



УНИВЕРЗИТЕТ У НИШУ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ



Владимир К. Рендевски

**ПРОГНОСТИЧКИ ЗНАЧАЈ
БИОХЕМИЈСКИХ, РАДИОЛОШКИХ И
КЛИНИЧКИХ ПАРАМЕТАРА ЗА РАЗВОЈ
ПЕРИФОКАЛНОГ МОЖДАНОГ ЕДЕМА И
ИСХОД КОД ПАЦИЈЕНАТА СА
ИНТРАЦЕРЕБРАЛНОМ ХЕМОРАГИЈОМ**

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

Ниш, 2018.



UNIVERSITY OF NIŠ
FACULTY OF MEDICINE



Vladimir K. Rendevski

**PROGNOSTIC VALUE OF THE
BIOCHEMICAL, RADIOLOGICAL AND
CLINICAL PARAMETERS FOR
DEVELOPMENT OF THE BRAIN
PERIFOCAL EDEMA AND THE OUTCOME
IN PATIENTS WITH INTRACEREBRAL
HEMORRHAGE**

DOCTORAL DISSERTATION

Niš, 2018.

Подаци о докторској дисертацији

Ментор: Проф. др Драган Стојанов, Редовни професор, Универзитет у Нишу, Медицински факултет

Наслов: Прогностички значај биохемијских, радиолошких и клиничких параметара за развој перифокалног možданог едема и исход код пацијената са интрацеребралном хеморагијом

Увод: У актуелној студији оцењујемо прогностичку улогу биохемијских (плазматског глутамата и TNF- α), радиолошких и клиничких параметара за развој перифокалног možданог едема и исход код пацијената са интрацеребралном хеморагијом (ИЦХ). **Методe:** Ова лонгитудинална студија укључује педесет пацијената са ИЦХ и педесет здраве контроле. Њихови периферни нивои плазматског глутамата и TNF- α су детектовани високим-осетљивим ЕЛИСА тестовима. Иницијални хематомски волумен, запремина хематома и перифокални едем након пет дана и запремина резидуалне шупљине 3 месеца након ИЦХ пажљиво су евалуирани са коришћењем компјутерске томографије (КТ); Канадска скала за možдани удар (CSS) коришћена је за процену тежине симптома при пријему и за процену тромесечног функционалног статуса и исхода након ИЦХ. **Резултати:** Открили смо високо значајне разлике у концентрацији плазматског глутамата и TNF- α између болесних пацијената и здравих, са добрим одвајањем њихове вредности. Обе биохемијске варијабле су корелирале са тежином симптома при пријему, иницијалном запремином ИЦХ при пријему, запремином ИЦХ пет дана након ИЦХ и запремином перифокалног едема. И периферни глутамат и нивои TNF- α на пријему процењени су као значајни предиктори за големине волумена перифокалног едема пет дана након ИЦХ, али се показало да самостално доприносе (без икаквог ефекта интеракције) на развој едема, без обзира на локализацију ИЦХ-а. *A priori*, анатомска локализација ИЦХ процењена је као једини сигнификантан предиктор за лоши неуролошки исход 3 месеца након ИЦХ; притом, пацијенти са дубоком ИЦХ имају 96 пута већу шансу лошег неуролошког исхода након 3 месеца. Међутим, након што је анатомска локализација ИЦХ искључена из модела, TNF- α је такође био потврђен као значајан предиктор лошег исхода. **Закључак:** Наши резултати подржавају идеју о значају глутамата и TNF- α као периферних маркера ексцитотоксичности и упале код болесника са ИЦХ. Верујемо да би развијени модели мултипле регресије за предвиђање волумена перифокалног едема и клиничког исхода могле помоћи у дилеми између конзервативног лечења и хируршке интервенције у клиничкој пракси.

Научна област:	Медицина
Научна дисциплина:	Неурохирургија
Кључне речи:	интрацеребрална хеморагија, глутамат, TNF- α , перифокални едем, клинички исход
УДК:	616.831-005.1-005.98-036 (043.3)
CERIF класификација:	B 640 неурологија, неуропсихологија, неурофизиологија
Тип лиценце Креативне заједнице:	Одабрани тип лиценце: CC BY

Data on Doctoral Dissertation

Doctoral
Supervisor:

Prof. dr Dragan Stojanov, University of Niš, Faculty of Medicine

Title:

Prognostic value of the biochemical, radiological and clinical parameters for development of the brain perifocal edema and the outcome in patients with intracerebral hemorrhage

Abstract:

Background: In the present study, we have assessed the prognostic role of the biochemical (plasma glutamate and TNF- α), radiological and clinical variables for the development of the brain perifocal edema and the outcome in patients with intracerebral hemorrhage (ICH). **Methods:** This longitudinal study includes fifty patients with ICH and fifty healthy controls. Their peripheral blood plasma glutamate and TNF- α levels were detected by high-sensitivity ELISA. The initial hematoma volume, the volume of the hematoma and perifocal edema after five days and, the volume of the residual cavity 3 months after ICH were carefully evaluated by using computer tomography (CT); the Canadian Stroke Scale (CSS) was used for estimation of the symptom severity at admission and for estimation of the 3-month functional status and outcome after ICH. **Results:** We have revealed highly significant differences in blood plasma glutamate and TNF- α levels between patients and healthy controls, with good separation of their values. The two biochemical variables correlated with the admission symptom severity, the initial volume of ICH at admission, the volume of ICH five days after ICH and the volume of the perifocal edema. Both peripheral glutamate and TNF- α levels at admission were estimated as significant predictors for the volume of perifocal edema five days after ICH, but it was shown that they independently contribute (without any effect of interaction) to the volume of the edema, regardless the localization of the ICH. *A priori*, the anatomic localization of ICH was estimated as the only significant predictor for poor neurological outcome 3 months after ICH; patients with deep ICH had 96 times higher odds for poor outcome. Nevertheless, after the anatomic localization of ICH was omitted from the model, TNF- α was also confirmed as significant predictor for poor outcome. **Conclusions:** Our results support the idea for the significance of glutamate and TNF- α as peripheral markers for excitotoxicity and inflammation in ICH patients. Moreover, we believe that the developed multiple regression models for prediction of the volume of the perifocal edema and the clinical outcome could help in the dilemma between conservative treatment and surgical intervention in the clinical practice.

Scientific Field:	Medicine
Scientific Discipline:	Neurosurgery
Key Words:	intracerebral hemorrhage, glutamate, TNF- α , perifocal edema, clinical outcome
UDC:	616.831-005.1-005.98-036 (043.3)
CERIF Classification:	B640 neurology, neuropsychology, neurophysiology
Creative Commons License Type:	Selected License Type: CC BY

*С љубављу и чашћу,
мојој породици.*

*Поседна захвалност мр Борису Алексовском и мр спец. биохем. Васку Алексовском,
за њихову велику улогу у изради биохемијских анализа и статистичку обраду
резултата ове студије.*

*Захвалност
проф. др Драгану Стојанову , проф. др Киру Стојаноском,
проф. др Наталији Баневој, асс. мр Милени Колевској
и целом особљу клинике за неурохирургију и неурологију.*

САДРЖАЈ

1. Увод	14
1.1. Дефиниција	14
1.2. Епидемиологија	14
1.3. Класификација	15
1.4. Фактори ризика	16
1.5. Патофизиологија	17
1.5.1. Патофизиологија глутамата и његова улога у цереброваскуларном инсулту	18
1.5.1.1. Историјат и дефиниција ексцитотоксичности	18
1.5.1.2. Улога и дејство на ЦНС-а	19
1.5.2. Улога TNF-α као проинфламаторног медијатора у развоју секундарних повреда након ИЦХ	20
1.6. Клиничка слика	23
1.7. Дијагноза	24
1.8. Лечење	24
1.8.1. Конзервативно лечење	24
1.8.2. Хируршко лечење	24
1.9. Мотив	25
1.10. Циљеви	27
2. Материјал и методе	29
2.1. Критеријуми за укључивање пацијената у студију	29
2.2. Материјал	30
2.3. Методе	30
2.3.1. Биохемијске методе: процедура за одређивање концентрације глукозе, глутамата и TNF-α у плазми	30
2.3.2. Радиолошке методе: поступци за одређивање анатомске локализације, хемисферне стране, волумена интрацеребралног хематома, едема и резидуалне шупљине	31
2.3.3. Клиничке методе: поступци за одређивање неуролошког статуса	33
2.4. Протокол рада	33

2.5. Обезбеђивање сагласности за укључивање у студије	35
2.6. Статистичка обрада	35
3. Резултати	37
3.1. Базичне демографске карактеристике пацијената (пол, узраст) и анатомске карактеристике хематома (анатомска локализација и хемисферна страна у којој је настала ИЦХ)	37
3.1.1. Полна структура	37
3.1.2. Етничка структура	37
3.1.3. Старосна структура	38
3.1.4. Анатомска локализација хематома	39
3.1.5. Хемисферна страна у којој је настала ИЦХ	40
3.2. Одређивање концентрације глутамата у плазми код пацијената са ИЦХ и контролна група здравих испитаника	41
3.3. Евалуације ефекта пола, узраста, анатомске локализације ИЦХ и хемисферне стране на концентрацији глутамата код пацијената са ИЦХ	42
3.4. Одређивање радиолошких варијабли (иницијални волумен хематома при пријему, волумен ИЦХ након 5 дана, волумен перифокалног едема након 5 дана, волумен резидуалне шупљине након 3 месеца)	46
3.5. Одређивање клиничких варијабли, неуролошки статус на пријему и након 3 месеца од настанка интрацеребралног крварења	47
3.6. Корелације између концентрације глутамата у плазми на пријему са радиолошким и клиничким варијаблима код пацијената са ИЦХ	48
3.6.1. Графички приказ зависности између концентрације глутамата у плазми са радиолошких и клиничких варијабли	49
3.7. Одређивање концентрације TNF- α у плазми код болесника са ИЦХ и контролне групе здравих испитаника	54
3.8. Евалуације ефекта пола, узраста, анатомске локализације ИЦХ и хемисферне стране на концентрацији TNF- α код пацијената са ИЦХ	56

3.9. Корелације између концентрације TNF-α у плазми при пријему са радиолошким варијаблама код болесника са ИЦХ	60
3.10. Корелација између концентрације TNF-α у плазми при пријему са клиничким варијаблама код болесника са ИЦХ	64
3.11. Корелација између концентрације глутамата и TNF-α на пријему код пацијената са ИЦХ	66
3.12. Утицај демографских, биохемијских, радиолошких и клиничких варијабли на клинички исход после 3 месеца од настанка ИЦХ	67
3.13. Мултипла регресиона анализа за процену варијабли које утичу на развој запремине перифокалног едема код пацијената са ИЦХ	74
3.13.1. Утицај концентрације TNF-α при пријему као предиктора за развој запремине перифокалног едема после 5 дана	75
3.13.2. Утицај концентрације TNF-α и глутамата при пријему као фактор ризика за развој запремине перифокалног едема после 5 дана	76
3.13.3. Утицај концентрације глутамата, TNF-α, артеријског крвног притиска, нивоа шећера у крви и запремина ИЦХ при пријему на запремину перифокалног едема (5 дана)	77
3.14. Интеракција између концентрација глутамата и TNF-α у развоју перифокалног едема 5 дана после ИЦХ	79
4. Дискусија	81
5. Закључци	88
6. Литература	94
Прилог 1	107
Прилог 2	110
Прилог 3	111
Биографија	112

Скраћенице

ИЦХ		- интрацеребрална хеморагија
АРОЕ	- Apolipoprotein E	- аполипопротеин Е
ММП	- Matrix metalloproteinase	- матрикс металопротеиназа
IL	-interleukin	- интерлеукин
TNF- α	- Tumor necrosis factor α	- тумор некротични фактор α
ЦНС		- централни нервни систем
PLC	- Phospholipase C	- фосфолипаза Ц
АЛС		- амиотрофична латерална склероза
GCS	- Glasgow Coma Scale	- Глазговска кома скала
STICH	- Surgical treatment of intracerebral hemorrhage	
ELISA	- enzyme-linked immunosorbent assay	
КТ		- компјутеризована томографија
CSS	- Canadian Stroke Scale	- Канадска скала за мождани удар
CV	- coefficient of variation	- коефицијент варијације
IQR	- interquartile range	- интерквартилна разлика
OR	- odds ratio	- количник шанси
CI	- confidence interval	- интервал поверења

1. Увод

1.1. Дефиниција

Спонтана интрацеребрална хеморагија (ИЦХ) је цереброваскуларна болест која настаје руптуром мождане артерије и последичним изливањем крви у околни мождани паренхим [1], [2].

1.2. Епидемиологија

Интрацеребралне хеморагије (ИЦХ) обухватају 10-15% од укупног броја можданих удара [3]. То је посебно тежак тип можданог удара који је повезан са горим неуролошким исходом у поређењу са исхемичним можданим ударом, са стопом морталитета 37-52% након 1 месеца од појаве ИЦХ [4]. 74% преживелих остају функционално зависни током 12 месеци након удара [5]. Ове стопе смртности нису се промениле у последњих 20 година [6].

Тренутно, инциденца ИЦХ је 24,6 на 100 000 особа годишње [5], али се очекује да ће се инциденца удвостручити до 2050. године [7] због повећања коришћења антикоагуланса [8]. Према последњим подацима, годишња инциденца ИЦХ у САД је 15-35 болесних на 100 000 становника. У погледу разлика у инциденци ИЦХ у различитим регионима, Јапан има највећу инциденцу од 2,87 пацијената на 1000 становника. Епидемиолошке студије из Сједињених Америчких Држава од 2000. године, извештавају месечне стопе смртности од 30-40% [2]. Преваленца ИЦХ је 3,75 до 7,5/1000 становника [9]. У погледу расне заступљености, чешћа је међу црним Афроамериканцима, а у односу на старосне групе, најугроженије су особе старије од 50 година. Према заступљености полова доминирају мушкарци у односу на жене [10], [11].

У Македонији, подаци указују на инциденцу од око 45 пацијената/100 000 становника годишње [12]. Према епидемиолошким студијама спроведеним у Македонији, годишња стопа смртности ИЦХ износи 11,4 - 11,6% [13].

Тридесетодневни морталитет је у корелацији са величином и локализацијом интрацеребралног крварења [14], [15]. Интрацеребралне хеморагије са дубоком локализацијом имају већу стопу смртности у поређењу са лобарном. У групи пацијената са ИЦХ и запремине хематома веће од 60 cm³, стопа морталитета је била већа код оних са дубоком локализацијом (93%), у поређењу са лобарном локализацијом (71%) [16]. Код пацијената са запремином хематома између 30 и 60 cm³, морталитет је био 64% за дубоку, 60% за лобарну и 75% за церебеларном локализацијом [16]. Пацијенти са запремином хематома мањим од 30 cm³, стопа смртности је 23% за дубоку, на супрот 7% за лобарну локализацију хематома и 57% за хематоме са церебеларном презентацијом [16].

Из тих разлога, проучавање патофизиолошких и биохемијских механизма, који су укључени у оштећење мозга након ИЦХ је важно, како са базичног, фундаменталног аспекта, тако и са аспекта апликације.

1.3. Класификација

Што се тиче узрока настанка крварења ИЦХ се класификује као:

- примарна
- секундарна.

Примарна ИЦХ је много чешћа и јавља се у 70-90% случајева свих ИЦХ [2].

Постоје два основна типа примарне ИЦХ:

- хипертензивни тип
- нехипертензивни тип.

Хипертензивни тип примарних ИЦХ чини 60% примарних ИЦХ и последица је руптуре крвног суда промењеног липохијалина, у присуству артеријске хипертензије [7].

Нехипертензивни тип примарних ИЦХ чини око 20% примарних ИЦХ, а настаје као резултат руптуре крвних судова оштећених амилоидном ангиопатијом, односно депозитима β-амилоидног протеина у крвним судовима церебралног кортекса и лептоменинга [17]. Чешће се јавља код старије популације, а у корелацији је са варијацијама гена одговорног за синтезу аполипопротеина Е, АРОЕ-ε4 и АРОЕ-ε2, локализованом на хромозому 19. Овај механизам оштећења често је повезан са појавом лобарне ИЦХ [18], [19].

Секундарна ИЦХ јавља се у мање случајева, 12-22%, а у асоцијацији је са васкуларним абнормалностима (артерио-венским малформацијама и анеуризмима), туморима или поремећајима коагулације [20] [21], [22], [23], [24], [25], [26].

У погледу локализације, ИЦХ се дели на:

- супратенторијалне и
- инфратенторијалне.

Супратенторијална ИЦХ је чешћа и то 85% од укупног броја [27]. Према месту настанка подељене су на:

- дубоке (у субкортикалним сивим језгрима), заступљене у око 36-69% од укупног броја ИЦХ;
- лобарне (у белој маси хемисфера), заступљене око 15-32% од укупног броја.

Од **инфратенторијалних ИЦХ**, најзаступљенија је церебеларна, са 7-11%, а онда трункална крварења, са учесталосту 4-9% од укупног броја ИЦХ [28].

1.4. Фактори ризика

Хипертензија је најважнији фактор ризика за спонтану ИЦХ [22]. Заступљена је у чак 72-81% од укупног броја пацијената са ИЦХ [29] и има посебан утицај на појаву дубоких хеморагија [30].

Ризик је посебно повећан код особа које не примају антихипертензивну терапију на одговарајући начин и редовно, код особа старијих од 55 година или код пушача [31], [32].

Редовно праћење и контрола хипертензије смањује инциденцу настанка ИЦХ [33]. Експесивно коришћење алкохола исто тако повећава ризик од ИЦХ ремећењем коагулационих процеса и директно се одражава на интегритет церебралних крвних судова [34], [35].

Други фактори ризика који исто тако утичу на појаву ИЦХ су: ниво серумског холестерола преко 4,1 mmol/L (посебно код пацијената са хипертензијом), генетски фактори одговорни су за фактор XIII (одговоран за стварање фибрина), као и употреба антикоагулантне или тромболитичке терапије [36], [37], [38].

1.5. Патофизиологија

ИЦХ најчешће настаје у церебралним лобусима, базалним ганглијама, таламусу, možданом стаблу (предоминантно у понсу) и у церебелуму. Објављени резултати једне студије у којој је укључено 109 пацијената са ИЦХ, показује лобарну локализацију крварења код 43 пацијената (39%), дубоко таламичку локализацију код 50 пацијената (46%) и церебеларну презентацију и у možданом стаблу код 14 пацијената (13%) [39].

Дегенеративне промене у зиду крвних судова индуковане су хроничном хипертензијом, а преко механизма редукције комплијансе повећана је вероватноћа спонтане руптуре. У 1868. години, Charcot и Bouchard износе податак повезаности крварења са руптуром на месту дилатације суда на малим артериолама (микроанеуризме). Електрон-микроскопске студије сугеришу да већина крварења настаје у близини бифуркације измењене артерије, где се може забележити изражена дегенерација медија и глатких мишића крвног суда [40], [41], [42].

Након екстравазације крви и формирања хематома, започиње процес развијања едема и лезија у околини možданог паренхима. Флуид почиње да се накупља одједном у региону хематома, а едем обично перзистира око 5 дана, иако је доказано да се задржава и до две недеље након možданог удара [43], [44]. Ранији едем који окружује хематом настаје ослобађањем и накупљањем осмотски активних серумских протеина крвног коагулума [45]. Вазогени и цитотоксични едем сукцесивно се појављују након нарушавања крвно-мождане баријере, оштећења натријумове пумпе и изумирања неурона [46], [47].

Процес нарушавања крвно-мождане баријере и развој церебралног едема после ИЦХ, сугерише на могуће присуство секундарних медијатора за неуронске лезије и едем. Претходно се сматрало да церебрална исхемија настаје због механичке компресије региона који окружује хематом (mass effect) [48], [49], но поновне студије на животињама и човеку нису потврдиле то [50], [51]. Тренутно се сматра да продукти крви и плазме посредују већину секундарних процеса који настају после ИЦХ [52], [53], [54], [55], [56], [57], [58].

Широм света постоји више студија које актуелизирају повезаност серумских маркера са секундарним можданим оштећењем после ИЦХ, и на тај начин њихов утицај на клинички исход или прогнозу овог веома често патолошког ентитета.

У Македонији, у 2004. години, објављена је научна студија која истиче улогу и повезаност екскретованих леукотријена урином са појавом едема мозга, са највећим пиком 5 дана након ИЦХ [59]. У другим студијама у Македонији (2010), обрађују се и приказују матрикс-металопротеиназе (ММР), као деградациони ензими у серуму, односно повезаност ММР-9 са едемом након ИЦХ, и ММР-3 са ризиком од смрти код пацијената са ИЦХ [60], [61]. Други серумски маркери који су доказани у патогенези ИЦХ и последичној појави можданог едема су интерлеукин-6 (IL-6) и тумор некротички фактор- α (TNF- α) [62]. Глутамат је важан ексцитаторни неуротрансмитер у ЦНС-у, који такође игра важну улогу у развоју патофизиолошких догађаја који се дешавају након настанка интрацеребралног крварења.

У нашој земљи до сада није испитивано директно дејство и улога глутамата и TNF- α код пацијената са ИЦХ, па то представља један од главних мотива овог научног рада.

1.5.1. Патофизиологија глутамата и његова улога у цереброваскуларном инсульту

1.5.1.1 Историјат и дефиниција ексцитотоксичности

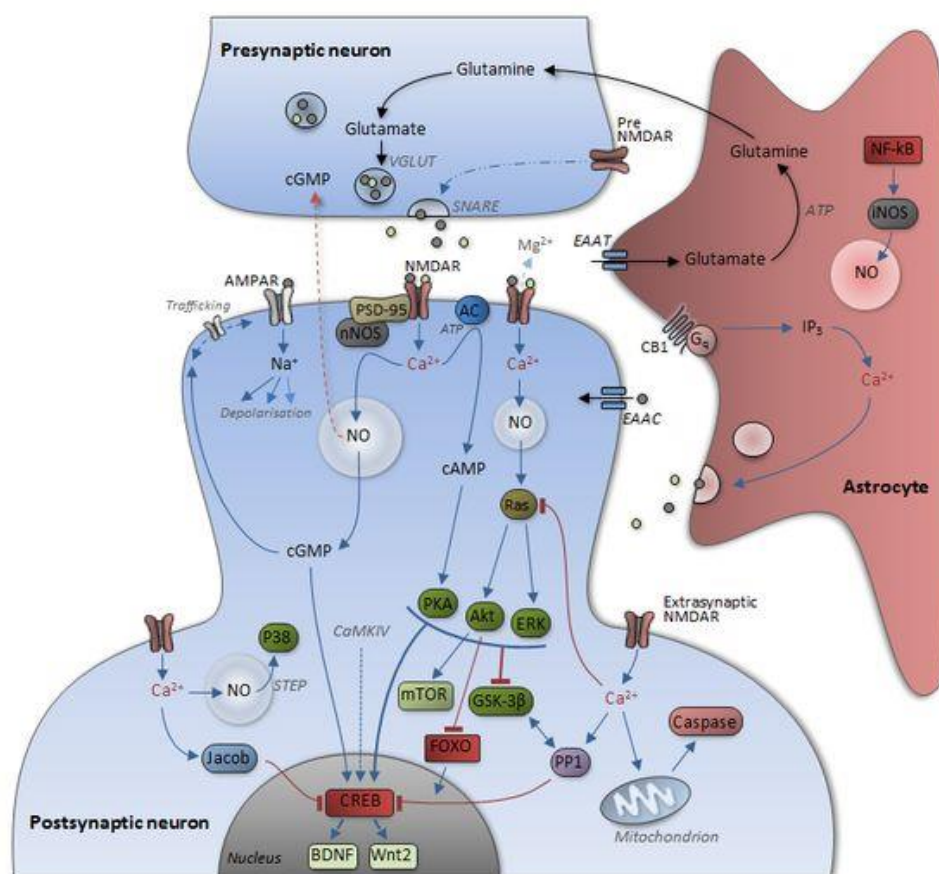
Штетно дејство глутамата на ЦНС први пут је забележено у 1954. од стране Т. Hayashi, јапанског научника који је детектовао појаву моторне одузетости, као резултат директног дејства глутамата на ЦНС. Овај извештај прошао је непримећено неколико година све до 1957., када је токсичност глутамата поново истакнута од стране D. R. Lucas и J. P. Newhouse. Они су то доказали применом субкутаног убризгавања мононатријум глутамата у новорођеним мишевима, и последично је утврђено уништење неурона у унутрашњим слојевима мрежњаче [63].

Касније, 1969. године, John Olney је утврдио да оштећење није ограничено само на мрежњачу, већ и на друге делове ЦНС, и тада је увео термин *ексцитотоксичност*. Он је такође оценио да је ћелијска смрт ограничена на постсинаптичке неуроне који имају рецепторе за активације од стране агониста глутамата, а спречавање оштећења може настати блокадом поменутих агониста [64].

1.5.1.2. Улога и дејство на ЦНС-а

Екситотоксичност је патолошки процес кроз који се нервне ћелије оштећују и уништавају због прекомерне стимулације од стране неуротрансмитера, као што је глутамат и сличне супстанце.

Патофизиолошки настаје прекомерна активација рецептора глутамата у ЦНС-у, (NMDA и AMPA рецептора) као резултат повишеног нивоа глутамата, и следствено томе активација механизма ексесивног преузимања јона калцијума (Ca^{2+}) у ћелију [65]. Последњи, заузврат, активира низом интраћелијских ензима, попут фосфолипазе (PLC), ендонуклеазе, протеазе и др, које секундарно врше оштећење ћелијске структуре (компоненте цитоскелета, ћелијске мембране и ДНК, слика 1).



Слика 1. Механизми на глутамат-индукована неуротоксичност (преузето из <https://www.pinterest.co.uk/pin/123497214753328093/>)

Глутамат као екситаторни неуротрансмитер има важну улогу у патогенези церебралне исхемије [66]. Потврда за наведене корелације су експериментална испитивања, у којима су апликовани лекови антагонисти глутамата, где настаје смањење волумена инфарктне регије. Корисност антагониста глутамата се базира на

хипотези да ексцитотоксичност перзистира у најмањој мери барем неколико сати након појаве можданог удара [67].

Повишени нивои глутамата и следствени ексцитотоксични ефекат на ЦНС, осим у исхемичним цереброваскуларним инсултима детектован је и у другим патолошким стањима, као што су: трауматске повреде мозга и кичмене мождине, стања губитка слуха услед изложености прекомерној буци или ототоксичности при неуродегенеративним болестима ЦНС-а (мултипла склероза, Алцхајмерова болест, амиотрофична латерална склероза (АЛС), Хантингтонова и Паркинсонова болест) [68], [69]. Друга стања која узрокују повишење нивоа глутамата у ЦНС-у су и алкохолизам, хипогликемија и епилептични статус [70], [71].

Посебно је важно нагласити да, за разлику од церебралне исхемије и трауматске повреде мозга где глутамат-индукована ексцитотоксичност игра главну улогу у покретању ћелијске смрти, допринос ексцитотоксичности у развоју мождане повреде након ИЦХ нису још јасно дефинисани [72]. Прва сазнања повишеног екстрацелуларног нивоа глутамата у ИЦХ добијена су коришћењем технике на *in vivo* микродијализи мозга на експерименталним животињама са узрокованом ИЦХ. Наиме, детектовано је четвороструко повећање глутамата ипсилатерално од хематома 30 мин. након ИЦХ, и ови нивои су остали повишени наредних 5 сати [73]. Повишени нивои глутамата су детектовани у перихематомном региону код пацијената са дубоком ИЦХ [74] и указују да ексцитотоксичност доприноси секундарном можданом оштећењу при ИЦХ. Међутим, допринос ексцитотоксичности глутамата и интеракција са осталим механизмима можданог оштећења, посебно инфламаторни процеси, остаје да се истражи.

1.5.2. Улога TNF- α као проинфламаторног медијатора у развоју секундарних повреда након ИЦХ

У последњих неколико година, фокус интересовања око превенције лошег исхода постепено се променио од акутне фазе, на постхеморагијске фазе, гдје бројни литературни налази указују на чињеницу да секундарно оштећење након ИЦХ генерално је карактерисано инфламаторним механизмима и развојем перихематомног едема [75], [76], [77]. Све ове студије потврђују активирање инфламаторне каскаде након развоја ИЦХ, откривене преко повишеног нивоа проинфламаторних маркера

(интерлеукини, тумор некрозни фактор- α (TNF- α)) након хеморагије. Међу њима, постепено TNF- α заузима позицију једног од главних конституената овог процеса [78], посебно зато што је показано да TNF- α учествује у експресији проинфламаторних цитокина индукованих од ИЦХ [8], [75].

Хипотеза за TNF- α посредовани инфламаторни механизми при развоју секундарних повреда након ИЦХ поткрепљена је развојем неколико модела за ИЦХ код експерименталних животиња. Први модел, тзв. „колагеназни модел“, укључује убризгавање колагеназа у стријатум експерименталних пацова и мишева. Након инјекције, настаје дигестија зида крвног суда што доводи до хеморагије [79]. Други модел пак укључује убризгавање аутологне крви у стријатум експерименталних животиња [80]. Наиме, овакве студије са ИЦХ моделима пацова показују рапидно повећање мождане концентрације TNF- α одмах након индукције хематома [81], [82], тачније његова експресија 2 сата након хеморагије.

Величина овог пораста у концентрацији очигледно је један од најинхерентнијих механизма који диктира степен цитокином посредовану постхеморагичну инфламацију и развој секундарне повреде. С друге стране, неколико научних студија указују да повећана експресија TNF- α придружена развоју хематома је повезана са повећаним перифокалним едемом [82], док пак инхибиција TNF- α зауставља напредак и формирање едема и тиме побољшава исход [82]. Показано је и да антисенс олигодеоксинуклеотидна инхибиција TNF- α , узрокује редукцију оштећења мозга након ИЦХ код пацова [83]. Употреба антагониста рецептора TNF- α (R-7050), такође побољшава исход у моделу ИЦХ код мишева [84].

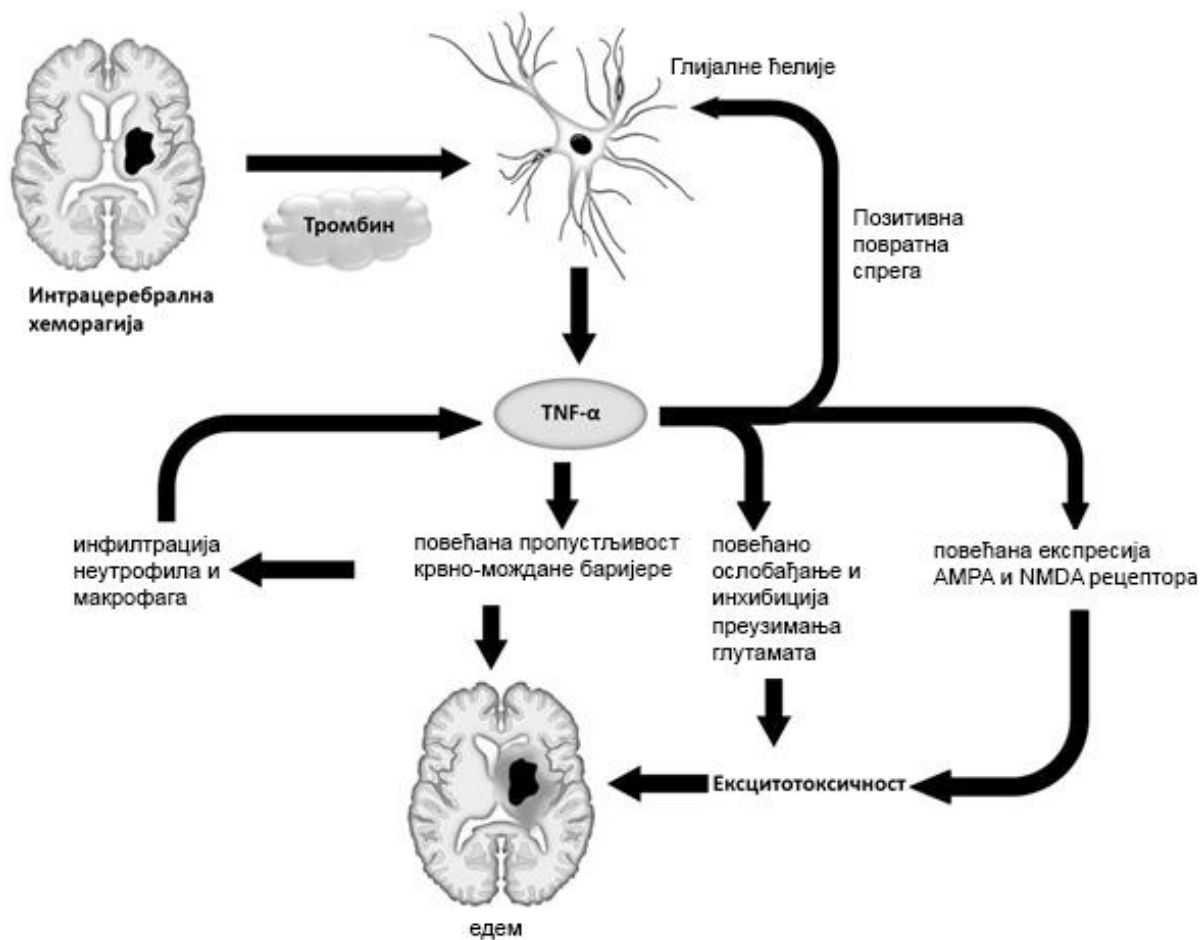
Међутим, иако су ови налази потврђени у неколико ИЦХ модела код пацова, само неколико клиничких студија објективно су имале за циљ да прате ефекте TNF- α на постхеморагичну прогресију оштећења мозга код пацијената са ИЦХ. Тако, на пример, студије Yang-а и Sao-а (2016) [85] показују значајно већи пик концентрације TNF- α код пацијената три дана након ИЦХ, у односу на контролну групу. Очигледно, брз пораст концентрације TNF- α је карактеристичан и за хуману популацију након ИЦХ. Поред тога, исти аутори Yang и Sao (2016) [85], детектују да пацијенти са већим интензитетом симптома показују тренд високих вредности IL-11, TNF- α и VEGF при пријему, сугеришући да су ови маркери укључени у патофизиологију хипертензивних ИЦХ и прогнозе лошег неуролошког исхода. Слично, Castillo et al. (2002) [86] указује

на то да серумски нивои TNF- α представљају једини цитокин који сигнификантно утиче на волумен перифокалног едема, сугеришући да ексцитотоксичност и инфламација заједно доприносе секундарном оштећењу мозга након ИЦХ. Међутим, ови налази су у предклиничкој фази и робустна клиничка студија која би потврдила TNF- α као маркер секундарних повреда још је у току, што представља изазов за даља испитивања.

Постоји велики основ који подржава теорију укључивања TNF- α у развој перифокалног едема. У мозгу, TNF- α се синтетизује од ћелија микроглије и астроцита, док се рецептори TNF- α налазе на глиалним ћелијама и неуронима. Иако TNF- α има неуромодуларне способности у здравом мозгу, његова функција у мозгу након ИЦХ-а је очигледно неуротоксична и детриментална [28]. Један од чинилаца који доводи до повећања можданог нивоа TNF- α након ИЦХ, је продукција тромбина за време формирања хематома [87], [82], а тромбин директно стимулише продукцију TNF- α . Повишење нивоа TNF- α изазива активацију микроглијалних ћелија и астроцита након повреде (које имају рецепторе за исти), регулацију пермеабилности крвно-мождане баријере, глутаминергичку трансмисију и синаптичку пластичност [28]. Након мождане повреде код експерименталних животиња, детектовани су повишени нивои TNF- α у суседном ткиву до места повреде која преко повишене пермеабилности крвно-мождане баријере доприноси развоју едема. Поред тога, TNF- α повећава ексцитаторну синаптичку трансмисију преко повишене експресије рецептора АМРА и редукује инхибиторну трансмисију, на овај начин изазивајући ексцитотоксичност [78]. Укратко, постоје рационални претклинички докази да повећана концентрација TNF- α има детрименталне ефекте на мозак након ИЦХ (слика 2).

На основу предложеног модела, TNF- α изазива додатно ослобађање глутамата од синаптозома, као и инхибицију поновног преузимања глутамата из синаптичке шупљине назад на пресинаптични неурон, узрокујући ексцитотоксичност.

На основу овога, постоји вероватноћа за значајан ефекат интеракције између ексцитотоксичности и инфламаторних механизма у развоју секундарне повреде, али до сада нема студија које испитују овај ефекат интеракције (да ли је адитиван, синергистички, антагонистички, итд).



Слика 2. Шематски приказ физиолошких процеса преко којих повећана концентрација TNF- α доприноси формирању едема након интрацеребралне хеморагије (преузето од Behrouz, 2016 [78])

1.6. Клиничка слика

Клиничка слика код пацијената са ИЦХ обухвата:

- неспецифични знаци и симптоми који су резултат повишеног интракранијалног притиска (главобоља и повраћање, алтерација нивоа свесности) [88], [89], [90] и
- специфични знаци и симптоми (односно фокални неуролошки дефицити, који су резултат локалног ефекта хематома на околно možдано ткиво).

Са погледом на **неспецифичне знаке**, може се истаћи да пацијенти са већим хематомом обично имају низак ниво свесности [91] као резултат високог интракранијалног притиска (mass effect) и директне компресије или дисторзије активационог система таламуса и možданог стабла [92].

Фокални невролошки дефицити су зависни од локализације интрацеребралног хематома [93], [94].

1.7. Дијагноза

Дијагноза ИЦХ се поставља на основу:

- детаљне анамнезе;
- соматског и невролошког прегледа;
- неурорадиолошких испитивања: компјутеризована томографија (КТ), нуклеарна магнетна резонанца (НМР), а при сумњи на анеуризму или артериовенску малформацију (АВМ) и КТ ангиографије [12].

1.8. Лечење

Методe лечења ИЦХ су подељене на две категорије:

- конзервативна
- хируршка.

1.8.1. Конзервативно лечење

Конзервативно лечење укључује симптоматску терапију за присутне ризичне факторе, коморбидитете и компликације поред унапред утврђених упутстава за лечење ИЦХ, базираних на медицини заснованој на доказима (evidence based medicine) [95], [3].

1.8.2. Хируршко лечење

Хируршко лечење ИЦХ укључује више метода, које имају за циљ смањење волумена хематома и смањење повишеног интракранијалног притиска. У зависности од локализације хематома, његовог волумена, околног притиска према суседним можданим структурама, узимају се следећи кораци: краниотомија, декомпресивна кранијектомија, стереотактична аспирација, ендоскопска и катетерска аспирација хематома [96], [97].

Корист евакуације хематома из базалних ганглија, таламуса и понса преко отворене краниотомије је непотпуно ефикасна, због неуронске лезије која настаје за

време приступа хематому и због поновног крварења као резултат губитка ефекта тампонаде према околном ткиву.

Церебеларни хематоми су јединствени са хирушке перспективе, јер се њима може приступити без изазивања значајног оштећења виших кортикалних или примарних моторних путева. Морбидитет и морталитет су повезани са компресијом на мождано стабло и њихова стопа се смањује са правовремено спроведеном декомпресијом [94], [98].

Најбоље хирушке резултате имају пацијенти са церебеларном хеморагијом који имају иницијални скор према GCS (Glasgow Coma Scale) од 14 или мање, или хематом са волуменом од 40 mL или више [99].

1.9.Мотив

Прогноза ИЦХ је често непредвидива и није у потпуности зависна од волумена хеморагије. То захтева потребу да се обрати пажња и на друге потенцијалне факторе који играју важну улогу у патогенези ИЦХ и секундарних можданих повреда након ИЦХ.

Познато је да се највеће неуролошко погоршање јавља због формирања перифокалног едема, доказано значајан предиктор лошег неуролошког исхода, код пацијената са ИЦХ [100]. Постоји дугогодишња дилема да ли пацијенте треба третирати конзервативном терапијом или хируршком интервенцијом [101].

Једна велика мултицентрична, рандомизирана и контролна студија која је обрадила ову проблематику била је STICH (Surgical treatment of intracerebral hemorrhage), у којој је било укључено 1033 пацијената са ИЦХ из 83 земаља, у периоду од 2000-2003. године, а део ове студије била је и Универзитетска клиника за неурохирургију – Скопље. Један од главних закључака студије је да ранији хируршки третман нема значајне предности у односу на иницијално конзервативно лечење [102], [103].

Из ових разлога, потрага за молекуларним маркером који може да предвиди формирање едема и клинички исход пацијента је велики изазов, јер ови пацијенти унапред могу да буду третирани силном антиедематозном терапијом или раном краниотомијом, на тај начин спречавајући лош исход.

Бројни научни радови указују на ефекат инфламаторних и екситотоксичних механизма са секундарним оштећењем код модела експерименталних животиња са

ИЦХ, но детаљна истраживања, у клиничким студијама која би евалуирала њихов ефекат, недостају.

С обзиром на то да директно праћење маркера инфламације и ексцитотоксичност у мозгу је инвазивно, наглашава се важност евакуације њихових предиктивних моћи у развоју перифокалног едема и лошег исхода после ИЦХ у периферној крви.

Повећана пропустљивост крвно-моздане баријере након ИЦХ-а истакнута је од стране неколико аутора [87], [104], што доводи до хипотезе да ексцитотоксични и проинфламаторни медијатори могу да прођу из мозга у крв и да буду детектовани и периферно. Чињеница да нивои глутамата у плазми код пацијената са исхемичним мозданим ударом могу осликавати ослобађање нивоа глутамата у мозданом ткиву [105], потврђују ову хипотезу. Castillo et al. (2002) [86], извештава да серумски ниво TNF- α представља јединствен цитокин који сигнификантно утиче на волумен перифокалног едема, сугеришући да ексцитотоксичност и инфламација заједно доприносе секундарном оштећењу мозга након ИЦХ. У претходним студијама у овој области, интеракција између ова два маркера на формирање волумена перифокалног едема, и исход након три месеца, није била истражена, као и потенцијални ефекти хемисферних страна и анатомских локализација ИЦХ. Ова сазнања представљају главни изазов за наше студије.

Сумарно, постоји мали број клиничких студија које проучавају улогу глутамата и TNF- α као маркере ексцитотоксичности и инфламације у настајању ИЦХ, секундарне моздане лезије и следствено, клиничког исхода. Разјашњење овог важног проблема је основни мотив ове студије. Верујемо да ће то проспективно отворити нове могућности у третману ИЦХ, а уједно ће и допринети правовременом упућивању ових акутно болесних пацијената на конзервативно или хируршко лечење, што је честа дилема за тим неурохирурга/неуролога, у првим часовима постављања дијагнозе.

Поред тога, одређивањем референтних вредности плазматског глутамата помоћу enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) методе, уједно би се поставила и нова референтна лабораторија у Македонији за испитивање овог важног неуротрансмитера, што би представљало и основу за друге компаративне студије које ће проучавати овај проблем.

1.10. Циљеви

На основу образложених изазова и мотива, у овој студији поставили смо следеће циљеве:

1) Одређивање на :

- основне демографске карактеристике испитаника (пол, узраст, етничка структура);
- анатомске карактеристике хематома (анатомске локализације: базалне ганглије/лобарна и хемисферне стране: лева/десна хемисфера);
- биохемијске варијабле: концентрације глутамата у плазми код пацијената са ИЦХ и контролне групе здравих испитаника као и поређење просечних вредности између две групе;
- ефекта: пола, узраста, анатомске локализације ИЦХ и хемисферне стране на концентрације глутамата код пацијената са ИЦХ;
- биохемијске варијабле: концентрације TNF- α у плазми код пацијената са ИЦХ и контролне групе здравих испитаника као и поређење вредности између две групе;
- ефекта: пола, узраста, анатомске локализације ИЦХ и хемисферне стране на концентрације TNF- α код пацијената са ИЦХ;
- радиолошке варијабле: иницијални волумен хематома при пријему, волумен хематома и перифокалног можданог едема након 4-5 дана и волумен резидуалне шупљине након 3 месеца \pm 2 недеље након настанка ИЦХ;
- клиничке варијабле: неуролошки статус при пријему и након 3 месеца \pm 2 недеље од настанка ИЦХ;

2) Постављање међусобне корелације између вредности глутамата у плазми код пацијената са ИЦХ са:

- радиолошким варијаблама (иницијални волумен хематома при пријему, волумен хематома и перифокалног можданог едема након 4-5 дана и волумен резидуалне шупљине након 3 месеца \pm 2 недеље од настанка ИЦХ);
- клиничке варијабле (тежина неуролошког дефицита на пријему и након 3 месеца);

3) Постављање међусобне корелације између вредности TNF- α у плазми код пацијената са ИЦХ са:

- радиолошким варијаблама (иницијални волумен хематома при пријему, волумен хематома и перифокалног možданог едема након 4-5 дана и волумен резидуалне шупљине након 3 месеца \pm 2 недеље од настанка ИЦХ);
 - клиничке варијабле (тежина неуролошког дефицита на пријему и након 3 месеца);
- 4) Корелација између иницијалне концентрације глутамата и TNF- α при пријему код пацијената са ИЦХ.
- 5) Прослеђивање ефекта демографских, анатомских, биохемијских, радиолошких и клиничких варијабли на развој лошег клиничког исхода, након 3 месеца од настанка ИЦХ.
- поређење посматраних варијабли између пацијената са добрим и лошим исходом;
 - одређивање сигнификантних предиктора за лош неуролошки исход код пацијената са ИЦХ (бинарна логистичка регресија);
 - мултипла регресиона анализа за процену вредности клиничког скорa након 3 месеца, на основу утврђених значајних предиктора;
- 6) Мултипла регресиона анализа за стварање модела за предвиђање запремину перифокалног едема на основу значајних предиктора;
- 7) Одређивање ефекта интеракције између концентрације глутамата и TNF- α на развој перифокалног едема 5 дана након ИЦХ.

Најважнији циљ ове студије је да се евалуира прогностичка улога периферног нивоа глутамата и TNF- α у плазми као предиктора за развој перифокалног едема и вредновање клиничког исхода, као и испитивање евентуалне интеракције ових медијатора у патогенези секундарне možдане повреде након ИЦХ.

2. Материјал и методе

Овај рад представља проспективну и лонгитудиналну студију која обухвата пацијенте са акутном, примарном, супратенторијелном ИЦХ, сагласно са адекватно увећаним укљученим критеријумима.

У студији је извршена:

- биохемијска анализа за одређивање вредности концентрације глукозе, глутамата и TNF- α у плазми;
- компјутеризовано-томографска евалуација величине хематома, едема мозга и резидуалне шупљине;
- клиничка процена и вредновање неуролошког статуса.

2.1. Критеријуми за укључивање пацијената у студију

1. Пацијенти са акутном, примарном, супратенторијалном ИЦХ, без вентрикуларног или субарахноидног продора крварења, код којих је спроведен конзервативни третман, у сагласности са претходно утврђеним критеријумима и протоколу лечења и у сарадњи са тимом неурохирурга/неуролога;
2. Без тешке алтерације свести (GCS \geq 10) на пријему и у току хоспитализације;
3. Хоспитализација у првих 24 часа од почетка болести;
4. Одсуство плућних, бубрежних болести, болести јетре, коагулопатије, интубација и асистирана респираторна вентилација, инфламаторне и имунолошке болести и преморбидно коришћење антикоагулатне терапије;
5. Одсуство васкуларних малформација (артерио-венских малформација и анеуризми) интратуморских крварења у мозгу;
6. Одсуство других болести и стања које могу довести до повишења нивоа глутамата и TNF- α у плазми: трауматска повреда мозга и кичмене мождине, стања праћена губитком слуха услед изложености прекомерној буци и ототоксичности, неуродегенеративне болести ЦНС-а (мултипла склероза, Алцхајмерова болест, амиотрофична латерална склероза – АЛС, Паркинсонова болест и Хантингтонова болест).

2.2. Материјал

Студија укључује 50 селектованих пацијената са акутном, примарном, супратенторијалном ИЦХ, у складу са наведеним критеријумима, који су били хоспитализовани у ЈЗУ Универзитетској клиници за неурохирургију и неурологију – Скопље у периоду 01.01.2014. – 31.10.2016. год.

Компјутеризована томографска испитивања и радиолошка евауација урађена је на КТ апаратима ЈЗУ Универзитетске клинике за радиологију – Скопље, интерпретирана од стране специјалиста неурорадиолога.

Поред тога, формирана је и контролна група од 50 условно здравих особа узраста од 18-80 година, према којима је извршена биохемијска анализа за одређивање референтних вредности глутамата и TNF- α у плазми.

2.3. Методе

У студији су коришћене :

- биохемијске;
- радиолошке;
- клиничке дијагностичке методе.

Након тога, на пацијентима из испитиване групе који су били хоспитализовани на поменутиим клиникама, примењене су одговарајуће терапијске процедуре у складу са утврђеним смерницама за лечење ових болести.

2.3.1. Биохемијске методе: процедура за одређивање концентрације глукозе, глутамата и TNF- α у плазми

Узорак венске крви је прикупљен венепункцијом из антекубиталне фосе са коришћењем калијум EDTA вакутајнера. Крв је била центрифугирана на 3000 обртаја у минути (rpm), у временском трајању од 15 минута са циљем да се добије крвна плазма која је подељена и смрзнута на температури од -80°C до следеће анализе. Квантитативна детекција глукозе је извршена помоћу коришћења GLUCOSE GOD/PAP кита (Biosystems).

За квантитативну детекцију нивоа глутамата и TNF- α су спроведени Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) тестови. Наиме, они се базирају на процесу тзв. имуносорпције, у којој се аналита од интереса везује за одговарајуће антитело, са којим је обложено дно бунара за анализу. На овај начин се омогућава високо сензитивна сепарација анализе од интереса, од целокупне крвне плазме. Ова метода има широку примену у медицини, патологији биљака, као и у контроли производње у различитим индустријама и зато сматрамо да је одговарајући избор за нашу студију.

Центрифугирање, замрзавање и складиштење узорка, као и одговарајући лабораторијски поступци за одређивање и мерење концентрације глутамата и TNF- α у плазми, урађени су у Биохемијској лабораторији на Клиници за неурологију – Скопље и Институту за трансфузиону медицину – Скопље.

Сама детекција глутамата и TNF- α извршена је коришћењем ELISA китова Abnova (Glutamate ELISA Kit, KA1909) и од Quantikine (Human TNF-alpha Quantikine ELISA Kit, DTA00C), према инструкцијама произвођача.

2.3.2. Радиолошке методе: поступци за одређивање анатомске локализације, хемисферне стране, волумена интрацеребралног хематома, едема и резидуалне шупљине

За ову сврху је коришћена радиолошка метода помоћу компјутеризоване томографије (КТ) мозга. Апарат на коме је извршено истраживање је SIEMENS, лоциран у објекту Хируршке клинике при Медицинском факултету – Скопље, у саставу ЈЗУ Универзитетске клинике за радиологију – Скопље.

Изведена су 3 снимања на пацијентима и то: на пријему, након 4-5 дана и након 3 месеца \pm 2 недеље после пријема. У случају потребе (ради прогресивног погоршања клиничког стања), урађено је и додатно снимање које није укључено у статистичку обраду података.

Циљ визуализације био је:

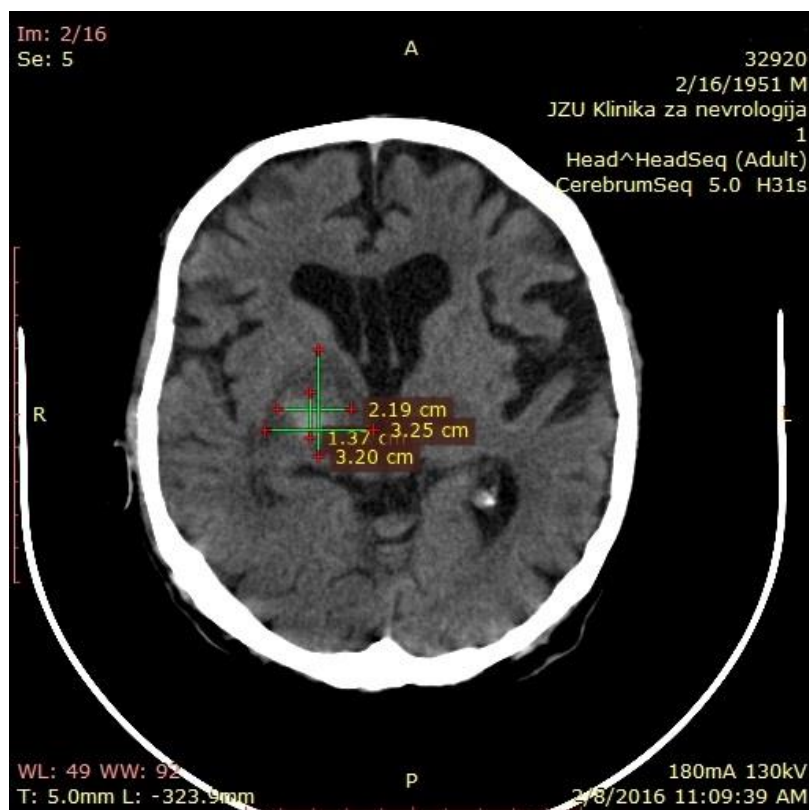
- анатомска локализација интрацеребралног хематома;
- хемисферна страна ИЦХ;
- волумен интрацеребралног хематома при пријему;
- волумен хематома и перифокалног можданог едема (едем који окружује ИЦХ) на 4-5 дана након настанка ИЦХ и

- волумен резидуалне шупљине после 3 месеца \pm 2 недеље .

Мерење волумена хематома, едема и резидуалне шупљине је одређено трансферзалним пресецима КТ-налаза и то од почетног до крајњег слајда на коме се визуализује промена, са дебљином слајдова 8-10 mm.

Математички прорачун димензија волумена хематома је извршен преко формуле $V=A \times B \times C/2$, за сферичне или елипсасте форме. А и В одговара највећем лонгитудиналном и трансферзалном дијаметру хипердензне зоне КТ- слајдова, а С је дебљина супстрата, односно број 10 mm слајдова [106].

Волумен едема је израчунат као разлика волумена целокупног супстрата и хематома (слика 3). Волумен резидуалне шупљине је одређен аналогно као и волумен хематома. Све добијене вредности су изражене у cm^3 [107].



Слика 3. Мерење волумена перифокалног едема

Погодно је да се напомене да неколико пацијената су имали неправилан волумен хематома и код њих искоришћен је калкулатор за израчунавање волумена, према претходно публикованим резултатима [108], [109].

2.3.3 Клиничке методе: поступци за одређивање неуролошког статуса

За квантитативну процену неуролошко–психичког стања пацијента коришћена је Канадска скала за мождани удар – Canadian Stroke Scale (CSS). У истој се врши евакуација: степена свести, оријентисаност, говор, моторни дефицит мускулатуре лица, руке и ноге. Оцењивање се врши помоћу одговарајуће скале од 1,5–11,5 [87-88] (Прилог 1).

Укупан скор <6,5 поена, представља значајан предиктор за смртни исход након 1 месеца и након 1 године од настанка ИЦХ [89-91].

Процењен је клинички исход након 3 месеца, при чему добар исход је дефинисан код оних пацијената који имају $CSS \geq 7$, а лош код пацијената са $CSS < 7$. Ова просечна тачка је дефинисана у већем броју студија, јер показује високу сензитивност и специфичност у погледу квалитета живљења и независности при свакодневним активностима [86].

2.4. Протокол рада

I На пријему на Одељењу за ургентну медицину урађен/а/о је:

1. интервју болесника (у зависности од стања свести, узета је детаљна анамнеза почетка и тока болести, од пацијента или хетероанамнеза од пратње);
2. неуролошки преглед (евакуација клиничког стања и неуролошког статуса, односно оцењивање према наведеној Канадској скали за мождани удар – Canadian Stroke Scale (CSS));
3. лабораторијско-биохемијска анализа одређивања вредности концентрације глутамата и TNF- α у плазми, на начин и поступак претходно описан и
4. извођење прве компјутеризоване томографије (КТ) мозга.

(Постављање дијагнозе и израчунавање иницијалног волумена интрацеребралног хематома, његове локализације и хемисферне стране, према претходно описаном начину и поступку).

Након пријема пацијента у ургентни центар, у зависности од тежине клиничке слике, пацијенти су хоспитализовани у стационарним одељењима, или у

одељењима интензивне неге у ЈЗУ Универзитетској клиници за неурохирургију или неурологију у Скопљу.

II На 4-5 дана након пријема, реализован је други контролни КТ снимак, на коме је одређен волумен хематома и едема око интрацеребралног хематома (перифокални едем), на основу претходно описаних поступака.

III Након 3 месеца \pm 2 недеље, направљен/о је:

1. трећи контролни КТ снимак, који је користан са циљем да се одреди волумен резидуалне шупљине (на начине наведене горе), као и
2. одређивање клиничког исхода, односно евалуација неуролошког статуса (CSS): добар исход ($CSS \geq 7$) / лош исход ($CSS < 7$).

Третман пацијента у болници започет је одмах после дијагностиковања и пријема, према опште прихваћеним условима лечења и заснована на принципима „медицина заснована на доказима“ (evidence based medicine), у одговарајућој ЈЗУ Универзитетској клиници за неурохирургију и неурологију у Скопљу.

Током целокупне хоспитализације у болници вршена је свакодневна евалуација соматског и неуролошког статуса, и спроведени су рутински и допунски лабораторијски и дијагностички поступци, у зависности од индивидуалног тока клиничког стања пацијената.

Евидентирање података извршено је у посебном евидентном листу, за сваког пацијента понаособ (Прилог 2) .

У случају погоршања клиничке слике, у складу са прописаним критеријумима за лечење, спроведен је неурохируршки оперативни третман, односно евакуација ИЦХ преко одговарајуће краниотомије у ЈЗУ Универзитетској клиници за неурохирургију– Скопље.

10 пацијената у току лечења одступило је од горе наведених описаних, укључених критеријума студије, и то: код 6 настало је повећање хематома и околног едема, што је довело до неурохируршке оперативне интервенције, код 4 је настало интравентрикуларно крварење и летални исход.

2.5. Обезбеђивање сагласности за укључивање у студије

Према етичким принципима и гарантовању анонимности података пацијената, добијена је информисана сагласност од свих пацијената, односно њихових ужих породица, при пријему.

2.6. Статистичка обрада

У овој студији, резултати су обрађени стандардним статистичким методама, коришћењем статистичких софтвера IBM SPSS Statistics® 21 и Statistica 7 (StatSoft©). Наиме, из променљивих које су праћене, створена је база података која је систематски анализирана.

Анализа категоријских варијабли (полне структуре, етничке структуре, старосна група, анатомска локализација ИЦХ, хемисферне стране) извршена је преко таблица контингенције; наиме одговарајуће структуре су приказане преко учесталости испитаника (број индивидуа и одговарајућих процената структуре), а разликом учесталости између група тестирана је сигнификантност преко χ^2 вредности.

Све нумеричке серије су тестиране за дистрибуцију нормалности користећи Shapiro-Wilk тест нормалности, визуелне анализе хистограма дистрибуције и кроз израчунавање коефицијент варијације - Coefficient of variation; (CV - однос стандардног одступања од средње вредности). Притом, процењена је приближно нормална дистрибуција вредности уколико p вредност за Shapiro-Wilk је већа од 0,05.

Пошто је дистрибуција вредности за све континуиране варијабле показала сигнификантно одступање од нормалности, вредности су представљене преко њихових медиани (вредност средњег члана као мера централне тенденције), а као меру дисперзије, узет је интерквartilни ранг (IQR) података. За упоређивање значајне разлике медиани између група коришћен је Mann-Whitney U -тест (или Kruskal-Wallis, за више од две групе).

Биваријантне статистичке анализе извршене су коришћењем непараметарске корелације са Spearman-овим ρ коефицијентом.

Мултипле регресионе анализе извршене су на тај начин, да прво варијабле су трансформисане преко логаритма. Генерисани модели мултипле регресије извршени су

коришћењем log- трансформисаним параметрима искоришћеним stepwise методама за анализу.

За израчунавање количника шанси - odds ratio (OR), који говори о шанси појаве лошег неуролошког исхода, коришћена је бинарна логистичка регресија. Као мера прецизности OR искоришћен је 95% интервал поверења – confidence interval (CI 95%).

У свим случајевима, ниво статистичке сигнификантности био је дефинисан за $p < 0,050$ (наведено у тексту са *), односно за високу сигнификантност $p < 0,001$ (наведено у тексту са ***). Поређења која нису статистички сигнификантна ($p > 0,05$) означена су у тексту са n.s. (non-significant). Резултати су приказани у табеларној и графичкој форми.

3. Резултати

Ова студија обухвата 50 пацијената који су испунили наведене критеријуме за укључивање и следствено, након 3 месеца, евалуиран је њихов клинички исход.

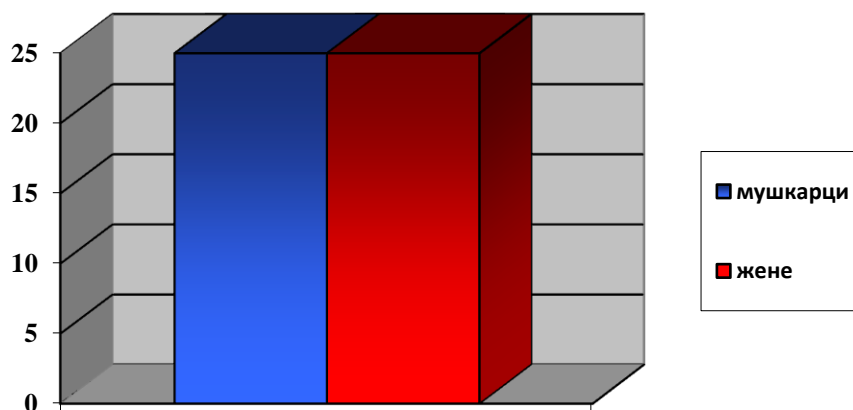
3.1. Базичне демографске карактеристике пацијената (пол, узраст) и анатомске карактеристике хематома (анатомска локализација и хемисферна страна у којој је настала ИЦХ)

3.1.1. Полна структура

Према полним дистрибуцијама, 25 пацијената (50%) било је мушког пола, и исто толико женског пола (табела 1; слика 4).

Табела 1. Полна дистрибуција испитаника

Пол	Број испитаника	(%)
мушки	25	50
женски	25	50



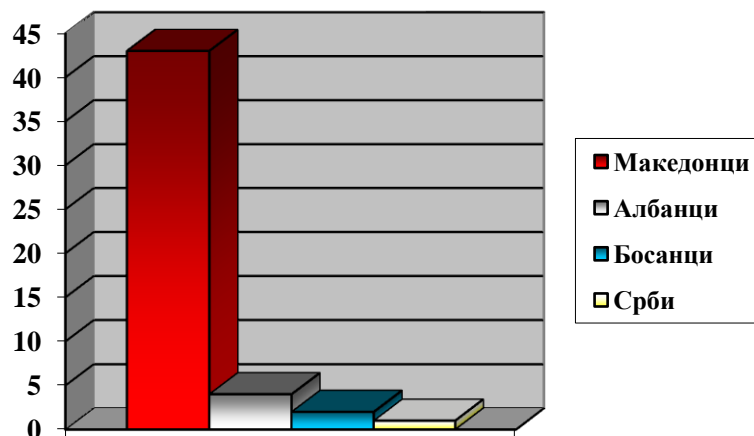
Слика 4. Полна дистрибуција испитаника

3.1.2. Етничка структура

У односу на етничку заступљеност, 43 пацијената (86%) били су Македонци, 4 пацијената (8%) албанске етничке заједнице, 2 пацијента (4%) босанске и 1 пацијент (2%) српске етничке заједнице (табела 2 и слика 5).

Табела 2. Етничка структура испитаника

Етничка структура	Број испитаника	(%)
Македонци	43	86
Албанци	4	8
Босанци	2	4
Срби	1	2



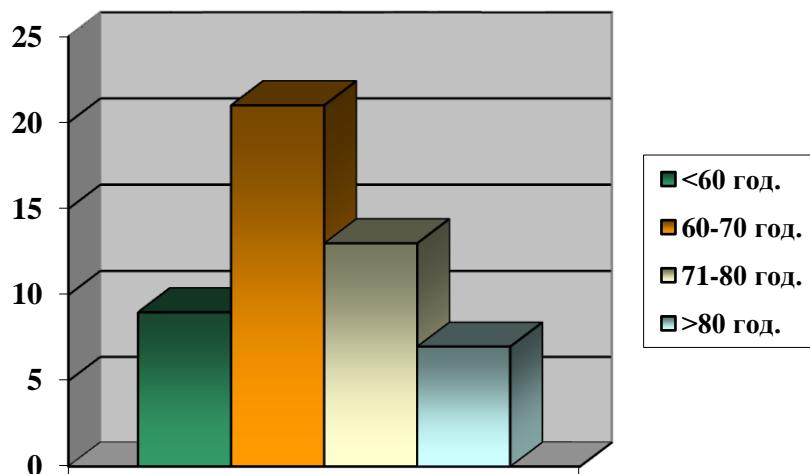
Слика 5. Етничка структура испитаника

3.1.3. Старосна структура

У односу на старосну дистрибуцију, пацијенти су груписани у 4 старосне групе: група 1: <60 година, 9 пацијената (18%); група 2: 60-70 година, 21 пацијент (42%); група 3: 71-80 година, 13 пацијената (26%) и група 4: >80 година, 7 пацијената (14%) (табела 3 и слика 6). Најмлађи пацијент био је 38, а најстарији 90 година. Наведене дистрибуције података показују да је највећи број пацијената у старосној групи од 60-70 година, односно у седмој деценији живота.

Табела 3. Старосна структура

Старосна група	Број испитаника	(%)
<60 год.	9	18
60-70 год.	21	42
71-80 год.	13	26
>80 год.	7	14



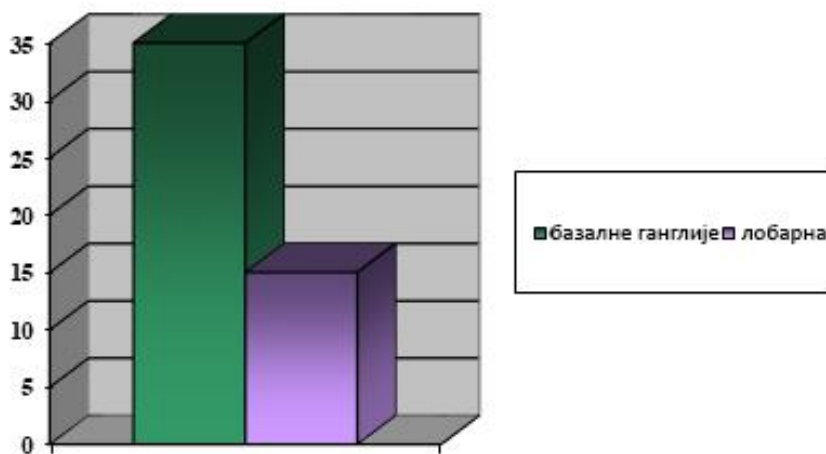
Слика 6. Старосна структура испитаника

3.1.4. Анатомска локализација хематома

Према урађеним радиолошким евалуацијама иницијалног КТ налаза (пример слике - КТ налаз мозга код пацијената са ИЦХ, прилог 3), код 35 пацијената (70%) интрацеребрални хематом био је локализован у пределу таламуса/базалне ганглије, док код 15 пацијената (30%) био је са површинском, односно лобарном локализацијом (табела 4 и слика 7).

Табела 4. Анатомска локализација хематома

Анатомска локализација	Број испитаника	(%)
базалне ганглије (дубока)	35	70
лобарна (површинска)	15	30



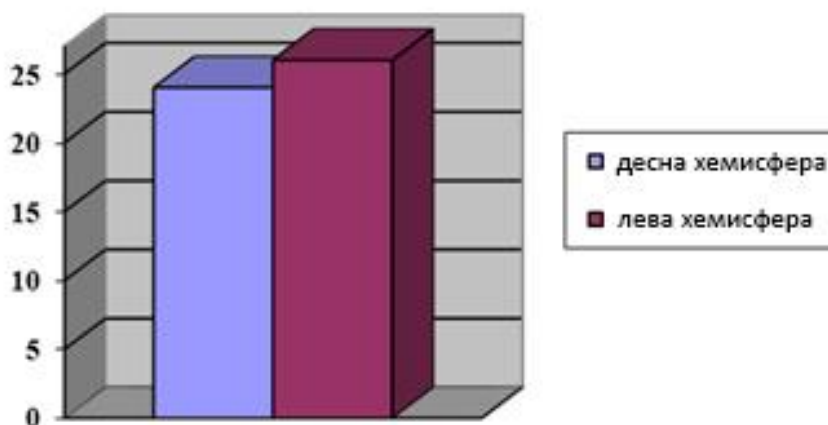
Слика 7. Анатомска локализација хематома код испитаника

3.1.5. Хемисферна страна у којој је настала ИЦХ

На основу наших анализа, 24 пацијената (48%) имали су ИЦХ локализовану у десној хемисфери, док 26 пацијената (52%) имали су ИЦХ у левој хемисфери (табела 5 и слика 8).

Табела 5. Страна ИЦХ

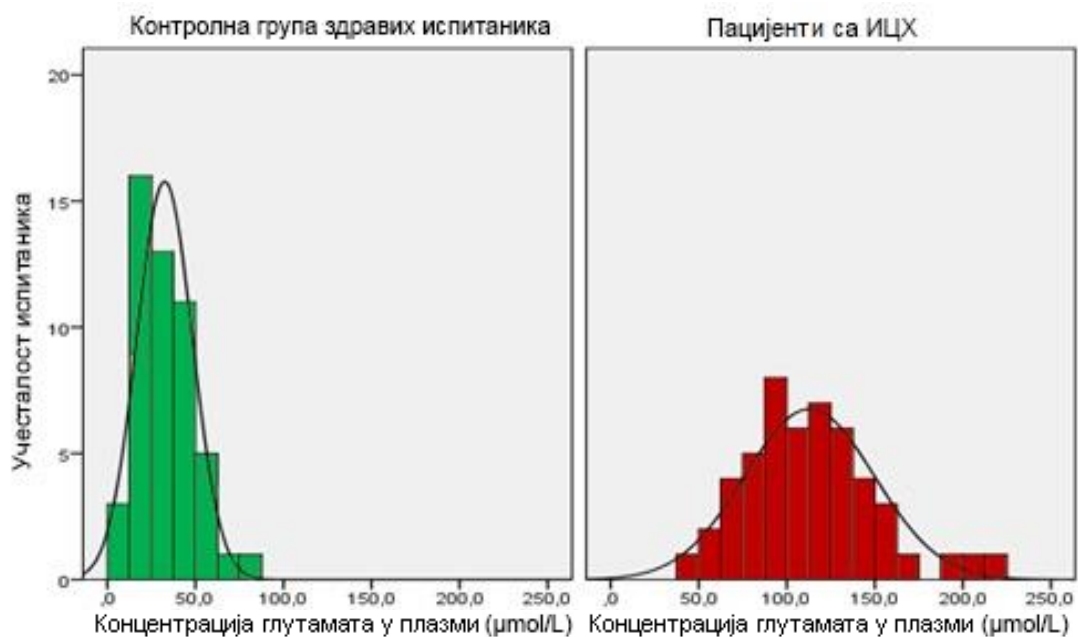
Анатомска локализација	Број испитаника	(%)
десна хемисфера	24	48%
лева хемисфера	26	52%



Слика 8. Страна ИЦХ

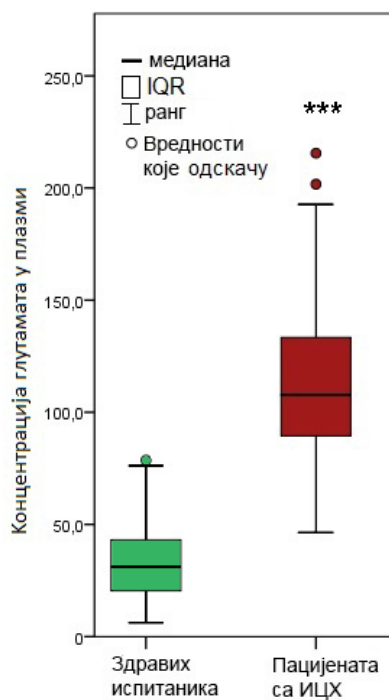
3.2. Одређивање концентрације глутамата у плазми код пацијената са ИЦХ и контролна група здравих испитаника

На следећој слици (слика 9), приказане су хистограмске дистрибуције вредности у обе групе испитаника. Пошто је Shapiro-Wilk тест нормалности показао да вредности глутамата знатно одступају од нормалне дистрибуције код здравих испитаника ($F=0,954$; $p=0,048$), а постоји тренд одступања од нормалности и код пацијената ($F=0,961$; $p=0,088$), за даље статистичке анализе коришћена је непараметарска статистика. На основу израчунатог CV-а, такође се може закључити да расподела вредности одступа од нормалности (32,67% код пацијената и 48,67% код здравих испитаника).



Слика 9. Хистограмска дистрибуција вредности концентрације глутамата код пацијената са ИЦХ и здравих испитаника. Вредности не прате нормалну дистрибуцију.

Наши резултати показују да пацијенти са ИЦХ имају значајно виши ниво плазматског глутамата (медиана 107,75 са интерквартилним рангом од 45,20) у поређењу са здравим испитаницима (медиана 31,13 са интерквартилним рангом од 22,82, слика 10).



Слика 10. Графички приказ концентрације глутамата у плазми код пацијената са ИЦХ, у односу на здраве испитанике. Резултати су представљени преко медиана (коју показују централне линије) и интерквартилног опсега (кутијама). *** $p < 0,001$.

Статистичка анализа потврдила је високо значајну разлику између медиане ове две групе (Mann-Whitney тест: $U=26,0$; $p=3,2\cdot 10^{-17}$), тј. пацијената са ИЦХ имају статистички значајно повећане вредности концентрације глутамата у плазми, у односу на здраве испитанике (табела 6).

Табела 6. Концентрације глутамата у плазми код пацијената са ИЦХ, у односу на здраве испитанике.

Концентрација глутамата ($\mu\text{mol/L}$)	медиана	IQR
Здрави испитаници (контрола)	31,13	22,82
Пацијенти са ИЦХ	107,75	45,20
Mann-Whitney: $U = 26,0$ $p = 3,2 \cdot 10^{-17}$ (***) $p < 0,001$		

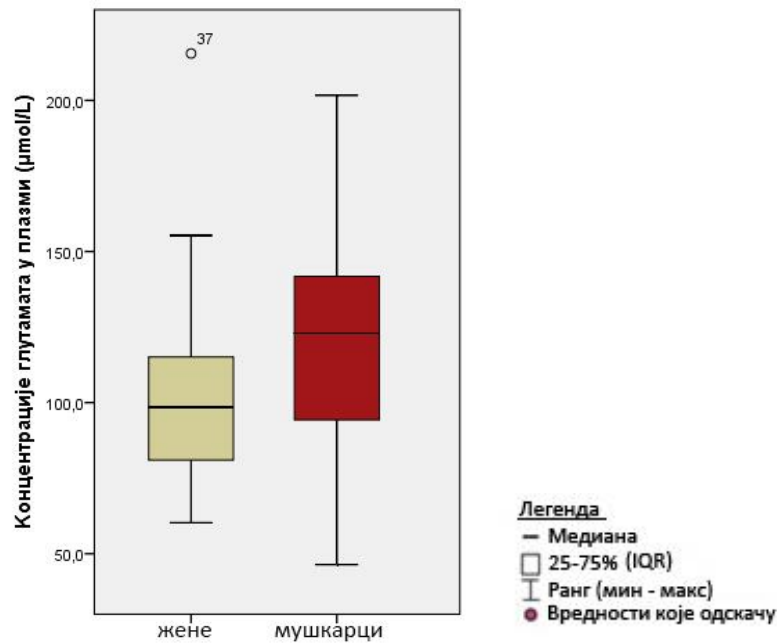
3.3. Евалуације ефекта пола, узраста, анатомске локализације ИЦХ и хемисферне стране на концентрацији глутамата код пацијената са ИЦХ

Даље статистичке анализе усмерене су на одређивање ефекта пола, узраста, анатомске локализације хематома и хемисферне стране на концентрацији глутамата код пацијената са ИЦХ.

Наши резултати показују одсуство статистички значајних разлика у концентрацији глутамата у зависности од полне структуре пацијената са ИЦХ (Mann-Whitney тест: $U=206,0$; $p=0,097$; n.s.; слика 11 и табела 7), тј. не постоји статистички значајна разлика у концентрацији глутамата између мушких и женских особа ($p>0,05$).

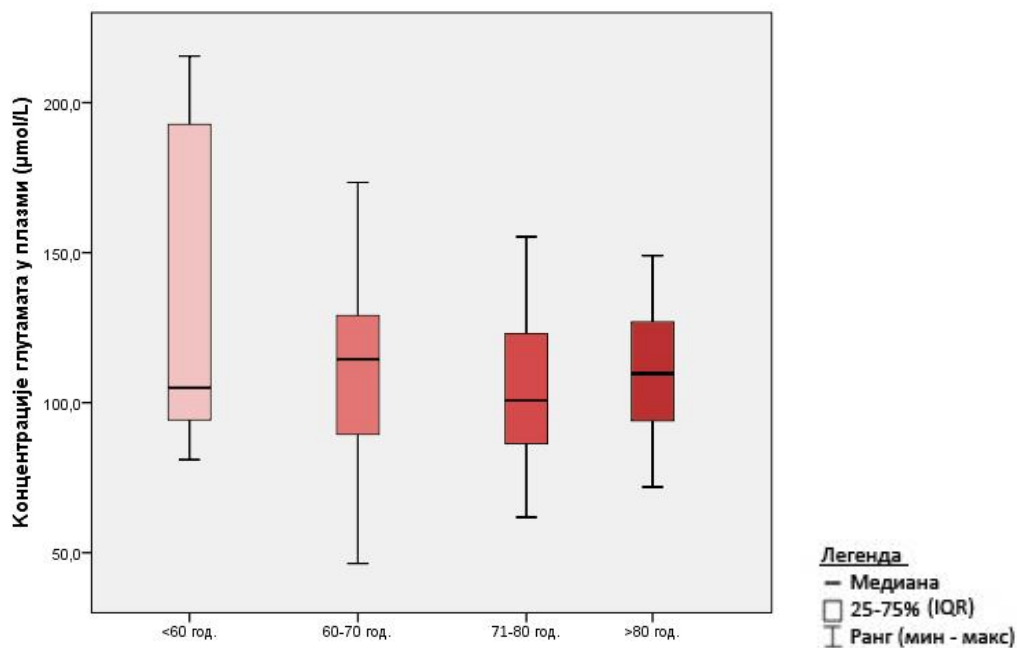
Табела 7. Табеларни приказ ефекта пола према концентрацији глутамата код пацијената са ИЦХ. Резултати су представљени као медиана и интерквартилни опсег.

Карактеристике	Медиана ($\mu\text{mol/L}$)	IQR
женске особе	108,5	41,5
мушке особе	123,0	52,5



Слика 11. Ефекти пола на концентрацији глутамата код пацијената са ИЦХ. Резултати су представљени као медиана и интерквartilни опсег. (n.s.).

На слици 12 и табели 8 представљене су концентрације глутамата код пацијената са ИЦХ у односу на њихову старосну структуру. Не постоји статистички значајна разлика у концентрацији глутамата између различитих старосних група (Kruskal Walis тест: $F=4,382$; $p=0.289$; $p>0,05$, n.s.).

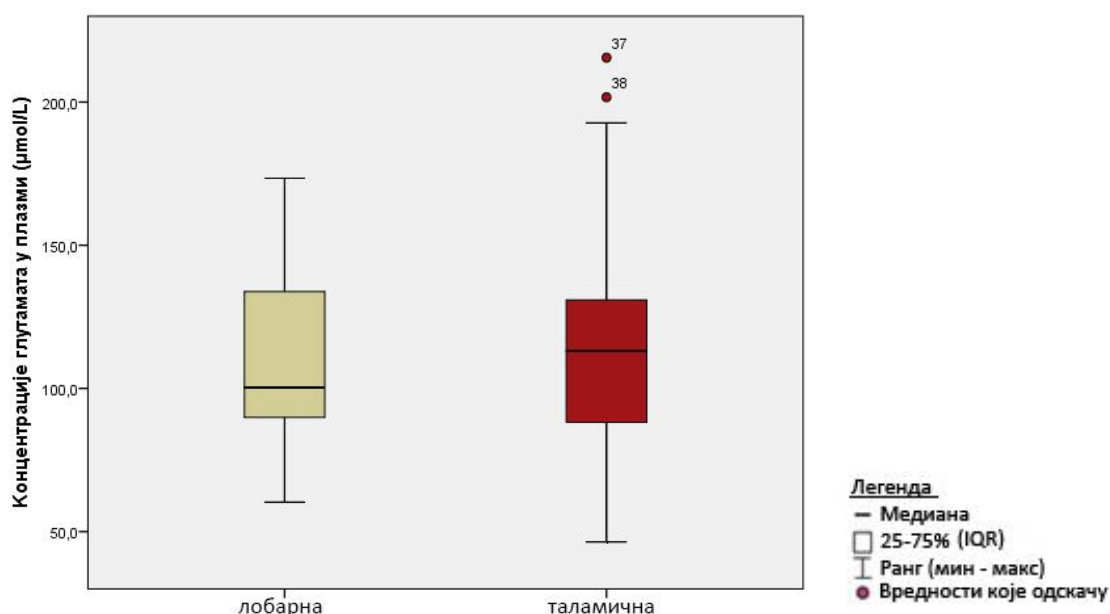


Слика 12. Ефекти узраста на концентрацији глутамата код пацијената са ИЦХ. Резултати су представљени као медиана и интерквartilни опсег. (n.s.).

Табела 8. Табеларни приказ ефекта старости на концентрацији глутамата код пацијената са ИЦХ. Резултати су представљени као медиана и интерквartilни опсег.

Узраст	Медиана (μmol/l)	IQR
<60 год.	105,0	104,3
60–70 год.	114,4	48,7
71–80 год.	100,8	42,9
>80 год.	109,7	52,5

На слици 13 и табели 9 представљени су резултати концентрације глутамата код пацијената са ИЦХ у односу на локализацију интрацеребралног крварења (базалне ганглије/лобарна).



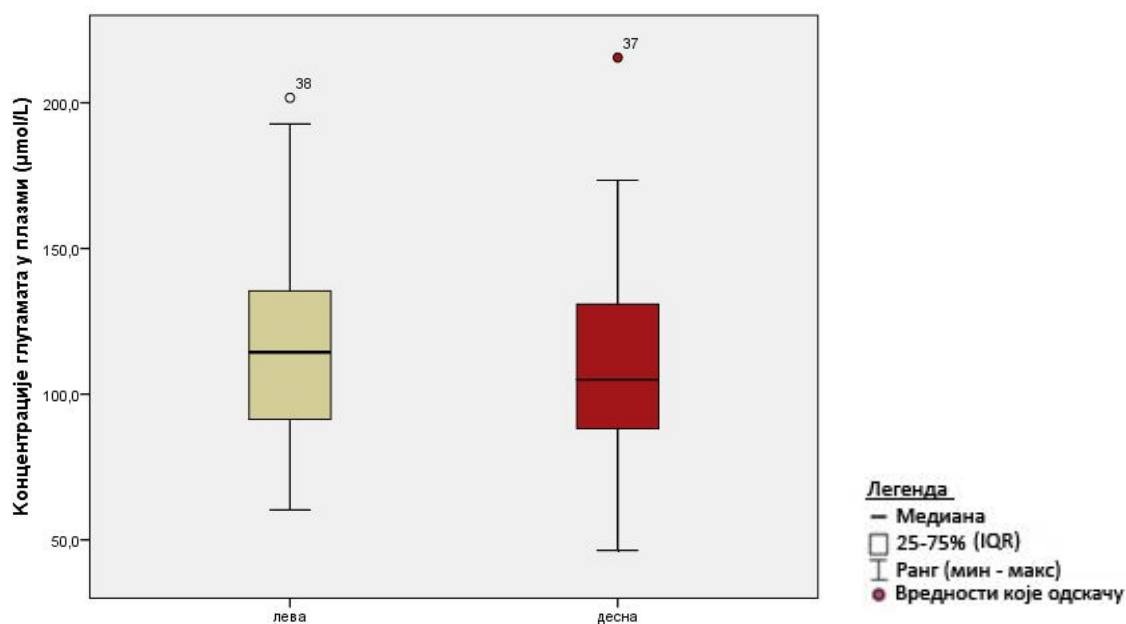
Слика 13. Ефекти анатомске локализације хематома на концентрацију глутамата код пацијената са ИЦХ. Резултати су представљени као медиана и интерквartilни опсег. (n.s.).

Табела 9. Табеларни приказ ефекта анатомске локализације ИЦХ на концентрацији глутамата код пацијената са ИЦХ. Резултати су представљени као медиана и интерквartilни опсег.

Анатомска локализација ИЦХ	Медиана (μmol/l)	IQR
лобарна	100,3	33,1
таламична	113,1	49,2

Не постоји статистички сигнификантна разлика у концентрацији глутамата између пацијената са таламичком и лобарном локализацијом интрацеребралног хематома (Mann-Whitney тест: $U=253,0$; $p=0,841$; $p>0,05$, n.s.).

На слици 14 и табели 10 представљени су резултати концентрације глутамата код пацијената са ИЦХ у односу на хемисферну страну интрацеребралног крварења (лева/десна хемисфера). Не постоји статистички значајна разлика у концентрацији глутамата између пацијената код којих се хематом јавља у левој и десној хемисфери (Mann-Whitney тест: $U=277,0$; $p=0,646$; $p>0,05$, n.s.).



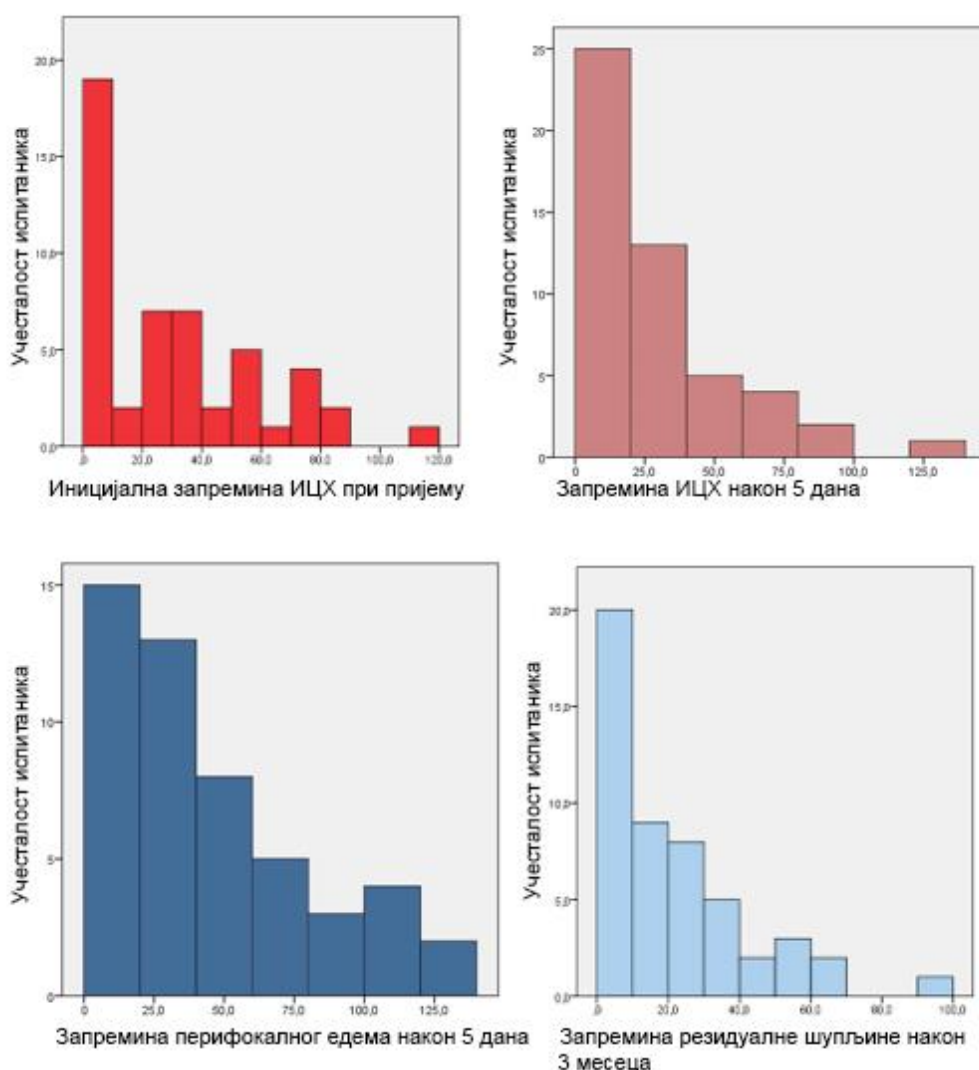
Слика 14. Ефекти хемисферне стране на концентрацију глутамата код болесника са ИЦХ. Резултати су представљени као медиана и интерквartilни опсег. (n.s.).

Табела 10. Табеларни приказ ефеката хемисферне стране на концентрацију глутамата код пацијената са ИЦХ. Резултати су представљени као медиана и интерквartilни опсег.

Анатомска локализација ИЦХ	Медиана (µmol/L)	IQR
лева страна	114,4	41,3
десна страна	105,0	52,3

3.4. Одређивање радиолошких варијабли (иницијални волумен хематома при пријему, волумен ИЦХ након 5 дана, волумен перифокалног едема након 5 дана, волумен резидуалне шупљине након 3 месеца)

Shapiro-Wilk тест за нормалности је показао да свих радиолошких варијабли (иницијална запремина ИЦХ при пријему, запремина ИЦХ након 5 дана, запремина перифокалног едема након 5 дана и запремина резидуалне шупљине након 3 месеца) одступају сигнификантно од нормалности ($p < 0,05$), стога њихова даља анализа је спроведена са непараметарском статистиком. Хистограми расподеле вредности наведених радиолошких варијабли су приказани на слици 15.



Слика 15. Хистограми расподеле вредности за посматране радиолошке варијабле код пацијената са интрацеребралним крварењем.

Као што се види из хистограма, већина пацијената у овој студији су окарактерисани нижим вредностима запремине ИЦХ по пријему и после 5 дана по пријему; такође присутни су пацијенти са нижим вредностима запремине перифокалног едема након 5 дана и резидуалне шупљине након 3 месеца. У овом делу, потребно је напоменути да су 5 пацијената имали неправилну запремину ИЦХ на пријему и због тога, њихове вредности су израчунате према објављеном калкулатору за израчунавање неправилних хематома, који је доступан on-line: <http://www.mdcalc.com/abc2-formula-for-intracerebral-hemorrhage-volume/>.

Табела 11 приказује мере централне тенденције и дисперзије вредности за варијабле (преко медиани и интерквartilног ранга). Као што се види из табеле, иницијални волумен интрацеребралног хематома при пријему има медиану 25,12 cm³, а након 5 дана 18,88 cm³; медиана волумена перифокалног едема је 33,80 cm³, а медиана волумена резидуалне шупљине након 3 месеца износи 16,45 cm³.

Табела 11. Поређење радиолошких параметара код испитаника

Карактеристике	Медиана (cm ³)	IQR
Иницијална запремина ИЦХ при пријему	25,12	42,3
Запремина ИЦХ после 5 дана	18,88	33,3
Запремина перифокалног едема после 5 дана	33,80	48,9
Запремина резидуалне шупљине после 3 месеца	16,45	26,14

3.5. Одређивање клиничких варијабли, неуролошки статус на пријему и након 3 месеца од настанка интрацеребралног крварења

Shapiro-Wilk тест за нормалности је показао да вредности неуролошког статуса при пријему и након 3 месеца, процењене и оцењене помоћу Канадске скале за мождани удар – Canadian Stroke Scale (CSS), значајно одступају од нормалности ($p < 0,05$) и због тога резултати су представљени преко медиани и интерквartilног ранга (IQR).

Сходно томе, медиана неуролошког статуса при пријему према CSS скали износи 7,0, а након 3 месеца 7,75 (Табела 12).

Табела 12. Неуролошки статус код пацијената са ИЦХ при пријему и 3 месеца по настајању ИЦХ

CSS скор	Медиана	IQR
при пријему	7,0	4,5
после 3 месеца	7,75	5,6

Паралелно, преко броја индивидуа и њихових процентуалних заступљености, приказана је дистрибуција пацијената са добрим и лошим клиничким исходом у зависности од резултата CSS (Табела 13).

Од укупно 50 пацијената са ИЦХ, лош исход након 3 месеца (према критеријумима вредновања канадске скале за мождани удар са резултатом <7) имало је 23 пацијената, или 46%, а са добрим исходом ($CSS \geq 7$) 27 болесника или 54% .

Табела 13. Процена неуролошког статуса након 3 месеца код пацијената са ИЦХ

Кл. исход након 3 месеца	Број испитаника	(%)
$CSS \geq 7$ (добар исход)	27	54%
$CSS < 7$ (лош исход)	23	46%

3.6. Корелације између концентрације глутамата у плазми на пријему са радиолошким и клиничким варијаблама код пацијената са ИЦХ

Корелације између концентрације глутамата у крвној плазми са радиолошким и клиничким варијаблама је изведена коришћењем непараметријског Spearman ρ коефицијента, из разлога што све праћене радиолошке и клиничке варијабле не прате нормалну расподелу вредности. Наши резултати су сажети у следећој табели (Табела 14).

Како је наведено, наши резултати су показали умерену и позитивну корелацију између концентрације глутамата са почетном запремином ИЦХ по пријему ($\rho=0,453$) и запремини ИЦХ након 5 дана ($\rho=0,440$). Корелација између концентрације глутамата и запремине перифокалног едема је умерено до јако позитивна ($\rho=0,597$), са високим степеном значајности ($\rho=0,000005$; $***p<0,001$). При томе, нисмо открили статистички значајну корелацију између концентрације глутамата и запремине резидуалне шупљине након 3 месеца ($p>0,05$, n.s.).

Табела 14. Повезаност између концентрације глутамата у крвној плазми са радиолошким и клиничким варијаблима

Параметар	Spearman ρ коефициент	p-вредност	
Иницијална запремина ИЦХ при пријему	0,453	0,00095	p<0,001 (***)
Запремина ИЦХ након 5 дана	0,440	0,0014	p<0,05 (*)
Запремина перифокалног едема након 5 дана	0,597	0,000005	p<0,001 (***)
Запремина резидуалне шупљине након 3 месеца	0,274	0,090	p>0,05 (n.s.)
CSS скор при пријему	-0,331	0,019	p<0,05 (*)
CSS скор после 3 месеца	-0,367	0,009	p<0,05 (*)

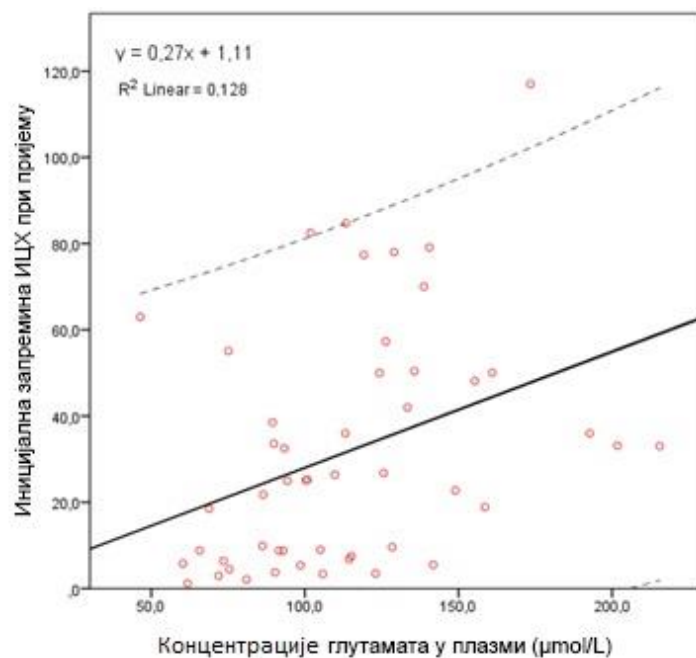
Насупрот томе, корелација између концентрације глутамата у плазми, уз клиничку слику при пријему и клиничким исходом после 3 месеца (процењене преко CSS резултата) је била слабо негативна ($\rho=-0,331$ и $\rho=-0,367$), такође са високим степеном значајности (* $p<0,05$).

3.6.1. Графички приказ зависности између концентрације глутамата у плазми са радиолошких и клиничких варијабли

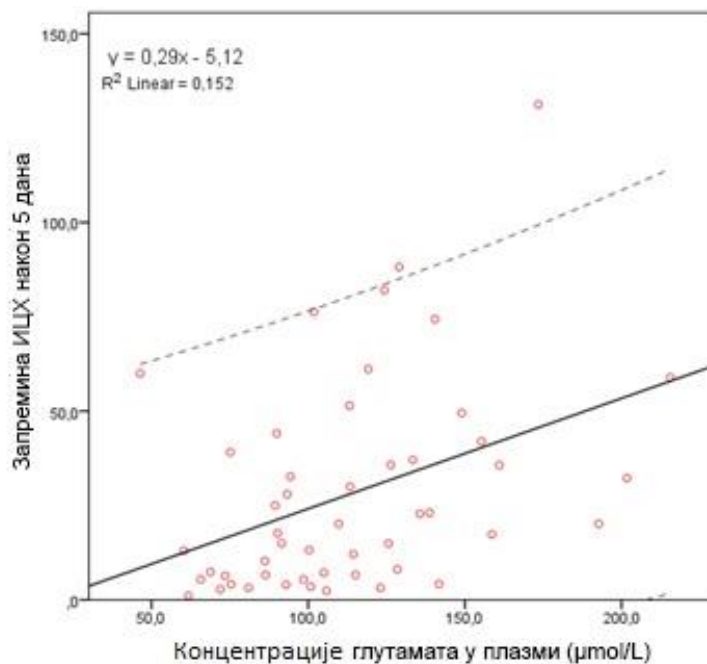
Зависности између концентрације глутамата и следствених радиолошких и клиничких варијабли су такође представљене графички на следећим сликама, помоћу линеарне регресије са 95% интервалом поузданости.

Додатно, на графикону приказане су и вредности за R^2 линеарне регресије, једначине која описује зависност две варијабле у стандардном облику: $y = kx + n$.

Графикон 16 и 17 показују зависности између запремине ИЦХ на пријему и након петог дана (као зависне варијабле), од концентрације глутамата у плазми (као независна варијабла). Однос између ове две варијабле и концентрације глутамата, је умерена и позитивна (Spearman: $\rho=0,453$ и $\rho=0,440$), што указује да концентрација глутамата у плазми постепено прати вредности почетне запремине ИЦХ на пријему и након петог дана, а то значи да већа вредност запремине ИЦХ одговара већој вредности концентрације глутамата у плазми. Међутим, резултати око концентрације глутамата у плазми и запремине ИЦХ при пријему и након 5 дана показали су врло широке интервале поузданости и ниску R^2 вредност (Слика 16 и Слика 17), што указује на слабу зависност између ове две варијабле.



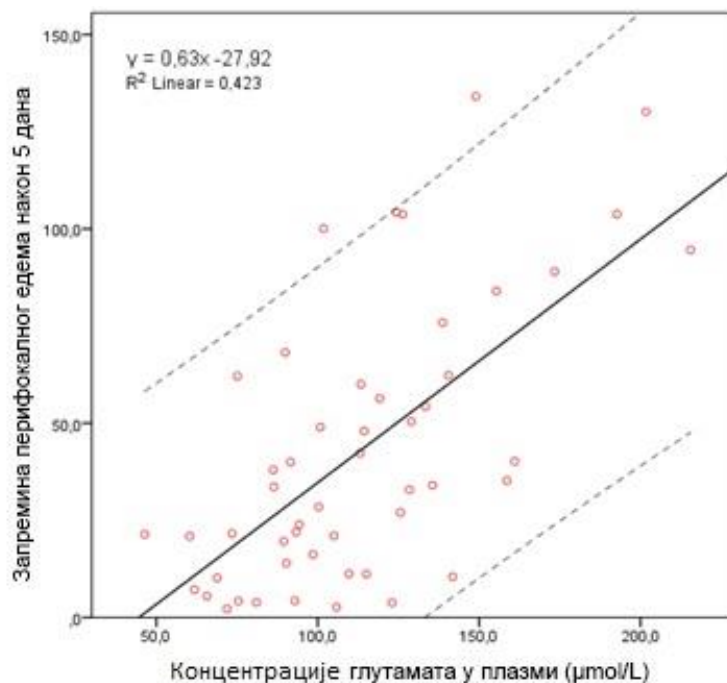
Слика 16. Корелација: концентрације глутамата у плазми/иницијална запремина ИЦХ при пријему



Слика 17. Корелација: концентрације глутамата у плазми/ИЦХ запремине након 5 дана

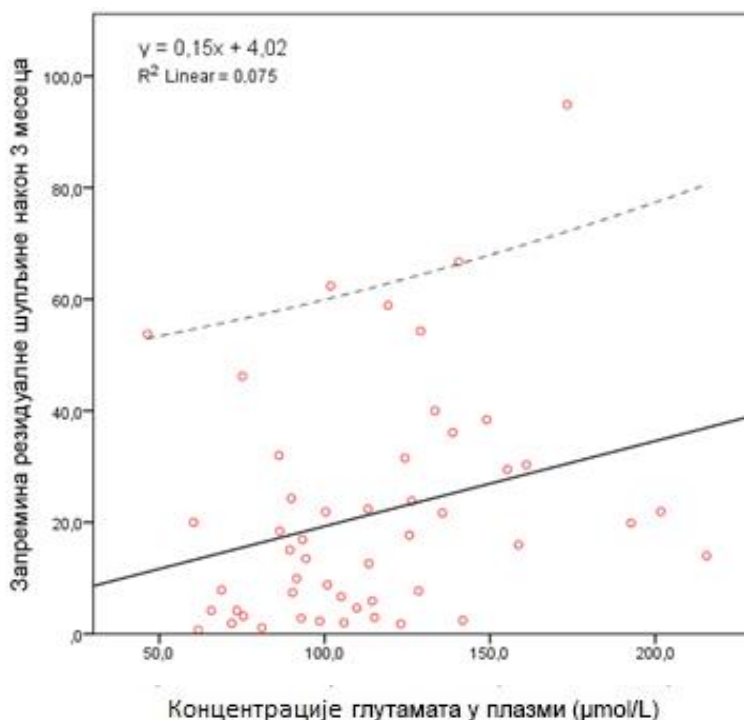
Корелација између концентрације глутамата и запремине перифокалног едема након 5 дана била је умерено до јако позитивна ($\rho=0,597$), са високим степеном значајности $p=0,000005$ ($***p<0,001$), што такође указује на тенденцију да прати величину запремине перифокалног едема након петог дана и концентрацију глутамата у плазми (слика бр. 18).

Поред тога, резултати регресионе анализе су показали уже интервале поузданости и високе R^2 вредности у односу на претходне две анализе, што указује да постоји могућност да концентрација глутамата утиче на волумен едема.



Слика 18. Корелација: концентрације глутамата у плазми/запремина перифокалног едема после 5 дана

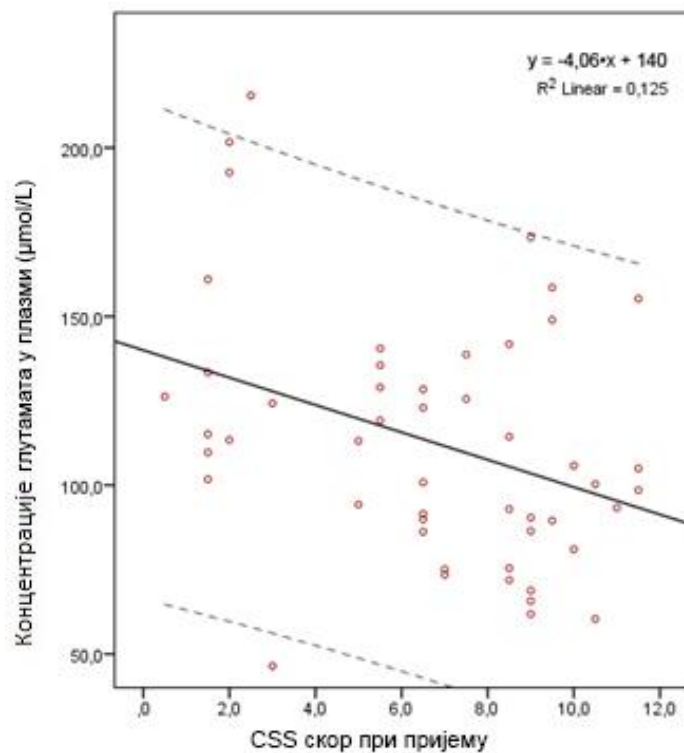
Насупрот томе, није детектована статистички значајна корелација између концентрације глутамата у плазми и запремине резидуалне шупљине после 3 месеца ($p=0,090$; $p>0,05$; n.s.), што указује на недостатак зависности између ове две варијабле. Ово се може видети из графичке слике број 19.



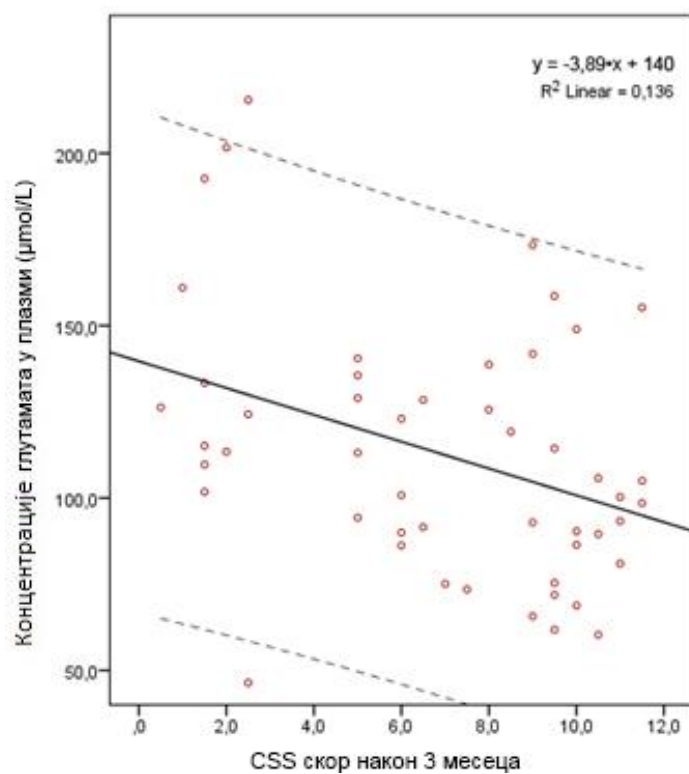
Слика 19. Корелација: концентрације глутамата у плазми/запремина резидуалне шупљине након 3 месеца

Корелације између концентрације глутамата у плазми и клиничког стања при пријему, односно клиничког исхода, после 3 месеца (приказано преко CSS резултата) су слабо негативне и статистички значајне са коефицијентом корелације $\rho = -0,331$ при пријему и $\rho = -0,367$ после 3 месеца. Негативни знак Spearman коефицијента представља њихову тенденцију обратног кретања у њиховим вредностима. То значи да смањењем концентрације глутамата у плазми, пацијенти добијају већи резултат CSS, односно бољи неуролошки статус при пријему и након 3 месеца.

Другим речима, високе вредности глутамата су у корелацији са нижим вредностима CSS резултата, што је јасно видљиво на следећим сликама (слика 20 и 21).



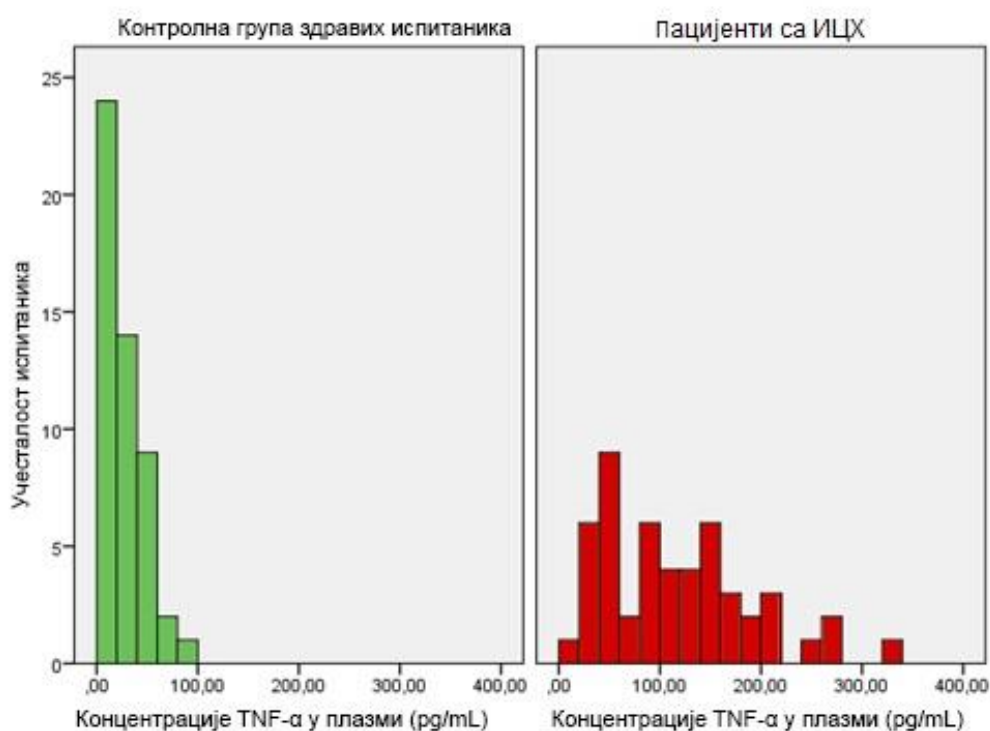
Слика 20. Корелација: концентрације глутамата у плазми/CSS скор при пријему



Слика 21. Корелација: концентрације глутамата у плазми/CSS скор након 3 месеца

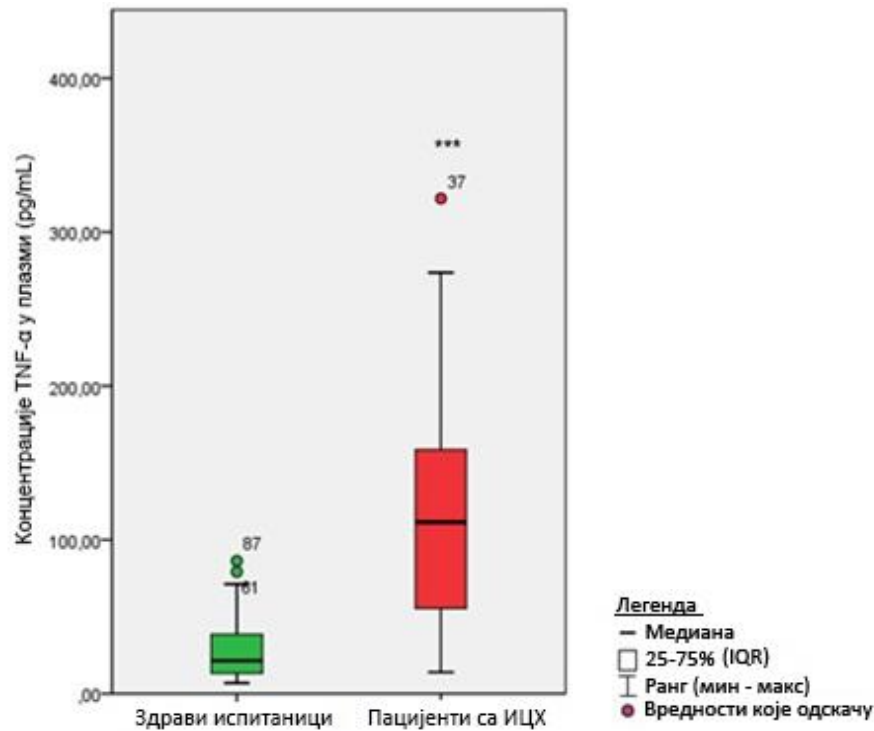
3.7. Одређивање концентрације TNF- α у плазми код болесника са ИЦХ и контролне групе здравих испитаника

Shapiro-Wilk тест за нормалност је показао да дистрибуција вредности TNF- α у плазми сигнификантно одступа од нормалности ($p < 0,05$), стога њихова даља анализа је спроведена са непараметарском статистиком. Следећа слика (Слика 22) представља хистограме дистрибуције вредности код обе групе испитаника. Као што се може уочити визуелном анализом ових хистограма, у обе групе постоји одступање од нормалне расподеле вредности.



Слика 22. Хистограм дистрибуције вредности TNF- α . Он констатује одсуство нормалне дистрибуције

Наши резултати показују да пацијенти са ИЦХ имају значајно више нивое TNF- α у плазми (медиана 111 pg/mL, са интерквартилним рангом од 104 pg/mL), у поређењу са здравима (медиана 21 pg/mL, са интерквартилним рангом од 26 pg/mL), (Слика 23). Статистичка анализа потврдила је високо значајну разлику између медиане ове две групе (Mann-Whitney тест: $U=39,0$; $p=9,9 \cdot 10^{-17}$).



Слика 23. Графички приказ концентрације TNF- α у плазми код пацијената са ИЦХ, у поређењу са здравим испитаницима. Резултати су представљени преко медиана (коју показују централне линије) и интерквartilног опсега (означеног кутијама).

*** $p < 0,001$.

Резултати су такође представљени у следећој табели. Пацијенти имају статистички значајно повишене вредности концентрације TNF- α , у поређењу са здравим испитаницима (** $p < 0,001$, Табела 15).

Табела 15. Концентрације TNF- α у плазми код пацијената са ИЦХ, у поређењу са здравим испитаницима.

Концентрација TNF- α	медиана (pg/mL)	IQR
Здрави испитаници (контрола)	21,0	26,0
Пацијенти са ИЦХ	111,0	104,01
Mann-Whitney: $U = 39,0$ $p = 9,9 \cdot 10^{-17}$ (** $p < 0,001$)		

Пошто Mann-Whitney тест ради по принципу поређења рангова добијених вредности, додатно су наши резултати приказани упоређивањем њихових рангова. Као што се види на слици 24, постоје веома слаба поклапања и одлично раздвајање

вредности TNF- α између две групе које наглашавају улогу овог параметра и његов утицај у патологији интрацеребралног крварења.



Слика 24. Поређење рангова вредности TNF- α код пацијената са ИЦХ и контролне групе здравих особа.

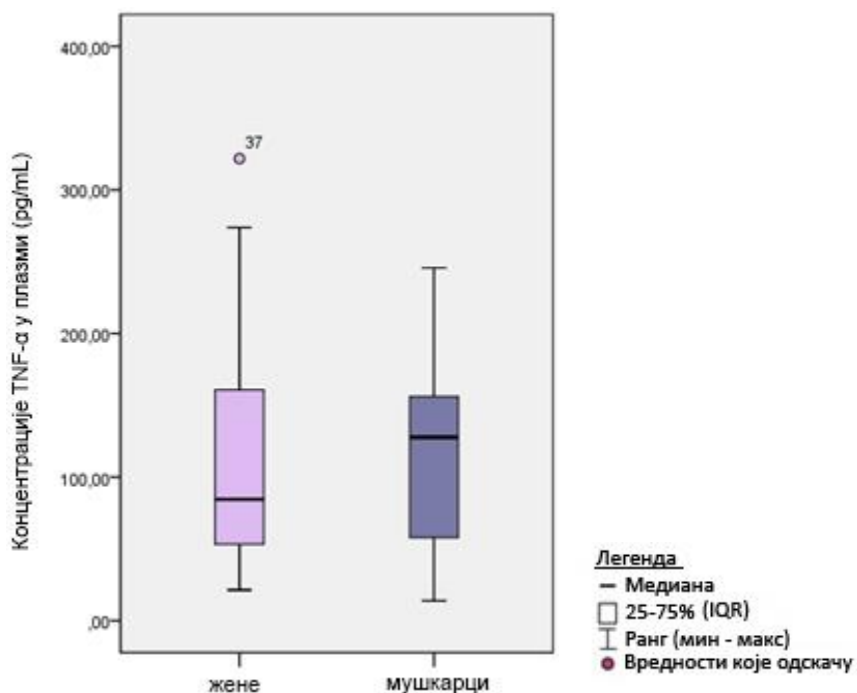
3.8. Евалуације ефекта пола, узраста, анатомске локализације ИЦХ и хемисферне стране на концентрацији TNF- α код пацијената са ИЦХ

Наша даља анализа фокусирана је на одређивање ефекта пола, узраста, анатомске локализације ИЦХ и хемисферне стране на концентрацији TNF- α код пацијената са ИЦХ.

Наши резултати су показали да код пацијената са ИЦХ, нема статистички значајне разлике у концентрацији TNF- α у крвној плазми између мушких и женских испитаника (Mann-Whitney тест: $U=275,5$; $p=0,473$, n.s., слика 25 и табела 16).

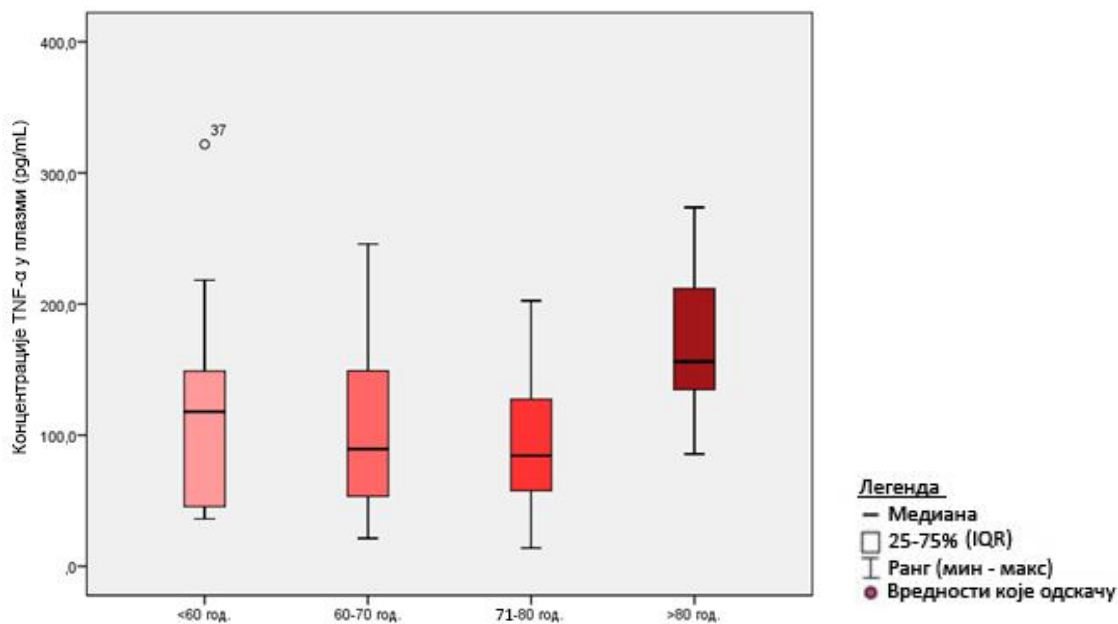
Табела 16. Ефекта пола на концентрације TNF- α код пацијената са ИЦХ. Резултати су представљени као медиана и интерквartilни опсег.

Пол	Медиана (pg/ml)	IQR
женске особе	84,4	128,3
мушке особе	127,4	100,0



Слика 25. Утицај пола на концентрације TNF- α код пацијената са ИЦХ. Резултати су представљени као медиана (коју показују централне линије) и интерквартилни опсег (означен кутијама) (n.s.)

Слика 26 и Табела 17 приказују вредности концентрације TNF- α код пацијената са ИЦХ у односу на њихову старосну структуру.



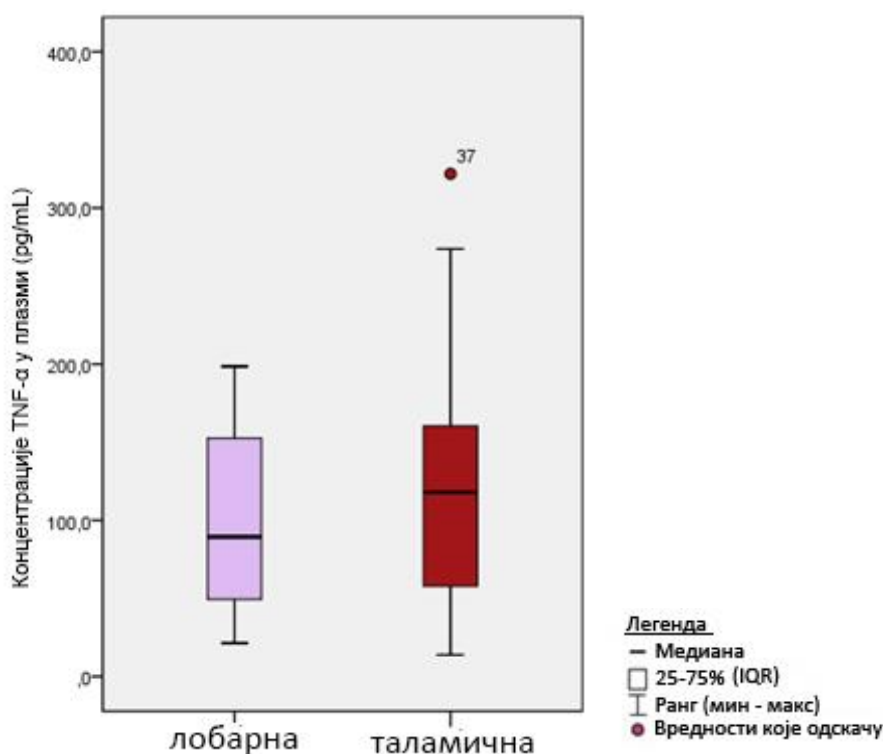
Слика 26. Утицај старости на концентрације TNF- α код пацијената са можданим ударом. Резултати су представљени као медиана (коју показују централне линије) и интерквартилни опсег (означен кутијама). (n.s.)

Табела 17. Ефекат старости на концентрације TNF- α код пацијената са ИЦХ. Резултати су представљени као медиана и интерквartilни ранг

Узраст/годиште	Медиана (pg/ml)	IQR
<60 год.	117,4	139,1
60–70 год.	89,2	107,0
71–80 год.	84,2	90,6
>80 год.	156,9	186,29

Статистичка анализа није показала значајну разлику у концентрацији TNF- α међу различитим старосним групама (Kruskal–Wallis тест: $F=5,167$; $p=0,160$, односно $p>0,05$; n.s).

Слика 27 и Табела 18 представљају резултате концентрације TNF- α код пацијената са ИЦХ у односу на локализацију интрацеребралног крварења (базалне ганглије/ лобарне).



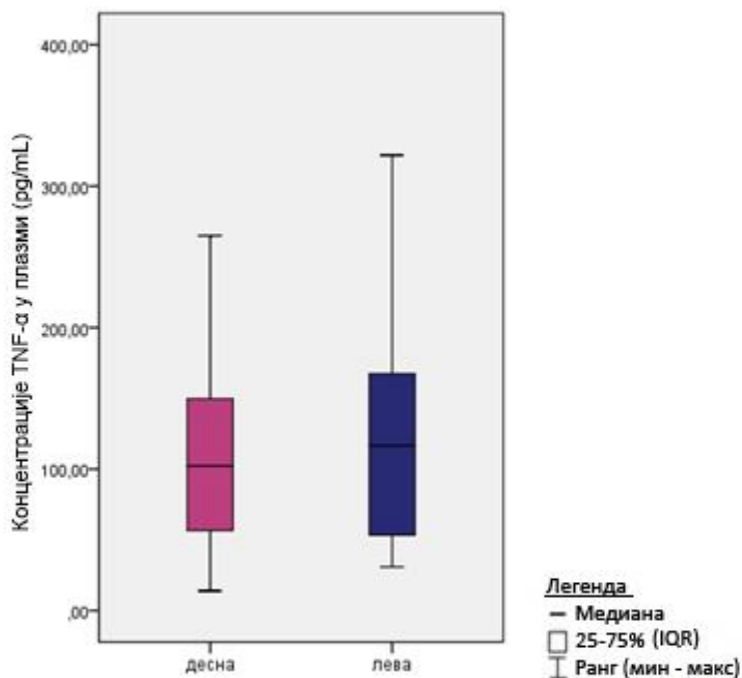
Слика 27. Ефекти анатомске локализације хематома на концентрације TNF- α код пацијената са ИЦХ. Резултати су представљени као медиана (коју показују централне линије) и интерквartilним опсегом (означен кутијама). (n.s.)

Табела 18. Ефекти анатомске локализације ИЦХ на концентрације TNF- α код пацијената са можданим ударом. Резултати су представљени као медиана и интерквartilни опсег

Анатомска локализација ИЦХ	Медиана (pg/ml)	IQR
лобарна	89,4	110,3
таламична	117,9	102,0

Не постоји статистички значајна разлика у концентрацији TNF- α код пацијената са таламичном и лобарном локализацијом интрацеребралног хематома (Mann-Whitney тест: $U=228,0$; $p=0,465$, односно $p>0,05$; n.s.).

Слика 28 и Табела 19 представљају резултате концентрације TNF- α код пацијената са ИЦХ у односу на хемисферне стране интрацеребралног крварења (лева/десна).



Слика 28. Ефекти хемисферне стране хематома на концентрације TNF- α код пацијената са ИЦХ. Резултати су представљени као медиана (коју показују централне линије) и интерквartilни опсег (означен кутијама). (n.s.)

Табела 19. Ефекат стране ИЦХ на концентрацију TNF- α код пацијента са ИЦХ.

Резултати су представљени као медиана и интерквартилни опсег.

Анатомска локализација ИЦХ	Медиана (pg/ml)	IQR
десна хемисфера	102,3	94,2
лева хемисфера	116,7	123,1

Не постоји статистички значајна разлика у концентрацији TNF- α између пацијената у односу на страну појављивања хематома. (Mann-Whitney тест: $U=284,5$; $p=0,593$ односно $p>0,05$, n.s).

3.9. Корелације између концентрације TNF- α у плазми при пријему са радиолошким варијаблама код болесника са ИЦХ

Корелације између концентрације TNF- α у плазми и радиолошких варијабли је обављена коришћењем Spearman ρ коефицијента из разлога што све праћене варијабле не прате нормалну расподелу вредности. Наши резултати су сажети у следећој табели (Табела 20).

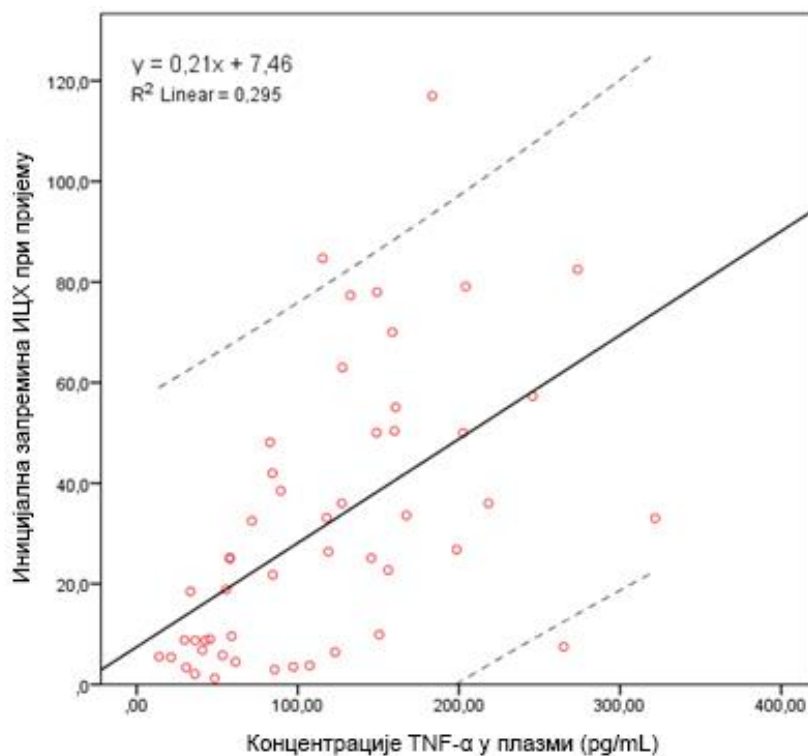
Табела 20. Повезаност између концентрације TNF- α у крвној плазми са радиолошким варијаблама

Параметар	Spearman ρ коефицијент	р-вредност	
Иницијална запремина ИЦХ при пријему	0,653	$2,7 \cdot 10^{-7}$	$p<0.001$ (***)
Запремина ИЦХ после 5 дана	0,727	$2,2 \cdot 10^{-9}$	$p<0.001$ (***)
Запремина перифокалног едема после 5 дана	0,810	$1,1 \cdot 10^{-12}$	$p<0.001$ (***)
Запремина резидуалне шупљине после 3 месеца	0,673	$8,5 \cdot 10^{-8}$	$p<0.001$ (***)

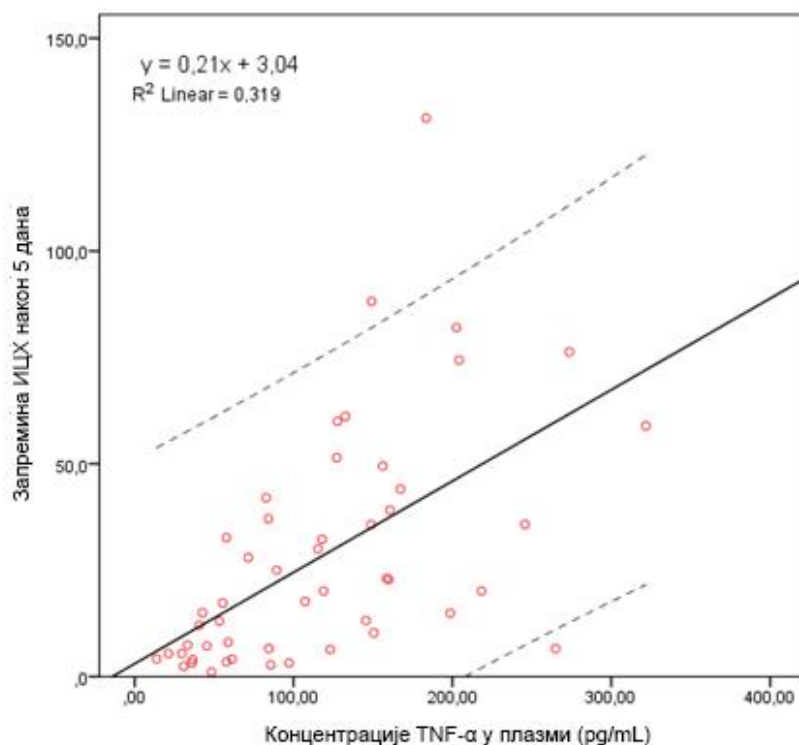
Као што се види из табеле, наши резултати су показали јако позитивну корелацију између концентрације TNF- α са првобитном запремином ИЦХ при пријему, после 5 дана, као и са запремином резидуалне шупљине након 3 месеца, и то са веома високим степеном статистичког значења. Поред тога, корелација између концентрације TNF- α са запремином перифокалног едема је веома јака и позитивна, са изузетно високим степеном значајности. Укратко, резултати указују на највећу корелацију између варијабле TNF- α и волумена перифокалног едема код пацијената са ИЦХ.

У циљу даље анализе и карактеризације односа између концентрације TNF- α и посматраних радиолошких варијабли, резултати су и графички приказани, користећи линеарну регресију са 95% интервалом поузданости. На самом графичком приказу, приказане су вредности R^2 линеарне регресије и једначине која описује зависност две варијабле у стандардном облику: $y = kx + n$.

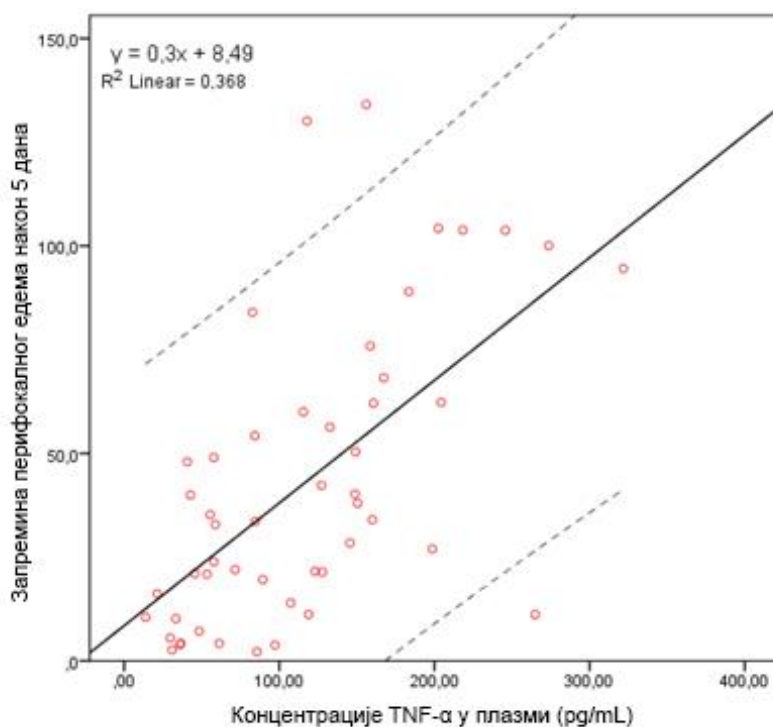
Слика 29 и 30 показују зависности запремине ИЦХ при пријему и после петог дана (зависне варијабле) са концентрацијом TNF- α у плазми као независном варијаблом. Повезаност између ове две варијабле и концентрација TNF- α , је јака и позитивна ($\rho=0,653$) односно ($\rho=0,727$), што указује да концентрација TNF- α у плазми постепено прати вредности иницијалне запремине ИЦХ на пријему и након пет дана, што значи да веће вредности запремине ИЦХ одговарају већим вредностима концентрација TNF- α у плазми.



Слика 29. Корелација: концентрације TNF- α у плазми/запремина ИЦХ при пријему



Слика 30. Корелација: концентрације TNF- α у плазми/запремина ИЦХ након 5 дана

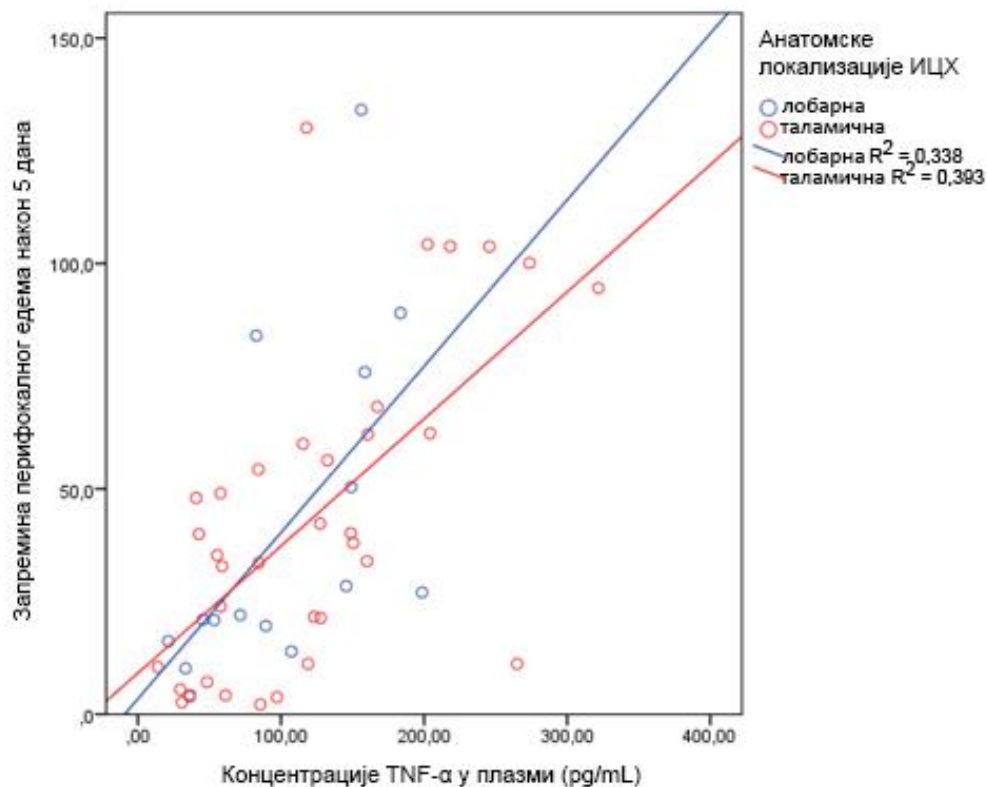


Слика 31. Корелација: концентрације TNF- α у плазми/запремине перифокалног едема након 5 дана

Корелација између концентрације TNF- α и запремине перифокалног едема после 5 дана била је веома јака и позитивна ($p=0,810$), са високим степеном

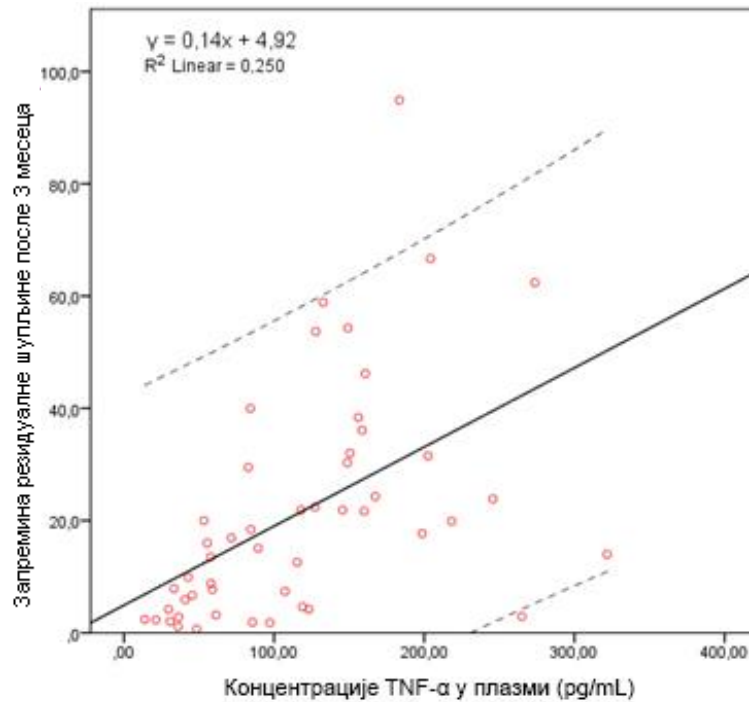
значајности $p=1,1 \cdot 10^{-12}$ (***) $p < 0,001$), који такође указује на тенденцију TNF- α да прате величину запремине перифокалног едема након петог дана (слика 31), односно њихову међузависност. Као што се види из графикана, R^2 вредност ове зависности је исто тако јака у поређењу са другим анализама и указује на потенцијални ефекат TNF- α у величини перифокалног едема.

Са циљем испитивања ефеката анатомске локализације ИЦХ и постојања повезаности концентрације TNF- α и запремине перифокалног едема, спроведене су додатне анализе (слика 32). Анализе су показале да без обзира на локализацију ИЦХ, зависност између TNF- α и запремине едема је јака, што значи да TNF- α доприноси величини едема и у дубоки и у лобарни ИЦХ.



Слика 32. Ефекти анатомске локализације ИЦХ и концентрације TNF- α на запремину перифокалног едема.

Резултати корелације између концентрације TNF- α у плазми и запремине резидуалне шупљине после 3 месеца показали су јако позитивну корелацију ($\rho=0,673$), исто тако са високим степеном значајности (***) $p < 0,001$) (слика 33).



Слика 33. Корелација: концентрације TNF- α у плазми/запремина резидуалне шупљине после 3 месеца

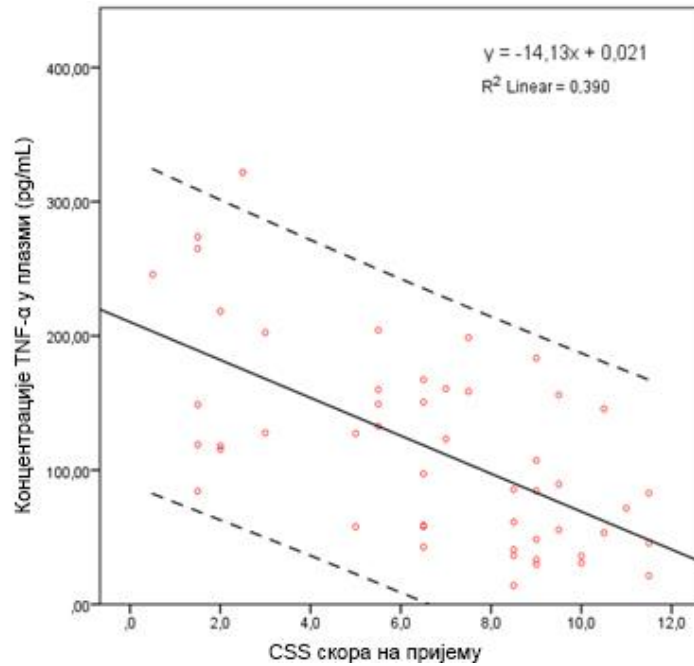
3.10. Корелација између концентрације TNF- α у плазми при пријему са клиничким варијаблима код болесника са ИЦХ

Међузависност концентрације TNF- α у плазми и клиничког стања на пријему односно клиничког исхода после 3 месеца (приказано преко CSS резултата) је анализирана поново помоћу Spearman коефицијента. Наши резултати су представљени у табелама и графички.

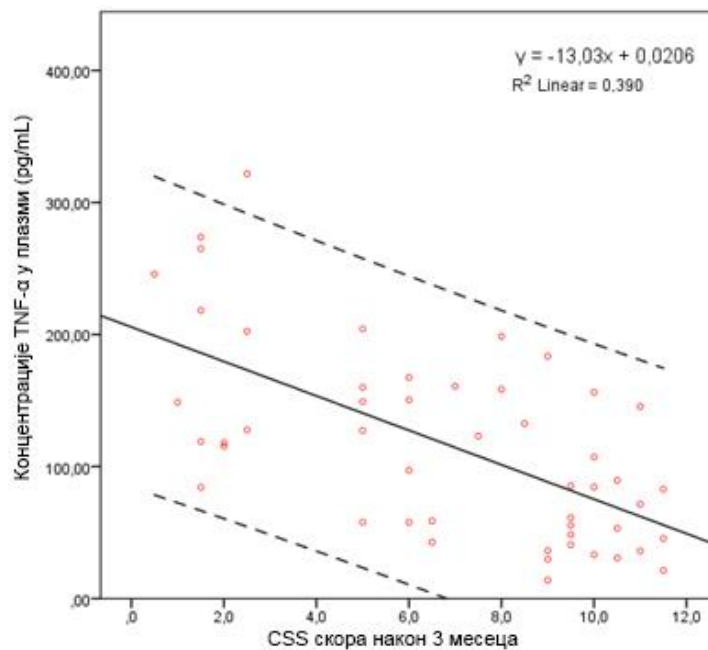
Као што се види из табеле 21 и слика 34 и 35, постоји умерено до јако негативна корелација између концентрације TNF- α у плазми и клиничког стања на пријему и са клиничким исходом после 3 месеца, оба са високим степеном значајности. Негативан знак Spearman коефицијента представља њихову тенденцију за обрнуто кретање у њиховим вредностима. То значи да смањењем концентрације TNF- α у плазми, пацијенти добијају већи резултат CSS, односно бољи неуролошки статус на пријему и након 3 месеца.

Табела 21. Повезаност између концентрације TNF- α у крвној плазми са клиничким варијаблима

Параметар	Spearman ρ коефициент	р-вредност	
CSS резултат при пријему	-0,569	0,000016	p<0,001 (***)
CSS резултат после 3 месеца	-0,570	0,000015	p<0,001 (***)



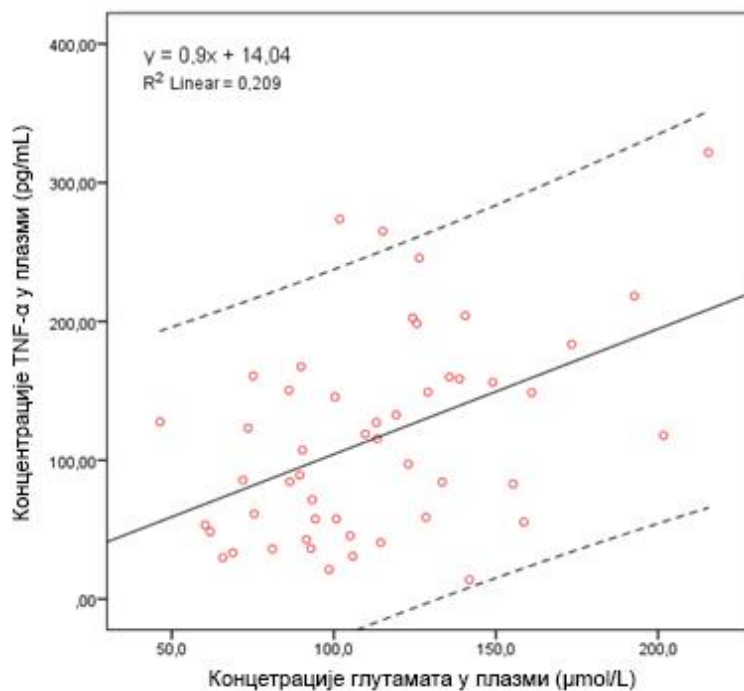
Слика 34. Корелација: концентрације TNF- α у плазми/CSS скова на пријему



Слика 35. Корелација: концентрације TNF- α у плазми/CSS скова након 3 месеца

3.11. Корелација између концентрације глутамата и TNF- α на пријему код пацијената са ИЦХ

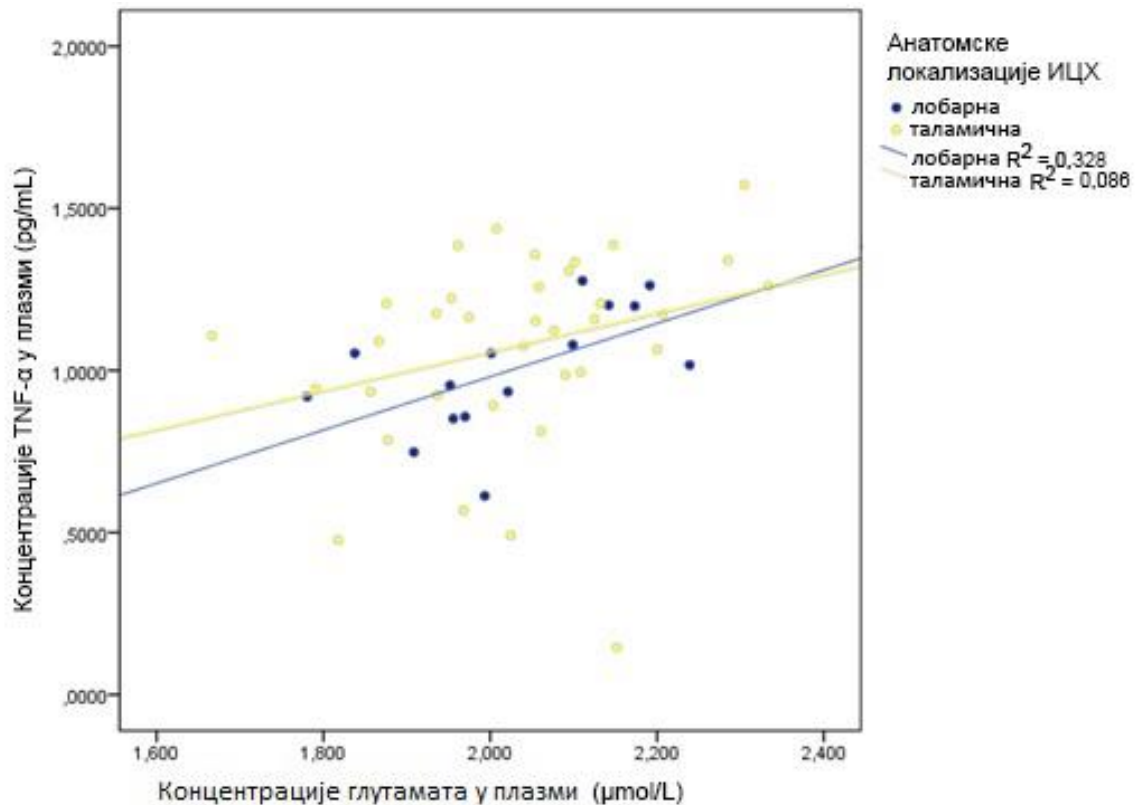
Да би се испитала могућност зависности између концентрације глутамата и TNF- α код пацијената са ИЦХ, изведена је биваријантна статистика са Spearman коефицијентом. Наши резултати су показали слабу корелацију ($\rho=0,399$), са статистичком значајности (* $p=0,004$). Резултати су графички приказани на следећој слици (слика 36).



Слика 36. Корелација између глутамата и TNF- α

Као што се види на слици, иако је корелација ниска, вредности TNF- α прате вредности глутамата, што указује на претпоставку њихове повезаности.

Поред тога, урађена је и регресиона анализа зависности између ове две варијабле у зависности од анатомске локализације ИЦХ (Слика 37). Очигледно је да је јача зависност ове две варијабле код лобарне ИЦХ, а ова зависност је потпуно одсутна код пацијената са дубоком ИЦХ.



Слика 37. Зависност концентрације између TNF- α и глутамата у смислу анатомске локализације ИЦХ. Вредности су log трансформисани.

3.12. Утицај демографских, анатомских, биохемијских, радиолошких и клиничких варијабли на клинички исход после 3 месеца од настанка ИЦХ

У овом одељку биће представљен ефекат свих претходно описаних варијабли (демографских, анатомских, биохемијских, радиолошких и клиничких) на клинички неуролошки исход након 3 месеца.

Прво ћемо пратити разлике у основним демографским и анатомским карактеристикама код пацијената са добрим и лошим клиничким исходом. У наредној табели 22 показане су разлике у полу, старосној структури, присуству *Diabetes mellitus*-а, локализације ИЦХ и хемисферне стране између пацијената који су после 3 месеца имали добар и лош исход.

Као што се види из табеле, не постоји статистички значајна разлика између учесталости мушких и женских лица у погледу њиховог клиничког исхода. Такође, лош клинички исход је подједнако заступљен у свакој од старосних група. Међутим, откривено је да постоји статистички значајна разлика (* $p=0,001$; $p<0,05$) између пацијената са добрим и лошим клиничким исходом у погледу анатомске локализације

ИЦХ. Наиме, знатно већа је учесталост особа које имају дубок ИЦХ и имају лош клинички исход, у поређењу са онима са добрим неуролошким исходом, што указује да локализација ИЦХ може имати велики значај на неуролошки исход после 3 месеца. Без обзира на страну ИЦХ и присуство *Diabetes mellitus*-а, наши резултати су показали сличне вредности клиничког исхода.

Табела 22. Поређење демографских и анатомских карактеристика између пацијената са добрим и лошим клиничким исходом после 3 месеца. Разлике су приказане преко броја појединачна у сопственим групама, а статистичке анализе су изведене преко χ^2 анализа фреквенције.

Карактеристике	Лош исход (CSS<7) n=23	Добар исход (CSS≥7) n=27	Статистика (χ^2 вредност, p вредност)
Пол мушки женски	14 (60,9%) 9 (39,1%)	11 (40,7%) 16 (59,3%)	$\chi^2=2,031$; p=0,156 (n.s.)
Узраст <60 год. 60-70 год. 71-80 год. >80 год.	6 (26,1%) 7 (30,4%) 6 (26,1%) 4 (17,4%)	3 (11,1%) 14 (51,9%) 7 (25,9%) 3 (11,1%)	$\chi^2=3,254$; p=0,354 (n.s.)
<i>Diabetes mellitus</i> да не	17 (73,9%) 6 (26,1%)	22 (81,5%) 5 (18,5%)	$\chi^2=0,415$; p=0,520 (n.s.)
Анат. лок. ИЦХ лобарна баз. ганг.	1 (4,3%) 22 (95,7%)	14 (51,9%) 13 (48,1%)	$\chi^2=13,364$; p=0,0011 (*)
Страна ИЦХ лева десна	13 (56,5%) 10 (43,5%)	13 (48,1%) 14 (51,9%)	$\chi^2=0,349$; p=0,555 (n.s.)

Упоредна разлика у биохемијским, радиолошким и клиничким варијаблама између пацијената са добрим и лошим клиничким исходом после 3 месеца је приказана у следећој табели (Табела 23).

Табела 23. Упоређивање биохемијских, радиолошких и клиничких карактеристика између пацијената са добрим и лошим клиничким исходом после 3 месеца.

Статистичка значајност разлике у вредностима је урађена у складу са Mann-Whitney статистичким тестом.

Карактеристике	Лош исход (CSS<7) n=23 медиана (IQR)	Добар исход (CSS≥7) n=27 медиана (IQR)	Mann-Whitney U-тест за статистичку значајност
Систолни притисак (mm Hg)	180 (25)	175 (10)	p=0,296 (n.s.)
Дијастолни притисак (mm Hg)	100 (150)	100 (10)	p=0,743 (n.s.)
Глукоза у плазми (mmol/L)	7,3 (2,0)	7,6 (1,4)	p=0,508 (n.s.)
Концентрација глутамата (1. дан, μmol/L)	123,0 (34,8)	93,3 (50,5)	p=0,026 (*)
Концентрација TNF-α (1. дан, pg/mL)	148,8 (107,0)	71,5 (96,2)	p=0,001 (*)
Запремина ИЦХ (1. дан, cm ³)	36,0 (32,3)	9,0 (27,1)	p=0,004 (*)
Запремина ИЦХ (5. дан, cm ³)	32,7 (43,9)	12,1 (20,8)	p=0,006 (*)
Запремина перифокалног едема (5. дан, cm ³)	49,0 (61,7)	21,0 (40,8)	p=0,005 (*)
Запремина резидуалне шупљине (након 3. месеца, cm ³)	21,9 (22,1)	7,9 (19,1)	p=0,038 (*)
CSS вредност први дан	2,5 (4,5)	9,5 (1,6)	p=3,2·10⁻⁹ (***)

Као што се види у табели 23, наши резултати нису показали статистички значајну разлику у вредности систолног крвног притиска, дијастолног крвног притиска и нивоа шећера у крви, а статистички значајне разлике у свим осталим биохемијским, радиолошким и клиничким варијаблама су детектоване између пацијената са добрим и лошим клиничким исходом после 3 месеца. У односу на пацијенте са добрим исходом, болесници са лошим исходом имају статистички већу концентрацију глутамата у плазми при пријему, (*p=0,026; p<0,05), веће концентрације TNF-α у плазми при пријему (*p=0,001; p<0,05), већу запремину ИЦХ при пријему (*p=0,004; p<0,05), већу запремину ИЦХ после 5. дана (*p=0,006; p<0,05), већу запремину перифокалног едема после 5. дана (*p=0,005; p<0,05), већу запремину резидуалне шупљине након 3. месеца (*p=0,038; p<0,05) и свакако нижи CSS резултат на пријему (**p=3,2·10⁻⁹; p<0,001). Такве откривене разлике између пацијената са добрим и лошим исходом су веома важне, јер указују на то да је лош исход повезан са неколико варијабли које би се могле користити за предвиђање истог.

У циљу одређивања који од следећих параметара се могу користити као предиктори за процену лошег неуролошког исхода након 3. месеца, спровели смо

бинарну логистичку регресију. У моделу логистичке регресије, почетне биохемијске (концентрација глутамата и TNF- α при пријему), радиолошке (запремина ИЦХ (1. дан)) и анатомске варијабле (дубока локализација ИЦХ) били су укључени као независни предиктори неуролошког исхода. Наши резултати су приказани у следећој табели (Табела 24).

Табела 24. Прилагођен OR лошег неуролошког исхода после 3 месеца у погледу посматраних биохемијских, анатомских и радиолошких варијабли. Значајни предиктори приказани су масним словима. (варијабле су log трансформисане)

Независни предиктори	B	S.E.	Wald тест	p	OR	95% CI за OR	
						(доња)	(горња)
Концентрација глутамата у плазми, први дан ($\mu\text{mol/L}$)	4,680	3,449	1,841	0,175	107,734	0,125	92998,926
Концентрација TNF- α у плазми, први дан (pg/mL)	3,646	1,979	3,394	0,065	38,335	0,792	1855,322
Запремина ИЦХ (1. дан, cm^3)	1,274	1,137	1,255	0,263	3,575	0,385	33,199
Дубока локализација ИЦХ	4,568	1,432	10,169	0,001(*)	96,329	5,814	1595,915
Константа	-22,077	8,643	6,525	0,011	0,000	/	/

Као што се види у табели 24, нажалост, очигледно је да ни концентрација глутамата нити концентрација TNF- α при пријему, не представљају значајне предикторе лошег исхода. Према моделу, иницијална запремина ИЦХ при пријему такође није процењена као добар предиктор лошег исхода. Само се испоставило да је анатомска локализација ИЦХ прецизан предиктор који „диктира” лош исход код пацијената. Тако, према добијеном моделу, пацијенти са дубоким (таламичним) ИЦХ имају чак 96 пута већу шансу лошег неуролошког исхода у поређењу са пацијентима код лобарног ИЦХ. Анатомска локализација ИЦХ очигледно има кључну улогу на утицај неуролошког исхода код пацијената и, сигурно, дубоке ИЦХ треба узети у обзир као најважнији фактор ризика за лош неуролошки исход.

Иако биохемијским варијаблама су искључени као значајни предиктори лошег исхода, неколико статистичких тестова су потврдили снажан предиктивни капацитет овог модела. Omnibus тест ($\chi^2=33,839$; $p=8,08 \cdot 10^{-7}$) потврђује високу значајност овог модела, а добијена вредност Nagelkerke R^2 показала је да 65,7% варијабилности неуролошког исхода после три месеца може се објаснити преко анатомске

локализације ИЦХ. Према Hosmer-Lemeshow тесту ($\chi^2=7,640$; $p=0,469$), модел је оцењен као добар, са прецизном класификацијом и предиктивним моћима. Тачност модела је потврђена кроз класификационе тачности. Наиме, након укључивања предиктора, тачност модела повећана је за 32% (од 54% за нулти модел, до 86% за укупни модел), што указује да ће 86% од процењеног исхода бити исправно тумачено овим моделом (87% сензитивности и 85% специфичности за детекцију лошег исхода).

У циљу даљег продубљивања проблема прогнозе лошег неуролошког исхода након 3. месеца, извршена је друга логистичка регресиона анализа у којој је праћена улога пола, концентрације глутамата, концентрације TNF- α и запремина ИЦХ (1. дан), као предиктора лошег исхода. Резултати добијеног модела приказани су у следећој табели (табела 25).

Према нашем другом моделу, поново се показало да концентрације глутамата и запремине ИЦХ (1. дан) нису значајни предиктори за процену неуролошког исхода код пацијената 3. месеца после ИЦХ. Такође, пол није значајан предиктор неуролошког исхода после 3 месеца, односно и мушкарци и жене имају једнаку шансу за лош исход. Насупрот томе, други модел показао је да се високе концентрације TNF- α у плазми могу сматрати фактором ризика за лош неуролошки исход после три месеца. Повећање од 1 јединице $\log(\text{TNF-}\alpha)$ било је удружено са 23 пута већим шансама за лош исход, наглашавајући важност овог маркера за прогнозу ИЦХ.

Табела 25. Други модел бинарне логистичке регресије. Прилагођени OR лошег неуролошког исхода после 3. месеца у односу на одабране демографске, биохемијске и радиолошке варијабле. Значајни предиктори приказани су масним словима.

(варијабле су \log трансформисани)

Независни предиктори	B	S.E.	Wald тест	P	OR	95% CI за OR	
						(доња)	(горња)
Пол (мушки)	0,661	0,680	0,946	0,331	1,937	0,511	7,341
Концентрација глутамата у плазми, први дан ($\mu\text{mol/L}$)	1,504	2,656	0,321	0,571	4,501	0,025	820,604
Концентрација на TNF- α у плазми, први дан (pg/mL)	3,145	1,517	4,300	0,038 (*)	23,229	1,188	454,145
Запремина ИЦХ (1. дан, cm^3)	0,463	0,881	0,276	0,599	1,589	0,283	8,930
Константа	-10,432	5,349	3,803	0,051	0,000	/	/

Улога TNF- α као предиктора лошег исхода није детектована у нашем првом моделу, мада тренд њеног укључивања као значајна варијабла је детектован (p вредност 0,065, скоро 0,05). Највероватније, улога TNF- α била је „засењена” у првом моделу изузетно јаким дејством анатомске локализације ИЦХ који се показао доминантан. Након његовог искључења у другом моделу, концентрација TNF- α на пријему је оцењена као значајан и важан предиктор лошег неуролошког исхода.

Други модел је оцењен са средњим предиктивним капацитетом. Omnibus тест ($\chi^2=14,98$; $p=0,005$) потврђује високу значајност модела, а добијена вредност Nagelkerke R^2 показује да, нажалост, само 34,6% варијабилности неуролошког исхода после трећег месеца може се објаснити преко укључених предиктора. Према Hosmer-Lemeshow тесту ($\chi^2=10,951$; $p=0,205$), модел је оцењен као добар, са прецизном класификацијом и предиктивном моћи. Тачност модела је потврђена кроз класификациону прецизност. Наиме, након укључивања предиктора, иста је повећана за 20% (од за 54% нултог модела, до за 74% укупног модела), што указује да ће 74% процењеног исхода исправно тумачити овај модел (74% сензитивности и 74% специфичности за детекцију лошег исхода).

С обзиром да се клинички исход пацијената после 3. месеца процењује на основу CSS резултата, извршена је даља мултипла регресиона анализа у циљу стварања модела који може да предвиди CSS скор након 3. месеца, на основу анатомских, биохемијских и радиолошких варијабли при пријему. Наши резултати су приказани у следећој табели (Табела 26).

Табела 26. Регресиони коефицијенти за CSS скор после 3 месеца са посматраним анатомским, радиолошким и биохемијским варијаблама првог дана (log трансформисани). Значајни предиктори приказани су масним словима.

Независни предиктори	Стандардизовани β коефицијенти	p вредност
Пол	-0,070	0,509 (n.s.)
Анатомска локализација ИЦХ	-0,427	0,0002 (***)p<0,001
Систолни крвни притисак (mm Hg)	0,083	0,456 (n.s.)
Дијастолни притисак (mm Hg)	-0,093	0,389 (n.s.)
Концентрација глукозе у крви (mmol/L)	0,155	0,138 (n.s.)
Концентрација глутамата у плазми ($\mu\text{mol /L}$)	-0,166	0,136 (n.s.)
Концентрација TNF-α у плазми (pg/mL)	-0,521	0,000008 (***)p<0,001
Запремина ИЦХ (1. дан, cm^3)	-0,231	0,078 (n.s.)

Као што смо видели, на основу генерисаног модела, концентрација TNF- α у плазми при пријему и анатомска локализација ИЦХ су једини значајни предиктори за CSS резултат 3. месеца након ИЦХ. Наиме, пошто коефицијенти имају негативан предзнак, то значи да колико је повишен ниво TNF- α у плазми при пријему, толико се снижен CSS резултат после 3. месеца може очекивати, односно још гори исход. Пошто је анатомска локализација категорична променљива, то значи да пацијенти који имају дубок ИЦХ, додатна вредност CSS резултата ће бити мања за -0.427 , односно, дубока ИЦХ предвиђа ниже вредности за CSS и, касније, гори исход.

На основу овог модела, следеће једначине за предвиђање CSS резултата може бити изведена:

$$\log \text{ CSS скор} = -0,521 \cdot \log c(\text{TNF-}\alpha) + 2,071 \text{ (у лобарним ИЦХ)}$$

$$\log \text{ CSS скор} = -0,521 \cdot \log c(\text{TNF-}\alpha) + 2,071 - 0,427 \text{ (у таламичним ИЦХ)}$$

Карактеристике добијеног модела су следеће:

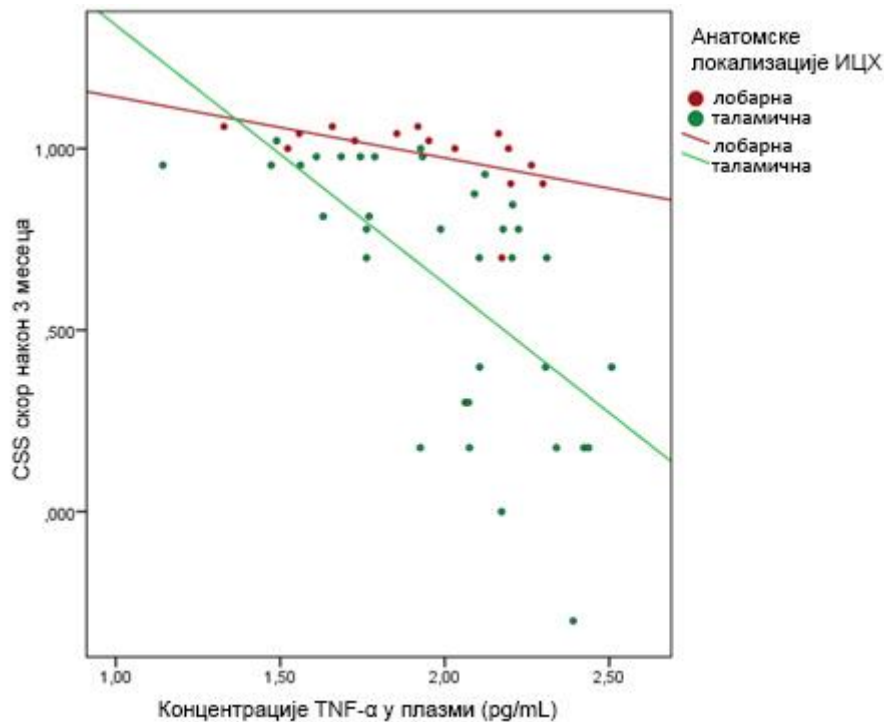
$$R^2=0,495;$$

$$\text{прилагођен } R^2=0,474;$$

$$\text{стандардна грешка процјене}=0,246438$$

$$\text{ANOVA резиме за степен значајности модела: } F=23,060; p=1,05 \cdot 10^{-7}$$

Коригована R^2 вредност представља умерено јаку зависност, са високим степеном значајности од стране ANOVA. Резултати мултипле регресије су моделирани и графички приказани у следећој слици (Слика 38).



Слика 38. Модел мултипле регресионе анализе о зависности CSS скор након 3. месеца са концентрацијом TNF- α при пријему и анатомском локализацијом ИЦХ. Вредности су log трансформисане.

Са слике се јасно види да у дубокој (таламичној) хеморагији се очекује да CSS скор после 3. месеца има много оштрији пад, у односу на лобарни који независно од промена у концентрацији TNF- α нису показали велику варијацију CSS резултата. То упућује на закључак да, можда већи број рецептора за TNF- α је присутно у таламусу, у поређењу са лобарним делом мозга, што доводи до већег неуролошког погоршања.

3.13. Мултипла регресиона анализа за процену варијабли које утичу на развој запремине перифокалног едема код пацијената са ИЦХ

У овом делу ће бити обрађена три регресиона модела који имају за циљ да објасне ефекте:

1. Концентрације TNF- α при пријему као предиктора за развој запремине перифокалног едема после 5. дана;
2. Концентрације глутамата и TNF- α при пријему, како заједно утичу на запремину перифокалног едема после 5. дана;

3. Концентрације глутамата, TNF- α , артеријског крвног притиска, глукозе у крви и запремине ИЦХ при пријему како заједно утичу на запремину перифокалног едема (5. дан);

3.13.1. Утицај концентрације TNF- α при пријему као предиктора за развој запремине перифокалног едема после 5. дана

Наши резултати о утицају концентрације TNF- α при пријему као предиктора за величине запремине перифокалног едема после 5. дана су приказани у табели 27.

Табела 27. Регресиони коефицијенти за запремину перифокалног едема после 5. дана, у односу на концентрацију TNF- α (log трансформисани), пол и анатомску локализацију ИЦХ

Независни предиктори	β коефицијент	p вредност
Концентрација TNF- α у плазми (pg/ml)	1,290	0,002 (*p<0,050)
Пол	0,003	0,976 (n.s.)
Анатомска локализација ИЦХ	-0,106	0,270 (n.s.)

Као што се види из табеле, пол и анатомска локализација ИЦХ су искључени као несигнификантни предиктори запремине перифокалног едема после 5. дана. Према том моделу, само концентрација TNF- α у плазми при пријему може се сматрати значајним предиктором за величине перифокалног едема. Следећа једначина за модел мултипле регресије може се представити добијеним резултатима:

$$\log V(\text{перифокални едем, 5}^{\text{ти}} \text{ дан}) = 0,080 + 1,290 \cdot \log c(\text{TNF-}\alpha, \text{ први дан})$$

Карактеристике за добијени модел су следеће:

$$R^2=0,552;$$

$$\text{Прилагођен } R^2=0,543;$$

$$\text{Стандардна грешка процене}=0,320211$$

$$\text{ANOVA резиме за степен значајности модела: } F=59,252; p=6,3 \cdot 10^{-9}$$

Коригована R^2 вредност говори о умереној јачини зависности са високим степеном значаја од стране ANOVA .

3.13.2. Утицај концентрације TNF- α и глутамата при пријему као фактори ризика за развој запремине перифокалног едема после 5. дана

Наши резултати о утицају концентрације TNF- α и глутамата при пријему као фактора ризика за развој запремине перифокалног едема после 5. дана су приказани у Табели 28.

Табела 28. Регресиони коефицијенти за запремину перифокалног едема после 5. дана у односу на концентрације TNF- α и глутамата (log трансформисани), пола и анатомске локализације ИЦХ

Независни предиктори	β коефицијент	p вредност
Концентрација TNF- α у плазми (pg/ml)	1,089	1,3\cdot10⁻⁸ (***)p<0,001)
Концентрација глутамата у плазми (μ mol/l)	1,131	0,001 (*p<0,050)
Пол	-0,054	0,872 (n.s.)
Анатомска локализација ИЦХ	-0,101	0,985 (n.s.)

Према овом моделу, опет пол и анатомска локализација ИЦХ су искључени као незначајни предиктори за развој перифокалног едема. Међутим, наши резултати су показали да концентрација TNF- α и ексцитотоксичност глутамата заједно доприносе развоју перифокалног едема после 5. дана.

Следећа једначина модела мултипле регресије може бити представљена добијеним резултатима:

$$\log V(\text{перифокални едем, 5}^{\text{ти}} \text{ дан}) = -2,005 + 1,089 \cdot \log c(\text{TNF-}\alpha, \text{ први дан}) + 1,131 \cdot \log c(\text{глутамат, први дан})$$

Карактеристике за добијени модел су следеће:

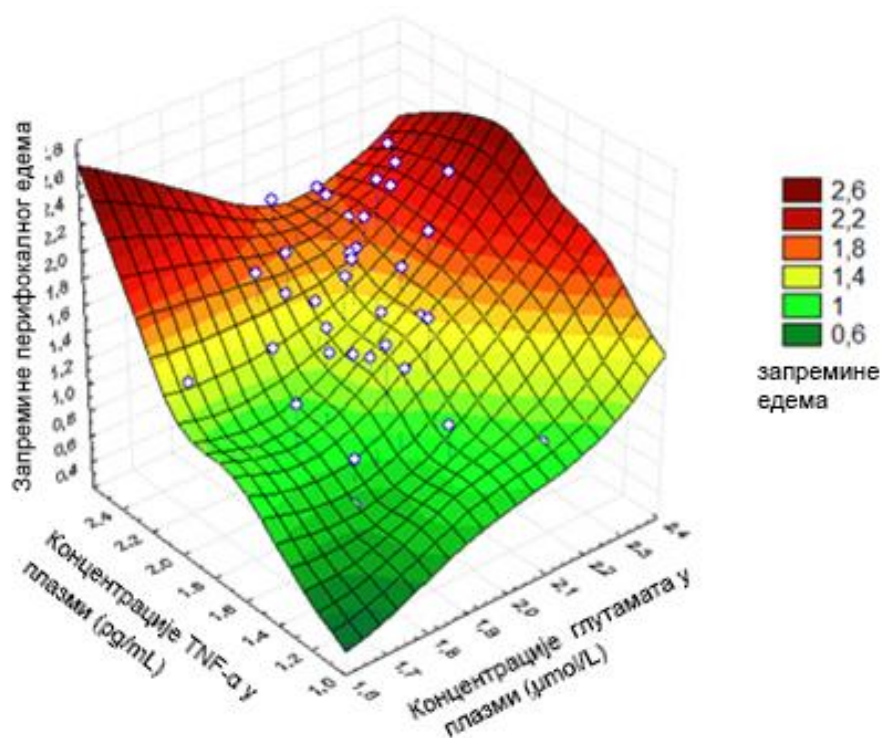
$$R^2=0,654;$$

$$\text{Прилагођен } R^2=0,639;$$

$$\text{Стандардна грешка процјене}=0,284675$$

$$\text{ANOVA резиме степена значајности модела: } F=44,350; p=1,5 \cdot 10^{-11}$$

Пошто једначина описује зависност запремине перифокалног едема од две варијабле, може се генерисати 3D график са x , y , z осама. Генерисани графикон је приказан на слици 39.



Слика 39. Графички приказ зависности запремине перифокалног едема од концентрације TNF- α и глутамата. Вредности су логаритамски трансформисане.

3.13.3. Утицај концентрације глутамата, TNF- α , артеријског крвног притиска, нивоа шећера у крви и запремину ИЦХ при пријему на запремину перифокалног едема (5. дан)

Последњи модел је дизајниран да објасни утицај биохемијских и радиолошких варијабли на пријему (први дан) у развоју запремине перифокалног едема након 5. дана. Резултати су приказани у табели 29.

Према нашем најновијем моделу мултипле регресије, пол, анатомска локализација ИЦХ, страна ИЦХ, систолни крвни притисак, дијастолни крвни притисак и концентрација глукозе у крви нису идентификовани као значајни предиктори у развоју перифокалног едема, односно, величина запремине перифокалног едема није „диктирана” према полу, локацији ИЦХ, износу артеријског крвног притиска и нивоу шећера у крви. Насупрот томе, наши резултати су показали да концентрација TNF- α ,

ексцитотоксичност глутамата и запремине ИЦХ при пријему заједно доприносе развоју перифокалног едема након 5. дана и ове три варијабле могу се сматрати значајним предикторима у моделу. Међутим, на основу остварених коефицијената, очигледно је да концентрација TNF- α има највећи допринос запремини ИЦХ.

Табела 29. Регресиони коефицијенти за запремину перифокалног едема у односу на радиолошке и биохемијске варијабле првог дана (log трансформисани)

Независни предиктори	Стандардизовани β коефицијенти	p вредност
Пол	-0,051	0,525 (n.s.)
Анатомска локализација ИЦХ	-0,062	0,408 (n.s.)
Страна ИЦХ	0,001	0,989 (n.s.)
Систолни крвни притисак (mm Hg)	0,056	0,460 (n.s.)
Дијастолни притисак (mm Hg)	0,089	0,259 (n.s.)
Концентрација глукозе у крви (mmol/L)	0,043	0,394 (n.s.)
Концентрација глутамата у плазми (μmol/L)	0,232	0,007 (*p<0,05)
Концентрација TNF-α у плазми (pg/mL)	0,423	0,000031 (***p<0,001)
Запремина ИЦХ приликом пријема (1.дан, cm³)	0,409	0,000092 (***p<0,001)

Следећа једначина модела мултипле регресије може се представити резултатима:

$$\log V(\text{перифокални едем, 5}^{\text{ти}} \text{ дан}) = -1,424 + 0,423 \cdot \log c(\text{TNF-}\alpha, \text{ први дан}) + 0,232 \cdot \log c(\text{глутамат, први дан}) + 0,409 \cdot \log V(\text{ИЦХ на пријему, први дан})$$

Карактеристике за добијени модел су следеће:

$$R^2=0,753;$$

$$\text{Прилагођен } R^2=0,736;$$

$$\text{Стандардна грешка процјене}=0,243234$$

$$\text{ANOVA резиме степена значајности модела: } F=46,626; p=5,4 \cdot 10^{-14}$$

Као што је наведено, коригована R^2 вредност модела је већа од претходно створена два модела (0,736, у поређењу са 0,543 и 0,639 за први односно други модел), што указује да овај модел треба сматрати као највалиднији са највишом предиктивном моћи.

3.14. Интеракција између концентрација глутамата и TNF- α у развоју перифокалног едема 5 дана после ИЦХ

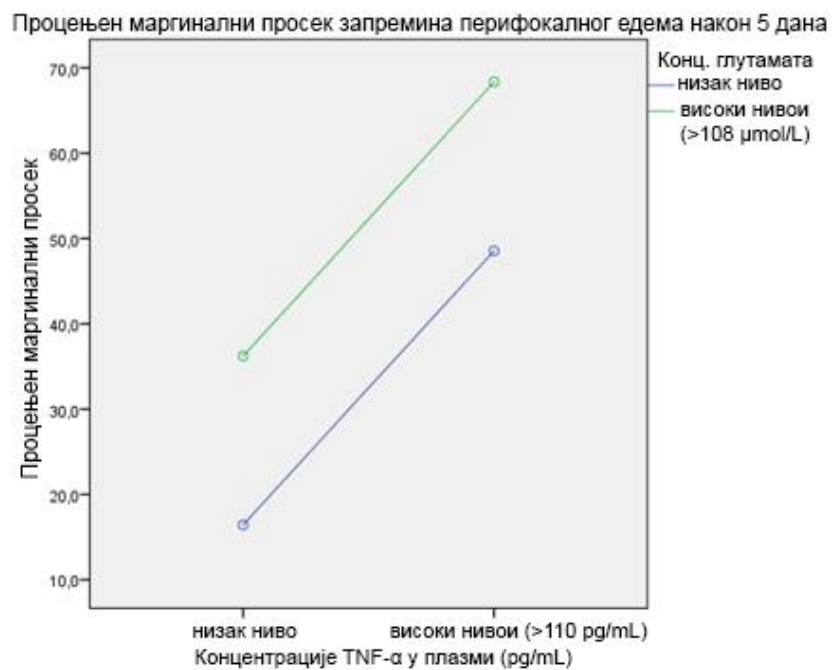
Тестирање интеракције између два биохемијска маркера на развоју перифокалног едема је изведена помоћу модерационе анализе, мултиплицирањем концентрације глутамата и TNF- α . Резултати су приказани у следећој табели (табела 30).

Табела 30. Модерациона анализа за интеракцију између глутамата и TNF- α код запремине перифокалног едема (log трансформисани)

Предиктор	Стандардизовани β коефицијенти	p вредност
Концентрација глутамата	0,884	0,001 (*p<0,05)
Концентрација TNF- α	2,624	0,020 (*p<0,05)
Глутамат \times TNF- α	-2,246	0,152 (n.s.)

Као што се може видети, интеракција између глутамата и TNF- α није статистички значајан предиктор развоја едема, иако појединачно, ове две варијабле доприносе њеном развоју. Наиме, евидентно је да улога TNF- α је далеко јача него глутамата у развоју едема.

Додатно, извели смо two-way ANOVA анализу да би анализирали интеракцију између варијабли. На основу средње вредности, болесници су подељени у две групе: са ниском и високом концентрацијом глутамата и TNF- α . Притом је анализиран утицај интеракције између нивоа ових параметара (ниским или високим) код развоја перифокалног едема. Ова анализа је потврдила одсуство значајније интеракције (F=0,000; p=0,999), слика 40.



Слика 40. Ефекат интеракције глутамата и TNF-α у развоју перифокалног едема.

Очигледно, не постоји интеракција између ова два маркера за развој едема и вероватно сваки од њих независно доприноси развоју истог, без синергије између њих.

4. Дискусија

Детриментални ефекти ексцитотоксичности код исхемичног možданог удара били су централни фокус истраживања дугих година уназад [110], али допринос глутамата на секундарна оштећења мозга након ИЦХ-а почео је да се истражује у последњих 10 година, са мање или више контрадикторним резултатима у односу на друге механизме који су најчешће представљени као примарни у патогенези ИЦХ, као што су ефекти тромбина [111], ИЦХ-индуковани оксидативни стрес [112], ослобађање хемоглобина [111] и инфламаторних механизма.

Први налази повећаних екстрацелуларних нивоа глутамата након ИЦХ су добијени коришћењем технике *in vivo* микродијализе у мозгу експерименталних животиња са индукованом ИЦХ [73]. Аутори рада открили су 4-струко повећање глутамата ипсилатерално од хематома 30 минута након ИЦХ, који су остали повишени у наредних 5 сати. Међутим, до сада, само неколико студија су испитале улогу блокирања акумулације глутамата на оштећења мозга након ИЦХ. Mendelow (1993) [113], сугерише да D-CPP антагониста на NMDA рецептору смањује едем код пацова. Такође, у анималне моделе ИЦХ са колагеназом, показано је да некомпетитивни антагониста NMDA рецептора – мемантин, изазива смањење експанзије хематома, смањење ћелијске смрти и смањење инфилтрације имунских ћелија [114]. Ови резултати указују да ексцитотоксичност може бити важан механизам за ћелијску смрт након ИЦХ. Међутим, касније, Sharp et al. (2008) [115], користећи геномски приступ препознаје 20-струко повећање експресије члана Src породице - Lyn у мозгу након ИЦХ, која се бави регулацијом NMDA рецептора преко фосфорилације. На основу тога, они сугеришу да ИЦХ индукује продукцију тромбина након хеморагије, која резултира са Src активацијом, што доприноси фосфорилацији NMDA рецептора, што заузврат доводи до оштећења. Према томе, одређени аутори сугеришу да одређени механизми преко којих глутамат доприноси ИЦХ-индукованог оштећења мозга су специфичне [111], и разликују се од оних у исхемијским оштећењима.

Насупрот томе, ефекти TNF- α након ИЦХ-индукованог оштећења мозга су добро познати. На пример, недавно Behrouz (2016) [78] је предложио модел за допринос TNF- α у развоју едема, на основу претходних резултата који показују да производња тромбина покреће ослобађање TNF- α у мозгу [53] [82]. Очигледно, повећани нивои TNF- α активирају рецепторе на микроглијама и астроцитима и такође

су укључени у регулацију пропустљивости крвно-мождане баријере и глутаминергичну трансмисију [28].

У нашој студији смо показали повећане нивое глутамата и TNF- α у плазми пацијената са ИЦХ, у поређењу са здравим особама. Очигледно, ови резултати одражавају претходно наведене абнормалности у мозгу у животињским моделима са ИЦХ, вероватно због повећане пропустљивости крвно-мождане баријере и потом, њиховог инфлуksа у крви.

Међутим, само неколико истраживања су до сада испитала ефекат ова два маркера у периферној крви код пацијената са ИЦХ. Ми ћемо започети дискусију тако што ћемо прво упоређивати дизајн ових студија са нашом студијом.

У односу на полну дистрибуцију пацијената са ИЦХ, неке студије описују благу доминацију мушкараца у односу на жене [10], [11], [59], [96], за разлику од испитаника у нашој студији где постоји једнак број мушких и женских особа. У контексту овога, само ћемо споменути да од 10 пацијената који су били искључени из даље статистичке анализе због горепоменутих погоршања клиничке слике, 6 пацијената били су мушкарци, а 4 жене, што доводи у прилог мушкој доминацији. Анализа старосне структуре испитаника (доминација 7. деценије) су конзистентни са бројним клиничким испитивањима где су најзаступљенији ИЦХ пацијенти у старосном интервалу 60-70 година [59], [96], [116] [117], [118], [119], [120].

У вези са анатомском локализацијом хематома, у литератури постоје различити подаци. Поред доминације дубоких (таламичних) локализација су студије Weimar и сар. (63.5% дубока/лобарна 33.8%) [121], Passero и сар. (60% дубока/лобарна 25%) [120] и Gebel и сар. (69% дубока/лобарна 15%) [117]. Мањи број студија показује доминацију лобарне локализације у односу на дубоке, а једна од тих студија је Steiner и сар. (лобарна 55%, 29% таламична) [122].

Што се тиче поређења наших резултата са резултатима других студија у смислу радиолошких варијабли, треба истаћи да у литератури постоји много различитих података. Они углавном зависе од укључених критеријума код пацијената, односно у студијама које укључују пацијенте са дубоким сопором или комом, запремине интрацеребралног хематома при пријему и потом хематома и перифокалног едема после 5. дана, и запремине резидуалне шупљине после 3. месеца, имају веће

вредности. У студији Castillo и сар., где су били укључени пацијенти са релативно бољом клиничком сликом (без дубоког сопора/коме), према Глазгов Кома Скали (Glasgow Coma Scale) GCS>12, просечна вредност почетне ИЦХ је била 53,5 mL, запремина перифокалног едема и хематома после 5 дана 53,5 mL (непромењене у односу на почетни хематом) и 22 mL, док је запремина резидуалне шупљине после 3 месеца 25 mL [86].

Што се тиче наше студије, у анализи радиолошких варијабли може се констатовати да је запремина интрацеребралних хематома након 5. дана показала благи пад у односу на вредности при пријему, али постоји и значајна појава перифокалног едема око самог хематома, са укупном вредношћу, заједно са хематомом, око 2 пута већом од иницијалне запремине хематома, која објашњава погоршање клиничке слике која се јавља код многих пацијената, у том периоду од 3-5 дана након настанка можданог удара.

Што се тиче постојећих резултата из других студија око клиничког исхода, треба нагласити као и раније, да то у великој мери зависи од критеријума укључивања одговарајуће студије. Конкретно, у овим студијама у којима су укључени пацијенти са тежом клиничком сликом при пријему, очекује се и гори клинички исход после 3 месеца, и обрнуто. За поређење, у студији Castellanos-а и сар. [123], након тромесечног интервала праћења болесника са ИЦХ и њихово вредновање од стране CSS скале, добар исход имали су 45 пацијената од 138, односно 32.6%. У студији Tergeno и сар. након тромесечног интервала праћења, 36,1% болесника са ИЦХ имали су добар исход [124]. Према студији Castillo и сар., добар исход је имало 57% пацијената са ИЦХ [86], што је приближно нашем резултату од 54%.

Међутим, главне варијабле у нашој студији су глутамат и TNF- α и стога ће се даља дискусија односити на ове варијабле. До сада повишени нивои TNF- α су описани као предиктори повећане смртности код пацијената на интензивној нези [125]. Повишени периферни нивои TNF- α су били такође представљани као предиктори за рани раст хематома и били су повезани са повећаним ризиком од морталитета и лошег неуролошког исхода после три месеца, што је у складу са нашим резултатима [62]. Intiso и сар. (2004) такође су показали повишен ниво TNF- α код пацијената са исхемичним можданим ударом, у поређењу са здравим особама [126]. На основу ових података, Maas and Furie (2009) наводе TNF- α као молекуларни маркер који се може

користити за разликовање исхемичног и хеморагичног удара и као маркер који је важан за рану дијагнозу ИЦХ, али потенцијално користан и за субакутну дијагнозу [127]. Yang и Shao (2016) су открили значајно више нивое TNF- α код пацијената са хипертензивном ИЦХ при пријему, у поређењу са здравим контролним особама ($115,36 \pm 30,65$ pg/mL наспрам $24,03 \pm 9,12$ pg/mL) [85], што је врло близу нашим резултатима ($111,0 \pm 104,01$ pg/mL код пацијената, наспрот $21,0 \pm 26,0$ pg/mL код здравих испитаника).

Студије о периферним нивоима глутамата код пацијената са ИЦХ су доста ређе; у том контексту, на пример Castillo и сар. (2002) су показали значајне разлике у нивоима глутамата између пацијената са добрим и лошим неуролошким исходом [86], али ова студија не укључује контролну групу за поређење вредности.

Међутим, у свету, од стране Tanphaichitr и сар. [128] се наводе референтне вредности: $22,4 \pm 3,2$ nmol/mL глутамата у плазми код здравих особа (која је иста бројчана вредност изражена у $\mu\text{mol/L}$), док према Po-Jung Tsai: $33,2 \pm 15,4$ $\mu\text{mol/L}$ [129]. У истој студији, аутори истичу да је концентрација глутамата у плазми једна од најнижих у поређењу са другим аминокиселинама, али и једна од најконстантнијих, односно са најмањим степеном варијабилности у погледу исхране [129]. Наши резултати о концентрацији глутамата код здравих особа (медиана $31,13$ $\mu\text{mol/L}$ са интерквartilним рангом од $22,82$ $\mu\text{mol/L}$) су веома близу оним извештајима Po-Jung Tsai. С обзиром да је разлика у вредностима нивоа глутамата између здравих особа и пацијената са ИЦХ еклатантна, може се закључити да је глутамат важан молекуларни маркер ексцитотоксичности, чија концентрација значајно расте одмах после појаве интрацеребралног крварења. У Републици Македонији до сада нису објављени студијски резултати референтних вредности глутамата у плазми човека и, наиме, ово су први резултати за референтне вредности за концентрацију глутамата у плазми.

У оквиру нашег истраживања, нису откривени значајни ефекти пола, узраста, анатомске локализације ИЦХ и хемисферне стране на концентрације глутамата и TNF- α код пацијената са ИЦХ. Међутим, нивои глутамата и TNF- α су били у корелацији са тежином симптома (клиничком сликом) и почетном запремином ИЦХ, и запремином хематома 5. дана после ИЦХ. Ови резултати су у доброј сагласности са неколико студија до данас. Стога, Maas и Furie (2009) [127] су такође показали да периферни нивои TNF- α су у корелацији са тежином симптома, првобитне запремине ИЦХ и

прогнозе исхода. Yang и Shao (2016) [85] такође су показали да пацијенти са тежом клиничком сликом имају више нивое TNF- α .

У овој студији, такође смо претпоставили да анатомска локализација ИЦХ и хемисферне стране хематома утиче на периферне нивое глутамата и TNF- α . Међутим, статистички тестови показали су одсуство значајног ефекта ових варијабли на нивое глутамата и TNF- α . У складу са овим резултатима, очигледно интензитет симптома и иницијалне запремине ИЦХ су главни покретачи варијабли у варијабилности нивоа глутамата и TNF- α код пацијената са ИЦХ.

Позитивна корелација глутамата и TNF- α у плазми са радиолошким варијаблима (волумена ИЦХ при пријему и након 5. дана, волумена перифокалног едема након 5. дана и волумена резидуалне шупљине након 3. месеца), такође су приказане у студији Castillo и сар. [86]. Негативна корелација између концентрације глутамата у плазми са клиничким варијаблима (CSS резултата при пријему и после 3. месеца) такође показује преклапање са горе наведеним студијама [86].

Што се тиче клиничког исхода, наши резултати су показали да не зависе од пола и старости. Такође, није било статистички значајне разлике у вредностима за систолни крвни притисак, дијастолни крвни притисак и ниво глукозе у крви између појединаца са добрим и лошим клиничким исходом, резултат који је добијен и у другим студијама [86]. Значајно већа учесталост особа које су имале дубоку ИЦХ примећена је код пацијената са лошим исходом, у поређењу са онима са добрим неуролошким исходом, што указује да локализација ИЦХ може имати велики значај на неуролошки исход после 3 месеца. С друге стране, без обзира на хемисферну страну ИЦХ, наши резултати су показали сличне вредности за клинички исход.

У погледу пацијената са добрим исходом, пацијенти са лошим исходом имали су статистички већу концентрацију глутамата и TNF- α у плазми при пријему, већу запремину ИЦХ при пријему, већу запремину ИЦХ и перифокалног едема након 5. дана, већи волумен резидуалне шупљине након 3. месеца, а свакако мањи CSS скор на пријему. Ови резултати су такође исти и код извештаја и проучавања Castillo и сар. (2002) [86].

Међутим, након извршене логистичке регресије је показано да анатомска локализација ИЦХ је једини значајни предиктор за лош исход код болесника, док су

концентрације глутамата и TNF- α биле искључене као незначајни предиктори. Према добијеном моделу, утврђено је да болесници са дубоким (таламичним) ИЦХ имају чак 96 пута већу шансу лошег неуролошког исхода у поређењу са пацијентима са лобарним ИЦХ. Овај резултат је очекиван, јер је познато да фокални неуролошки дефицит зависи од локализације интрацеребралног хематома [93], [94]. С обзиром да је овај ефекат веома јак, ми претпостављамо да, можда, и остале променљиве доприносе овом исходу, али су „у сенци” екстремног дејства анатомске локализације, па смо одлучили да извршимо и другу анализу у којој анатомска локализација ИЦХ није била укључена. Након његовог искључивања у другом моделу, концентрација TNF- α при пријему је оцењена као значајна и важна за предвиђање лошег неуролошког исхода. По извршеној мултиплој регресији показало се да нивои TNF- α и анатомска локализација ИЦХ заједно утичу на CSS резултат након 3. месеца, а самим тим и на неуролошки исход. Ови резултати се не поклапају са неким студијама које указују да концентрација глутамата уместо TNF- α представља значајнији предиктор лошег исхода [86], али постоји врло добра сагласност са истраживањима других аутора који су такође показали да висок ниво TNF- α јесте предиктор лошег исхода код пацијената [62] и да представља фактор ризика за повећану смртност [125]. На основу ових резултата, ми предлажемо да висок ниво TNF- α доприноси лошем неуролошком исходу код пацијената, међутим, треба имати на уму да је анатомска локализација ИЦХ главни предиктор који „диктира” лош исход.

Што се тиче ефеката клиничких, биохемијских и радиолошких КТ варијабли на развој волумена перифокалног едема, развијен је модел мултипле регресије који показује да почетна запремина ИЦХ, као и два биохемијска маркера (глутамат и TNF- α) представљају значајне предикторе за развој едема. Овај резултат није у складу са неким ранијим истраживањима, где је TNF- α процењен као једини значајан биомаркер који доприноси развоју едема (Castilo и сар., 2002). [86] Међутим, аутори у истом раду показују позитивну корелацију између нивоа глутамата у крвној плазми и волумена едема, указујући да ексцитотоксичност и инфламација доприносе секундарној повреди мозга. У нашој студији смо показали одсуство интеракције између ова два маркера, што указује да глутамат и TNF- α независно доприносе развоју едема.

Ови резултати су у врло доброј сагласности са претходно изнесеним литературним подацима, добијеним анализом ИЦХ животињског модела, који указују на утицај глутамата и TNF- α са развојем едема. На пример, Wu и сар. (2013) [74] је

приметио да је перихематомни ниво глутамата драстично порастао након ИЦХ и открио јаку везу између високог нивоа глутамата у развоју едема, што указује да глутамат може играти важну улогу у секундарној повреди мозга. Код животињских модела, повећани нивои TNF- α су откривени у перихематомном региону [130] који доприносе развоју едема кроз повећану пропустљивост крвно-моздане баријере.

Очигледно, наши резултати одражавају поменуте моздане абнормалности и, с обзиром на високу предиктивну моћ нашег развијеног модела, предлажемо да се овај модел може користити у будућности за предвиђање волумена едема после ИЦХ што би помогло у дилеми између конзервативног третмана и хируршке интервенције.

5. Закључци

Ова студија обухвата 50 пацијената са спонтаном супратенторијалном интрацеребралном хеморагијом који су хоспитализовани и лечени на ЈЗУ Универзитетској клиници за неурохирургију и неурологију у Скопљу између 01.01.2014.-31.10.2016. године.

Синопис наших резултата је представљен кроз следеће странице:

1. Основне демографске карактеристике испитаника:

- полна структура: 25 мушкараца (50%) / 25 жена (50%);
- етничка структура: Македонци 43 (86%), Албанци 4 (8%), Бошњаци 2 (4%) и Срби 1 (2%);
- старосна структура: доминантна старосна група 60-70 година, 21 испитаника (42%);

2. Анатоомске карактеристике ИЦХ:

- анатомска локализација ИЦХ: базалних ганглија 35 (70%) / лобарна 15 (30%). Преовладава дубока локализација ИЦХ;
- страна хемисфере: десна 24 (48%), 26 лева (52%);

3. Биохемијске варијабле - концентрација глутамата у плазми при пријему:

- контролна група: медиана 31,13 (IQR=22,82) $\mu\text{mol/L}$ / ИЦХ пацијенти: медиана 107,75 (IQR=45,20) $\mu\text{mol/L}$. Пацијенти са ИЦХ имају статистички значајно веће концентрације глутамата, у поређењу са здравим (**p<0,001).

4. Биохемијске варијабле - концентрација TNF- α у плазми при пријему:

- контролна група: медиана 21,0 (IQR=26,0 pg/mL) / пацијенти са ИЦХ, медиана 111,0 (IQR=104,01 pg/mL). Пацијенти са ИЦХ имају статистички значајно веће концентрације TNF- α , у поређењу са здравим (**p<0,001).

5. Радиолошке варијабле:

- запремина ИЦХ при пријему: медиана 25,12 cm^3 ;
- запремина ИЦХ након 5. дана: медиана 18,88 cm^3 ;
- запремина перифокалног едема након 5. дана: медиана 33,80 cm^3 ;
- запремина резидуалне шупљине после 3. месеца: медиана 16,45 cm^3 ;
- постоји тенденција да се повећа укупна запремина након 5. дана (ИЦХ + запремина перифокалног едема), у односу на почетни хематом, што кореспондира са неуролошким погоршањем које се обично јавља око 5.

дана. Након тога, следи тенденција регресије и ресорпције хематома. Резидуална шупљина после 3. месеца има мањи волумен од запремине почетне ИЦХ.

- резултати у другим студијама значајније варирају у односу на радиолошке варијабле, у зависности од критеријума по којима су испитаници укључени у студије;

6. Клиничке варијабле - неуролошки статус на пријему и након 3. месеца (Канадска скала за мождани удар, Canadian Stroke Scale, (CSS)):

- CSS при пријему: медиана 7,0;
- CSS после 3 месеца: медиана 7,75;
- постоји мало побољшање неуролошког статуса током прва 3 месеца;
- клинички исход након 3. месеца: лош (CSS<7) 23 пацијената (46%) / добар (CSS≥7) 27 болесника (54%).
- концентрација глутамата и TNF-α у плазми при пријему, запремина ИЦХ при пријему, запремина ИЦХ и перифокалног едема након 5. дана, запремина резидуалне шупљине после 3 месеца и CSS скор при пријему, значајно се разликују ($p<0,05$), код пацијената са лошим и добрим клиничким исходом после 3. месеца;

7. Корелација плазматске концентрације глутамата при пријему са:

- запремином ИЦХ при пријему: умерено позитивна и статистички значајна корелација ($\rho=0,453$; $***p<0,001$);
- запремином ИЦХ након 5. дана: умерено позитивна и статистички значајна корелација ($\rho=0,440$; $*p<0,05$);
- запремином перифокалног едема након 5. дана: умерено до јако позитивна и статистички значајна корелација ($\rho=0,597$; $***p<0,001$);
- запремином резидуалне шупљине након 3 месеца: одсуство статистички значајне корелације (n.s., $p>0,05$);
- клиничким стањем на пријему (CSS скор на пријему): слабо негативна и статистички значајна ($\rho=-0,331$; $*p<0,05$);
- клиничким исходом након 3. месеца (CSS резултат после 3. месеца): слабо негативна и статистички значајна ($\rho=-0,367$; $*p<0,05$);

8. Корелација концентрације TNF- α у плазми при пријему са:

- запремином ИЦХ при пријему: јако позитивна и статистички значајна корелација ($\rho=0,653$; $***p<0,001$);
- запремином ИЦХ након 5. дана: јако позитивна и статистички значајна корелација ($\rho=0,727$; $***p<0,001$);
- запремином перифокалног едема након 5. дана: веома јако позитивна и статистички значајна корелација ($\rho=0,810$; $***p<0,001$);
- запремином резидуалне шупљине након 3. месеца: јако позитивна и статистички значајна корелација ($\rho=0,673$; $***p<0,001$);
- клиничким стањем при пријему (CSS скор): умерено до јако негативна и статистички значајна ($\rho=-0,569$; $***p<0,001$);
- клиничким исходом након 3. месеца (CSS резултат на 3 месеца): умерено до јако негативна и статистички значајна ($\rho=-0,570$; $***p<0,001$);

9. Корелација између плазматске концентрације глутамата и TNF- α при пријему:

- слабо позитивна и статистички значајна корелација ($\rho=0,339$; $*p<0,05$);

10. Сигнификантни предиктори лошег исхода након 3. месеца:

- јединствени сигнификантни предиктор је била анатомска локализација ИЦХ (96 пута већа шанса за лош исход код пацијената са дубоким ИЦХ);
- ако се ова варијабла уклони из модела, нивои TNF- α се јављају исто тако као значајан предиктор лошег исхода;

11. Сигнификантни предиктори развоја перифокалног едема код пацијената са ИЦХ:

- значајнији предиктори развоја перифокалног едема су иницијални волумен ИЦХ, плазматске концентрације глутамата и TNF- α , који независно доприносе (без синергизма) развоју истог;
- најјачи предиктор развоја едема су нивои TNF- α ;

Из датог одељка могу се сумирати следећи закључци:

1. Пацијенти првог дана после ИЦХ имају знатно већу концентрацију глутамата и TNF- α у плазми у поређењу са здравим, која је нагласила улогу ових медијатора у патологији интрацеребралног крварења.

2. Нивои глутамата и TNF- α у плазми су у негативној корелацији са тежином симптома на пријему, односно пацијенти са нижим CSS резултатима (тежом клиничком сликом при пријему) имају више нивое глутамата и TNF- α . *Нижа концентрација глутамата и TNF- α у плазми указује на мање ослобађање глутамата и TNF- α у ЦНС-у, а то је повезано са бољом клиничком сликом пацијената при пријему.*

3. Нивои глутамата и TNF- α у плазми не зависе од пола и старости пацијената са ИЦХ. Поред тога, концентрација глутамата и TNF- α у плазми се не разликује између пацијената са дубоком и површном ИЦХ, као и између оних који имају ИЦХ у левој или десној хемисфери мозга. *Очигледно, локализација ИЦХ (лобарна/дубока; лева/десна хемисфера) не утиче на процес ослобађања глутамата и TNF- α и подједнако индукује ексцитотоксичност и инфламацију независно од његове анатомске локализације.*

4. Снажна и статистички значајна позитивна корелација између нивоа глутамата и TNF- α у плазми, и волумена перифокалног едема петог дана, указује на *јак утицај концентрације глутамата и TNF- α у индуцирање већег волумена едема.*

5. У смислу клиничког исхода, не детектују се статистички значајне разлике између пацијената са добрим и лошим клиничким исходом у смислу пола и старосне структуре, као и страни ИЦХ. Међутим, постоје статистички значајне разлике између пацијената са добрим и лошим клиничким исходом у погледу анатомске локализације ИЦХ, *што указује да локализација ИЦХ може имати велики значај у неуролошком исходу након 3 месеца.*

6. Не постоји статистички значајна разлика у вредностима за систолни крвни притисак, дијастолни крвни притисак и ниво глукозе у крви код пацијената са добрим и лошим клиничким исходом, али је приказано да за разлику од пацијената са добрим исходом, пацијенти са лошим исходом су имали статистички веће концентрације глутамата и TNF- α у плазми на пријему, већи волумен ИЦХ при пријему, већи волумен ИЦХ након

5. дана, већи волумен перифокалног едема након 5. дана, већи волумен резидуалне шупљине након 3. месеца и свакако нижи CSS скор на пријему. Међутим, логистичка регресија је показала да *само анатомска локализација ИЦХ је сигнификантан предиктор лошег исхода након 3. месеца*; пацијенти са дубоким ИЦХ имали су 96 пута већу шансу лошег неуролошког исхода након 3. месеца. Ако је овај јак утицај анатомске локализације ИЦХ искључен из анализе, TNF- α се појављује, такође, као значајан предиктор лошег исхода. Мултипла регресиона анализа је показала да анатомска локализација ИЦХ и концентрација TNF- α заједно представљају предикторе за низак CSS скор након 3. месеца (лошег исхода), указујући тиме да, *иако мање (у односу на анатомску локализацију), TNF- α исто има допринос у исходу код пацијената*. Притом, код пацијената са дубоким ИЦХ, високи нивои TNF- α веома драстично утичу на исходе, што може да сугерише на *већи број рецептора TNF- α у овом делу мозга*.

7. Иако је детектована слаба корелација између глутамата и TNF- α , нема ефеката њихове заједничке интеракције на развој запремине перифокалног едема после 5. дана. *Сигнификантни предиктори развоја перифокалног едема су иницијални волумен ИЦХ, глутамат и TNF- α , који независно доприносе (без синергизама) на развој истог*. Најјачи предиктор развоја едема је TNF- α , што указује чињеница да *инфламаторни механизми примарно играју улогу у његовом развоју*. Анатомска локализација ИЦХ не игра улогу у развоју перифокалног едема. Ово може бити потврђено чињеницом да није детектована статистички значајна разлика и у концентрацији глутамата и у нивоима TNF- α код пацијената са таламичном и лобарном локализацијом интрацеребралног хематома. Међутим, корелација између ове две варијабле (TNF- α и глутамата) је јача код пацијената са лобарном ИЦХ, а незначајна код пацијената са дубоком ИЦХ.

Наведене корелације и значај глутамата и TNF- α у односу на клиничке и радиолошке варијабле, јасно и недвосмислено наглашавају њихову улогу у низу патофизиолошких процеса који се одвијају на молекуларном нивоу у можданом паренхиму након настанка интрацеребралног крварења.

Њихов утицај на развој едема мозга указује на проналажење потенцијалних терапеутских решења за његову превенцију, помажући решавање дилеме око оперативног или конзервативног третмана пацијента од тима неурохирурга/неуролога.

Постављање прве референтне вредности за концентрацију глутамата у Македонији, ће помоћи даљем клиничком истраживању у овој области које ће дати значајан допринос у савременој здравственој заштити и побољшању квалитета преживљавања код пацијената са интрацеребралним крварењем.

6. Литература

1. Ropper, Allan H; Samuels, Martin A; Klein JP (2014) Adams and Victor's: Principles of Neurology. McGraw-Hill. doi: 10.1097/00041327-199603000-00095
2. Skidmore CT, Andrefsky J (2002) Spontaneous intracerebral hemorrhage: Epidemiology, pathophysiology, and medical management. *Neurosurg Clin N Am* 13:281–288. doi: 10.1016/S1042-3680(02)00019-0
3. Qureshi AI, Mendelow AD, Hanley DF (2009) Intracerebral haemorrhage. *Lancet* 373:1632–1644. doi: 10.1016/S0140-6736(09)60371-8
4. Grysiewicz RA, Thomas K, Pandey DK (2008) Epidemiology of Ischemic and Hemorrhagic Stroke: Incidence, Prevalence, Mortality, and Risk Factors. *Neurol Clin* 26:871–895. doi: 10.1016/j.ncl.2008.07.003
5. van Asch CJ, Luitse MJ, Rinkel GJ, et al (2010) Incidence, case fatality, and functional outcome of intracerebral haemorrhage over time, according to age, sex, and ethnic origin: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol* 9:167–176. doi: 10.1016/S1474-4422(09)70340-0
6. Flaherty ML, Haverbusch M, Sekar P, et al (2006) Long-term mortality after intracerebral hemorrhage. *Neurology* 66:1182–1186. doi: 10.1212/01.wnl.0000208400.08722.7c
7. Qureshi, A. I., Tuhim, S., Broderick, J. P., Batjer, H. H., Hondo, H. and H, F. D (2001) Spontaneous intracerebral hemorrhage. *N Engl J Med* 344:1450–1460. doi: 10.1056/NEJM200105103441907
8. Wang J (2010) Preclinical and clinical research on inflammation after intracerebral hemorrhage. *Prog Neurobiol* 92:463–477. doi: 10.1016/j.pneurobio.2010.08.001
9. Rinkel GJ, Djibuti M, Algra A, van Gijn J (1998) Prevalence and risk of rupture of intracranial aneurysms: a systematic review. *Stroke a J Cereb Circ* 29:251–256. doi: 10.1161/01.STR.29.1.251
10. Broderick JP, Brott T, Tomsick T, Huster G MR (1992) The risk of subarachnoid and

- intracerebral hemorrhages in blacks as compared with whites. *N Engl J Med* 326:733–736.
11. Linn FHH, Rinkel GJE, Algra A, van Gijn J (1996) Incidence of Subarachnoid Hemorrhage. *Stroke* 27:625 LP-629. doi: 10.1161/01.STR.27.4.625
 12. Пемов П (1994) Цереброваскуларни болести (дефиниција, класификација, епидемиологија). *Македонски медицински преглед* 48:
 13. Orovcanec N, Danilovski D, Zafirova B et al. (1997) Epidemiological study of the mortality from ICH in the Republic of Macedonia, during 1989-1995. Abstr. XVI World Congr. Neurol. Buenos Aires, Argentina.
 14. T B, Broderick J, Kothari R, et al (1997) Early hemorrhage growth in patients with intracerebral hemorrhage. *Stroke* 28:1–5. doi: 10.1161/01.STR.28.1.1
 15. Fujii Y, Takeuchi S, Sasaki O MT, R T (1998) Multivariate Analysis of Predictors of Hematoma Enlargement in Spontaneous Intracerebral Hemorrhage. *Stroke* 29:1160–1166. doi: 10.1161/01.STR.29.6.1160
 16. Broderick J, Brott T, Duldner J, et al (1993) Volume of Intracerebral Hemorrhage A Powerful and Easy-to-Use Predictor of 30-Day Mortality. *Stroke* 24:987–93. doi: 10.1161/01.STR.24.7.987
 17. Rosand J, Hylek EM, O'Donnell HC, Greenberg SM (2000) Warfarin-associated hemorrhage and cerebral amyloid angiopathy: a genetic and pathologic study. *Neurology* 55:947–951. doi: 10.1212/WNL.55.7.947
 18. Rost NS, Greenberg SM, Rosand J (2008) The genetic architecture of intracerebral hemorrhage. *Stroke* 39:2166–2173. doi: 10.1161/STROKEAHA.107.501650
 19. Phillips MC (2014) Apolipoprotein e isoforms and lipoprotein metabolism. *IUBMB Life* 66:616–623. doi: 10.1002/iub.1314
 20. M.L. Flaherty, MD; B. Kissela, MD; D. Woo, MD; D. Kleindorfer, MD; K. Alwell, BSN; P. Sekar, MS; C.J. Moomaw, PhD; M. Haverbusch, BSN; and J.P. Broderick M (2007) The increasing incidence of anticoagulant-associated intracerebral hemorrhage. *Neurology* 68:116–121. doi: 10.1055/s-2007-985338.

21. Arakawa S, Saku Y, Ibayashi S, et al (1998) Blood Pressure Control and Recurrence of Hypertensive Brain Hemorrhage. *Stroke* 29:1806–1809. doi: 10.1161/01.STR.29.9.1806
22. Group TAMS (1999) Arteriovenous Malformations of the Brain in Adults. *N Engl J Med* 340:1812–1818. doi: 10.1227/01.NEU.0000157005.51053.41
23. Jane JA, Kassell NF, Torner JC, Winn HR (1985) The natural history of aneurysms and arteriovenous malformations. *J Neurosurg* 62:321–3. doi: 10.3171/jns.1985.62.3.0321
24. Kondziolka D, Lunsford LD, Kestle JR (1995) The natural history of cerebral cavernous malformations. *J Neurosurg* 83:820–4. doi: 10.3171/jns.1995.83.5.0820
25. Naff NJ, Wemmer J, Hoenig-Rigamonti K, Rigamonti DR (1998) A longitudinal study of patients with venous malformations: documentation of a negligible hemorrhage risk and benign natural history. *Neurology* 50:1709–14. doi: 10.1212/WNL.50.6.1709
26. Preter M, Tzourio C, Ameri A, Bousser M-G (1996) Long-term Prognosis in Cerebral Venous Thrombosis. *Stroke* 27:243–246. doi: 10.1161/01.STR.27.2.243
27. Greenberg SM (2007) Intracerebral hemorrhage: Introduction. *Stroke* 38:746–747. doi: 10.1161/01.STR.0000247914.14304.68
28. Mccoy MK, Tansey MG (2008) TNF signaling inhibition in the CNS: implications for normal brain function and neurodegenerative disease. *J Neuroinflammation* 5:45. doi: 10.1186/1742-2094-5-45
29. Brott T, Thalinger K, Hertzberg V (1986) Hypertension as a risk factor for spontaneous intracerebral hemorrhage. *Stroke* 17:1078–83.
30. Martini SR, Flaherty ML, Brown WM, et al (2012) Risk factors for intracerebral hemorrhage differ according to hemorrhage location. *Neurology* 79:2275–2282. doi: 10.1212/WNL.0b013e318276896f
31. Thrift AG, McNeil JJ, Forbes A, Donnan GA (1998) Three Important Subgroups of Hypertensive Persons at Greater Risk of Intracerebral Hemorrhage. *Hypertension* 31:1223–1229. doi: 10.1161/01.HYP.31.6.1223

32. Qureshi AI, Suri MA, Safdar K, et al (1997) Intracerebral hemorrhage in blacks. Risk factors, subtypes, and outcome. *Stroke* 28:961–4. doi: 10.1159/000072287
33. Furlan AJ, Whisnant JP EL (1979) The decreasing incidence of primary intracerebral hemorrhage: a population study. *Ann Neurol* 5:367–373.
34. Klatsky a L, Armstrong M a, Friedman GD (1989) Alcohol use and subsequent cerebrovascular disease hospitalizations. *Stroke* 20:741–6. doi: 10.1161/01.STR.20.6.741
35. Grønbaek H, Johnsen SP, Jepsen P, et al (2008) Liver cirrhosis, other liver diseases, and risk of hospitalisation for intracerebral haemorrhage: a Danish population-based case-control study. *BMC Gastroenterol* 8:16. doi: 10.1186/1471-230X-8-16
36. Iso H, Jacobs D, Wentworth D, et al (1989) Serum cholesterol levels and six-year mortality from stroke in 350,977 men screened for the multiple risk factor intervention trial. *N Engl J Med* 320:904–910. doi: 10.1056
37. Alberts MJ, Davis JP, Graffagnino C, et al (1997) Endoglin gene polymorphism as a risk factor for sporadic intracerebral hemorrhage. *Ann Neurol* 41:683–686.
38. Catto AJ, Kohler HP, Bannan S, et al (1998) Factor XIII Val 34 Leu. 813–817.
39. Roob G, Lechner A, Schmidt R, et al (2000) Frequency and location of microbleeds in patients with primary intracerebral hemorrhage. *Stroke* 31:2665–9. doi: 10.1161/01.STR.31.11.2665
40. F. M. Cole POY (1967) Pseudo-aneurysms in relationship to massive cerebral haemorrhage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 30:61.
41. Takebayashi S, Kaneko M (1983) Electron microscopic studies of ruptured arteries in hypertensive intracerebral hemorrhage. *Stroke* 14:28–36. doi: 10.1161/01.str.14.1.28
42. Fisher CM (1971) Pathological Observations in Hypertensive Cerebral Hemorrhage. *J Neuropathol Exp Neurol* 1971;30536–50 30:536–550.
43. Yang GY, Betz a L, Chenevert TL, et al (1994) Experimental intracerebral hemorrhage: relationship between brain edema, blood flow, and blood-brain barrier permeability in rats. *J Neurosurg* 81:93–102. doi: 10.3171/jns.1994.81.1.0093

44. Zazulia AR, Diringner MN, Derdeyn CP, Powers WJ (1999) Progression of mass effect after intracerebral hemorrhage. *Stroke* 30:1167–1173. doi: 10.1161/01.STR.30.6.1167
45. Wagner KR, Xi G, Hua Y, et al (1996) Lobar Intracerebral Hemorrhage Model in Pigs. *Stroke* 27:490–497.
46. Mun-Bryce S, Kroh FO, White J, Rosenberg GA (1993) Brain lactate and pH dissociation in edema: ¹H- and ³¹P-NMR in collagenase-induced hemorrhage in rats. *Am J Physiol* 265:R697-702.
47. Wagner KR, Xi G, Hua Y, et al (1998) Early metabolic alterations in edematous perihematomal brain regions following experimental intracerebral hemorrhage. *J Neurosurg* 88:1058–1065. doi: 10.3171/jns.1998.88.6.1058
48. Nath FP, Jenkins A, Mendelow AD, et al (1986) Early hemodynamic changes in experimental intracerebral hemorrhage. *J Neurosurg* 65:697–703. doi: 10.3171/jns.1986.65.5.0697
49. Bullock R, Brock-Utne J, van Dellen J, Blake G (1988) Intracerebral hemorrhage in a primate model: effect on regional cerebral blood flow. *Surg Neurol* 29:101–7.
50. Qureshi AI, Wilson DA, Hanley DF, Traystman RJ (1999) Pharmacologic reduction of mean arterial pressure does not adversely affect regional cerebral blood flow and intracranial pressure in experimental intracerebral hemorrhage. *Crit Care Med* 27:965–971. doi: 10.1097/00003246-199905000-00036
51. Qureshi a I, Wilson D a, Hanley DF, Traystman RJ (1999) No evidence for an ischemic penumbra in massive experimental intracerebral hemorrhage. *Neurology* 52:266–272. doi: 10.1212/WNL.52.2.266
52. Lee KR, Colon GP, Betz a L, et al (1996) Edema from intracerebral hemorrhage: the role of thrombin. *J Neurosurg* 84:91–96. doi: 10.3171/jns.1996.84.1.0091
53. Lee KR, Kawai MDN, Kim MDS, et al (1997) Mechanisms of edema formation after intracerebral hemorrhage: effects of thrombin on cerebral blood flow, blood-brain barrier permeability, and cell survival in a rat model. *J Neurosurg* 86:272–278. doi: 10.3171/jns.1997.86.2.0272
54. Xi G, Wagner KR, Keep RF, et al (1998) Role of blood clot formation on early edema

- development after experimental intracerebral hemorrhage. *Stroke* 29:2580–6. doi: 10.1161/01.STR.29.12.2580
55. Kanno T, Nagata J, Nonomura K, et al (1993) New approaches in the treatment of hypertensive intracerebral hemorrhage. *Stroke* (00392499) 24:I96.
 56. Rosenberg G a, Navratil M (1997) Metalloproteinase inhibition blocks edema in intracerebral hemorrhage in the rat. *Neurology* 48:921–6. doi: 10.1212/WNL.48.4.921
 57. Kane PJ, Modha P, Strachan RD, et al (1990) The effect of immunosuppression with whole body and regional irradiation on the development of cerebral oedema in a rat model of intracerebral haemorrhage. *Acta Neurochir Suppl (Wien)* 51:52–54.
 58. Hickenbottom SL, Grotta JC, Strong R, et al (1999) Nuclear factor-kappaB and cell death after experimental intracerebral hemorrhage in rats. *Stroke* 30:2472-2477-2478.
 59. Банева Наталија (2004) Клиничка и компјутер-томографска евалуација на мозочниот, перифокален едем кај акутна примарна, супратенторијална, интрацеребрална хеморагија во зависност од C4, D4 и E4 цистеинил-лекотриените екскретирани во урина. Медицински факултет - Скопје
 60. Abilleira S, Montaner J, Molina CA, et al (2003) Matrix metalloproteinase-9 concentration after spontaneous intracerebral hemorrhage. *J Neurosurg* 99:65–70. doi: 10.3171/jns.2003.99.1.0065
 61. Петровска-Цветковска Д, Долненец-Банева Н, Алексовски В, Тренчевска О, Чепреганова-Чангова Т ОН (2010) Асоцираност на серумската матрикс металпротеиназа-9 со ЦРП и факторите на ризик за цереброваскуларна болест кај здрава популација. *Physioacta* 4:33–43.
 62. Silva Y, Leira R, Tejada J, et al (2005) Molecular Signatures of Vascular Injury Are Associated With Early Growth of Intracerebral Hemorrhage. *Stroke* 36:86–91. doi: 10.1161/01.STR.0000149615.51204.0b
 63. Lucas DR, Newhouse JP (1957) The Toxic Effect of Sodium L-Glutamate on the Inner Layers of the Retina. *Arch Ophthalmol* 58:193–201. doi: 10.1001/archophth.1957.00940010205006
 64. Olney JW (1969) Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with

- monosodium glutamate. *Science* (80-) 164:719–721. doi: 10.1126/science.164.3880.719
65. Manev H, Favaron M, Guidotti a, Costa E (1989) Delayed increase of Ca²⁺ influx elicited by glutamate: role in neuronal death. *Mol Pharmacol* 36:106–112.
 66. Rothman SM, Olney JW (1986) Glutamate and the pathophysiology of hypoxic–ischemic brain damage. *Ann Neurol* 19:105–111. doi: 10.1002/ana.410190202
 67. Muir KW, Lees KR (1995) Clinical experience with excitatory amino acid antagonist drugs. *Stroke* 26:503–513.
 68. Kim AH, Kerchner GA and CD (2002) Section I Mechanic Approaches to CNS Neuroprotection. Marcoux FW Choi DW, Ed Springer, New York 3–36.
 69. Hughes JR (2009) Alcohol withdrawal seizures. *Epilepsy Behav* 15:92–97. doi: 10.1016/j.yebeh.2009.02.037
 70. Camacho A, Massieu L (2006) Role of glutamate transporters in the clearance and release of glutamate during ischemia and its relation to neuronal death. *Arch Med Res* 37:11–18. doi: 10.1016/j.arcmed.2005.05.014
 71. Fujikawa DG (2005) Prolonged seizures and cellular injury: Understanding the connection. *Epilepsy Behav* 7:3–11. doi: 10.1016/j.yebeh.2005.08.003
 72. MacLellan C PJ and CF (2010) Cytoprotection strategies for experimental intracerebral hemorrhage. *Intracerebral Hemorrhage*, Carhuapoma R, Mayer SA, Hanley DF (eds), Cambridge Univ Press Cambridge 217–227.
 73. Qureshi AI, Ali Z, Suri MFK, et al (2003) Extracellular glutamate and other amino acids in experimental intracerebral hemorrhage: an in vivo microdialysis study. *Crit Care Med* 31:1482–9. doi: 10.1097/01.CCM.0000063047.63862.99
 74. Wu G, Li S, Wang L, et al (2013) The perihematoma glutamate level is associated with the outcome of patients with basal ganglia hematomas treated by minimally invasive procedures The perihematoma glutamate level is associated with the outcome of patients with basal ganglia hematomas tre. *Neurol Res* 35:829–836. doi: 10.1179/1743132813Y.0000000220

75. Wang J, Doré S (2007) Inflammation after intracerebral hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab* 27:894–908. doi: 10.1038/sj.jcbfm.9600403
76. Ziai WC (2013) Hematology and inflammatory signaling of intracerebral hemorrhage. *Stroke* 44:74–79. doi: 10.1161/STROKEAHA.111.000662
77. Mracsko E, Veltkamp R (2014) Neuroinflammation after intracerebral hemorrhage. *Front Cell Neurosci* 8:388. doi: 10.3389/fncel.2014.00388
78. Behrouz R (2016) Re-exploring Tumor Necrosis Factor Alpha as a Target for Therapy in Intracerebral Hemorrhage. *Transl Stroke Res* 7:93–96. doi: 10.1007/s12975-016-0446-x
79. Rosenberg G a., Mun-Bryce S, Wesley M, Kornfeld M (1990) Collagenase-induced intracerebral hemorrhage in rats. *Stroke* 21:801–807. doi: 10.1161/01.STR.21.5.801
80. Lei B, Sheng H, Wang H, et al (2014) Intraatrial Injection of Autologous Blood or Clostridial Collagenase as Murine Models of Intracerebral Hemorrhage. *Jove-Journal Vis Exp* 1–7. doi: 10.3791/51439
81. Zhang XM, Li XL, Tang SH, Liu QC (2006) Effect of head hypothermia on serum inflammatory cytokines levels in patients hypertensive intracerebral hemorrhage. *Chinese Crit Care Med* 18:294–296.
82. Hua Y, Wu J, Keep RF, et al (2006) Tumor necrosis factor-alpha increases in the brain after intracerebral hemorrhage and thrombin stimulation. *Neurosurgery* 58:542-550-550. doi: 10.1227/01.NEU.0000197333.55473.AD
83. Mayne M, Ni W, Yan HJ, et al (2001) Antisense oligodeoxynucleotide inhibition of tumor necrosis factor-alpha expression is neuroprotective after intracerebral hemorrhage. *Stroke* 32:240–247.
84. King MD, Alleyne CH, Dhandapani KM (2013) TNF-alpha receptor antagonist, R-7050, improves neurological outcomes following intracerebral hemorrhage in mice. *Neurosci Lett* 542:92–96. doi: 10.1016/j.neulet.2013.02.051
85. Yang G, Shao GF (2016) Elevated serum IL-11, TNF alpha, and VEGF expressions contribute to the pathophysiology of hypertensive intracerebral hemorrhage (HICH). *Neurol Sci* 37:1253–1259. doi: 10.1007/s10072-016-2576-z

86. Castillo J, Davalos a, Alvarez-Sabin J, et al (2002) Molecular signatures of brain injury after intracerebral hemorrhage. *Neurology* 58:624–629. doi: 10.1212/WNL.58.4.624
87. Lee KR, Kawai N, Kim S, et al (1997) Mechanisms of edema formation after intracerebral hemorrhage: effects of thrombin on cerebral blood flow, blood-brain barrier permeability, and cell survival in a rat model. *J Neurosurg* 86:272–278. doi: 10.3171/jns.1997.86.2.0272
88. Mohr JP, Caplan LR, Melski JW, et al (1978) The Harvard Cooperative Stroke Registry: a prospective registry. *Neurology* 28:754–762. doi: 10.1212/WNL.28.8.754
89. Melo TP, Pinto AN, Ferro JM (1996) Headache in intracerebral hematomas. *Neurology* 47:494–500. doi: 10.1212/WNL.47.2.494
90. Carlberg B, Asplund K, Hägg E (1993) The prognostic value of admission blood pressure in patients with acute stroke. *Stroke* 24:1372–5.
91. Mohr JP, Caplan LR, Melski JW, et al (1978) The Harvard Cooperative Stroke Registry: a prospective registry. *Neurology* 28:754–762. doi: 10.1212/WNL.28.8.754
92. Andrews BT, Chiles BW, Olsen WL, Pitts LH (1988) The effect of intracerebral hematoma location on the risk of brain-stem compression and on clinical outcome. *J Neurosurg* 69:518–22. doi: 10.3171/jns.1988.69.4.0518
93. Tanaka A, Yoshinaga S, Nakayama Y, et al (1996) Cerebral blood flow and clinical outcome in patients with thalamic hemorrhages: A comparison with putaminal hemorrhages. *J Neurol Sci* 144:191–197. doi: 10.1016/S0022-510X(96)00226-2
94. Ott KH, Kase CS, Ojemann RG MJ (1974) Cerebellar hemorrhage: diagnosis and treatment: a review of 56 cases. *Arch Neurol* 31:160–167.
95. Song EC, Chu K, Jeong SW, et al (2003) Hyperglycemia exacerbates brain edema and perihematomal cell death after intracerebral hemorrhage. *Stroke* 34:2215–2220. doi: 10.1161/01.STR.0000088060.83709.2C
96. Fernandes HM, Gregson B, Siddique S MA (2000) Surgery in intracerebral hemorrhage. The uncertainty continues. *Stroke; J Cereb Circ* 31:2511–2516.

97. Gregson BA, Broderick JP, Auer LM, et al (2012) Individual patient data subgroup meta-analysis of surgery for spontaneous supratentorial intracerebral hemorrhage. *Stroke* 43:1496–1504. doi: 10.1161/STROKEAHA.111.640284
98. Da Pian R, Bazzan A, Pasqualin A (1984) Surgical versus medical treatment of spontaneous posterior fossa haematomas: a cooperative study on 205 cases. *Neurol Res* 6:145–51. doi: 10.1080/01616412.1984.11739680
99. Kobayashi S, Sato A, Kageyama Y, Nakamura H, Watanabe Y YA (1994) Treatment of hypertensive cerebellar hemorrhage — surgical or conservative management? *Neurosurgery* 34:246–251. doi: <https://doi.org/10.1227/0006123-199402000-00006>
100. Gebel JM, Jauch EC, Brott TG, et al (2002) Relative edema volume is a predictor of outcome in patients with hyperacute spontaneous intracerebral hemorrhage. *Stroke* 33:2636–2641. doi: 10.1161/01.STR.0000035283.34109.EA
101. Siddique MS, Mendelow AD (2000) Surgical treatment of intracerebral haemorrhage. *Br Med Bull* 56:444–56.
102. Mendelow AD, Gregson BA, Fernandes HM, et al (2005) Early surgery versus initial conservative treatment in patients with spontaneous supratentorial intracerebral haematomas in the International Surgical Trial in Intracerebral Haemorrhage (STICH): A randomised trial. *Lancet* 365:387–397. doi: 10.1016/S0140-6736(05)17826-X
103. Чапароски А, Лозанче К, Панговски И ЈС (2002) Хируршки третман на интрацеребралната хеморагија STICH (surgical treatment of intracerebral hemorrhage). *Македонски медицински преглед* 151–153.
104. Liu DZ, Ander BP, Xu H, et al (2010) Blood-brain barrier breakdown and repair by Src after thrombin-induced injury. *Ann Neurol* 67:526–533. doi: 10.1002/ana.21924
105. Castillo J, Davalos A NM (1997) Progression of ischaemic stroke and excitotoxic amino acids. *Lancet* 349:79–83.
106. Broderick JP, Brott TG, Duldner JE, Tomsick T HG (1993) Volume of intracerebral hemorrhage: a powerful and easy-to-use predictor of 30-day mortality. *Stroke* 24:987–993.
107. Чепреганов М, Стојанов М ТП (1998) Клиничка компјутеризирана томографија

на мозокот. Македонска книга Скопје 1998.

108. Xu X, Chen X, Zhang J, et al (2014) Comparison of the tada formula with software slicer: Precise and low-cost method for volume assessment of intracerebral hematoma. *Stroke* 45:3433–3435. doi: 10.1161/STROKEAHA.114.007095
109. Stojanov D, Janković S, Ilić D, Benedeto-Stojanov D (2015) Comparison of Elliptic Equation – $Abc/2$ With Computerassisted Semiautomatic Methods for Measuring the Volume of Intracerebral Hemorrhage. *Acta medica Median* 34–38. doi: 10.5633/amm.2015.0305
110. Benveniste H, Drejer J, Schousboe A, Diemer NH (1984) Evaluation of extracellular concentrations of glutamate and aspartate in rat hippocampus during transient cerebral ischemia monitored by intracerebral microdialysis. *J Neurochem* 43:1369–1374.
111. Keep RF, Hua Y, Xi G (2012) Intracerebral haemorrhage: Mechanisms of injury and therapeutic targets. *Lancet Neurol* 11:720–731. doi: 10.1016/S1474-4422(12)70104-7
112. Wagner KR, Packard BA, Hall CL, et al (2002) Protein oxidation and heme oxygenase-1 induction in porcine white matter following intracerebral infusions of whole blood or plasma. *Dev Neurosci* 24:154–160. doi: 10.1159/000065703
113. AD M (1993) Mechanisms of ischemic brain damage with intracerebral hemorrhage. *Stroke* 24:115–119.
114. Lee S-T, Chu K, Jung K-H, et al (2006) Memantine Reduces Hematoma Expansion in Experimental Intracerebral Hemorrhage, Resulting in Functional Improvement. *J Cereb Blood Flow Metab* 26:536–544. doi: 10.1038/sj.jcbfm.9600213
115. Sharp F, Liu DZ, Zhan X AB (2008) Intracerebral hemorrhage injury mechanisms: glutamate neurotoxicity, thrombin, and Src. *Acta Neurochir (Wien)* 105:43–45.
116. Boonyakarnkul S, Dennis M, Sandercock P, et al (1993) Primary Intracerebral Haemorrhage in the Oxfordshire Community Stroke Project. *Cerebrovasc Dis* 3:343–349. doi: 10.1159/000108729
117. Gebel JM, Brott TG, Sila C a, et al (2000) Decreased perihematomal edema in thrombolysis-related intracerebral hemorrhage compared with spontaneous intracerebral hemorrhage. *Stroke* 31:596–600. doi: 10.1161/01.STR.31.3.596

118. Hardemark HG, Wesslen N, Persson L (1999) Influence of clinical factors, CT findings and early management on outcome in supratentorial intracerebral hemorrhage. *Cerebrovasc Dis* 9:10–21.
119. Hill MD, Silver FL, Austin PC, Tu J V. (2000) Rate of Stroke Recurrence in Patients With Primary Intracerebral Hemorrhage. *Stroke* 31:123–127. doi: 10.1161/01.STR.31.1.123
120. Passero S, Reale F, Ciacci G, Zei E (2000) Differing temporal patterns of onset in subgroups of patients with intracerebral hemorrhage. *Stroke* 31:1538–1544.
121. Weimar C, Benemann J, Terborg C, et al (2011) Recurrent stroke after lobar and deep intracerebral hemorrhage: A hospital-based cohort study. *Cerebrovasc Dis* 32:283–288. doi: 10.1159/000330643
122. Steiner I, Gomori JM, Melamed E, et al (1984) The prognostic value of the CT scan in conservatively treated patients with intracerebral hematoma. *Stroke* 15:279–282.
123. Castellanos M (2005) Predictors of good outcome in medium to large spontaneous supratentorial intracerebral haemorrhages. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 76:691–695. doi: 10.1136/jnnp.2004.044347
124. Terceno M, Silva Y, Serena J, et al (2015) Abstract W P424: Poor Functional Outcome And Intracerebral Hemorrhage: What Are The Main Factors? *Stroke* 46:AWP424-.
125. Fang H-Y, Ko W-J, Lin C-Y (2007) Inducible heat shock protein 70, interleukin-18, and tumor necrosis factor alpha correlate with outcomes in spontaneous intracerebral hemorrhage. *J Clin Neurosci* 14:435–441. doi: 10.1016/j.jocn.2005.12.022
126. Intiso D, Zarrelli MM, Lagioia G, et al (2004) Tumor necrosis factor alpha serum levels and inflammatory response in acute ischemic stroke patients. *Neurol Sci* 24:390–396. doi: 10.1007/s10072-003-0194-z
127. Maas MB, Furie KL (2009) Molecular biomarkers in stroke diagnosis and prognosis. *Biomark Med* 3:363–383. doi: 10.2217/bmm.09.30
128. Tanphaichitr V, Leelahagul P, Suwan K (2000) Plasma amino acid patterns and visceral protein status in users and nonusers of monosodium glutamate. *J Nutr* 130:1005S–6S.

129. Tsai PJ, Huang PC (1999) Circadian variations in plasma and erythrocyte concentrations of glutamate, glutamine, and alanine in men on a diet without and with added monosodium glutamate. *Metabolism* 48:1455–1460.
130. Shohami E, Bass R, Wallach D, et al (1996) Inhibition of tumor necrosis factor alpha (TNFalpha) activity in rat brain is associated with cerebroprotection after closed head injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 16:378–84. doi: 10.1097/00004647-199605000-00004

Прилог 1:

КАНАДСКА СКАЛА МОЖДАНОГ УДАРА (Canadian Stroke Scale - CSS)

НИВО СВЕСТИ:

будан	3
поспан	1,5

ОРИЈЕНТИСАНОСТ:

оријентисан	1
дезоријентисан , НЕ ПРИМЕЊУЈЕ СЕ	0

ЈЕЗИК:

нормалан	1
моторни дефицит	0,5
сензорни дефицит	0

МОТОРНА ФУНКЦИЈА (БОДОВАЊЕ АКО ИМА НОРМАЛНО РАЗУМЕВАЊЕ)

ЛИЦЕ:

нема присуства слабости лица	0,5
присутна слабост лица	0

ПРОКСИМАЛНА РЕГИЈА РУКУ:

нема слабости	1,5
блага слабост	1
значајна слабост	0,5
парализа	0

ДИСТАЛНА РЕГИЈА РУКУ:

нема слабости	1,5
блага слабост	1
значајна слабост	0,5
парализа	0

ПРОКСИМАЛНА РЕГИЈА НОГУ:

нема слабости	1,5
блага слабост	1
значајна слабост	0,5
парализа	0

ДИСТАЛНА РЕГИЈА НОГУ:

нема слабости	1,5
блага слабост	1
значајна слабост	0,5
парализа	0

МОТОРНА ФУНКЦИЈА (БОДОВАЊЕ АКО ЈЕ РАЗУМЕВАЊЕ ОШТЕЋЕНО)

ЛИЦА:

симетрично	0,5
асиметрично	0

РУКЕ:

једнаке	1,5
неједнаке	0

НОГЕ:

једнаке	1,5
неједнаке	0

Stroke clinical updates, Vol.XVI, issue 1. National Stroke Association, January-February 2006.

Прилог 2:

ЕВИДЕНЦИОНИ ЛИСТ ПРОТОКОЛА РАДА КОД ПАЦИЈЕНАТА

I дан:

1. Лични подаци пацијента:
 - име, презиме:
 - пол: (м) / (ж)
 - датум рођења:
 - место боравка:
 - националност:
2. Анамнеза пацијента (главне тегобе, раније болести, породична анамнеза, фактори ризика):
3. Основни витални и биохемијски параметри (крвни притисак, гликемија):
4. Биохемијски варијабли:
 - концентрација глутамата: ($\mu\text{mol/L}$):
 - концентрација $\text{TNF-}\alpha$: (pg/mL):
5. Волумен интрацеребралног хематома: (cm^3):
6. Локализација ИЦХ: лобарна / дубока:
7. Хемисферна страна: лева / десна:
8. Процена неуролошког статуса и бодовања према Канадској скали možданог удара (CSS):

V дан:

1. Волумен интрацеребралног хематома: (cm^3):
2. Волумен перифокалног možданог едема: (cm^3):

III месец:

1. Волумен резидуалне шупљине: (cm^3):
2. Процена неуролошког статуса према Канадској скали možданог удара (CSS):

Прилог 3:

Слике КТ налаза мозга код пацијената са ИЦХ



Интрацеребрални хематом у базалним ганглијама без значајног компресивног ефекта на централне možдане структуре



Интрацеребрални хематом са површном лобарном локализацијом са присутним компресним ефектом према централним možданим структурама

Биографија

Асс. мр др Владимир Рендевски је рођен 15. септембра 1979. године у Битољу, где је завршио основну и средњу школу. Током тог периода учествовао је на бројним такмичењима, а значајнији успеси били су треће место на државним такмичењима у физици у периоду 1994-1997. и изабран је за најбољег ученика у генерацији.

1998. године је уписао Медицински факултет Универзитета у Скопљу, а завршио је 2004. године са просечном оценом 9,34.

Специјализацију из неурохирургије је започео 2005. године, а специјалистички испит је положио 2010. године.

Постдипломске магистарске студије завршио је на Медицинском факултету у Скопљу са просечном оценом 9,75 и постао магистар медицинских наука 2015. године.

Следеће 2016. године уписао је докторске академске студије на Медицинском факултету Универзитета у Нишу.

Аутор и коаутор је 59 радова, од којих су 6 са импакт фактором, објављени у стручним међународним и домаћим часописима, а своје радове је презентовао на националним и међународним европским и светским састанцима и конгресима. Победник је на 26. Међународном научном студентском конгресу у Охриду 2003. године.

Др. Владимир Рендевски започео је свој рад у 2005. години као асистент на предмету хирургије у Високој медицинској школи на Универзитету у Битољу, а затим у периоду од 2006-2012. године на одељењу за неурохирургију, у Клиничкој болници у Битољу. Од 2012. године до данас ради на Универзитетској клиници за неурохирургију у Скопљу.

У 2015. и 2016. години реализовао је двомесечни боравак и обуку из области ендоскопске неурохирургије, у Неурохируршкој клиници на Медицинском универзитету Serrahpasa у Истанбулу, у Турској.

У 2015. године изабран је за асистента на Катедри за хирургију на Медицинском факултету у Скопљу, а од 2017. године је директор Универзитетске клинике за неурохирургију у Скопљу.

Изјава 1.

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом:

ПРОГНОСТИЧКИ ЗНАЧАЈ БИОХЕМИЈСКИХ, РАДИОЛОШКИХ И КЛИНИЧКИХ ПАРАМЕТАРА ЗА РАЗВОЈ ПЕРИФОКАЛНОГ МОЖДАНОГ ЕДЕМА И ИСХОД КОД ПАЦИЈЕНАТА СА ИНТРАЦЕРЕБРАЛНОМ ХЕМОРАГИЈОМ

која је одбрањена на **Медицинском** факултету Универзитета у Нишу:

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да ову дисертацију, ни у целини, нити у деловима, нисам пријављивао/ла на другим факултетима, нити универзитетима;
- да нисам повредио/ла ауторска права, нити злоупотребио/ла интелектуалну својину других лица.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци, који су у вези са ауторством и добијањем академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада, и то у каталогу Библиотеке, Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Нишу, као и у публикацијама Универзитета у Нишу.

У Нишу, _____.

Потпис аутора дисертације:

Асс. мр др Владимир К. Рендевски

Изјава 2.

**ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНОГ И ЕЛЕКТРОНСКОГ ОБЛИКА
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Наслов дисертације:

**ПРОГНОСТИЧКИ ЗНАЧАЈ БИОХЕМИЈСКИХ, РАДИОЛОШКИХ И
КЛИНИЧКИХ ПАРАМЕТАРА ЗА РАЗВОЈ ПЕРИФОКАЛНОГ МОЖДАНОГ
ЕДЕМА И ИСХОД КОД ПАЦИЈЕНАТА СА ИНТРАЦЕРЕБРАЛНОМ
ХЕМОРАГИЈОМ**

Изјављујем да је електронски облик моје докторске дисертације, коју сам предао/ла за уношење у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, истоветан штампаном облику.

У Нишу, _____.

Потпис аутора дисертације:

Асс. мр др Владимир К. Рендевски

Изјава 3.

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Никола Тесла“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу унесе моју докторску дисертацију под насловом:

ПРОГНОСТИЧКИ ЗНАЧАЈ БИОХЕМИЈСКИХ, РАДИОЛОШКИХ И КЛИНИЧКИХ ПАРАМЕТАРА ЗА РАЗВОЈ ПЕРИФОКАЛНОГ МОЖДАНОГ ЕДЕМА И ИСХОД КОД ПАЦИЈЕНАТА СА ИНТРАЦЕРЕБРАЛНОМ ХЕМОРАГИЈОМ

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском облику, погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију, унету у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, могу користити сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons), за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)

2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прераде (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

У Нишу, _____.

Потпис аутора дисертације:

Асс. мр др Владимир К. Рендевски