurochir* 1997;139:286-294.
124. Maier B, Lehnert M, Laurer HL, et al. Biphasic elevation in cerebrospinal fluid and plasma concentrations of endothelin 1 after traumatic brain injury in human patients. *Shock* 2007;27:610-4.
125. Marklund N, Bakshi A, Castelbuono DJ, et al. Evaluation of pharmacological treatment strategies in traumatic brain injury. *Curr Pharm Des* 2006;12:1645–1680.
126. Marmarou A. The pathophysiology of brain edema and elevated intracranial pressure. *Clevel Clin J Medic* 2004;71:6-8.
127. Marmarou A, Anderson RL, Ward JD, et al. Impact of ICP instability and hypotension on outcome in patients with severe head trauma. *J Neurosurg* 1991;75:59-66.
128. Marmarou A, Montasser A, Foda AE, et al. A new model of diffuse brain injury in rats. I. Pathophysiology and biomechanics. *J Neurosurg* 1994;80:291-300.
129. Marmarou A, Shima K. Comparative studies of edema produced by fluid percussion injury with lateral and central models of injury in cats. *Adv Neurol* 1990;52:233-300.
130. Maxwell WL, Graham DI. Loss of axonal microtubules and neurofilaments after stretch injury to guinea pig optic nerve fibres. *J Neurotrauma* 1997;14:603-614.
131. Maxwell WL, Kosanlavit R, McCreath BJ, et al. Freeze-fracture and cytochemical evidence for structural and functional alteration in the axolemma and myelin sheath of guinea pig nerve fibres after stretch injury. *J Neurotrauma* 1999;16:273-284.
132. Maxwell WL, Povlishock JT, Graham DI. A mechanistic analysis of nondisruptive axonal injury: a review. *J Neurotrauma* 1997;14:419-410.



133. Mayeux R, Ottman R, Tang MX, et al. Genetic susceptibility and head injury as risk factors for Alzheimer's disease among community-dwelling elderly persons and their first-degree relatives. *Ann Neurol* 1993;33:494-501.
134. McGarry LJ, Thompson D, Millham FH, et al. Outcomes and costs of acute treatment of traumatic brain injury. *J Trauma* 2002;53:1152–1159.
135. McGraw CP. A cerebral perfusion pressure greater than 80 mmHg is more beneficial, u Intracranial pressure, (ur.): Hoff JT, Betz AL. VII Berlin Springer Verlag 839-841, 1989.
136. McIntosh TK, Noble L, Andrews B, et al. Traumatic brain injury in the rat: characterization of a midline fluid-percussion model. *Cent Nerv Syst Trauma* 1987;4:119-134.
137. McIntosh TK, Vink R, Noble L, et al. Traumatic brain injury in the rat: characterization of a lateral fluid percussion model. *Neuroscience* 1989;28:233-244.
138. McIntosh TK. Calpain inhibitor AK295 attenuates motor and cognitive deficits following experimental brain injury in the rat. *Proc Nat Acad Sci USA* 1996;93:3428-3433.
139. Miller JD, Becker D. Secondary insults to the injured brain. *J Royal Coll Surgeons Edinb* 1982;27:292.
140. Monroe A. Observations on the structure and function of the nervous system, Edinburgh: Creech & Johnson. 1783.
141. Muir KW. Glutamate-based therapeutic approaches: clinical trials with NMDA antagonists. *Curr Opin Pharm* 2006;6:53–60.
142. Murai H, Pierce JES, Raghupathi R, et al. Two-fold overexpression of human  $\beta$ -amyloid precursor proteins in transgenic mice does not affect the neuromotor cognitive

- or neurodegenerative sequelae following experimental brain injury. *J Comp Neurol* 1998;392:428-438.
143. Narayan RK, Kishore PR, Becker DP, et al. Intracranial pressure: to monitor or not to monitor? A review of our experience with acute head injury. *J Neurosurg* 1982;56:650-659.
144. Narayan RK, Michel ME, Ansell B, et al. The Clinical Trials in Head Injury Study Group. Clinical trials in head injury. *J Neurotrauma* 2002;19:503–557.
145. Nell V, Brown DS. Epidemiology of traumatic brain injury in Johannesburg -II. Morbidity, mortality and etiology. *Soc Sci Med* 1991;33: 289–296.
146. Nelson LR, Auen EL, Bourke RS, et al. A new head injury model for evaluation of treatment modalities. *Neurosci Abst* 1979;5:516.
147. Novinscak T, Brcic L, Staresinic M, et al. Gastric Pentadecapeptide BPC 157 as an effective therapy for muscle crush injury in the rat. *Surg Today* 2008;38:716-725.
148. Okada H, Suh WK, Jin J, et al. Generation and characterization of Smac/DIABLO-deficient mice. *Mol Cell Biol* 2002;22:3509–3517.
149. Okuyama S, Imagawa Y, Ogawa S, et al. Effect of VA-045 on a closed head injury model in rats. *Life Sci* 1993;53:273-278.
150. Ommaya AK, Corrao P, Letcher FS. Head injury in the chimpanzee: biodynamics of traumatic unconsciousness. *J Neurosurg* 1973;39:167-177.
151. Ommaya AK, Gennarelli TA. Cerebral concussion and traumatic unconsciousness: correlation of experimental and clinical observations on blunt head injuries. *Brain* 1974;97:633-654.
152. Ommaya AK, Hirsch AE, Flamm ES, et al. Cerebral concussion in the monkey: an experimental model. *Science* 1966;153:211-212.

153. Ommaya AK, Hirsch AE. Tolerances for cerebral concussion from head impact and whiplash in primates. *J Biomech* 1971;4:13-31.
154. Oppenheim RW. Cell death during development of the nervous system. *Annu Rev Neurosci.* 1991;14:453-501.
155. Paré W, Kluczynski JM. The effect of new gastric juice peptide BPC on classic stress triad in stress procedure. *Exp Clin Gastroenterology* 1994;4:234-236.
156. Park HK, Fernandez II, Dujovny M, et al. Experimental animal models of traumatic brain injury: medical and biomechanical mechanism. *Crit Rev Neurosurg* 1999;9:44-52.
157. Park CO. The effects of methylprednisolone on prevention of brain edema after experimental moderate diffuse brain injury in rats. Comparison between dosage, injection time and treatment methods. *Yonsei Med J* 1998;39:395-403.
158. Patel HC, Menon DK, Tebbs S, et al. Specialist neurocritical care and outcome from head injury. *Intensive Care Med* 2002;28:529-531.
159. Petite JL u Flamm ES. From signs to symptoms: The neurosurgical management of head trauma from 1517 to 1867, u Greenblatt SH (ur). *A History of Neurosurgery*. Park Ridge, IL: American Association of Neurological Surgeons, 1997, str. 65-81
160. Pevec D, Novinscak T, Brcic L, et al. Impact of pentadecapeptide BPC 157 on muscle healing impaired by systemic corticosteroid application. *Med Sci Monit* 2010;16:81-88.
161. Povlishock JT, Becker DP, Cheng CLY, et al. Axonal change in minor head injury. *J Neuropathol Exp Neurol* 1983;42:225-242.
162. Povlishock JT, Becker DP, Sullivan HG, et al. Vascular permeability alterations to horseradish peroxidase in experimental brain injury. *Brain Res* 1978;153:223-239.
163. Povlishock JT, Christman CW: The pathobiology of traumatically induced axonal injury in animals and humans: a review of current thoughts. *J Neurotrauma* 1995;12: 555-564.

164. Povlishock JT, Hayes RL, Michel ME, et al. Workshop on animal models of traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 1994;11:723-732.
165. Povlishock JT, Marmarou A, McIntosh T, et al. Impact acceleration injury in the rat: evidence for focal axolemmal change and related neurofilament sidearm alteration. *J Neuropathol Exp Neurol* 1997;56:347-359.
166. Pravdenkova SV, Basnakian AG, James SJ, et al. DNA fragmentation and nuclear endonuclease activity in rat brain after severe closed head injury. *Brain Res* 1996;729:151-155.
167. Prkacin I, Aralica G, Perovic D, et al. Chronic cytoprotection: pentadecapeptide BPC 157, ranitidine and propranolol prevent, attenuate and reverse the gastric lesions appearance in chronic alcohol drinking rats. *J Physiol (Paris)* 2001;95:295-301.
168. Prkacin I, Separovic J, Aralica G, et al. Portal hypertension and liver lesions in chronically alcohol drinking rats prevented and reversed by stable gastric pentadecapeptide BPC 157 (PL-10, PLD-116), and propranolol, but not ranitidine. *J Physiol (Paris)* 2001;95:315-324.
169. Robert A, Nezamis J.E, Lancaster C, et al. Cytoprotection by prostaglandins in rats: prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, Hypertonic NaCl and thermal injury. *Gastroenterology* 1979;77:433-443.
170. Robert A. Cytoprotection by Prostaglandins. *Gastroenterology* 1979;77:761-767.
171. Robert A, Eberle D, Kaplowitz N. Role of glutathione in gastric mucosal cytoprotection. *Am J Physiol* 1984;247:296-304.
172. Roberts DL, Merrison W, MacFarlane M, et al. The inhibitor of apoptosis protein-binding domain of Smac is not essential for its proapoptotic activity. *J Cell Biol* 2001;153:221-228.

173. Roberts GW, Gentleman SM, Lynch A, et al.  $\beta$ -amyloid protein deposition in the brain after severe head injury implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994;57:419-425.
174. Rosner MJ, Daughton S. Cerebral perfusion pressure management in head injury. *J Trauma* 1990;30:933-41.
175. Rosner MJ, Rosner SD, Johnson AH. Cerebral perfusion pressure: management protocol and clinical results. *J Neurosurg* 1995;83:949-962.
176. Ross DT, Brasko J, Graham DI. Axonal injury produced by moderate lateral fluid percussion in adult rats. I. Comparison of silver staining and neurofilament labelling patterns of damaged axons. *J Neurotrauma* 1994;11:124.
177. Ross DT, Meaney DF, Sabol M, et al. Distribution of diffuse axonal injury following inertial closed head injury in miniature swine. *Exp Neurol* 1994;126:1-10.
178. Ruenzi M, Stolte M, Veljaca M, et al. Ulcerative Colitis Study Group. A multicenter, randomized, double blind, placebo-controlled phase II study of PL 14736 enema in the treatment of mild-to-moderate ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2005;128:A584.
179. Sandor Z, Vincze A, Szabo S. The protective effect of a recently isolated gastric peptide in acute and chronic gastroduodenal injury. *FASEB J* 1996;10:171.
180. Sandor Z, Vincze A, Jadus MR, et al. The protective effect of newly isolated peptide PL-10 in the iodoacetamide colitis in rats. *Gastroenterology* 1997;112:A400.
181. Sasaki M, Hashizume K, Manaka S, et al. The influences of neurotransmitters on the traumatic unconsciousness, immediate convulsion and mortality in the experimental mice model. *Brain & Nerve* 1987;39:983-990.
182. Schaser KD, Vollmar B, Menger MD, et al. In vivo analysis of microcirculation following closed soft-tissue injury. *J Orthop Res* 1999;17:678-685.

183. Schmanke T, Barth TM. Amphetamine and task-specific practice augment recovery of vibrissae-evoked forelimb placing after unilateral sensorimotor cortical injury in the rat. *J Neurotrauma* 1997;14:459-468.
184. Schmidt RH, Grady MS. Regional patterns of blood-brain barrier breakdown following central and lateral fluid percussion injury in rodents. *J Neurotrauma* 1993;10:415-430.
185. Sebecic B, Nikolic V, Sikiric P, et al. Osteogenic effect of a gastric pentadecapeptide BPC 157, on the healing of segmental bone defect in rabbits. A comparison with bone marrow and autologous cortical bone implantation. *Bone* 1999;24:195-202.
186. Seiwert S, Sikiric P, Grabarevic Z, et al. BPC 157 effect on healing. *J Physiol (Paris)* 1997;91:173-178.
187. Sekino H, Nakamura N, Kanda R, et al. Experimental head injury in monkeys using rotational acceleration impact. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 1979;20:127-136.
188. Seveljevic Jaran D, Cuzic S, Dominis Kramaric M, et al. Accelerated healing of excisional skin wound by PL 14736 in alloxan-hyperglycemic rats. *Skin Pharmacol Physiol* 2006;19:266-274.
189. Shapira Y, Shohami E, Sidi A. Experimental closed head injury in rats: mechanical pathophysiologic and neurologic properties. *Crit Care Med* 1988;16:258-265.
190. Shapira Y, Setton D, Artru AA, et al. Blood-brain barrier permeability, cerebral edema, and neurologic function after closed head injury in rats. *Anesth. Analg.* 1993;77:141-148.
191. Shaver EG, Duhaime AC, Curtis M, et al. Experimental acute subdural hematoma in infant piglets. *Pediatr Neurosurg* 1996;25:123-129.
192. Sherriff FE, Bridges LR, Gentleman SM, et al. Markers of axonal injury in post mortem human brain. *Acta Neuropath* 1994;88:433-439.

193. Shibata M, Hattori H, Sasaki T, et al. Subcellular localization of a promoter and an inhibitor of apoptosis (Smac/DIABLO and XIAP) during brain ischemia/reperfusion. *Neuroreport* 2002;13:1985–1988.
194. Shima K, Marmarou A. Evaluation of brainstem dysfunction following severe fluid percussion head injury to the cat. *J Neurosurg* 1991;74:270-277.
195. Siesjö BK. Basic Mechanisms of Traumatic Brain Damage. *Ann Emerg Med* 1993;22:959-969.
196. Siesjö BK. Pathophysiology of focal cerebral ischemia. Part II: mechanisms of damage and treatment. *J Neurosurgery* 1992;77:337-354.
197. Sikiric P, Jadrijevic S, Seiwerth S, et al. Long-lasting cytoprotection after pentadecapeptide BPC 157, ranitidine, sucralfate or cholestyramine application in reflux oesophagitis in rats. *J Physiol (Paris)* 1999;93:467-477.
198. Sikiric P, Jelovac N, Jelovac-Gjeldum A, et al. Pentadecapeptide BPC 157 attenuates chronic amphetamine-induced behavior disturbances. *Acta Pharmacol Sin* 2002;23:412-422.
199. Sikiric P, Jelovac N, Jelovac-Gjeldum A, et al. Anxiolytic effect of BPC-157, a gastric pentadecapeptide: shock probe/burying test and light/dark test. *Acta Pharmacol Sin.* 2001;22:225-230.
200. Sikiric P, Marovic A, Matoz W, et al. A behavioural study of the effect of pentadecapeptide BPC 157 in Parkinson's disease models in mice and gastric lesions induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *J Physiol (Paris)* 1999;93:505-512.
201. Sikiric P, Mazul B, Seiwerth S, et al. Pentadecapeptide BPC 157 interactions with adrenergic and dopaminergic systems in mucosal protection in stress. *Dig Dis Sci* 1997;42:661-671.

202. Sikiric P, Mikus D, Seiwert S, et al. Pentadecapeptide BPC 157, cimetidine, ranitidine, bromocriptine, and atropine effect in cysteamine lesions in totally gastrectomized rats: a model for cytoprotective studies. *Dig Dis Sci* 1997;42:1029-1037.
203. Sikiric P, Petek M, Rucman R, et al. A new gastric juice peptide, BPC. An overview of the stomach-stress-organoprotection hypothesis and beneficial effects of BPC. *J Physiol* 1993;87:313-327.
204. Sikiric P, Seiwert S, Deskovic S, et al. New model of cytoprotection/adaptive cytoprotection in rats: endogenous small irritants, antiulcer agents and indomethacin. *European J Pharmacol* 1999;364:23-31.
205. Sikiric P, Seiwert S, Grabarevic Z, et al. Cysteamine-colon and cysteamine-duodenum lesions in rats. Attenuation by gastric pentadecapeptide BPC 157, cimetidine, ranitidine, atropine, omeprazole, sulphasalazine and methylprednisolone. *J Physiol (Paris)* 2001;95:261-70.
206. Sikiric P, Seiwert S, Grabarevic Z, et al. The beneficial effect of BPC 157, a 15 amino acid peptide BPC fragment, on gastric and duodenal lesions induced by restraint stress, cysteamine and 96% ethanol in rats. A comparative study with H<sub>2</sub> receptor antagonists, dopamine promoters and gut peptides. *Life Sci* 1994;54:636-8.
207. Sikiric P, Seiwert S, Grabarevic Z, et al. The beneficial effect of a novel pentadecapeptide BPC 157 on gastric lesions induced by restraint stress, ethanol, indomethacin and capsaicin neurotoxicity. *Dig Dis Sci* 1996;41:1604-1614.
208. Sikiric P, Seiwert S, Grabarevic Z, et al. Pentadecapeptide BPC 157 positively affects both non-steroidal anti-inflammatory agent-induced gastrointestinal lesions and adjuvant arthritis in rats. *J Physiol (Paris)* 1997;91:113-22.



209. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, et al. The influence of a novel pentadecapeptide BPC 157 on N(G)-nitro-L-arginine methylester and L-arginine effect on stomach mucosal integrity and blood pressure. *European J Pharmacol* 1997;332:23-33.
210. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, et al. Hepatoprotective effect of BPC 157, a 15-amino acid peptide, on liver lesions induced by either restraint stress or bile duct and hepatic artery ligation or CCl<sub>4</sub> administration. A comparative study with dopamine agonists and somatostatin. *Life Sci* 1993;53:291-296.
211. Sikiric P, Seiwerth S, Mise S, et al. Corticosteroids-impairment healing and gastric pentadecapeptide BPC 157 creams in burned mice. *Burns* 2003;29:323-34.
212. Sikiric P, Seiwerth S, Petricevic A, et al. Pentadecapeptide BPC 157 cream improves burn-wound healing and attenuates burn-gastric lesions in mice. *Burns* 2001;27:817-827.
213. Sikiric P, Separovic J, Anic T, et al. The effect of pentadecapeptide BPC 157, H<sub>2</sub>-blockers, omeprazole and sucralfate on new vessels and new granulation tissue formation. *J Physiol (Paris)* 1999;93:479-85.
214. Sikiric P, Separovic J, Buljat G, et al. The antidepressant effect of an antiulcer pentadecapeptide BPC 157 in Porsolt's test and chronic unpredictable stress in rats. A comparison with antidepressants. *J Physiol (Paris)* 2000;94:99-104.
215. Sikiric P, Separovic J, Buljat G, et al. Gastric mucosal lesions induced by complete dopamine system failure in rats. The effects of dopamine agents, ranitidine, atropine, omeprazole and pentadecapeptide BPC 157. *J Physiol (Paris)* 2000;94:105-10.
216. Sikiric P, Seiwerth S, Aralica G, et al. Therapy effect of antiulcer agents on new chronic cysteamine colon lesion in rat. *J Physiol (Paris)* 2001;95:283-8.
217. Skorjanec S, Dolovski Z, Kocman I, et al. Therapy for unhealed gastrocutaneous fistulas in rats as a model for analogous healing of persistent skin wounds and

- persistent gastric ulcers: stable gastric pentadecapeptide BPC 157, atropine, ranitidine, and omeprazole. *Dig Dis Sci* 2009;54:46-56.
218. Smith DH, Nakamura M, McIntosh TK, et al. Brain trauma induces massive hippocampal neuron death linked to a surge in  $\beta$ -amyloid levels in mice overexpressing mutant amyloid precursor protein. *Am J Pathol* 1998;153:1005-1010.
219. Soares HD, Thomas M, Cloherty K, et al. Development of prolonged focal cerebral edema and regional cation changes following experimental brain injury in the rat. *J Neurochem* 1992;58:1845-1852.
220. Soares HD, Hicks RR, Smith D, et al. Inflammatory leukocytic recruitment and diffuse neuronal degeneration are separate pathological processes resulting from traumatic brain injury. *J Neurosci.* 1995;15:8223-33.
221. Soares HD, Sinson GP, McIntosh TK. Fetal hippocampal transplants attenuate CA3 pyramidal cell death resulting from fluid percussion brain injury in the rat. *J Neurotrauma* 1995;12:1059-1067.
222. Squire MKT, Miller ACK, Malkinson AM, et al. Calpain activation in apoptosis. *J Cell Physiol* 1994;159:229-237.
223. Srinivasula SM, Datta P, Fan XJ, et al. Molecular determinants of the caspase-promoting activity of Smac/DIABLO and its role in the death receptor pathway. *J Biol Chem* 2000;275:36152–36157.
224. Stalhammar D, Starmark JE. Assessment of responsiveness in head injury patient: the Glasgow Coma Scale and some comments on alternative methods.- *Acta Neurochir* 1986;36:91-4.
225. Stancic-Rokotov D, Sikiric P, Seiwert S, et al. Ethanol gastric lesion aggravated by lung injury in rat. Therapy effect of antiulcer agents. *J Physiol (Paris)* 2001;95:289-293.

226. Stancic-Rokotov D, Slobodnjak Z, Aralica J, et al. Lung lesions and anti-ulcer agents beneficial effect: anti-ulcer agents pentadecapeptide BPC 157, ranitidine, omeprazole and atropine ameliorate lung lesion in rats. *J Physiol (Paris)* 2001;95:303-308.
227. Staresinic M, Petrovic I, Novinscak T, et al. Effective therapy of transected quadriceps muscle in rat: gastric pentadecapeptide BPC 157. *J Orthop Res* 2006;24:1109–1117.
228. Staresinic M, Sebecic B, Jadrijevic S, et al. Gastric pentadecapeptide BPC 157 accelerates healing of transected rat Achilles tendon and in vitro stimulates tendocytes growth. *J Orthopaed Res* 2003;21:976-983.
229. Statler KD, Jenkins LW, Dixon CE, et al. The simple model versus the super model: translating experimental traumatic brain injury research to the bedside. *J Neurotrauma* 2001;18:1195-1206.
230. Sternbach G L. The Glasgow coma scale. *J Emerg Med*, 2000;19:67-71.
231. Steudel W, Cortbus F, Schwerdtfeger K. Epidemiology and prevention of fatal head injuries in Germany. Trends and the impact of the reunification. *Acta Neurochir.*2004.
232. Sullivan HG, Martinez J, Becker DP, et al. Fluid percussion model of mechanical brain injury in the cat. *J Neurosurg* 1976;45:520-534.
233. Szabo S, Usadel KH. Cytoprotection - organoprotection by somatostatin: gastric and hepatic lesions. *Experientia.* 1982;38:254-6.
234. Tang YP, Noda Y, Hasegawa T, et al. A concussive-like brain injury model in mice (II): selective neuronal loss in the cortex and hippocampus. *J Neurotrauma* 1997;14:863-873.
235. Tanno H, Nockels RP, Pitts LH, et al. Breakdown of the blood-brain barrier after fluid percussive brain injury in the rat. I. Distribution and time course of protein extravasation. *J Neurotrauma* 1992;9:21-32.

236. Teasdale G, Jennett B, Murray L, et al. Glasgow coma scale: to sum or not to sum. *Lancet* 1983;2:678.
237. Teasdale G, Jennett B. Assessment and prognosis of coma after head injury. *Acta Neurochir.* 1976;34:45-55.
238. Teasdale G, Jennett B. Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. *Lancet.* 1974;2:81-84.
239. Teasdale G, Murray G, Parker L, et al. Adding up the Glasgow Coma Scale. *Acta Neurochir Suppl* 1979;28:1 13-16.
240. Teasdale GM, Murray L. Revisiting the Glasgow Coma Scale and Coma Score. *Intensive Care Med* 2000;26:153-154.
241. Thibault LE, Meaney DF, Anderson BJ, et al. Biomechanical aspects of a fluid percussion model of brain injury. *J Neurotrauma* 1992;9:311-322.
242. Thompson HJ, Lifshitz J, Marklund N, et al. Lateral fluid percussion brain injury: a 15-year review and evaluation. *J Neurotrauma.* 2005;22:42-75.
243. Thurman D, Guerrero J. Trends in hospitalization associated with traumatic brain injury. *JAMA* 1999;282:954-957.
244. Thurman D, Alverson C, Dunn K, et al. Traumatic brain injury in the United States: a public health perspective. *J Head Trauma Rehabil* 1999;14:602-15.
245. Tkalcevic VI, Cuzic S, Brajsa K, et al. Enhancement by PL 14736 of granulation and collagen organization in healing wounds and the potential role of egr-1 expression. *Eur J Pharmacol* 2007;570:212-221.
246. Tohyama Y, Sikiric P, Diksic M. Effects of antiulcer pentadecapeptide BPC157 on regional serotonin synthesis in rat brain:  $\alpha$ -methyl-L-tryptophan autoradiographic measurements. *Life Sci* 2004;76:345-57.

247. Tolias CM, Bullock MR. Critical Appraisal of Neuroprotection Trials in Head Injury: What Have We Learned? *NeuroRx* 2004;1:71–79.
248. Tornheim PA, Linwnicz DH, Hirsch CS, et al. Acute responses to blunt head trauma. Experimental model and gross pathology. *J Neurosurg* 1983;59:431-438.
249. Urist MR. The first three decades of bone morphogenetic protein. *Osteologie* 1996;4:207-233.
250. Van den Heuvel C, Blumbergs PC, Finnie JW, et al: Upregulation of amyloid precursor protein messenger RNA in response to traumatic brain injury: an ovine head impact model. *Exp Neurol* 1999;159:441-450.
251. Van den Heuvel C, Blumbergs PC, Finnie JW, et al. Upregulation of amyloid precursor protein and its mRNA in an experimental model of pediatric head injury. *J Clin Neurosci* 2000;7:140-145.
252. Veljaca M, Chan K, Guglietta A. Digestion of h-EGF, h-TGF alpha, and BPC-15 in human gastric juice. *Gastroenterology* 1995;108:761.
253. Veljaca M, Lesch CA, Pllana R, et al. BPC-15 reduces trinitrobenzene sulfonic acid-induced colonic damage in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;272:417–422.
254. Veljača M, Pavić Sladoljev D, Mildner B, et al. Safety, tolerability and pharmacokinetics of PL 14736, a novel agent for treatment of ulcerative colitis, in healthy male volunteers. *Gut* 2003;51 (Suppl III): 309.
255. Vespa P. What is the optimal threshold for cerebral perfusion pressure following traumatic brain injury? *Neurosurg Focus* 2003;15:Article 4.
256. Vukić M, Negovetić L, Kovač D, et al. The effect of implementation of guidelines for the management of severe head injury on patient treatment and outcome. *Acta Neurochir (Wien)* 1999;141:1203-1208.

257. Wood JD. The first Nobel prize for integrated systems physiology: Ivan Petrovich Pavlov, 1904. *Physiology*. 2004;19: 326–330.
258. Xue XC, Wu YJ, Gao MT. Study of the protective effects of pentadecapeptide BPC 157 on wounds in small type pigs. *Chin New Drugs J* 2004;12:602–604.
259. Yakovlev AG, Faden AI. Mechanisms of Neural Cell Death: Implications for Development of Neuroprotective Treatment Strategies *NeuroRx*. 2004;1:5–16.
260. Yamashima T. Implication of cysteine proteases calpain, cathepsin and caspase in ischemic neuronal death of primates. *Prog Neurobiol* 2000;62: 273
- URL
261. <http://ajpgi.physiology.org/cgi/reprint/274/1/G111.pdf#search=%22Andre%20Rober%20Cytoprotection%201979%22>, 09.05.2010.
262. <http://ask.lub.lu.se/archive/00027452/01/GrandeSpringer.pdf> , 09.05.2010.
263. <http://ccforum.com/content/9/6/R670>, 05.11.2006. i 09.05.2010.
264. <http://www.caspases.org/>, 09.05.2010.
265. [http://www.cdc.gov/NCIPC/tbi/tbi\\_congress/tbi\\_congress.htm#pdf](http://www.cdc.gov/NCIPC/tbi/tbi_congress/tbi_congress.htm#pdf) 09.05.2010.
266. <http://www.emedicine.com/NEURO/topic153.htm>, 09.05.2010.
267. <http://www.emedicine.com/ped/topic929.htm> 15.11.2006. ,10.11.2006.
268. <http://www.emedicine.com/pmr/topic212.htm> 09.05.2010.
269. <http://www.employees.csbsju.edu/hjakubowski/classes/ch331/signaltrans/apoptosis.htm>, 09.05.2010.
270. <http://www.jacn.org/cgi/content/full/23/5/534S>, 09.05.2010.
271. <http://www.jneurosci.org/cgi/content/abstract/18/15/5663>, 09.05.2010.
272. <http://www.lhsc.on.ca/critcare/icu/edubriefs/cpp.html>, 11.11.2006. i 09.05.2010.
273. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=39625>, 11.11.2006. i 09.05.2010.

274. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?tool=pmcentrez&artid=5349131>  
[1.11.2006](http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?tool=pmcentrez&artid=5349131). i 09.05.2010.
275. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?tool=pmcentrez&artid=5349081>  
1.11.2006. i 09.05.2010.
276. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?tool=pmcentrez&artid=1236692>  
,11.11.2006. i 09.05.2010.
277. <http://www.trauma.org/neuro/cpp.html>, 11.11.2006., 11.07.2010.
278. <http://www.trauma.org/neuro/icp.html>, 11.11.2006. i 11.07.2010.
279. <http://www.trauma.org/neuro/icpcontrol.html#mannitol>, 11.11.2006. i 11.07.2010.
280. <http://www.trauma.org/neuro/neuroradiology.html>, 11.11.2006. i 11.07.2010.
281. <http://www.trauma.org/scores/gcs.html>, 11.11.2006. i 11.07.2010.
282. <http://www.trauma.org/scores/gos.html>, 11.11.2006. i 11.07.2010.
283. <http://www.vetpathology.org/cgi/content/abstract/39/6/679>, 11.11.2006. i 11.07.2010.
284. [http://www2.braintrauma.org/guidelines/downloads/btf\\_guidelines\\_cpp\\_u1.pdf](http://www2.braintrauma.org/guidelines/downloads/btf_guidelines_cpp_u1.pdf),  
11.11.2006. i 11.07.2010.
285. [http://www2.braintrauma.org/guidelines/downloads/btf\\_guidelines\\_management.pdf.1](http://www2.braintrauma.org/guidelines/downloads/btf_guidelines_management.pdf.1)  
[1.11.2006](http://www2.braintrauma.org/guidelines/downloads/btf_guidelines_management.pdf.1). i 11.07.2010.
286. [http://www2.braintrauma.org/news/article.php?id=64&BrainTrauma\\_Session=edef0531dbf317961a65c9767f2ea34](http://www2.braintrauma.org/news/article.php?id=64&BrainTrauma_Session=edef0531dbf317961a65c9767f2ea34), 11.11.2006. i 11.07.2010.
287. [http://www2.braintrauma.org/news/article.php?id\\_=78](http://www2.braintrauma.org/news/article.php?id_=78), 11.11.2006. i 11.07.2010.
288. [http://www.hwysafety.org/safety\\_facts/state\\_laws/helmet\\_current.htm](http://www.hwysafety.org/safety_facts/state_laws/helmet_current.htm), 21.11.2006. i  
11.07.2010.
289. <http://www.nhtsa.dot.gov/people/outreach/safesobr/18qp2/bikehelmet/>, 09.05.2010.
290. [www.aans.org/education/journal/neurosurgical/dec03/15-6-4.pdf](http://www.aans.org/education/journal/neurosurgical/dec03/15-6-4.pdf), 09.05.2010.

291. [www.aans.org/education/journal/neurosurgical/dec03/15-6-5.pdf](http://www.aans.org/education/journal/neurosurgical/dec03/15-6-5.pdf) - ICP, 21.11.2006. i 11.07.2010.
292. [www.neurosurgery.vcu.edu/resources/PART1.pdf](http://www.neurosurgery.vcu.edu/resources/PART1.pdf) Bullock, 21.11.2006. i 11.07.2010.
293. <http://dissertations.ub.rug.nl/FILES/faculties/ppsw/1997/m.v.milders/c2.pdf>, 11.05.2010.
294. <http://www.edc.pitt.edu/neurotrauma/thebook/Chap04.pdf>, 09.05.2010.
295. <http://www.edc.pitt.edu/neurotrauma/thebook/Chap21.pdf>, 09.05.2010.
296. [http://neurosurgery.ucla.edu/Diagnoses/BrainInjury/BrainInjuryDis\\_1.html](http://neurosurgery.ucla.edu/Diagnoses/BrainInjury/BrainInjuryDis_1.html), 09.05.2010.
297. [http://www.nda.ox.ac.uk/wfsa/html/u08/u08\\_013.htm](http://www.nda.ox.ac.uk/wfsa/html/u08/u08_013.htm), 09.05.2010.
298. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=1644290&blobtype=pdf>, 09.05.2010.
299. [http://www.cdc.gov/traumaticbraininjury/pdf/blue\\_book.pdf](http://www.cdc.gov/traumaticbraininjury/pdf/blue_book.pdf), 09.05.2010.
300. <http://dx.doi.org/10.1007/s00134-006-0294-3>. 11.07.2010.



## 10. Životopis

### 1. Obrazovanje

1. osmogodišnju školu i gimnaziju završio sam u Hvaru, maturom, 1972. godine.
2. diplomirao sam na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu 1977. godine., laureat „Zaklade akademika dr. Drage Perovića“ 1977. godine (zbog uspjeha u studiju).
3. pripravnički, liječnički staž i državni ispit 1979. u Splitu, djelatnost u primarnoj zdravstvenoj zaštiti u ambulantama Doma zdravlja u Splitu
4. **specijalizacija iz neurokirurgije na Klinici za neurokirurgiju, Klinikuma J. W. von Goethe Sveučilišta u Frankfurtu/M, Njemačka – mentor: prof. dr. R. Lorenz.**
5. poslijediplomski studij, područje neurobiologija, pri Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu 1996. Tema **magistarskog rada**: „Ratne kranio cerebralne ozljede“.

### 2. KBC Split

nakon nostrifikacije specijalističke diplome, odjelni liječnik specijalist od 1988. godine u Odjelu za neurokirurgiju Kirurške klinike, KB Split. Od 1995. godine voditelj odsjeka za bolesti kralježnice. Od 1997.- 2008. zamjenik voditelja Odjela za neurokirurgiju

### 3. Znanstvene i stručne udruge

„Hrvatski liječnički zbor“ (nadzorni odbor), „Hrvatska liječnička komora“. Hrvatsko neurokirurško društvo“. **The Congress of Neurological Surgeons**

### 4. Primarius od 2008.

### 5. Stalni sudski vještak na Županijskom sudu u Splitu za neurokirurgiju od 1998. g.

### 6. Znanstveni i stručni radovi

Indeksiraju se u **Current contents (CC)**

1. Radonić V, Barić D, Tudor M, et al. Gefäßverletzungen im Krieg, Der Chirurg 1995;66:883-886.
2. Tudor M. Prediction of Outcome in Patients with Missile Craniocerebral Injuries during the Croatian War. Military Medicine 1998;163:486-489.
3. Šarić D, Tudor M, Grandić L, et al. Penetrierende Kriegsverletzungen der Colorectalregion. Der Chirurg 2001;72:425-432.
4. Glunčić I, Roje Ž, Tudor M, et al. Unusual Stab Wound of the Temp. Region. CMJ 2001;42(5):579-582.
5. Tudor M, Tudor L, Tudor K I. Complications of Missile Craniocerebral injuries during the Croatian Homeland War. Military Medicine 2005.170. 5:422- 426
6. Tudor M, Jandrić I, Marović A, et. al. Traumatic brain injury in mice and pentadecapeptide BPC 157 effect. Regulatory Peptides 2010;160:26–32.

Indeksiraju se u: **neuroscience citation index/Embase/Excerpta medica/Index medicus**

7. Tudor M, Tudor L, Tudor K I. Wartime craniobasal injuries in southern Croatia. Acta Clin Croat 2005;44:125-129.
8. Tudor M, Tudor L, Tudor KI. Hans Berger (1873-1941) – povijest elektroencefalografije. Acta Med Croat 2005;59:307-313.
9. Tudor M, Tudor KI, Tudor L. Babinski, otac francuske neurokirurgije. Neurol Croat 2005;54:27-36.
10. Tudor M, Čarija R, Ledenko V, et al. The intradural thoracic disc herniation combined with spinal meningioma. Case report and review of literature. Neurol Croat 2005;54:89-96.
11. Tudor M, Tudor L, Tudor KI, et al. Walter Edward Dandy, dr. med. (1886.-1946.), pionir i velikan neurokirurgije. Neurol Croat 2007;56:25-34.
12. Tudor M, Tudor L, Tudor KI, et al. Neobična otvorena kranio cerebralna ozljeda žetelačkim srpom. Acta Med Croat 2008;62:85-88.
13. Tudor KI, Tudor M, Buča A, et al. Elektrokirurgija, temelj suvremenih dosega operacija tumora mozga - prigodom 80. obljetnice. Acta Med Croat 2008;62:33-40.
14. Tudor L, Sikirić P, Tudor KI, et al. Amuzija i afazija tvorca Bolera - utjecaj desne hemisfere na glazbu. Acta Med Croat 2008;62:309-316.

**druge baze podataka**

15. Tudor M, Tudor L, Tudor KI. George Gershwina (1899-1937) - Walter Edward Dandy M.D. Neurokirurška povezanost. Liječničke novine 2003;25:58-59.
16. Tudor M, Tudor L, Tudor KI. Komplikacije strijelnih kranio cerebralnih ozljeda tijekom Domovinskog rata. Medix 2003;46/47:39-42.
17. Tudor L, Tudor KI, Tudor M. Amuzija i afazija tvorca Bolera. Liječničke novine 2006;52:74-75.
18. Tudor KI, Tudor M, Buča A, et al. Elektrokirurgija, temelj suvremenih dosega operacija moždanih tumora, prigodom 80 obljetnice. Liječničke novine 2007;56:55-59.