



UNIVERZITET U NOVOM SADU

MEDICINSKI FAKULTET



**Postmortalna imunohistohemijska dijagnostika
difuzne aksonske lezije u slučajevima
kranocerebralnog povređivanja**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor:

Prof. dr Vladimir Pilija

Kandidat:

Mr sc. dr Dalibor Nedić

Novi Sad, 2022. godine

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ НОВИ САД

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА¹

Врста рада:	Докторска дисертација
Име и презиме аутора:	Далибор Недић
Ментор (титула, име, презиме, звање, институција)	Проф. др Владимир Пилија, редовни професор на катедри судске медицине, Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду. Центар за судску медицину, токсикологију и молекуларну генетику, Клиничког центра Војводине у Новом Саду
Наслов рада:	Постмортална имунохистохемијска дијагностика дифузне аксонске лезије у случајевима краниocereбралног повређивања
Језик публикације (писмо):	Српски (латиница)
Физички опис рада:	Унети број: Страница 190 Поглавља 7 Референци 252 Табела 21 Слика 166 Графикона 21 Прилога 0
Научна област:	Медицинске науке
Ужа научна област (научна дисциплина):	Судска медицина
Кључне речи / предметна одредница:	дифузна аксонска лезија; краниocereбрална траума; трауматско крварење мозга; имунохистохемија; β амилоид прекурсор протеин; бела маса; корпус калозум; понс; акцелерација; децелерација
Резиме на језику рада:	Дифузна аксонска лезија (ДАЛ) је веома чест али недовољно истражен тип краниocereбралне трауме, са значајним судско-медицинским консеквенцама. Основни биомеханички принцип њеног настанка је акцелерацијско-децелерацијски механизам са елементима ротације главе, што узрокује истезање и смицање појединих

¹ Аутор докторске дисертације потписао је и приложио следеће Обрасце:

5б – Изјава о ауторству;

5в – Изјава о истоветности штампане и електронске верзије и о личним подацима;

5г – Изјава о коришћењу.

Ове Изјаве се чувају на факултету у штампаном и електронском облику и не кориче се са тезом.

слојева можданог ткива. Деструкција аксонског цитоскелета прекида аксоплазматски транспорт и узрокује накупљање транспортваног материјала на мјестима аксонских оштећења. Одговарајућим дијагностичким техникама (нпр. имунохистохемијским бојењем на бета амилоид прекурсор протеин – β АПП) визуализује се као неправилна аксонска извијуганост и задебљања оштећених/прекинутих аксона. Најчешћа дистрибуција ових промјена је уз средишње церебралне структуре: парасагитална бијела маса церебрума, капсула интерна, корпус калозум, форникс, рострални дијелови можданог стабла и др.

Циљеви студије; Утврдити присуство ДАЛ-а у случајевима надживљавања краћег од два сата. Испитати учесталост и топографску дистрибуцију аксонске лезије, њену повезаност с другим врстама тупе краниocereбралне трауме и удруженост са трауматским церебралним микрокрварењима.

Материјал и методе: Као материјал за ово проспективно истраживање послужило је мождано ткиво 36 смртно страдалих особа у акцелерацијско-децелерацијским механизмима, подијљен у двије групе према дужини надживљавања: 17 умрлих < 2 сата и 19 умрлих \geq 2 сата. Узимани су узорци можданог ткива из парасагиталне бијеле масе фронталног режња, гену и сплениум корпус калозума, ростралног дијела понса. Имунохистохемисјким бојењем регистрована је β АПП позитивност анализираних исјечака и семиквантитативно процјењена (скала по Гентлеман-у) а за градирање тежине ДАЛ-а кориштена је класификација по Адамсу. За тестирање разлика у расподјели атрибутивних обиљежја кориштен је χ^2 тест а Kruskal-Wallis тестом разлике у расподјели варијабли са ординалном скалом мјерења између независних варијабли. За анализу повезаности два обиљежја са ординалном скалом послужила је Спирманова непараметријска корелација.

Резултати: Аксонска лезија утврђена је у 88,9% случајева укупног узорка (82,3% у групи надживљавања < 2 сата, 94,7% у групи надживљавања \geq 2 сата). Најкраће вријеме надживљавања са потврђеном β АПП експресијом износило је 20-25 минута, у три случаја. Регистрована је прилично равномјерна заступљеност аксонске лезије кроз посматране регије мозга уз помјерање инциденце и јачине β АПП експресије ка задњим структурама можданог ткива и највећа учесталост јако изражене имунопозитивности у понсу. Спирманов тест непараметријске корелације потврдио је значајну повезаност између β АПП позитивности у парасагиталној бијелој маси фронталног режња и гену корпус калозума ($p=0,395$) и између сплениум корпус калозума и понса ($p=0,627$). установљена је повезаност експресије β АПП имунопозитивности у гену корпус калозума са присуством петехијалних крварења у бијелој маси фронталног режња ($p=0,023$) те β АПП имунопозитивности у понсу са интерхемисферично-парамезенцефаличном субарахноидалном хеморагијом ($p=0,035$). χ^2 тест потврдио је повезаност трауматских микрокрварења у гену корпус калозума са β АПП имунопозитивношћу у све четири посматране регије мозга, уз најизраженију везу управо у гену корпус калозума ($p=0,011$). Када се подаци групишу (присутна/није присутна аксонска лезија), χ^2 тест потврдио је значајну везу присуства аксонске лезије и микрокрварења у бијелој маси фронталног режња ($p=0,028$), као и гену корпус калозума ($p=0,004$). Није потврђена

	<p>значајна разлика у тежини аксонске лезије (по Адамсу) између група као ни у βАПП експресивности по анализираним локализацијама можданог ткива између група.</p> <p>Закључци: Имунохистохемијско бојење на βАПП маркер показало се високо ефикасним у доказивању трауматске аксонске лезије код надживљавања краћег од 2 сата. Нема значајне разлике у дистрибуцији аксонске лезије кроз посматране средишње регије мозга, уз примјетну јачу βАПП експресивност у понсу. Потврђена је позитивна корелација између присуства аксонске лезије у понсу и интерхемисферично-парамезенцефалично локализоване субарахноидалне хеморагије. Нађена позитивна корелација између присуства микрохеморагија и βАПП позитивности у гену корпус калозума у складу је са актуелним ставовима да постоји одређена веза између трауматске церебралне микрохеморагије и аксонске лезије у медиосагиталним регијама мозга.</p>
<p>Датум прихватања теме од стране надлежног већа:</p>	<p>20.05.2022.</p>
<p>Датум одбране: (Попуњава одговарајућа служба)</p>	
<p>Чланови комисије: (титула, име, презиме, звање, институција)</p>	<p>Председник: Члан: Члан: Члан:</p>
<p>Напомена:</p>	

**UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF MEDICINE**

KEY WORD DOCUMENTATION

Document type:	Doctoral dissertation
Author:	Dalibor Nedić
Supervisor (title, first name, last name, position, institution)	Vladimir Pilija, PhD, full professor, Medical faculty, University of Novi Sad
Thesis title:	Postmortem immunohistochemical diagnosis of diffuse axonal injury in cases of craniocerebral injury
Language of text (script):	Serbian language (latin script)
Physical description:	Number of: Pages 190 Chapters 7 References 252 Tables 21 Illustrations 166 Graphs 21 Appendices 0
Scientific field:	Medicine
Scientific subfield (scientific discipline):	Forensic medicine
Subject, Key words:	Diffuse Axonal Injury; Craniocerebral Trauma; Brain Hemorrhage, Traumatic; Immunohistochemistry; Amyloid beta-Peptides; White Matter; Corpus Callosum; Pons; Acceleration; Deceleration
Abstract in English language:	Introduction: Diffuse axonal lesion (DAL) is a very common but understudied type of craniocerebral trauma, with significant forensic consequences. The basic biomechanical principle of its origin is an acceleration-deceleration mechanism with elements of head rotation, which causes stretching and shearing of certain layers of brain tissue. Destruction of the axonal cytoskeleton interrupts axoplasmic transport and the accumulation of transported material at the sites of axonal damage. With appropriate diagnostic techniques (eg immunohistochemical staining for beta-amyloid precursor protein - β APP) it is visualized as irregular axonal tortuosity and thickening of damaged/broken axons. The most common distribution of these changes

is along the central cerebral structures: parasagittal white mass of the cerebrum, internal capsule, corpus callosum, fornix, rostral parts of the brainstem, etc.

Aims of the research: Determine the presence of DAL in cases of survival of less than two hours. To examine the frequency and topographical distribution of axonal lesions, its association with other types of blunt craniocerebral injury, and an association of DAL with traumatic cerebral microbleeds.

Material and methods: The material for this prospective research was the brain tissue of 36 persons who died in acceleration-deceleration mechanisms, divided into two groups according to the length of survival: 17 died in a time period of less than 2 hours and 19 died in a time period of more than or equal to 2 hours. Brain tissue samples were taken from the parasagittal white matter of the frontal lobe, the genu and splenium of the corpus callosum, and the rostral part of the pons. Immunohistochemical staining registered β APP positivity of the analyzed sections and semiquantitatively assessed according to the Gentleman scale, while grading of the severity of DAL was done according to the Adams classification. The χ^2 test was used to test differences in the distribution of attributive characteristics, and the Kruskal-Wallis test was used to test differences in the distribution of variables with an ordinal measurement scale between independent variables. The analysis of the association of two characteristics with an ordinal scale was performed using Spearman's non-parametric correlation.

Results: The presence of an axonal lesion was determined in 88.9% of cases of the total sample (in the group of survival less than 2 hours in 82.3%, and in the group of survival more than or equal to 2 hours in 94.7% of cases). The shortest survival time with confirmed β APP expression was 20 - 25 minutes, in three cases. A fairly even distribution of axonal lesions was registered throughout the observed brain regions with a shift in the incidence and intensity of β APP immunopositivity towards the posterior structures of the brain tissue and the highest frequency of strong immunopositivity in the pons region. Spearman's non-parametric correlation test confirmed a statistically significant correlation between β APP immunopositivity in the parasagittal white matter of the frontal lobe and the genu of the corpus callosum ($p=0.395$) and between the splenium of the corpus callosum and the pons ($p=0.627$). There was a correlation between the expression of β APP immunopositivity in the anterior segment of the corpus callosum (genu) and the presence of petechial hemorrhages in the white matter of the cerebrum ($p=0.023$), and the expression of β APP immunopositivity in the pons with interhemispheric-paramesencephalic subarachnoid hemorrhage ($p=0.035$). The χ^2 test confirmed the association of traumatic microhemorrhages in the anterior part of the corpus callosum with β APP immunopositivity in all four observed brain regions, with the most pronounced connection precisely in the corpus callosum genu ($p=0.011$). When data are grouped (axonal lesion present/absent), the χ^2 test confirmed a significant association between the presence of an axonal lesion and microbleeds in the white matter of the frontal lobes ($p=0.028$), as well as the genu of the corpus callosum ($p=0.004$). No statistically significant difference was confirmed between the groups in the severity of the axonal lesion (according to Adams) nor in the β APP expressivity by the analyzed brain tissue localizations.

	<p>Conclusions: Immunohistochemical staining for the βAPP marker proved to be highly effective in proving the presence of traumatic axonal lesions in a survival period of less than two hours. There is no significant difference in the distribution of the axonal lesion through the observed central regions of the brain, with a noticeable stronger βAPP expressivity in the pons. A positive correlation was confirmed between the presence of an axonal lesion in the pons and interhemispheric-paramesencephalically localized subarachnoid hemorrhage. The positive correlation found between the presence of microhemorrhages and βAPP immunopositivity in the anterior aspects of the corpus callosum is consistent with the current views that there is most likely a certain connection between traumatic cerebral microhemorrhages and axonal lesions in the mediosagittal regions of the brain.</p>
<p>Accepted on Scientific Board on:</p>	<p>20.05.2022.</p>
<p>Defended: (Filled by the faculty service)</p>	
<p>Thesis Defend Board: (title, first name, last name, position, institution)</p>	<p>President: Member: Member: Member:</p>
<p>Note:</p>	

Veliku zahvalnost dugujem mentoru i prijatelju prof. dr Vladimiru Piliji, koji mi je bio od neprocjenjive pomoći u izradi ove doktorske disertacije.

Takođe, želim se zahvaliti svim kolegama i zaposlenima u Zavodu za sudsku medicinu Republike Srpske u Banjaluci kao i Centru za sudsku medicinu, toksikologiju i molekularnu genetiku Kliničkog centra Vojvodine u Novom Sadu, na podršci i nesebičnoj pomoći u pojedinim fazama ovog mukotrpnog posla.

Neizmjereno hvala mojoj porodici na ogromnoj podršci, razumjevanju i pokazanom strpljenju svih ovih godina.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Kraniocerebralne povrede	1
1.1.1. Definicija i epidemiologija	1
1.1.2. Klasifikacija	2
1.1.3. Biomehaničke specifičnosti kraniocerebralne regije	5
1.1.4. Patofiziologija i morfologija kraniocerebralne traume	6
1.1.5. Difuzna aksonska lezija	19
1.1.5.1. Istorijat difuzne aksonske lezije	22
1.1.5.2. Biomehanika difuzne aksonske lezije	23
1.1.5.3. Patomorfološka slika difuzne aksonske lezije	26
1.1.5.4. Dijagnostika difuzne aksonske lezije	29
1.1.5.5. β amiloid prekursor protein (β APP)	31
1.1.5.6. Klinička slika difuzne aksonske lezije	33
1.1.5.7. Sudskomedicinski značaj difuzne aksonske lezije	36
2. CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA	39
3. MATERIJAL I METODE ISTRAŽIVANJA	40
3.1. Materijal	40
3.2. Metode	45
3.3. Mjesto istraživanja	48
3.4. Statistička obrada podataka	48
4. REZULTATI	49
4.1. Demografski i podaci o mehanizmu povređivanja u ukupnom uzorku	49
4.2. Kliničke karakteristike povređenih u ukupnom uzorku	51
4.2.1. Glazgovska skala kome	51
4.2.2. Nadživljavanje	52
4.2.3. Pridružene kraniocerebralne povrede	53
4.3. Aksonska lezija	57
4.3.1. Adamsova klasifikacija aksonske lezije	58
4.3.2. Osobine aksonske lezije po posmatranim regijama mozga	59
4.3.3. Odnos aksonske lezije sa drugim vrstama kraniocerebralne traume	61
4.3.4. Odnos aksonske lezije i cerebralnih mikrokrvarenja u posmatranim regijama mozga	62

4.4.	I grupa – umrli u vremenskom periodu < 2 časa	64
4.4.1.	Period nadživljavanja povrede	64
4.4.2.	Distribucija i intenzitet aksonske lezije	64
4.4.3.	Mikrofotografski prikaz aksonske lezije	69
4.5.	II grupa – umrli u vremenskom periodu ≥ 2 časa	104
4.5.1.	Period nadživljavanja povrede	104
4.5.2.	Mikrofotografski prikaz aksonske lezije	104
4.6.	Komparacija posmatranih grupa istraživanja	143
4.6.1.	Osnovni demografski i podaci o mehanizmu povređivanja	143
4.6.2.	Glazgovska skala kome	144
4.6.3.	Pridružene kraniocerebralne povrede	145
4.6.4.	Traumatska cerebralna mikrokrvarenja u posmatranim grupama	146
4.6.5.	Aksonska lezija	147
4.6.5.1.	Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja	150
4.6.5.2.	Korpus kalozum – genu	151
4.6.5.3.	Korpus kalozum – splenium	152
4.6.5.4.	Pons, rostralni dio	153
5.	DISKUSIJA	154
5.1.	Pridružene kraniocerebralne povrede	155
5.2.	Aksonska lezija	159
5.2.1.	Lokalizacija i težina aksonske lezije	160
5.2.2.	Odnos aksonske lezije i drugih vrsta kraniocerebralne traume	163
5.2.3.	Aksonska lezija i traumatska cerebralna mikrokrvarenja	164
5.2.4.	Aksonska lezija u funkciji vremena	167
6.	ZAKLJUČCI	170
7.	LITERATURA	171

SKRAĆENICE

SAD – Sjedinjene Američke Države,

GCS - Glazgovska skala kome (Glasgow Coma Scale),

HED – Ekstraduralno (epiduralno) krvarenje,

HSD – Subduralno krvarenje,

SAH – Subarahnoidalno krvarenje,

IHMC - Interhemisferična – paramezencefalična regija,

IVK – Intraventrikularno krvarenje,

DAL – Difuzna aksonska lezija,

ATP – Adenozin trifosfat,

MTBI - Mild traumatic brain injury (Blaga povreda mozga),

CT – Kompjuterizovana tomografija,

NMR – Nuklearna magnetna rezonanca (MRI – Magnetic resonance imaging),

SWI - Susceptibility weighted imaging (Snimanje ponderirano osjetljivošću),

IL-6 – Interleukin 6,

IL-1 β – Interleukin 1 β

IFN- β – Interferon β ,

TNF- α - Tumor necrosis factor α ,

CD68+ - Cluster of Differentiation 68 (Transmembranski glikoprotein kodiran genom CD68),

DTI - Diffusion Tension Imaging,

DWI - Diffusion Weighted Imaging,

GRE-SWI - Gradient Echo Pulse Sequence – Susceptibility Weighted Imaging,

PET – Pozitronska emisiona tomografija,

SPECT - Kompjuterizovana tomografija emisijom jednog fotona (Single-photon emission computed tomography),

H&E - hematoksilin-eozin bojenje,

GFAP - Gliofibrilarni acidoprotein,

NSE - Neuron specifična enolaza,

βAPP - Beta amiloid prekursor protein,

S-100B - S100 protein koji veže kalcijum B (S100 calcium-binding protein B),

NAA - N-acetylaspartat,

mRNA – Informaciona ribonukleinska kiselina (messenger Ribonucleic acid),

SNC – Skandinavski komitet za neurotraumu (Scandinavian Neurotrauma Committee),

CNS – Centralni nervni sistem,

TBS - Tris-Buffered Saline,

LSAB - Labelled streptavidin biotin,

DAB – Diamino benzidin,

LAS - Leica Application Suite,

IBM SPSS – IBM Statistical Package for the Social Sciences,

Front. – Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja,

CCG – Korpus kalozum, genu,

CCS – Korpus kalozum, splenium,

TCM – Traumatska cerebralna mikrokrvarenja.

1. UVOD

1.1 . Kraniocerebralne povrede

Savremeni način života koji se karakteriše velikom mobilnošću ljudi, ekspanzijom saobraćaja sa sve bržim i moćnijim transportnim sredstvima, masovnim upražnjavanjem sportskih i rekreativnih aktivnosti, prisustvom nasilja u različitim vidovima, nosi sa sobom i značajan rizik za nastanak kraniocerebralnih povreda. Zbog toga ne čudi da su upravo traumatske povrede glave među vodećim uzrocima smrtnosti i invalidnosti širom svijeta. S obzirom na prirodu ovih povreda, kompleksnost njihovog liječenja, dužinu oporavka i često zaostajanje trajnih posljedica, ovaj problem prevazilazi usko stručne medicinske okvire i zdravstveni sektor, te prožima sve aspekte života pogođene individue, njegove najbliže okoline i društva u cjelini kroz raznolike sociološke implikacije i finansijske gubitke.

Lokalizacija vitalno važnih struktura, njena izloženost povređivanju, posebno u zločinačkim aktivnostima gdje je glava često ciljni organ, razlog je da kraniocerebralne povrede imaju i veoma veliki forenzički značaj.

Da bi se napravila distinkcija od maksilofacijalne regije treba naglasiti da kraniocerebralnu regiju čine poglavina, lobanjske kosti i unutarlobanjski sadržaj (moždane ovojnice, arterijski, venski i likvorski sistem, moždano tkivo sa hipofizom i epifizom, te intrakranijalni dio kranijalnih nerava).

1.1.1. Definicija i epidemiologija

Kraniocerebralne povrede predstavljaju mehaničke povrede kraniocerebralne regije koju čini poglavina, lobanjske kosti i unutarlobanjski sadržaj.

U praksi ovaj termin obično je rezervisan za mehaničke povrede lobanjskih kostiju i intrakranijalnog sadržaja: prelomi krova i baze lobanje, intrakranijalna krvarenja i ozljede moždanog tkiva i moždanica. Bez obzira na mehanizam povređivanja (tupa, penetrantna, akceleracijsko-deceleracijska), kraniocerebralna povreda praćena je različitim simptomima i znacima, od blažeg ili težeg poremećaja svijesti, amnezije, preloma lobanjskih kostiju, neurološkim ili neuropsihološkim ispadima, intrakranijalnim lezijama, sve do smrtnog ishoda.

Kraniocerebralne povrede sa globalnom godišnjom incidencom oko 27 miliona novih slučajeva predstavljaju globalan zdravstveni problem, ogromnog morbiditetnog i mortalitetnog potencijala, bez obzira na stepen razvijenosti društva [1, 2, 3].

U Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) godišnje se registruje više od 2,4 miliona pacijenata sa kraniocerebralnim povredama, koje su uzrok blizu jedne trećine nasilnih smrti [2], a 2017. godine zabilježeno je 61 131 smrt uzrokovna povredom glave, što je reprezentovalo 2,2% od ukupno 2,8 miliona umrlih u SAD te godine [4]. Svake godine u Evropi se dijagnostikuje približno 2,5 miliona kraniocerebralnih povreda, od čega jedan milion povređenih bude hospitalizovano a 75 000 umre [5]. Učestalost traumatskih povreda glave razlikuje se od zemlje do zemlje, što umnogome zavisi i od metodologije evidentiranja [5, 6]. Svježe procjene na globalnom nivou govore o blizu 70 miliona registrovanih kraniocerebralnih povreda svake godine a ogromnu većinu čine blage (81%) i srednje teške (11%) povrede glave. Od toga skoro 18 miliona slučajeva registruje se u visoko razvijenim zemljama dok preko 50 miliona (tri puta više) kraniocerebralnih povreda u slabije razvijenim zemljama. Procjenjena incidenca kraniocerebralnih povreda na globalnom nivou iznosi 939/100000 stanovnika, u SAD i Kanadi incidenca je 1299/100000 stanovnika, u Evropi 1012/100000 stanovnika, dok u slabo razvijenim zemljama ove brojke su znatno manje, vjerovatno iz razloga lošije metodologije evidentiranja [7].

Padovi i saobraćajne nezgode dva su najčešća mehanizma nastanka kraniocerebralnih povreda u zemljama Evropske Unije [6]. Mlađa populacija, posebno muškog pola i starija životna dob najugroženije su starosne grupe [3, 6, 8]. Posljednjih decenija visoko razvijene zemlje registruju ukupan pad broja kraniocerebralnih povreda uz istovremeni porast broja stradalih među najstarijima [1, 6, 9]. Sveobuhvatni podaci o incidenci kraniocerebralnog povređivanja u Srbiji ili Bosni i Hercegovini ne postoje ili nisu dostupni uobičajenim metodama pretraživanja bibliografskih baza podataka. Ne tako svježi literaturni izvori navode brojke od 200 kraniocerebralnih povreda na 100 000 stanovnika u Srbiji [10].

1.1.2. Klasifikacija

Postoji više klasifikacija kraniocerebralnih povreda a svaka od njih ovoj problematici prilazi sa različitih strana; morfološke, ćelijsko/molekularne, kliničke itd.

Otvorene i zatvorene kraniocerebralne povrede – Ova podijela uzima u obzir integritet kože. Otvorene povrede dalje se dijele na penetrantne i nepenetrantne, zavisno da li je došlo do prekida kontinuiteta tvrde moždanice.

Druga podijela zasniva se na mehanizmu nastanka - Prvu grupu čine povrede koje nastaju kontaktom glave sa mehaničkim sredstvom (udarac u glavu ili sudar glave sa preprekom), manifestujući se povređivanjem poglavine, prelomima lobanjskih kostiju, intrakranijalnim krvarenjima, cerebralnim kontuzijama. Druga grupa su akceleracijsko-deceleracijske povrede za čiji nastanak nije neophodan direktan kontakt glave sa preprekom nego samo nagla promjena količine kretanja glave; ubrzanjem (akceleracijom) ili usporavanjem (deceleracijom). Primjeri ove vrste kraniocerebralne povrede su krvarenje u subduralnom prostoru i difuzna aksonska lezija.

Primarne i sekundarne povrede mozga – Primarne kraniocerebralne povrede rezultat su direktne mehaničke traume i manifestuju se neposredno po njenom djelovanju a lokalizovane su u području djelovanja povredne sile.

Sekundarne povrede mozga razvijaju se u kasnijem vremenskom periodu u odnosu na vrijeme djelovanja mehaničke traume i nezavisne su od mjesta i smjera djelovanja povredne sile. U pozadini sekundarnih lezija je poremećaj intrakranijalne volumenske homeostaze, razvoj moždanog edema, intrakranijalne hipertenzije, poremećaj cerebralne cirkulacije i inflamatorni procesi koji zajedno vode ka ćelijskoj smrti.

Fokalne i difuzne povrede mozga – Fokalne ili žarišne povrede lokalizovane su na jednom mjestu, imaju svoje žarište i makroskopski su jasno uočljive. To mogu biti prelomi lobanjskih kostiju, nagnječenja mozga, intrakranijalna krvarenja, koja nastaju udarcima u glavu ili sudarom glave i tupotvrde prepreke. Neurološki ispadi su uzrokovani neposrednim djelovanjem lezije na ograničenu regiju mozga (fokalno) ali i tzv. mas efektom unutar lobanjske duplje, koji se manifestuje cerebralnim edemom, pomjeranjem i hernijacijama moždane mase sa konačnim kompresivnim sindromom.

S druge strane difuzne povrede mozga nisu koncentrisane na određenom mjestu nego se prostiru difuzno ili diseminovano kroz moždano tkivo, kao što je ishemijska ozljeda mozga, difuzna aksonska lezija, difuzna vaskularna lezija, globalni edem mozga (Tabela 1.). Nastaju akceleracijsko-deceleracijskim mehanizmima deformacije mozga, usljed čega dolazi do difuznih i/ili diseminovanih mikrooštećenja moždanog tkiva. Brojna istraživanja potvrđuju da su rotacione sile dominantan mehanizam difuznih povreda mozga. Za razliku od fokalnih povreda, difuzne moždane povrede ne zahtijevaju obavezno kontakt glave sa tupotvrdom preprekom. Za njihovo nastajanje neophodna je dovoljno velika promjena brzine kretanja glave, odnosno akceleracijsko-deceleracijski mehanizam, što se u praksi najčešće sreće u saobraćajnoj traumatologiji.

Naravno, obje forme mogu biti i često jesu prisutne istovremeno, odnosno koegzistiraju u jednoj kranio cerebralnoj povredi.

Tabela 1 Fokalne i difuzne povrede mozga

Fokalne	Difuzne
Razderine poglavine	Globalna ishemijska lezija
Prelomi lobanjskih kostiju	Difuzna aksonska lezija
Nagnječenja/laceracije mozga	Difuzna vaskularna lezija
Intrakranijalna krvarenja	Edem mozga
Penetrantne povrede	Potres mozga
Sekundarne fokalne lezije	„Shaken baby syndrome“

Glazgovska skala kome (GCS) – U kliničkoj praksi to je najraširenija i opšteprihvaćena skala procjene težine kranio cerebralne povrede [11]. Procjenjuje stanje svijesti kroz motorni odgovor na ekstremitetima, otvaranje očiju i verbalni odgovor, na skali od 3 – 15 (Tabela 2.). Prema ovoj skali kranio cerebralne povrede dijele se na lake (13 – 15), umjerene (9 -12) i teške (3 -8).

Tabela 2. Glazgovska skala kome (GCS)

Otvaranje očiju	Verbalna reakcija	Motorička reakcija
4 Spontano	5 Orijećen	5 Sluša zapovjedi
3 Na poziv	4 Konfuzan	4 Lokalizuje bol
2 Na bolnu draž	3 Nerazumljive riječi	3 Povlači se
1 Ne reaguje	2 Nerazumljivi zvuci	2 Abnormalna fleksija
	1 Izostaje bilo kakav odgovor	1 Abnormalana ekstenzija
Ukupan zbir:		

Postoje i brojne druge podijele a svaka od njih ima svoje prednosti i nedostatke, zavisno u koju svrhu je osmišljena.

1.1.3. Biomehaničke specifičnosti kraniocerebralne regije

Moždano tkivo kao veoma osjetljivo na mehaničku traumu, na specifičan način je zaštićeno posebnom anatomsko funkcionalnom organizacijom tkiva. Na prvoj liniji odbrane nalazi se tkivo poglavine sa kosmatim pokrivačem. Pokrivenost kosom, koža, vezivno aponeurozno tkivo (galea aponeurotica) i rastresito vezivo koje naliježe na periost lobanjskih kostiju, značajno amortizuju udarnu silu. Lobanjske kosti su pločaste formacije sačinjene od spoljašnjeg i unutrašnjeg kompaktnog sloja između kojih je sloj sunderastog tkiva. Primajući udarnu silu one se deformišu i iscrpljuju određenu količinu kinetičke energije udara, na taj način dodatno štedeći nježno moždano tkivo. Neposredno ispod lobanjskih kostiju nalazi se tvrda moždanica (dura mater), čvrsta fibrozna opna, veoma otporna na mehaničku traumu. Sljedeće strukture na putu ka moždanom tkivu su meke moždanice (arachnoidea mater i pia mater), koje sa durom mater ograničavaju subduralni prostor a međusobno tvore subarahnoidalni prostor. Ovaj subarahnoidalni prostor koji komunicira sa moždanim komorama i ispunjen likvorom ima posebno važan protektivni efekat za tkivo mozga. Zahvaljujući približno istoj specifičnoj težini moždanog tkiva i likvora, mozak pluta u likvorskoj tečnosti ne dodirujući oštre neravnine baze lobanje, što je naročito važno u slučajevima unutarlobanjskog kretanja mozga, sprečavajući tako kontakte nježnog moždanog tkiva sa oštrim koštanim formacijama baze lobanje. Naime, likvorski sistem biofizički je konstruisan tako da likvorska tečnost oblaže moždane strukture kao jedan hidrodinamički sistem u kome se cirkulacija njutnovske tečnosti odigrava po bernulijevskim principima, uz konstantno održanje energije tečnosti. Organizacija cijelog sistema protivi se promjeni ukupne energije, što znači da ovaj sistem u momentu djelovanja povredne sile apsorbuje značajnu količinu pridošle energije i tako štiti moždano tkivo. Topografija likvorskog sistema u odnosu na moždane strukture je takva da bez obzira na smjer udarne sile, likvorski sistem je uvijek na putu udarnog talasa [12]. Specifična vaskularizacija unutarlobanjskog sadržaja takođe učestvuje u zaštiti tkiva mozga od mehaničke traume a sastoji se u ogromnoj arterijsko-arterijskoj anastomoznoj mreži unutar subarahnoidalnog prostora. U moždano tkivo ulaze samo arterije malog kalibra (prearteriole i arteriole), praćene produžecima subarahnoidalnog prostora (Wirchoff-Robin-ovi prostori). Ovakva organizacija sprečava prenošenje pulsnihi hipertenzivnih udara moćne intrakranijalne arterijske mreže na

moždano tkivo. Glavni intrakranijalni venski sudovi smješteni su u čvrstom fibroznom oklopu koji čine duralni sinusi. Ukupno vensko korito znatno je razvijenije u odnosu na druge regije tijela i može drenirati značajan volumen krvi i likvora, zahvaljujući čemu ima ogromnu ulogu u regulaciji intrakranijalne homeostaze [12].

1.1.4. Patofiziologija i morfologija kraniocerebralne traume

Kraniocerebralne povrede a posebno povrede lobanjskog sadržaja nisu jedinstven događaj u jedinici vremena nego jedan složen proces koji započinje mehaničkom traumom kao što je udarac u glavu i nastavlja se serijom patofizioloških procesa koji rezultiraju daljim sekundarnim oštećenjima moždanog tkiva i deterioracijom njegove funkcije [13].

Povrede tkiva poglavine

Tkivo poglavine izloženo je na prvoj liniji odbrane od mehaničke traume. Zajedno sa kosmatim pokrivačem ima bitan protektivni potencijal. Poglavina se sastoji od pet slojeva; koža, gusto vezivno tkivo, galea aponeurotica, ratresito vezivno tkivo i periost lobanje. Ovakva anatomski slojevitost i tkivne karakteristike obezbjeđuju maksimalan stepen apsorpcije i amortizacije udarnog talasa. Preuzimajući značajan dio kinetičke energije povredne sile moguće su raznolike povrede; oguljotine, krvni podlivi, nagnječine, razderine u formi prskotina, režnjastih ili avulzivnih rana, sjekotine pa i ubodine. Zbog veoma dobre vaskularizacije ozlijeđeno tkivo poglavine obilno krvari, što u okolnostima povređivanja kod sudionika i posmatrača često izaziva dramatičan efekat. Međutim, ova dobra vaskularizacija stvara i dobre preduslove za uspješno zarastanje rane poglavine. Specifična građa tkiva poglavine i njena zategnutost preko tvrdog lobanjskog svoda čini da lacerokontuzne rane često liče na sjekotine, zbog čega je neophodna pažljiva eksploracija rane i potraga za tkivnim mostićima u dubini rane koji su obično prisutni kod razderina ali nema ih kod ravnih zidova sjekotina. Ubodine u poglavinu su rijetke a kada su prisutne mogu biti plitke, završavajući se u periostu ili penetrantne rane koje prodiru u intrakranijalni prostor.

Povrede lobanjskih kostiju

Protektivni efekat košanog oklopa ima svoje granice a njihovo prekoračenje rezultira prelomom lobanjskih kostiju. Prelomi lobanje (fractura cranii) uobičajeno se dijele na prelome krova (svoda,

kalvarije) i prelome baze (osnove) lobanje. Prelomi krova mogu biti linearni (pukotinasti) i impresivni.

S obzirom na mehanizam povređivanja prelome lobanjskih kostiju dijelimo na direktne i indirektne. Direktni prelomi nastaju na mjestu udara u glavu a zavisno od intenziteta povredne sile mogu nastati prelomi samo unutrašnje ploče (koja se zbog manjeg prečnika zakrivljenosti i većih tenzionih sila lakše i brže lomi) ili potpuni prelomi kosti. Posebna forma preloma krova lobanje je utisnuti ili impresivni prelom, kod kojeg je dio kosti (ulomak) utisnut u endokranijum i vrši pritisak na moždano tkivo. Ovaj prelom nastaje udarom tupotvrdog predmeta uske udarne površine (do oko 16 cm²), koja u zoni udara utiskuje ili odlama i utiskuje ulomak kosti u endokranijum. U slučaju udara oruđa uske udarne površine ali dovoljno velikog intenziteta moguća je pojava složenog preloma kod kojeg se od utisnutog dijela kosti šire linearne pukotine po obodu. Povredne sile izuzetno kratkog vremenskog perioda i visokofrekventnog talasa, kada se Δv mjeri milisekundama a frekvencija udarnog talasa preko 350 Hz, šire se cijelim obimom kroz lobanjske kosti velikim brzinama i karakterišu se posebnom slikom složenog preloma lobanjskih kostiju nezavisno od mjesta udara, često zahvatajući i bazu lobanje [12]. Prelomi baze lobanje uobičajeno nastaju kao produžetak preloma sa krova lobanje i kompresivnim silama a mogu se širiti transverzalno, sagitalno ili dijagonalno. Naročite forme preloma su prstenasti prelomi oko velikog potiljačnog otvora (fractura annularis, ring fracture). Posebna vrsta preloma baze lobanje jesu prelomi krova očne duplje, tzv. Fuccijevi ili contrecoup prelomi, koji nastaju udarom u potiljačnu regiju glave a lokalizovani su na podu prednje lobanjske jame koji čini krov očnih duplji.

Povrede moždanih arterija

Povrede vertebralne arterije, unutrašnje karotidne arterije ili arterija Wilisovog kruga najčešće su u formi laceracija ili disekcija, uzrokovane direktnom traumom, istežanjem arterijskih zidova ili njihovim kidanjem u sklopu preloma koštanih struktura. Posljedice toga mogu biti neposredno primarno ili odloženo krvarenje u okolni prostor ili opstrukcija lumena arterije i ishemijska lezija moždanog tkiva. Disekcije zidova intrakranijalnih arterija imaju specifičnost koja se ogleda u tome da raslojavanje arterijskog zida nastaje na granici intime i medije (za razliku od ekstrakranijalnih arterija gdje se dešava na granici medije i adventicije), zbog čega rijede nastaje hemoragija a mnogo češće intraluminalno nabiranje intime koje sužava lumen i uzrokuje ishemijsku leziju [12].

Ekstraduralno krvarenje (HED)

Ekstraduralni (široko i pogrešno odomaćen termin „epiduralni“) prostor je potencijalni, virtualni prostor, koji uobičajeno ne postoji jer je tvrda moždanica tijesno priljubljena uz unutrašnju ploču

lobanjske kosti. Tek krvarenjem iz ozljeđene arterije izlivena krv razdvaja ove dvije strukture formirajući prostor ispunjen kolekcijom krvi. Definiše se kao krvarenje između tvrde moždanice i lobanjskih kostiju, uobičajeno neposredno na mjestu djelovanja tupotvrde mehaničke sile, odnosno frakture lobanje, bikonveksnog je oblika i najčešće ne prelazi koštane suture. Znatno češće se registruje kod muškaraca, prije svega zbog veće fizičke aktivnosti i vrste poslova kojim se muškarci bave, odnosno izloženosti većim rizicima kranio-cerebralnog povređivanja [14, 15]. Ovo krvarenje nastaje na mjestu udarca u bilo kojem dijelu ekstraduralnog prostora; supratentorijalno, infratentorijalno, spinalno, ali ubjedljivo najčešće u sljepoočnoj regiji. Najčešći izvor krvarenja je stablo ili grane a. meningeae mediae, rijeđe ekstraduralni dio a. carotis internae, v. meningeae mediae ili duralni venski sinusi. Traumatskog je porijekla, sa mogućim lucidnim intervalom od nekoliko časova, najčešće do 6h. U forenzičkom kontekstu važno je istaći da za nastanak ekstraduralnog krvarenja nije neophodan prelom lobanjskih kostiju. Ekstraduralno krvarenje obično ima akutni tok ali u rjeđim situacijama može poprimiti subakutnu (simptomi nakon 24h) ili hroničnu formu. Ne viđa se u infantilnoj dobi i odmakloj starosnoj dobi jer je u ovim starosnim grupama tvrda moždanica čvrsto prirasla uz lobanjsku kost.

Subduralno krvarenje (HSD)

Subduralno krvarenje (HSD) je izlivanje krvi u prostor između tvrde i meke moždanice. HSD češće se javlja kod muškaraca nego kod žena, posebno u populaciji mlađoj od 50 godina a razlozi su slični onim kod HED [16]. Prostor između unutrašnje strane tvrde moždanice i arahnoidne je „pravi“ prostor, za razliku od ekstraduralnog. Emisarne ili mostne vene polaze od konveksiteta gornje površine velikog mozga, prolaze kroz subarahnoidalni a zatim i subduralni prostor te ulivaju se u gornji sagitalni sinus koji formira duplikaturu tvrde moždanice. Slične anatomske formacije prisutne su i uz ostale duralne sinuse. Ovi venski krvni sudovi posebno su vulnerabilni u dijelu toka kroz subduralni prostor, gdje usljed istezanja i uvrtnja dolazi do njihovog kidanja i posljedičnog krvarenja u subduralni prostor. Naime, mostne vene su promjera 1-3 mm, dužine do oko 2 cm. Debljina njihovih zidova varira ali u subduralnoj porciji je znatno tanja (10-600 μ m) nego u subarahnoidnoj regiji (50-200 μ m). Osim toga venski zid u subduralnoj porciji je fragilniji usljed drugačijeg rasporeda kolagenih vlakana nego u subarahnoidalnom dijelu [16]. Tzv. akceleracijsko-deceleracijske, odnosno rotacione povrede glave u kojima dolazi do naglih promjena brzine kretanja glave, predstavljaju osnovni mehanizam nastanka ove vrste krvarenja. SDH zahtjeva jači udarac u glavu u odnosu na ekstraduralno krvarenje. Zbog toga je inicijalna povreda obično teža i osim krvarenja u subduralnom prostoru nađe se i pridružena povreda moždanog parenhima,

subarahnoidalno ili intracerebralno krvarenje. Usljed rotacije glave dolazi do kašnjenja u rotaciji mozga u odnosu na rotaciju koštanog oklopa zajedno sa duralnim sinusima, što uzrokuje istežanje, uvrtnje i konačno kidanje mostnih vena, najčešće neposredno uz zid duralnih sinusa, gdje su emisarni venski krajevi čvrsto pričvršćeni za duru. Tokom starenja moždana masa se postepeno gubi uz istovremeno širenje ekstracerebralnih likvorskih prostora (oko 6 – 11%), što uzrokuje istežanje i lakše kidanje mostnih vena [17]. Takođe kod alkoholičara, epileptičara ili iz drugih razloga prisutne atrofije mozga, razmak između za lobanjsku kost vezanih duralnih sinusa i atrofičnog mozga je veći, zbog čega su moste (emisarne) vene više istegnute i svako kretanje mozga u odnosu na lobanju (rotacioni efekat) uzrokuje dodatno istežanje i uvrtnje već istegnutih vena, zbog čega SDH lakše nastaje. Kod osoba na antikoagulantnoj terapiji takođe se lakše razvija SDH. U starijoj životnoj dobi najčešći način nastanka HSD jeste pad s male visine, iz stojećeg stava, najčešće u kućnom ambijentu [18, 19]. Ovo ima poseban sudskomedicinski značaj zbog mogućnosti nastanka ove povrede pri minornim povredama glave. Lakše nastajanje subduralnog krvarenja u infantilnom dobu objašnjava se tanjim zidovima emisarnih vena. Najčešće ima akutan tok ali zbog prirode venskog krvarenja može poprimiti i sporiji tok i subakutnu ili čak hroničnu formu. U ovim slučajevima nastupa organizacija izlivenne krvi urastanjem fibroblasta a potom i novoroorganizovanih krvnih sudova. Upravo ovi novoformirani mladi krvni sudovi mogu biti izvor ponavljanih krvarenja. Proliferisano mlado vezivo zatvara hematom sa svih strana, priljubljuje ga uz unutrašnju stranu tvrde moždanice. Razaranjem eritrocita, resorpcijom tečnih a potom i destruisanih ćelijskih elemenata stvara se prostor ispunjen ksantohromnim likvorom – tzv. likvorski higrom. Iz sudskomedicinskog ugla bitno je da akutni HSD klinički se manifestuje unutar prvih 72 h, subakutno od trećeg dana do tri nedjelje a hronično nakon tri nedjelje od povrede glave. To je arbitrarna podijela, bez posebno jasnih naučnih kriterijuma [20]. Akutni HSD posljedica je teže povrede glave i obično je praćen inicijalnim gubitkom svijesti i brzim pogoršanjem stanja, fokalnim neurološkim ispadima i znacima kompresije mozga i inkarceracije moždanog stabla u najtežim slučajevima. U poređenju sa EDH, krvarenje u subduralnom prostoru slične lokalizacije i dimenzija ima lošiju prognozu [21].

Subarahnoidalno krvarenje (SAH)

Površinu mozga neposredno oblažu dvije meke moždanice; paučinasta moždanica, bogata sitnim krvnim sudovima (arachnoidea mater) i nježna moždanica (pia mater). Ovaj prostor normalno ispunjava likvor, bistra tečnost koja sadrži u tragovima leukocite i bjelančevine a produkuje ga horioidni pleksus u bočnim komorama. Likvor nesmetano cirkuliše kroz komorski sistem u

subarahnoidalni prostor i resorbuje se preko arahnoidalnih tjelašaca u venske sinuse. Na taj način mozak je okružen i „potopljen“ u likvorsku tečnost, što ima značajnu protektivnu ulogu. Ustaljeni naziv za krvarenje u prostoru između ovih mekih moždanica je subarahnoidalno krvarenje (haemorrhagia leptomeningeum). Izvor krvarenja je ogromna arterijska i venska mreža u subarahnoidalnom prostoru, u kojem se razgranava cijela magistralna arterijska mreža do kalibra malih arterija, koje se direktno anastomoziraju (arterio-arterijske anastomoze). SAH može biti traumatskog ili spontanog porijekla, mada je trauma znatno češći uzročnik. Spontano krvarenje obično je uzrokovano nestabilnom arterijskom hipertenzijom sa povremenim jakim hipertenzivnim krizama ili postojanjem aneurizmi, vaskulitisom, koagulopatijama, neoplazmama [12, 22]. Traumom uzrokovano prskanje aneurizme predstavlja posebno složen forenzički problem, prije svega u pogledu interpretacije kauzalnosti. Traumatsko krvarenje može se javiti na konveksitetu, na bazi mozga, cirkumferentno obuhvatajući cijeli mozak ili u središnjim strukturama interhemisferično – paramezencefalično (IHMC). Nerijetko se vide manja žarišta subarahnoidalnog krvarenja bez drugih znakova povrede mozga. Tokom akceleracijsko-deceleracijskog mehanizma (ekstenzije glave), zbog prskanja sitnih arterijskih sudova može nastati subarahnoidalno krvarenje na bazi mozga. Traumatsko subarahnoidalno krvarenje skoro uobičajeno je prisutno neposredno uz kontuziju mozga, frakturu lobanjskih kostiju, subduralno krvarenje. Bez obzira na izvor, ovo krvarenje se lako širi difuzno kroz subarahnoidalni prostor oko moždanih hemisfera, u bazalne cisterne i sistem komora.

Intracerebralno krvarenje

Intracerebralno krvarenje označava prodor krvi u moždani parenhim. Može biti traumatskog ili morboznog porijekla. Traumatsko intracerebralno krvarenje predstavlja značajniju nakupinu krvi u subkortikalnoj bijeloj masi mozga, koja ne doseže moždanu površinu a najčešće ni koru mozga. Najčešća lokalizacija traumatski uslovljenih intracerebralnih krvarenja je frontotemporalna regija a uobičajeni mehanizam nastanka je ruptura/disekcija medularnih arterija, odnosno ruptura vena. Ovakav hematom razmiče nervna vlakna, može da raste sporo bez ozbiljnijih kliničkih simptoma, da bi nekoliko dana kasnije prodro u komorski sistem i doveo do katastrofalnog hematocefalusa [12]. Termin odložena posttraumatska hemoragija („Spät apoplexie“) jeste rijedak klinički entitet intracerebralnog krvarenja koje se javlja odloženo, nekoliko dana ili sedmica nakon preživljene traume glave [23]. Može se javiti u neoštećenom moždanom tkivu ili u području prethodne kontuzije moždanog parenhima [24].

Intraventrikularno krvarenje (IVK)

Krvarenje u sistem moždanih komora naziva se intraventrikularno krvarenje (IVK) ili hematocefalus internus. Krv u sistemu komora može poticati iz subarahnoidalnog prostora u sklopu obilne SAH ili usljed krvarenja iz leđiranog septum peluciduma, korpus kalosuma odnosno zidova bočnih komora. Lezije zidova komorskog sistema nastaju kada povredna sila akceleracijsko-deceleracijskog tipa prevaziđe prag tolerancije i protektivne uloge likvora, usljed čega laminarni tok likvorske tečnosti prelazi u trubulentan. Preko ovih trubulentnih talasa kinetička energija se rasipa na komorske zidove, na kojima nastaju rupturi ependima i subependimalna krvarenja. U takvim slučajevima uobičajeno je naći rupturi ependima, prije svega bočnih komora ili ventralne strane korpus kalozuma, zatim na ulazu u akvedukt III komore i krvarenja na podu IV komore. Ova krvarenja na podu IV moždane komore nazivaju se Duret-Bernard-ova krvarenja. Ovakve lezije ependima i subependima histološki se karakterišu venskim krvarenjem. U pravilu odsutne su u regijama međukomorskih suženja/komunikacija. Riječ je o primarnom tipu moždanih lezija. U najtežim slučajevima radi se o lezijama ependima sa krvarenjem u moždane komore i propagacijom u okolne periventrikularne strukture, uz izrazitu dilataciju ventrikula i čest nalaz krvnih ugrušaka na krovu IV komore [12]. U svakom slučaju prodor krvi u komorski sistem bitno usložnjava kliničku sliku i smanjuje mogućnost uspješnog oporavka povrednog.

Povrede moždanog tkiva

Moždano tkivo, mada dobro zaštićeno u koštanom oklopu, izuzetno je vulnerabilno na mehaničku traumu. Da bi došlo do moždane lezije neophodno je da kinetička energija povredne sile nadvlada sve kompenzatorno adaptivne mehanizme zaštite moždanog tkiva; kosmati pokrivač glave, poglavinu, koštani oklop, likvorski sistem, elastičnost moždanog tkiva.

Jedna od najvažnijih podjela cerebralne traume sva moždana oštećenja dijeli na primarna i sekundarna.

Primarne povrede mozga - rezultat su neposrednog dejstva mehaničke traume, direktnim udarom u glavu ili sudarom glave sa preprekom, odnosno akceleracijsko-deceleracijskim mehanizmom. Ove povredne sile uzrokuju destrukciju, pritisak ili smicanje moždanog tkiva sa pratećim oštećenjima neurona, glije i krvnih sudova. Promjene se mogu dešavati na molekularnom nivou i biohemijskim procesima bez makroskopski vidljivih manifestacija ali mogu biti praćene i makroskopski uočljivim lezijama - kontuzijama kore ili bijele mase mozga, različitim intrakranijalnim krvarenjima ili pak golim okom nevidljivom aksonskom lezijom.

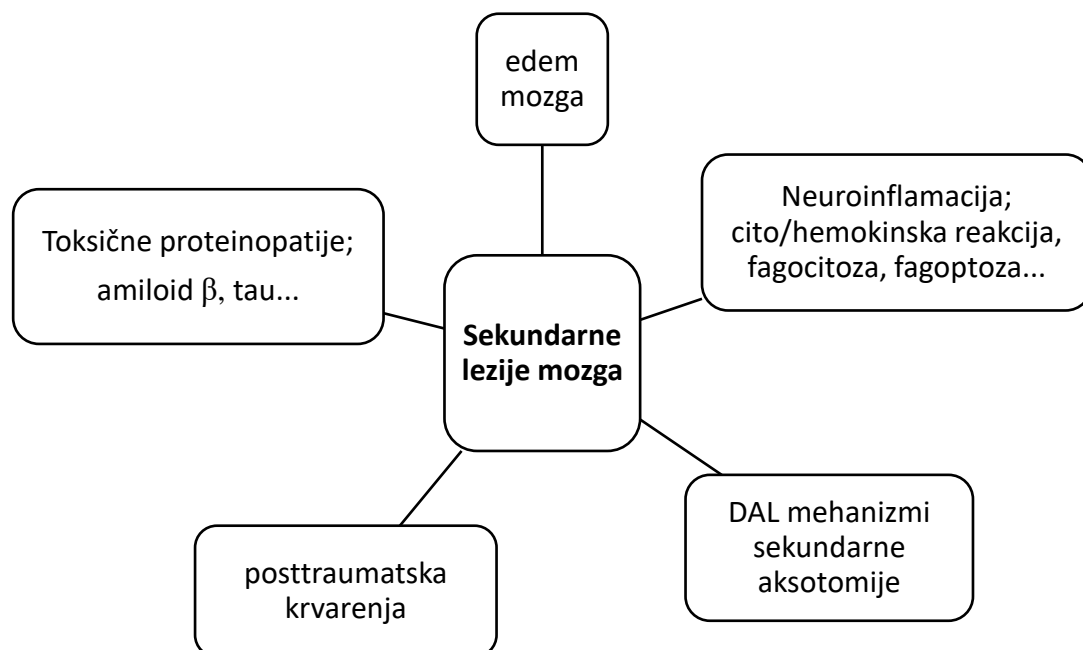
Kontuzije (nagnječenja) kore mozga su lokalizovana, gusto aranžirana krvarenja u moždanoj kori, nastala u zoni djelovanja povredne sile, direktnim kontaktom, oštećenjem sitnih vaskularnih struktura ovog dijela mozga (tzv. coup kontuzije). Tipično lokalizovane su na vrhu vijuge ali može se desiti i njihova propagacija ka dubini u bijelu masu. Međutim nagnječenja kore mozga mogu nastati i na suprotnom polu (tzv. contrecoup kontuzije) čiji se mehanizam nastanka objašnjava djelovanjem više faktora: fazno pomjereno kretanje moždanih hemisfera u odnosu na neravne koštane strukture, efekat kavitacije usljed negativnog pritiska na antipolu udarca uz pozitivnu interferenciju energetske talasa. Najčešća lokalizacija contrecoup kontuzija su vrhovi frontalnih i temporalnih režnjeva mozga, rjeđe na vrhovima okcipitalnih režnjeva. Za nastanak kontraku kontuzija neophodan uslov je da je glava mobilna u trenutku udara. Nagnječenja moždane kore mogu biti pojedinačna ili multifokalna a potom, tokom sljedećih 24 sata od povrede, sjediniti se u veća kontuzovana polja, odnosno uvećati se.

Penetrantne povrede mozga osim pratećeg intrakranijalnog krvarenja i kontuzija redovno su praćene i laceracijama moždanog tkiva. Osobine penetrantne povrede direktno zavise od balističkih karakteristika penetrantnog tijela i kinetičke energije koju ono posjeduje.

Difuzna aksonska lezija (DAL) jeste oštećenje aksonskih produžetka neurona uzrokovano mehaničkom traumom akceleracijsko - deceleracijskog tipa. Ove mehaničke sile propagirajući se kroz bijelu masu dovode do smicanja i istezanja pojedinih slojeva moždanog tkiva, što vodi oštećenju aksonskih produžetaka. Aksonska lezija može biti jedini tip traumatske ozljede mozga ili se javiti u kombinaciji sa drugim tipovima moždane lezije. Najčešće nastaje kod brzih akceleracijsko-deceleracijskih sila sa rotacijom glave u koronarnoj ravni. Klinički se manifestuje neposrednim gubitkom svijesti različitog trajanja, uz česte kognitivne deficite kod preživjelih.

Sekundarne povrede mozga - nastaju satima i danima kasnije u odnosu na vrijeme povređivanja a njihova distribucija nije u vezi sa propagacijom povredne sile. U osnovi njihovog nastanka leži poremećaj intrakranijalne volumenske homeostaze, odnosno porast intrakranijalnog pritiska. Intrakranijalni pritisak definisan je intrakranijalnim sadržajem a to su mozak, krv i likvor. U fiziološkim stanjima moždani parenhim zauzima 80% intrakranijalnog volumena, a likvor i krv po preostalih 10%. Prema Monro-Kelijevoj doktrini poremećaj bilo koje od ove tri komponente prozrokuje poremećaj i ostalih, tj, povećanje količine jedne uzrokuje smanjenje količine druge

dvije komponente lobanjskog sadržaja. Osnovni patofiziološki mehanizmi razvoja sekundarnih lezija mozga prikazani su na Grafikonu 1.



Grafikon 1. Mehanizmi uključeni u posttraumatsku sekundarnu leziju mozga.

Naravno, sekundarne lezije mozga nisu isključivo traumatskog porijekla. Mogu se razviti u sklopu bilo kojeg kompresivnog sindroma intrakranijalnog sadržaja, kao što su intrakranijalna krvarenja, neoplazme, inflamacijski procesi, zatim kao posljedica teškog elektrolitnog disbalansa, hiperpireksije, hipo/hiperglikemije itd.

Složeni patofiziološki mehanizmi obično započinju depolarizacijom ćelijske membrane i oslobađanjem ekscitatornih neurotransmitera (npr. glutamat, aspartat), poremećajem jonske homeostaze i ekscesivnim ulaskom Ca^{2+} i Na^+ u ćeliju. Hiperkalcemija aktivira lipidne peroksidaze, proteaze i fosfolipaze, što vodi porastu intraćelijske koncentracije slobodnih masnih kiselina, slobodnih radikala, mitohondrijalnoj disfunkciji i konačnoj smrti neurona. Nekontrolisan edem mozga i intrakranijalna hipertenzija vode pomjeranju moždanih masa i hernijaciji mozga; ispod falksa, malomoždanoog šatora ili u veliki potiljačni otvor. Moždani edem može se razviti u okolini kontuzije kao žarišna (fokalna) patomorfološka promjena ili poprimiti difuzne razmjere zahvatajući cijeli mozak. Dva su osnovna tipa moždanog edema.

Vazogeni edem nastaje kao posljedica sloma hematoencefalne barijere i ekstravazacije vode i plazma proteina iz krvnih sudova u okolno moždano tkivo. Mikroskopski ovo se manifestuje edemom astrocitnih nožica uz kapilarne zidove, citoplazme oligodendrocita te nakupljanjem tečnosti u ekstracelularnom prostoru bijele mase. Vazogeni edem može se pojaviti u minutama nakon traume ili razvijati se danima kasnije oko kontuzovanog dijela moždanog tkiva.

Citotoksični edem rezultat je ishemijsko-hipoksijskih procesa na terenu poremećaja Na^+/K^+ pumpe. Ovo dalje uzrokuje ulazak vode u neurone, astrocite i ostale ćelije, otvaranje Ca^{2+} kanala i intracelularni elektrolitni disbalans. Histološki se manifestuje edemom astrocitnih nožica i proširenjem perivaskularnih i perineuralnih prostora [25]. U literaturi se kao posebne vrste opisuju još intersticijalni (hidrocefalični) i osmotski edem mozga. Intersticijalni edem nastaje usljed opstrukcije likvorne cirkulacije dok osmotski edem uzrokuje osmotski poremećaj hematoencefalne barijere [26]. Naravno da različite vrste edema mogu biti prisutne u jednom procesu. Meningitis može biti praćen istovremeno vazogenim, citotoksičnim i intersticijalnim edemom a kod mehaničke cerebralne traume mogu se istovremeno sresti vazogeni i citotoksični edem. Ipak, citotoksični edem je češći pratilac mehaničke traume mozga [27, 28].

Upravo ove patološke promjene koje se razvijaju nakon primarne povrede ili morboznog procesa predstavljaju glavni cilj terapijskog djelovanja. U terminalnoj fazi razvoja ovih sekundarnih povreda mozga nastupiće krvarenje u središnjim partijama moždanog stabla. U ekstremnim fazama razvoja sekundarnih oštećenja nastaje autoliza moždanog tkiva, odnosno moždana smrt („coma de passe“).

Ishemijske promjene mozga

Ishemija moždanog tkiva veoma je česta patološka pojava kod teških kranio-cerebralnih povreda, posebno često prisutna na obdukcijama smrtno stradalih usljed neurotraume. Neopravdano se često poistovjećuje sa hipoksijom, ali potrebno je razlikovati ove dvije vrste moždanog oštećenja. Hipoksija je rezultat smanjene i nedovoljne opskrbe mozga kiseonikom. Klasična primjer je trovanje ugljenmonoksidom, kada je moždana cirkulacija očuvana ali hemoglobin umjesto kiseonika u mozak doprema ugljen monoksid. Cerebralna ishemija razvija se na terenu intrakranijalne hipertenzije i edema mozga usljed kardijalne insuficijencije, intrakranijalnog ekspanzivnog procesa, sistemske hipotenzije i sl. [29]. Kao direktna posljedica cerebralne ishemije javljaju se deficit kiseonika i glukoze, uz istovremeno nakupljanje toksičnih supstanci, prije svega laktata. Ove hemodinamske promjene narušavaju metabolizam ATP-a a neuroni nemaju alternativne načine opskrbe energijom. Cerebralna ishemija može biti fokalna ili globalna. Na ishemiju su najosjetljiviji naravno neuroni, potom oligodendroglia, astrociti i endotelne ćelije

vaskularne mreže. Među neuronima na ishemiju su najosjetljiviji neuroni hipokampalne regije, slojevi 3, 5 i 6 neokorteksa, vanjske regije striatuma i Purkinjeove ćelije cerebelarnog korteksa. Prva manifestna reakcija neurona na ishemiju je edem ili skupljanje ćelije. Ove promjene mogu biti reverzibilne sve dok ne započne proces oštećenja mitohondrijalnih membrana. Nakon toga slijede ireverzibilne promjene na neuronu: izražena acidofilnost citoplazme, piknotično jedro koje poprima trouglast oblik i direktan kontakt sa edematoznim astrocitnim nožicama. Kako ishemija napreduje, vremenom (satima kasnije) citoplazma postaje bljeđa a jedro se smanjuje [30]. Može se razviti u okolini kontuzije kao žarišna (fokalna) patomorfološka promjena ili poprimiti difuzne razmjere zahvatajući cijeli mozak.

Potres mozga (commotio cerebri)

Potres mozga može se definisati kao izmjena mentalnog stanja nastala povredom glave ili tranzitorna cerebralna disfunkcija bez trajnih posljedica. Obično se radi se o kratkotrajnom funkcionalnom poremećaju rada mozga, koji se manifestuje prolaznim kvalitativnim poremećajem ili potpunim gubitkom svijesti uz razvoj amnezije i izvjesnih vegetativnih ispada (mučnina, povraćanje, bljedilo, znojenje, nestabilnost krvnog pritiska i pulsa...), dok neurološki ispadi nisu prisutni. Ovaj termin, komocija mozga, u medicinsku praksu uveo je Ambroise Paré u 16. vijeku a u savremenoj anglosaksonskoj literaturi koriste se različiti nazivi za ovaj kliničku entitet – *mild traumatic brain injury (MTBI)*, *minor head injury*, *brain concussion*.

Osnovni mehanizam nastanka potresa mozga je akceleracija-deceleracija glave, što znači da za potres mozga nije neophodan kontakt glave sa tupotvrdom preprekom. Posebno pogodan mehanizam je akceleracija-deceleracija sa rotacijom glave, što je zajedničko i difuznoj aksonskoj leziji. Tipična klinička slika podrazumjeva poremećaj svijesti neposredno po povređivanju, u vidu ošamućenosti, zbunjenosti, dezorjentisanosti, pospanosti ili potpunog gubitka svijesti. Blagu komociju mozga karakteriše zbunjenost, ošamućenost, dezorjentacija ali bez gubitka svijesti. Kada postoji gubitak svijesti, obično traje nekoliko sekundi, rijetko duže od 1-2 minuta [31]. Prema Genareliju i sar. klasičan oblik komocije mozga definiše neposredni gubitak svijesti koji traje manje od 15 minuta, praćen zatvorenim očima koje ne mogu pratiti vizuelne stimuluse, odsustvom kornealnog refleksa i midrijazom. Svi poremećaji su reverzibilni uz obavezan dobar oporavak [32]. Savremeni, opšteprihvaćeni kriterijumi za postavljanje dijagnoze potresa mozga su;

- poremećaj stanja svijesti sa GCS 13-15 u vrijeme vršenja kliničkog pregleda, odnosno kratkotrajan gubitak svijesti (nekada do 15 minuta, aktuelno do 6 časova),
- posttraumatska amnezija do 24h (kongradna, retro- i/ili anterogradna),

- glavobolja, konfuznost i dezorijentacija,
- vegetativni poremećaji kao što su mučnina, povraćanje, bljedilo, znojenje, nestabilnost krvnog pritiska i pulsa i dr.,
- odsustvo grubih neuroloških ispada, uz moguću pojavu nistagmusa, tromije reakcije zjenica na svjetlost i akomodaciju.

Sve gore nabrojane manifestacije su prolaznog karaktera, osim amnezije. Radiološke pretrage: kompjuterizovana tomografija (CT) i nuklearna magnetna rezonanca (NMR) redovno su bez verifikovanih morfoloških promjena.

Američka neurološka akademija komociju mozga definiše kao „biomehanički uzrokovanu promjenu moždanih funkcija, prije svega memorije i orijentacije, moguće i sa gubitkom svijesti“ svrstavajući ga u blage povrede mozga [33]. Ovo su samo neke od brojnih definicija ovog neurotraumatološkog entiteta. Očigledno je da još uvijek nema univerzalne, opšteprihvaćene definicije potresa mozga.

Gubitak svijesti duži od šest časova ukazuje na ozbiljnije oštećenje mozga, obično difuznu aksonsku leziju [12], mada teži oblik potresa mozga i blaži oblik difuzne aksonske lezije često se preklapaju i istovremeno su prisutni.

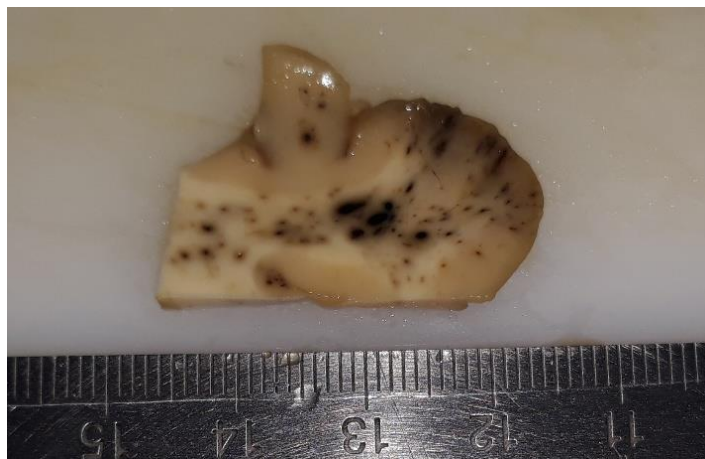
Patofiziološki poremećaj se događa na ćelijskom nivou u vidu disbalansa jonske i metaboličke homeostaze (Na^+ , Ca^{2+} , ekscitatornih aminokiselina kao što je glutamat itd). Porast koncentracije Ca^{2+} u ćeliji vodi oštećenju mitohondrijalne aktivnosti ali u slučaju komocije to uglavnom nije ireverzibilno, odnosno neuron obično preživi. Istraživanja na životinjama pokazuju pik influksa Ca^{2+} drugi dan od povređivanja i traje samo četiri dana. Suprotno, kod težih povreda mozga porast intraćelijske koncentracije Ca^{2+} je dugotrajniji i smatra se da upravo ovo uništava neuron [34, 35]. Za ponovno uspostavljanje ravnoteže potrebna je energija koja nedostaje jer je narušen i protok krvi u mozgu, kao i mitohondrijalna aktivnost. Drugim riječima neposredno po povređivanju mozga javlja se distress cerebralne cirkulacije koja nije u stanju obezbjediti energiju za naglo povećane metaboličke potrebe, prije svega glukozu. Kod težih kranio-cerebralnih povreda registruje se i prateći vazospazam, mada nije sigurno da li se on javlja i kod komocije. Od ključnog značaja je to što je mozak u ovoj fazi oporavka izrazito osjetljiv, pa u slučaju ponovljenog udara u glavu, do kojeg dolazi prije uspostave homeostaze, može doći do puno težeg, dugotrajnijeg, pa čak i nepovratnog oštećenja funkcije mozga. Ovo stanje, koje nazivamo „second impact syndrome“, može biti i fatalno. Iako najveći broj osoba koje dožive potres mozga u relativno kratkom vremenskom periodu oporave se bez ikakvih posljedica, jedan manji broj može razviti različite somatske, emocionalne i

kognitivne tegobe, koje skupno predstavljaju tzv. postkomocioni sindrom. U ovim težim slučajevima potresa mozga može se razmatrati eventualno postojanje i aksonske lezije.

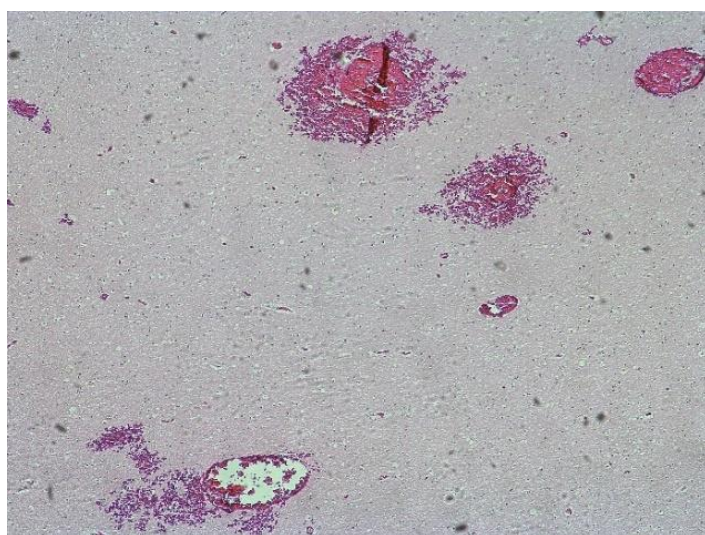
Traumatska cerebralna mikrokrvarenja (TCM)

Traumom uzrokovana mikrokrvarenja u mozgu nastaju rupturiranjem malih krvnih sudova; arteriola, kapilara i venula u moždanom tkivu - regijama bazalnih ganglija, talamusu, subkortikalnoj bijeloj masi, malom mozgu (Slika 1). Ipak najčešće se viđaju na granici kore i bijele mase kao i u korpus kalozumu, u perivaskularnim prostorima više radijalnog i/ili lineranog oblika, za razliku od predominantno okruglastih fokusa krvarenja koja nastaju na terenu patološki izmjenjene cerebralne mikrovaskulature [36]. Ovo se objašnjava razlikama u građi sive i bijele mase, što tokom akceleracijsko-deceleracijskih sila uzrokuje nejednako smicanje između slojeva, istezanje i kidanje sitnih krvnih sudova. Mehanička lezija endotelnih ćelija i zidova kapilarnih sudova kompromituje krvno-moždanu barijeru i uzrokuje sitna krvarenja u okolnom moždanom tkivu. Poslednje dvije decenije ova vrsta cerebralnih mikrokrvarenja privlače posebnu pažnju istraživača, sa ciljem utvrđivanja njihovog uticaja na oporavak traumatizovane osobe ali i moguće veze ove vrste vaskularne lezije sa aksonskom lezijom. Cerebralna mikrokrvarenja mogu biti traumatske prirode ili izazvane različitim morboznim uzrocima. Nažalost, rutinska magnetna rezonanca u svakodnevnoj praksi često ne može prikazati pravu sliku prisutnih mikrokrvarenja u mozgu. Ipak, sve raširenija upotreba savremene NMR dijagnostike sa velikom senzitivnošću na hemosiderin (gradient echo MRI, SWI) pokazuje znatno veću efikasnost i omogućila je mnogo uspješniju dijagnostiku ovih mikrokrvarenja u moždanom tkivu [37]. U literaturi uobičajeno se definišu kao okruglasta žarišta krvarenja promjera ispod 5mm [38] ili kao ovoidna žarišta krvarenja promjera 2 do 10 mm [39]. Različiti su podaci o incidenci ove vrste mikrokrvarenja u kranocerebralnim povredama, Toth i saradnici navode incidencu od 37 % [40], Lawrence i saradnici našli su mikrokrvarenja u 46% traume glave [41] do 60% u studiji Rizk i saradnika [42].

U radiološkim dijagnostičkim procedurama (NMR, CT) diferencijalno dijagnostički moraju se uzeti u obzir mogući depoziti kalcijuma ili željeza u bazalnim ganglijama, teleangiektazije ili sitne kavernoze malformacije [43]. U nastanku ovih mikrokrvarenja nije obavezno rupturiranje sitnih krvnih sudova jer neposredno nakon traume mozga može doći do prolaznog poremećaja i povećane permeabilnosti malih krvnih sudova te krvarenja per diapedesin. U tom slučaju ova krvarenja poprimaju oblik punoglavca, često nastajući istezanjem venskih sudova na mjestu grananja pialne vene u venulu [44].



Slika 1. Traumatska mikrokrvarenja u bijeloj masi frontalnog režnja.



Slika 2. Traumatska mikrokrvarenja u bijeloj masi frontalnog režnja. H&E bojenje, 10x

Histopatološkom analizom isječaka moždanog tkiva u slučajevima svježih krvarenja prepoznaju se intaktni ili djelimično lizirani ekstravazirani eritrociti. U situacijama subakutnog krvarenja (više od 24h od ekstravazacije) među liziranim eritrocitima uočavaju se i produkti njihove razgradnje; hematoidin i hemosiderin, praćeni početnom aktivacijom makrofaga. Još starija cerebralna mikrokrvarenja prepoznaju se po fokalnim nakupinama hemosiderinom bogatih makrofaga [45]. Ekstravazirana krv u moždanom tkivu pokreće složenu kaskadnu inflamatornu reakciju na koju lokalno moždano tkivo reaguje popuštanjem krvno-moždane barijere, razvojem lokalnog a zatim i

globalnog moždanog edema sa pratećom ishemijom. Pojedine studije oprezno ukazuju na to da traumatska mikrokrvarenja u sklopu kranocerebralnog povređivanja mogu poslužiti kao radiološki markeri sa prognostičkim značajem u verifikovanju DAL-a [46, 47, 48] i procjeni težine cerebralne traume i konačnog ishoda ali ova moguća veza još uvijek nije u potpunosti razjašnjena i zahtjeva dalja istraživanja [49, 50]. Teškoće u istraživanju traumatskih mikrokrvarenja radiološkim tehnikama (NMR) dolaze i od nezgodne osobine da se ova mikrokrvarenja „pojavljuju i nestaju“ na MRI skenovima tokom akutne posttraumatske faze [40, 51]. Ovaj problem navodi na razmišljanje koji je pravi tajming radiološkog utvrđivanja prisustva, brojnosti i veličine ove vrste mikrokrvarenja u moždanom tkivu, kao eventualnog prognostičkog faktora i zahtjeva uporna dalja istraživanja.

1.1.5. Difuzna aksonska lezija

Difuzna aksonska lezija (DAL) pripada grupi difuznih povreda mozga. Incidenca DAL-a nije dovoljno poznata, zbog objektivnih teškoća u njenoj dijagnostici kao i činjenice da veoma često dolazi u kombinaciji sa drugim vrstama kranocerebralnih povreda. Dominantna je povreda kod blizu 50% hospitalizovanih pacijenata sa kranocerebralnim povređivanjem u SAD a smatra se da je DAL prisutan u većini težih slučajeva traume glave u saobraćajnim nezgodama, praćenih gubitkom svijesti [52, 53]. Dijagnostikovano je u 40-50% slučajeva teških kranocerebralnih povreda od kojih jedna trećina završi fatalno [54]. U praksi najčešće se sreće u saobraćajnim nezgodama, zatim pri padovima s visine, udarcima tupotvrdim predmetom u glavu, „shaken baby syndrome“ kod novorođenčadi. Za razliku od obične komocije mozga koja podrazumjeva prolazni funkcionalni poremećaj stanja svijesti, difuzna aksonska lezija se karakteriše produženim komatoznim stanjem koje traje preko 6 časova, koje pri tome nije uzrokovano porastom intrakranijalnog pritiska ili ishemijskim procesima, nego brojnim, diseminovanim oštećenjima aksonskih produžetaka nervnih ćelija, lokalizovanim uglavnom u središnjim strukturama mozga. Osim što može imati fatalne posljedice, najčešći je uzrok trajnog vegetativnog stanja i drugih neuroloških sekvela kao što su kognitivna oštećenja i smetnje u memoriji [55, 56, 57, 58]. Lakši oblici difuzne aksonske lezije mogu biti prisutni i kod blažih kranocerebralnih povreda kao što je komocija mozga [59].

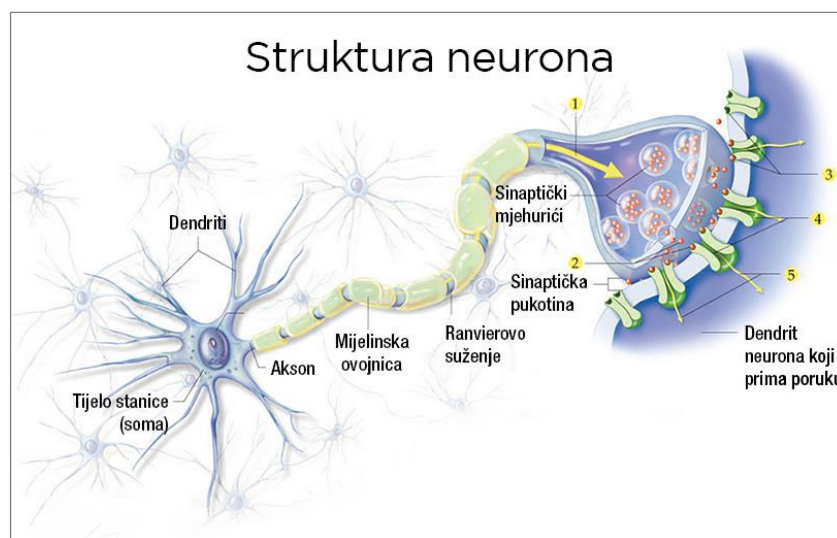
U savremenoj literaturi sreću se termini difuzne aksonske lezije i traumatske aksonske lezije. Difuzna aksonska lezija je termin odomaćen među kliničarima, kao jedan klinički sindrom potkrepljen neuroradiološkim znacima. Traumatska aksonska lezija je termin koji koriste patolozi

striktno za opis mehaničkom traumom uzrokovanim oštećenjem aksona [60]. Osim toga, termin „traumatska aksonska lezija“ češće se odnosi na animalne modele cerebralne traume koji imaju mnoge sličnosti sa patologijom traume humanog mozga [61]. U ovoj studiji koristiće se odomaćeni termin difuzne aksonske lezije.

Prije upoznavanja sa pojmom i suštinom difuzne aksonske lezije potrebno je kratko se osvrnuti na morfofunkcionalne karakteristike neurona - osnovne funkcionalne jedinice centralnog nervnog sistema.

Neuron ili nervna ćelija predstavlja osnovnu morfološku i funkcionalnu jedinicu cjelokupnog nervnog sistema (Slika 3.). To je visoko polarizovana ćelija koja se sastoji od tijela (soma) i svojih produžetaka; brojnih dendrita i jednog aksona od kojeg se mogu širiti kolaterale. Tijelo je ispunjeno citoplazmom sa jedrom i organelama. Zavisno od tipa neurona može biti veoma različite veličine; od malih zrnastih neurona prečnika oko 7-8 μm pa do 150 μm koliki je promjer Purkinjeovih neurona malog mozga. Tijela neurona smještena su u sivoj masi. Nukleus ili jedro je voluminozno, sa fino raspršenim hromatinom i prilično velikim nukleolusom. Citoplazma nervne ćelije je ispunjena granulisanim i negranulisanim endoplazmatskim retikulumom i slobodnim poliribozomima, koji formiraju tzv. Nislova tjelašca, brojnim štapićastim mitohondrijama i Goldžijevim aparatom. Mitohondrije obezbjeđuju ćelijsko disanje i energiju a Goldžijev aparat je uključen u produkciju, modifikaciju, vezikulizaciju i usmjeravanje lipida i proteina iz endoplazmatskog retikuluma za citoplazmatske i aksoplazmatske potrebe. Zbog izražene neuronske metaboličke aktivnosti neophodna je neprekidna reparacija same citoplazme i konstantna sinteza proteina. Kroz neuroplazmu se pružaju neurofilamenti i neurotubuli gradeći citoplazmatski skelet neurona. Plazmatska membrana nervne ćelije umnogome se razlikuje od membrana ostalih ćelija u ljudskom tijelu. Posebno je specifična organizacija neuronske membrane, imajući u vidu njenu bazičnu funkciju generisanja i sprovođenja impulsa u kontekstu međuneuronske komunikacije. Somatsku membranu nervne ćelije formiraju glikolipidi i glikoproteini na njihovim spoljašnjim i unutrašnjim površinama, za koje su vezani dijelovi unutrašnjeg citoskeleta proteinske prirode. Određeni integralni membranski proteini, pozicionirani unutar glikolipidnog membranskog dvosloja preko svojih specifičnih receptora mogu biti u kontaktu sa brojnim intra- i ekstracelularnim komponentama, graditi i specifične veze sa drugim ćelijama. U citoplazmi neurona nalaze se strukture koje grade infrastukturu za aksonski transport; mikrotubule, aktinski mikrofilamenti i neurofilamenti. Oni su pričvršćeni međusobno i za neurotubule mostićima debljine do oko 5 nm, dužine oko 20 nm. Snopovi međusobno povezanih neurofilamenata, koji se pružaju u uzdužnom smislu, formiraju neurofibrile, strukture ukupne debljine oko 0,5-3 μm , koje su smještene u prostoru

oko nukleusa, između mitohondrija, Goldžijevog aparata i drugih organela, u dendritima i aksonima. Neurofilamenti pripadaju citoskeletu i od esencijalne su važnosti za aksoplazmatski i dendritski transport. Neurotubule su većeg dijametra (oko 24-25 nm), prisutne u perikarionu i produžecima neurona. Vežu se sa neurofilamentima u neurofibrile, formirajući citoskelet nervnih ćelija. Imaju aktivnu ulogu u aksoplazmatskom transportu sa sinaptičkim vezikulama i/ili neurosekretornim granulama. Transport tereta (membranoznih organela i sinaptičkih vezikula) duž ovih citoskeletnih „puteva“ obavljaju tzv. "motorni proteini" – brojna familija kinezin i kinezinu sličnih proteina [62]. Za retrogradni transport endosoma, organela i neurotrofnih signala služe transportni proteini dinein i dinaktin [63, 64].



Slika 3. Struktura neurona

Od tijela polaze produžeci; akson i dendriti, koji prenose impulse i omogućavaju komunikaciju između neurona. Međuneuronska komunikacija ostvaruje se preko sinapsi, gdje plazma membrana aksonskog terminala presinaptičkog neurona dolazi u bliski kontakt sa dendritskom membranom postsinaptičkog neurona. Dendriti su kraći ali široko razgranati produžeci citoplazme, koji prenose impulse prema tijelu neurona tj, centripetalno. Sadrže sve tipove ćelijskih organela koje se mogu naći i u tijelu nervne ćelije. Brojnost mitohondrija se ne smanjuje dok Goldžijevog aparata je sve manje kako se smanjuje dijametar dendrita.

Akson je duži produžetak nervne ćelije, relativno konstantnog dijametra (10-20 μm), koji prenosi nervni impuls u smjeru od some ćelije ka periferiji (centrifugalno). Preciznije, osnovne uloge aksona su prenos električnih impulsa anterogradno te antero- i retrogradni transport proteina i

organela. Osim početnog dijela uz somu neurona, najveći dio aksona smješten je i formira bijelu masu, zajedno sa glijom, ependimskim i endotelnim ćelijama i kapilarama. Najduži aksoni u ljudskom tijelu su dugi preko jednog metra. Akson se formira iz početnog zadebljanja na tijelu neurona koji se zove aksonski brežuljak. Sami aksoni formiraju bočne kolaterale a mogu biti mijelinizovani ili nemijelinizovani. Završavaju se telodendritskom arborizacijom tzv. „završnim dugmićima“. Izgrađeni su od aksoleme, aksoplazme, neurotubula i neurofilamenata, cisterni glatkog endoplazmatskog retikuluma, rijetkih multivezikularnih tjelašaca.

Aksoplazmatski transport čini stalna cirkulacija aksoplazme u anterogradno-retrogradnom smjeru. Dvije su osnovne vrste aksonskog protoka; spori i brzi transport. Dominantan tip protoka je spori transport, koji se obavlja u anterogradnom smjeru. Na ovaj način transportuju se citoskeletni proteini i solubilni nemembranski proteini brzinom oko 0,01 – 0,1 $\mu\text{m/s}$. Brzi aksoplazmatski transport prenosi materijal brzinom 0,5 – 4 $\mu\text{m/s}$. Ovim načinom transportuju se glikopolisaharidi, lipidi, neurotransmiteri, vezikule, neurosekretorne granule, mitohondrije [65, 66].

Retrogradni aksoplazmatski transport označava centripetalno kretanje aksoplazme, prije svega proteina preuzetih sa aksonskih završnih dugmića. U patofiziološkim procesima ovako se transportuju neurotropni virusi. Ovakav anterogradni i retrogradni transport omogućavaju tzv. motorni protein – kinezin i dinein, uz pomoć ATP-a [67, 68, 69].

Mijelinska ovojnica aksonskih produžetaka u centralnom nervnom sistemu formira se iz plazma-membrane oligodendrocita. Izgrađena je od 70-75% lipida, a samo 25-30% proteina. To je modifikovana plazma-membrana koja se višestruko omotava oko aksona u vidu spirale. Mijelin potiče iz zgusnutih izdanaka oligodendrocita, spontanom namotavanjem na akson, formirajući višeslojnu membransku strukturu koja obezbeđuje funkciju mijelinske ovojnice. Osnovna funkcija mijelinskog omotača je ubrzanje provodljivost nervnog impulsa kroz aksone. Mijelinizovana aksonska vlakna sprovode impulse šest puta brže nego nemijelinizovana nervna vlakna.

1.1.5.1. Istorijat difuzne aksonske lezije

Prvi radovi o ovom patološkom entitetu objavljeni su još polovinom prošlog vijeka. Holbourn u svojim eksperimentalnim istraživanjima opisuje rotacione povrede mozga sa silama istezanja i međusobnog smicanja slojeva [70]. Vjerovatno prvi opis difuzne aksonske lezije, mada pod drugim imenom, dala je S. Strich 1956. godine, kada je na seriji pacijenata koji su umrli u sklopu posttraumatske demencije opisala fenomen “difuzne degeneracije bijele mase” [71]. U ovom

periodu istraživanja prepoznat je značaj sila istezanja i smicanja u nastajanju patomorfoloških promjena bijele mase velikog mozga. Rand i Courville pored makroskopski vidljivih promjena opisali su i diseminovane, suptilne patološke promjene razbacane po moždanom parenhimu [72]. Ovaj patološki entitet vremenom je u literaturi dobijao različite nazive; „shearing injury“, „diffuse white matter shearing injury“, „inner cerebral trauma“ [71, 73, 74]. Bez obzira na naziv, osnovna karakteristika mu je bila prolongirana posttraumatska koma, često bez fokalnih lezija moždanog tkiva. Sada opšteprihvaćen termin difuzna aksonska lezija prvi put se pojavljuje 80-tih godina prošlog vijeka, kada ga uvode Adams i saradnici te njime opisuju prisustvo difuznih aksonskih oštećenja u cerebralnim hemisferama, korpus kalozumu i moždanom stablu, ponekad i bijeloj masi cerebeluma, a koja su uzrokovana mehaničkom traumom glave. Istovremeno su osmislili sistem gradiranja težine aksonske lezije u tri stepena, zavisno od izgleda i distribucije patoloških promjena, koji je do danas opšteprihvaćen [75, 76]. U narednom periodu intenziviraju se istraživanja ovog problema koja dovode do saznanja da mehaničkom traumom uzrokovana deformacija u bijeloj masi uzrokuje prekid u aksoplazmatskom transportu i sukcesivno nakupljanje „transportovanog materijala“ duž aksona koji zbog toga bubri i strada [77, 78].

1.1.5.2. Biomehanika difuzne aksonske lezije

Osnovni biomehanički princip nastanka difuzne aksonske lezije jeste akceleracijsko-deceleracijski mehanizam sa elementima rotacije glave [79, 80, 81]. Ove mehaničkom traumom uslovljene akceleracijsko - deceleracijske sile dovode do smicanja i istezanja pojedinih slojeva moždanog tkiva i oštećenja aksona (Slika 4). Naime, moždano tkivo nije homogene konzistencije, zbog čega tokom mehaničkom traumom uzrokovano kretanja mozga ovi heterogeni slojevi kreću se različitim brzinama. Veličina, masa i oblik mozga svakako igraju značajnu ulogu u nastanku ove povrede. Osim toga pojedini dijelovi mozga različito su fiksirani za okolne lobanjske strukture, što dodatno utiče na intenzitet smicanja i istezanja različitih slojeva moždanog tkiva. U slučaju akceleracije glave u lateralnom smjeru nastaje naglo ubrzanje kretanja mozga ali prisustvo falksa u sagitalnoj ravni narušava ovo kretanje i dovodi do međusobnog rastezanja moždanih hemisfera, istezanja njihovih središnjih struktura i smicanja slojeva. Najugroženije strukture su upravo središnje postavljene; korpus kalozum i gornje partije moždanog stabla [82]. Rotaciono i lateralno kretanje glave dovodi do intenzivnijeg smicanja pojedinih slojeva i teže aksonske lezije nego u slučajevima translacionog (sagitalnog) kretanja glave [56, 57, 76, 83]. Drugim riječima, težina aksonske lezije

određena je intenzitetom akceleracijsko-deceleracijske sile, smjerom njenog djelovanja i dužinom trajanja. [55, 56, 57]. Iako za nastanak aksonske lezije nije neophodan kontakt glave sa tupom preprekom, novija istraživanja ukazuju da sudar glave sa preprekom dodatno potencira sile smicanja i istežanja moždanih slojeva [84, 85]. Ova otkrića naglašavaju značaj istraživanja protektivnog efekta bočnih vazdušnih jastuka u automobilima [86]. Kada je u pitanju dužina trajanja povredne sile, primjećeno je da kraće vrijeme djelovanja sile uzrokuje intrakranijalno krvarenje, dok duže vrijeme djelovanja prije rezultira aksonskom lezijom [87, 88]. Smatra se da je to razlog zašto je DAL češće prisutan kod putnika u motornim vozilima kod kojih je vrijeme udara glave u prepreku produženo apsorbirajućim materijalima u kabini vozila, u odnosu na bicikliste ili pješake čija glava se sudara sa tvrdim preprekama kao što su karoserija vozila, asfaltna površina i dr. [84 - 87].

Dejstvujuća mehanička sila propagirajući se kroz bijelu masu izaziva njeno deformisanje, istežanje i smicanje slojeva. Na nivou aksona ovo se manifestuje kidanjem mikrotubularne organizacije u aksoplazmi, a destrukcija njegovog citoskeleta ima za posljedicu prekid u aksoplazmatskom transportu i nakupljanje „transportovanog materijala“ na mjestima najvećih oštećenja aksona [89]. Ove nakupine duž oštećenog aksona tokom nekoliko časova uzrokuju njegovo sukcesivno aranžirano bubrenje i oticanje, odgovarajućim dijagnostičkim tehnikama uočljivo kao nepravilna aksonska izvijuganost i zadebljanja (varikoziteti). U slučaju kompletnog prekida aksona nastaje bubrenje njegovog proksimalnog okrajka što se manifestuje kao aksonska loptica (axonal bulbs), ranije zvana retrakciona lopta, axonal spheroid [76, 83, 89]. Ovakva primarna aksotomija nastaje rjeđe, u slučaju dovoljno intenzivne povredne sile koja će uzrokovati neposredno kidanje aksona. Klasično gledanje na aksonsku leziju kao događaj koji se po tipu primarne aksotomije dešava u trenutku djelovanja povredne sile odavno je prevaziđen. U tom slučaju potpunog prekida aksona neuron podliježe Walerianovoj degeneraciji i ireverzibilnom propadanju.

Velika većina oštećenih aksona strada u kasnijem periodu satima i danima nakon pretrpljene traume, tzv. odloženom aksotomijom, što je posebno prisutan mehanizam kod manje teških povreda mozga. To djelimično oštećenje aksona podrazumjeva njegovo istežanje ali bez kompletnog prekidanja, a što se mikroskopski manifestuje istežanjem, „undulacijom“ i nepravilnim zadebljanjima oštećenih aksona. To je tzv. sekundarni biohemijski kaskadni proces aksonske lezije, odgovoran za odloženu pojavu simptoma i naglo pogoršanje stanja svijesti kod pacijenta koji se naizgled uspješno oporavljao, kada su i ljekari zbunjeni naglim pogoršanjem stanja svijesti ili čak fatalnim ishodom [89, 90, 91]. Ovaj proces aksonskog oštećenja započinje ulaskom Ca^{2+} jona u aksoplazmu, bubrenjem mitohondrija, kidanjem mikrotubularne organizacije aksonskog citoskeleta, što vodi njegovom nepravilnom bubrenju [91 - 95]. Naime, povišene koncentracije Ca^{2+} intracelularno aktiviraju proteolitičku funkciju kalpaina i dezintegraciju mikrotubularne organizacije citoskeleta

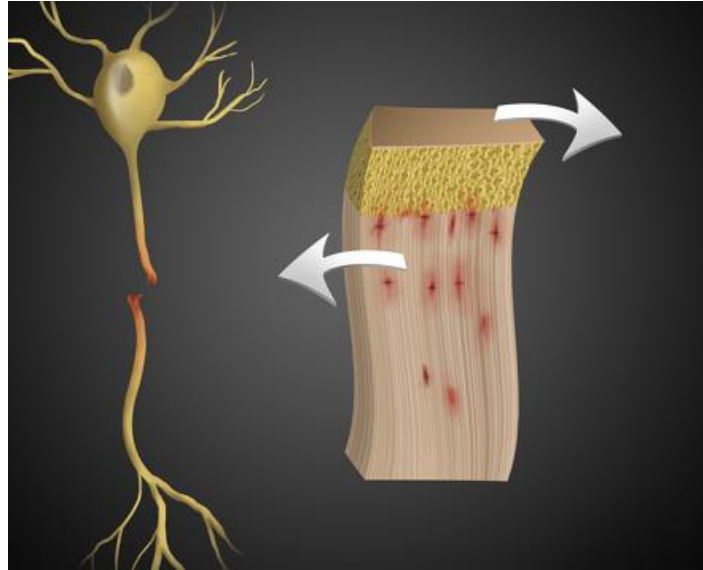
sa posljedičnim krahom aksonskog transporta. Veći poremećaj mitohondrijalne funkcije i prateći gubitak energetske kapaciteta neurona vode nepovratnom gubitku ćelije. Srećom mnogi od oštećenih ali neprekinutih aksona oporavljaju svoju funkciju ponovnim uspostavljanjem jonske (Ca^{2+} , Na^{+}) homeostaze, zamjenom pokidanih mikrotubula i neurofilamena [89, 93, 94]. Još uvijek postoje brojne dileme oko brzine nastanka ovih aksonskih promjena.

Pored neposrednih aksonskih oštećenja, DAL je redovno praćen i glijalnom reakcijom koja također igra važnu ulogu u daljoj progresiji i evoluciji cerebralne lezije te konačnoj prognozi same traume. Nastala lezija moždanog tkiva vodi daljoj sekreciji faktora rasta koji pokušavaju ograničiti stepen lezije ali aktivirane glijalne ćelije često „prekomjerno reaguju“ i nastavljaju kontinuirano oslobađanje proinflammatoryh citokina (npr. IL-6, IL-1 β , IFN- β , TNF- α , CD68+ i dr.). Previsoka koncentracija TNF α slabi mikroglijalnu odbrambenu reakciju i eliminaciju nakupljenog glutamata, što dalje oštećuje neuron. Na ovaj način aktivirane glijalne ćelije oslobađaju proinflammatory supstance koje pokreću inflamatorni odgovor, uzrokuju oksidativni stres u CNS-u i konačno vode ka uništenju neurona. Tako da i dalje ostaje nejasno da li aktivacija glije pokreće odbrambenu reakciju ili dodatno ledira moždano tkivo [95]. Ova mikroglijalna aktivacija praćena β APP imunopozitivnošću zadebljanih aksonskih produžetaka može se primjetiti veoma brzo u određenim regijama mozga, npr. talamusu već nakon šest časova [96]. Rezultati više skorašnjih studija ukazuju na mogućnost da aksonska oštećenja u vidu varikoznih zadebljanja nastaju veoma brzo i uveliko su reverzibilna [97, 98, 99]. U svakom slučaju nesporna je veza između mikroglijalne aktivacije i traumatske aksonske lezije, što otvara mogućnosti za terapijsko djelovanje u cilju ograničavanja štetnih posljedica aksonske lezije i naknadnih neuroinflammatoryh aktivnosti [100].

Pored opsežnih lezija bijele mase, diseminovana oštećenja korteksa, hipokampusa i talamusa imaju za posljedicu hronične kognitivne i emocionalne smetnje [101].

Teže kranio-cerebralne povrede koje uključuju i aksonsku leziju, prema skorašnjim istraživanjima u 50% slučajeva mogu biti praćene i poremećajem hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine, što dodatno slabi prognoze za oporavak pacijenta. [102, 103].

Mada povredna sila djeluje jednolično na određenu regiju mozga, mikroskopskim pregledom nađu se pojedinačni, rastrkani oštećeni aksoni, što se može objasniti individualnim razlikama u građi aksona (mijelinska ili nemijelinska vlakna) ili njihovom položaju u odnosu na smjer djelovanja mehaničke sile. To objašnjava zašto termin difuzna ozljeda nije najbolje riješenje, jer promjene definitivno nisu difuzno rasprostranjene.

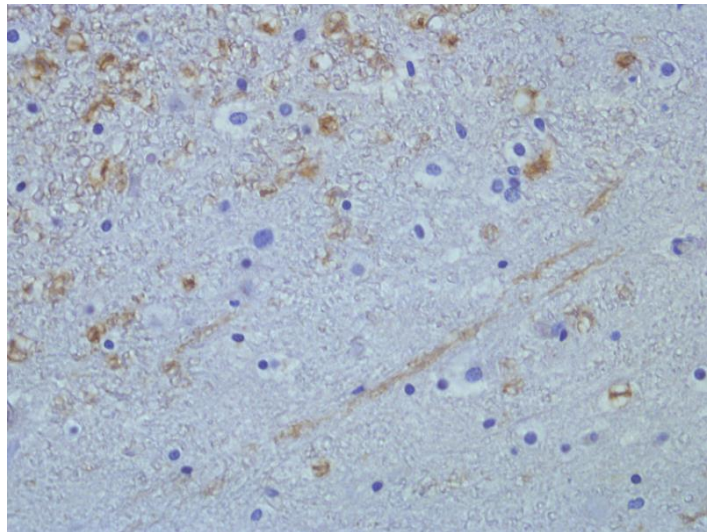


Slika 4. Smicanja i istežanja slojeva moždanog tkiva sa pratećom lezijom aksona i hemoragičnom komponentom.

1.1.5.3. Patomorfološka slika difuzne aksonske lezije

Aksonski produžeci neurona u CNS-u grupisani su u snopove (fascikule) koji formiraju ushodne, nishodne i asocijativne puteve. Mada su u fascikulima međusobno gusto zbijeni aksoni su ipak solitarne morfološke jedinice, direktno vezane samo za matični neuron dok se sve ostale komunikacije sa drugim aksonima i dendritima ostvaruju preko sinaptičkih pukotina. Zbog ovakve strukturne građe sile smicanja uzrokuju klizanje pojedinih grupa aksona u odnosu na druge grupe, pri čemu mogu nastati lezije vulnerabilnijih aksona, proporcionalno frekvenci i amplitudi povrednih sila smicanja. Velika dužina aksonskih produžetaka omogućava različite lokalizacije i udaljenost njihove lezije u odnosu na matični neuron, koji na taj način trajno gubi vezu sa konačnim odredištem lediranog aksona, drugim riječima gubi funkciju. Prilikom lezije mijelinskog omotača (oligodendroglije) moguća je izvjesna regeneracija aksona ali u slučaju kompletne aksonske lezije u CNS-u ne postoje regenerativne mogućnosti, nego pripadajući neuron tokom sljedećih par mjeseci podliježe Valerijanovoj degeneraciji. Ovaj degradacioni proces započinje hromatolizom (raspad Nislove supstance) i nabiranjem citoplazme te konačnom apoptozom. Histološki uočavaju se nakupine oligodendrocita oko umirućeg neurona (satelitoza) i neurinofagija. Konačno u području prethodno egzistirajućeg neurona formira se astrogljalni ožiljak.

Treba naglasiti da DAL nema makroskopske manifestacije koje bi se mogle registrovati golim okom na autopsiji ili tokom neurohirurške operacije. To posebno važi za blagi i srednji oblik difuzne aksonske lezije. Prateće povrede kranio cerebralne regije, fokalne ili difuzne, mogu i ne moraju biti prisutne uz aksonsku leziju. Manje više razbacana tačkasta krvarenja u bijeloj masi frontalnog režnja parasagitalno često se mogu vidjeti kod teških oblika difuzne aksonske lezije. Standardne radiološke tehnike takođe imaju velike probleme u dokazivanju ove vrste cerebralne traume. Konačna i definitivna patomorfologija aksonske lezije dokazuje se postmortalno, na mikroskopskom nivou. Najblaži oblik lezije više je funkcionalne prirode nego morfološki te kao takav karakterišu ga prolazni klinički poremećaji i neodoljivo podsjeća na potres mozga [12]. Gore opisana destrukcija aksonalnog citoskeleta, praćena poremećajem aksonalnog transporta na mikromorfološkom planu ogleda se u nepravilnim, vretenastim zadebljanjima istegnutih, edematoznih, oštećenih aksona (varikoziteti) i kuglastim zadebljanjima kompletno prekinutih aksona (Slika 5.).



Slika 5. Aksonska lezija prezentovana varikoznim i kuglastim zadebljanjima oštećenih aksonskih produžetaka.

Distribucija ovih promjena u moždanom tkivu može biti različita ali najčešće se viđa uz središnje strukture kao što su parasagitalna bijela masa cerebruma, kapsula interna, korpus kalozum, fornix, rostralni dijelovi moždanog stabla, bijela masa malog mozga, produžena moždina i cervikalni dio kičmene moždine [68, 90, 104, 105, 106]. Sam termin difuzna aksonska lezija nije najsrećnije

izabran s obzirom da se ne radi o difuznim već multifokalnim promjenama na moždanom tkivu, lokalizovanim pretežno uz gore nabrojane središnje strukture mozga [75, 76, 104, 105]. Još krajem osamdesetih godina prošlog vijeka Adams i saradnici su primjetili da ova aksonska lezija može imati različitu rasprostranjenosti i izraženost, što opet uslovljava različito tešku kliničku sliku i konačni ishod. Ovo saznanje rezultiralo je danas opšteprihvaćenom gradacijom difuzne aksonske lezije po Adamsu, u tri stepena (Tabela 3.) [76].

Tabela 3. Histopatološka klasifikacija DAL-a (po Adamsu)

Težina	Histopatološka slika
I	aksoplazmatska oštećenja u bijeloj masi velikog mozga, korpus kalozumu ili moždanom stablu.
II	sve nabrojano u I stepenu uz fokalne lezije (krvarenja) u korpus kalozumu.
III	I + II uz prisutne fokalne lezije u dorzolateralnim područjima rostralnog dijela moždanog stabla sa gornjim cerebelarnim pedunkulima.

Odavno postojećoj Adamsovoj klasifikaciji Abu Hamdeh i saradnici predložili su proširenje sa dodatnim, IV stepenom – hemoragijske lezije u regijama substantia nigra ili tegmentum mezencefalona [107].

Hemoragije u korpus kalozumu obično se uočavaju satima ili danima nakon traume, dijametra do 3 - 5 mm. Mogu biti pojedinačne ili raštrkane nekoliko centimetara u anterioposteriornom pravcu korpus kalozuma, najčešće locirane u njegovim donjim partijama unilateralno ali nije rijetka ni ekspanzija na forniks i u ventrikularni sistem sa posljedičnim intraventrikularnim krvarenjem. Nekad su ograničene samo na splenium i to njegove lateralne partije. Histološki se verifikuju prvo perivaskularne ektravazacije eritrocita koje se potom šire u okolno tkivo. Slična dešavanja i promjene vide se i kod hemoragija u moždanom stablu, prije svega njegovim rostralnim partijama [108]. Kao čest pratilac DAL-a spominju se i manje količine krvi u subarahnoidalnom ili subduralnom prostoru, frontalne i temporalne kontuzije [79].

1.1.5.4. Dijagnostika difuzne aksonske lezije

Prema Skandsenu i saradnicima kod oko tri četvrtine pacijenata sa kranio cerebralnom traumom postoji neki oblik difuzne aksonske lezije a prisutna je u skoro svim slučajevima teških trauma mozga [109]. Međutim, kod pacijenata sa kranio cerebralnim povredama dokazivanje DAL-a standardnim radiološkim tehnikama (CT i klasična NMR) izuzetno je nezahvalno i teško. U početnoj fazi liječenja, neposredno nakon traume DAL se dokazuje na osnovu kliničke slike i CT-om isključenih bilo kakvih spaciokompresivnih promjena u kranijumu. Klinički nalaz može samo ukazivati na prisustvo aksonske lezije. Simptomi mogu jako varirati. Poremećaj svijesti od momenta povređivanja uvijek je prisutan, uobičajeno traje duže od šest časova, ali to nije obavezno. Mogu se verifikovati različiti stepeni neuroloških ispada. Brzi razvoj neuroradiološke dijagnostike značajno je olakšao potvrđivanje ove vrste cerebralne traume. Postavljanju dijagnoze pomaže prisustvo petehijalnih hemoragija na granici sive i bijele mase koje nemaju ekspanzivni karakter [110, 111]. U ovom periodu zbrinjavanja teško povrijeđenih pacijenata priključenih na različite sisteme vitalne podrške, CT je najbolja raspoloživa metoda, nažalost nedovoljno efikasna u otkrivanju difuzne aksonske lezije. Slaba efikasnost kompjuterizovane tomografije posebno dolazi do izražaja kod tzv nehemoragičnih aksonskih lezija ili onih praćenih sa suviše sitnim tačkastim krvarenjima. Ovaj oblik hemoragijske aksonske lezije češće je prisutan u bolje vaskularizovanim područjima bijele mase, npr. kapsuli interni i bijeloj masi velikomoždanh hemisfera, posebno u kortikomedularnim regijama. Tek u kasnijem periodu, nakon stabilizacije pacijenata moguća je upotreba magnetne rezonance u praćenju njegovog stanja. U identifikaciji parenhimskih intrakranijalnih lezija NMR je skoro tri puta efikasnija radiološka metoda od CT-a. U otprilike 75% pacijenata sa kliničkom slikom koja ukazuje na DAL i „urednim“ CT-om, na magnetu se evidentiraju parenhimske lezije [112]. Nažalost, pošto je magnetna rezonanca složenija radiološka metoda čija procedura zahtijeva određeno vrijeme a kontraindikovana je kod pacijenata sa feromagnetnim implantatima, uglavnom je neizvodiva u akutnoj fazi, kada su pacijenti često hemodinamski nestabilni, priključeni na različite vrste monitoringa. Osim toga, konvencionalna NMR takođe nedovoljno je senzitivna u detekciji DAL-a, a treba imati na umu i mogućnost postojanja aksonske lezije kod težih oblika potresa mozga koji ne zadovoljavaju kliničke kriterijume za dijagnozu DAL-a [113, 114]. Savremene, tehnološki moćnije verzije neuroradiološke dijagnostike daju bolje rezultate: Diffusion Tension Imaging – DTI, Diffusion Weighted MRI - DWI, Gradient Echo Pulse Sequence – Susceptibility Weighted Imaging – GRE-SWI, PET, SPECT. GRE-SWI zbog svoje visoke senzitivnosti na hem i njegove raspadne produkte u moždanom parenhimu aktuelno se smatra zlatnim standardom u radiološkoj verifikaciji aksonske

lezije [115]. Radiolozi upotrebljavaju, na MRI zasnovanu, sljedeću klasifikaciju DAL-a u tri stepena; I stepen – aksonske lezije u bijeloj masi hemisfera velikog i/ili malog mozga; II stepen – aksonske lezije u korpus kalozumu i III stepen – aksonske lezije u moždanom stablu [116]. Prema skorašnjim istraživanjima DTI pokazuje visoku senzitivnost u otkrivanju patoloških promjena na nervnim strukturama u funkciji protoka vremena, te na taj način potvrđuje određenu efikasnost u predikciji oporavka neuralne funkcije u ranoj fazi nakon povrede. Iz tih razloga DTI bi mogao predstavljati osjetljivu metodu kvantifikacije za ranu dijagnozu i prognostičku analizu DAL-a [117].

Postmortalna dijagnostika aksonske lezije u prošlosti bazirala se na klasičnom H&E bojenju i impregnaciji srebrom, koje su bile relativno uspješne i zahtjevale višečasovno nadživljavanje. Standardna patohistološka tehnika bojenja hematoksilin-eozinom (H&E) omogućava vizualizaciju aksonske lezije tek poslije 24h časa od povređivanja. Impregnacija srebrom verifikuje aksonske promjene 12 do 18 časova nakon traume, uz prateću mikroglijalnu i astrocitnu reakciju, te promjene kapilarnog endotela [118], nažalost uz teškoće u diferentovanju oštećenih od iregularnih aksonskih produžetaka [119].

Tek upotrebom imunohistohemijskih metoda dokazano je da aksonska lezija nastaje mnogo češće a registruje se mnogo ranije. Imunohistohemijske metode zasnivaju se na vizuelizaciji različitih proteina nakupljenih u oštećenom aksonu.

Postoje različita imunohistohemijska bojenja u svrhu dokazivanja DAL-a;

- CD68 (mikroglijalni marker),
- GFAP (gliofibrilarni acidoprotein),
- ubiquitin C terminalna hidrolaza [55, 88].

Imunobojenja na CD68 i GFAP omogućavaju identifikaciju aksonske lezije tek danima nakon povrede [120]. Ubikvitin, cathepsin D, chromogranin A, neuron specifična enolaza (NSE) u stanju su da detektuju aksonsku leziju nekoliko časova od traume ali nisu se nametnuli kao relevantni imunomarkeri u rutinskoj forenzičkoj praksi [121, 122].

Od brojnih imunohistohemijskih tehnika bojenje na beta amiloid prekursor protein (β APP) pokazalo se kao najefikasnija i visoko senzitivna metoda u dokazivanju aksonske lezije [105, 122, 123, 124]. Hortobagyi i saradnici u studiji iz 2007. godine utvrdili su da je β -APP imuno bojenje efikasno u dokazivanju aksonske lezije kod nadživljavanja kranio-cerebralne povrede od samo 35 minuta [120].

U situacijama kada β APP imunobojenje nije dovoljno, istovremeno bojenje na druge markere kao što je ubiquitin, mikrogljalni CD68, bojenje na srebro i sl. mogu pomoći vremenskom datiranju povrede [104, 105].

Elektronski mikroskop omogućava identifikaciju difuzne aksonske lezije unutar jednog sata od povređivanja [108].

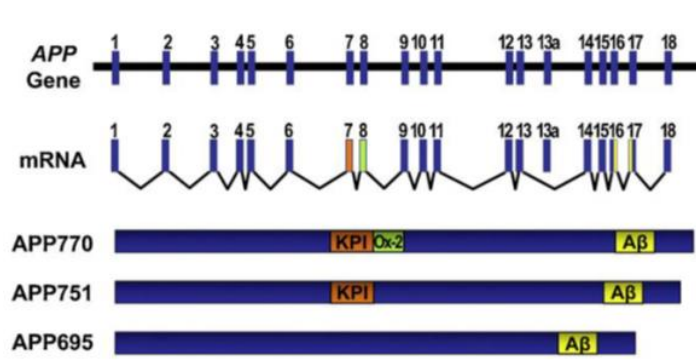
U dijagnostici aksonske lezije koriste se i različiti biohemijski markeri, koji se dokazuju u krvi ili likvoru, kao što su C-tau - polimer mikrotubularnog proteina Tau [125], neurofilamenti - proteinski polimeri koji izgrađuju aksonski citoskelet [126], S-100B, NAA (N-acetylaspartate), neuron specifična enolaza – NSE [127 - 131]. Ovi biomarkeri normalno su prisutni unutar aksona, a poslije aksonske lezije u povišenim koncentracijama dopijevaju u serumsku tečnost, gdje mogu biti identifikovani. Istražuje se i mogućnost upotrebe β APP kao biohemijskog markera aksonske lezije u likvoru [132]. Dijagnostika aksonske lezije pomoći serumskih biomarkera mnogo je efikasnija i sigurnija kada se dokazuje više različitih biomarkera nego prisustvo samo jednog markera [133, 134]. Gore opisani dijagnostički kriterijumi utvrđivanja DAL-a mogu se sumirati u Tabeli 4.

Tabela 4. Osnovni dijagnostički parametri difuzne aksonske lezije

Klinički	Akceleracijsko-deceleracijski mehanizam povređivanja, trenutni gubitak svijesti i perzistentni kognitivni poremećaji uz moguće ispade gornjeg motornog neurona.
Radiološki	Razbacana mikrokrvarenja prije svega u korpus kalozumu, moždanom stablu kao i drugim regijama mozga
Imunohistohemijski	Aksonski varikoziteti i kuglasta zadebljanja

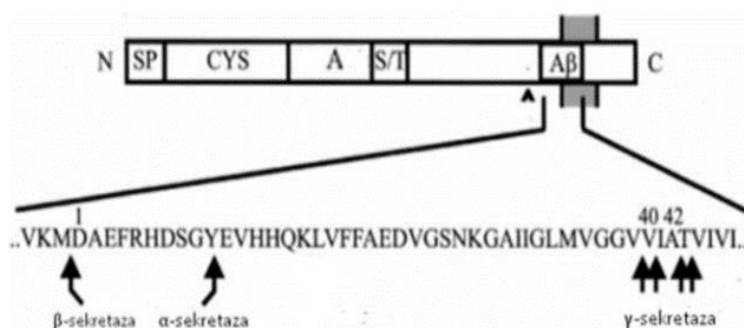
1.1.5.5. β amiloid prekursor protein (β APP)

Amiloidni prekursor protein (APP) pripada heterogenoj grupi proteina molekularnih masa između 110 i 140 kDa, koji su osim u moždanom pronađeni i u drugim tkivima. Gen za protein APP sastoji se od 19 egzona, lokalizovan je na hromozomu 21. Izoforme koje se sastoje od 751 i 770 aminokiselina mogu biti prisutne u različitim vrstama ćelija dok je izoforma sa 695 aminokiselina eksprimirana gotovo isključivo u neuronima (Slika 6.) [135, 136].



Slika 6. Gen, mRNA i izoforme APP-a [137]

APP je visoko očuvan protein koji je pronađen kod beskičmenjaka, ptica, sisara, djelomičan homolog pronađen je i kod vinske mušice, što sve ukazuje na njegovu evolutivnu stabilnost i značaj [138, 139]. Njegovo prisustvo u različitim ćelijama i tkivima; neuronima, glijanim ćelijama, endotelnim ćelijama, trombocitima, fibroblastima, slezini, timusu, mišićima, jetri... govori u prilog tome da se radi o proteinu sa bazičnim ulogama u ćelijskoj fiziologiji. APP je transmembranski glikoprotein građen od većeg ekstracelularnog N-terminalnog kraja, manjeg intracelularnog C-terminalnog kraja i jedne transmembranske regije. Tokom sinteze transportuje se u endoplazmatski retikulum nakon čega se translocira u Goldžijev kompleks preko kojeg obično dopijeva do površine membrane sekretornim vezikulama. Sazrijevanje proteina APP odvija se u ER-u i Golgijevu kompleksu pri čemu dolazi do brojnih posttranslacijskih modifikacija poput N-glikozilacije određenih aspartatskih ostataka i O-glikozilacije te sulfatacije određenih tirozinskih ostataka. Proteoliza APP-a obavlja se uz pomoć nekoliko aspartatskih proteaza: α -, β - i γ -sekretaze [137, 140] (Slika 7.).



Slika 7. Mjesta cijepanja α -, β - i γ -sekretaza te prikaz funkcionalnih regija proteina APP. SP = signalni peptid, CYS = regija bogata cisteinima, A = kisela regija, S/T = domena bogata serinima i treoninima, A β = amiloidna regija [141].

Na protein APP prvo mogu djelovati α - ili β -sekretaza pri čemu se α -sekretaza nalazi na površini ćelije dok je β -sekretaza prisutna u Golgijevom kompleksu, endosomima i na površini ćelije. β -sekretaza cijepa poslije 16. aminokiseline prije mjesta cijepanja α -sekretaze pri čemu nastaje manji ektodomenski fragment (β -APPs), koji se otpušta u ekstracelularni prostor, i veći transmembranski CTF, 99C. Aktivnost β -sekretaze određuje brzinu pretvaranja APP u A β -peptid. β amiloidni peptid ima molekulsku masu približno 4 kDa i brojne uloge u ćeliji. Prisutan je u ekstracelularnoj tečnosti i u mnogim ćelijama u tijelu, naravno i u neuronima a ima sposobnost prelaska hematoencefalne barijere. Njegove izoforme mogu se sastojati od 37 do 49 aminokiselina pri čemu su najčešći oblici s 40, odnosno 42 aminokiseline: A β 40 (80-90%) i A β 42 (5-10%) [142, 143, 144]. Iako β amiloidni peptid ima različite fiziološke uloge u zdravom organizmu, njihovom nekontrolisanom akumulacijom dolazi do kaskade događaja koji uzrokuju apoptozu neurona, prekid sinaptičkih veza i razvoj Alchajmerove bolesti [145].

Na temelju gore opisane strukturne građe β APP-a razvijena je hipoteza o receptorskoj ulozi ovog proteina u brzom aksonskom transportu. U normalnim okolnostima ne detektuje se u aksonu ali nakon aksonske lezije nakuplja se u količinama koje se savremenim imunohistohemijskim tehnikama lako detektuju. Ipak, uloge i fiziološke funkcije β APP u mozgu, kao ni u drugim tkivima, nisu ni približno rasvijetljene. Generalno, prepoznata je uloga u rastu i razvoju neurona, aksonskom transportu, neuroprotektivnim i neurostimulirajućim aktivnostima, sinaptogenezi. Gentlemen i saradnici su 1993. godine prvi opisali β APP kao marker aksonske lezije [146].

1.1.5.6. Klinička slika difuzne aksonske lezije

Kada govorimo o klasičnoj difuznoj aksonskoj leziji osnovna klinička slika jeste promptni gubitak svijesti koji traje duže od šest časova ali bez ugroženosti disanja, odnosno znakova spaciokompresivnog sindroma. Treba naglasiti da aksonskom lezijom uzrokovana koma nastaje odmah po povređivanju zbog prekida aksonskih puteva diencefaličke regije i praktične diskonekcije kore od moždanog stabla. U slučaju da je aksonska lezija lokalizovana u piramidalnom traktu, javljaju se i motorički deficiti. S druge strane, koma uzrokovana fokalnim kranocerebralnim lezijama razvija se postepeno, na terenu porasta intrakranijalnog pritiska zbog mas efekta ili globalnog edema mozga. U kliničkoj slici razlikujemo tri stepena difuzne aksonske lezije; blaga, srednje teška i teška aksonska lezija, predstavljeno u Tabeli 5. [75].

Tabela 5. Klinička klasifikacija DAL-a

Težina DAL-a	Klinička slika
blaga	koma 6 - 24h
srednja	koma > 24h bez drugih neuroloških ispada
teška	koma > 24h uz znake trpljenja moždanog stabla

Aksonska oštećenja mogu biti prisutna i kod blagih povreda mozga kao što je potres mozga [76-78, 147], sa tipičnim poremećajima vegetativnog nervnog sistema; glavoboljom, vrtoglavicom, poremećajima pulsa i krvnog pritiska, povraćanjem, znojenjem i dr. [148]. Nakon oporavka kod ovih pacijenata mogu dugotrajno perzistirati kognitivne smetnje, najčešće poremećaji koncentracije i memorije, što se upravo pripisuje konsekvencama aksonske lezije i prema nekima definiše tzv. „DAL sindrom“. Kliničke manifestacije blage kranio cerebralne povrede pružaju najbolju mogućnost upoznavanja ovog potencijalnog DAL sindroma koji uključuje širok spektar fizičkih i kognitivnih deficita, poremećaje raspoloženja i ponašanja; osjećaj lakog zamaranja, fonofobiju, tinitus, smetnje vida, nauzeu, glavobolju, poremećaje pažnje, memorije, razumjevanja, insomniju, razdražljivost [83]. Ne smije se smetnuti s uma da difuzna aksonska lezija može biti solitarni uzrok posttraumatske kome [77]. Zbog toga kliničari smatraju da je DAL glavni reprezent difuznih povreda mozga, sa kliničkom slikom kome koja traje duže od 6 časova a bez prisustva mas efekta tj, otoka mozga, hernijacije i kompresivnog sindroma. Što je teža klinička slika, to je veći obim i teži stepen aksonske lezije. Može se zamisliti spektar kliničkog ispoljavanja kranio cerebralne povrede gdje je na jednom kraju blagi oblik potresa mozga a na drugom kraju teško moždano oštećenje sa trenutnim i prolongiranim komatoznim stanjem, decerebracijom, trajnim neurološkim sekvencama, tj, teški oblik difuzne aksonske lezije koji se nerijetko završava smrću. Kod osoba koje su preživjele kranio cerebralnu povredu DAL je jedan od najčešćih uzroka različitog stepena invaliditeta, sa širokim spektrom psihosomatskih oštećenja; memorije, učenja, pažnje, koncentracije, emocionalnim, bihevioralnim smetnjama, sve do trajnog vegetativnog stanja [149 - 152].

Klinička slika još uvijek je jedan od najvažnijih indikatora težine aksonske lezije kod živih osoba U njoj procjeni najčešće se koriste Glazgovska skala kome, dužina trajanja besvjesnog stanja i posttraumatske amnezije (Tabela 6.) [153].

Tabela 6. Procjena težine kraniocerebralne povrede

	GCS	Posttraumatska amnezija	Besvjesno stanje
laka	13-15	< 1 dan	< 30 min.
umjerena	9-12	1 – 7 dana	30 min – 24 h
teška	3-8	> 7 dana	> 24 h

Postoje i druge klasifikacije težine kraniocerebralne povrede ali sve su manje/više slične i baziraju se na kliničkoj slici povređene osobe, npr. SNC (Scandinavian Neurotrauma Committee) iz 2000. godine, koji traumu glave dijeli na minimalnu, blagu, srednje tešku i tešku (Tabela 7.) [154].

Tabela 7. Klasifikacija težine kraniocerebralne povrede prema Skandinavskom komitetu neurotraume (SNC)

Težina povrede	Klinička slika
Minimalna	GCS 15, bez promjena stanja svijesti
Blaga	GCS 14 - 15, kratkotrajni (< 5 min.) poremećaj budnosti, svijesti, amnezija
Srednje teška	GCS 9 - 13, gubitak svijesti \geq 5 min. ili fokalni neurološki znaci
Teška	GCS 3 - 8

Nakon primarne traume, u daljem razvoju aksonske lezije, osim povećanja intrakranijalnog pritiska, dominantnu ulogu igraju neuroinflamatorni procesi pokrenuti oštećenjima aksona i glijalnih ćelija te aktivacijom proinflamatornih citokina. Za uspješnu terapiju upravo je ključna što hitnija, unutar prva četiri sata, primjena antiinflamacijskih i neuroprotektivnih lijekova, koji bi inhibirali inflamaciju, nekrozu i neuronsku apoptozu [155].

Među pacijentima koji prežive difuznu aksonsku leziju, česta su ozbiljna dugotrajna ili trajna fizička i kognitivna oštećenja, bihevioralne promjene ličnosti, što sve zajedno devastira kvalitet života povređene osobe ali i najbližih članova porodice. Vieira sa saradnicima procjenjuje da blizu 30%

pacijenata sa DAL-om umiru u roku šest mjeseci od traume. Među preostalim preživjelim 90% pacijenata uspije se oporaviti u mjeri da mogu voditi samostalan život bez potrebe za tuđom pomoći dok 10% pacijenata imaju teške sekvele koje zahtijevaju tuđu pomoć i njegu [156]. Prisustvo hemoragijskog u odnosu na nehemoragijski oblik DAL-a ne mora ukazivati na bitno drugačiju prognozu i ishod oporavka [157]. Ostali faktori koji smanjuju šanse za oporavak su nizak GSC skor, više od šest verifikovanih aksonskih lezija, pridružene kranocerebralne povrede, hiperglikemija i vegetativni simptomi [110]. Naravno, u slučaju politraumatizovanih pacijenata, sa teškim povredama drugih organskih sistema, situacija se značajno usložnjava i šanse za uspješan oporavak dodatno smanjuju. Prognoza difuzne aksonske lezije i dalje je krajnje nezahvalna. Mogućnost i razmjere oporavka su veoma diskutabilne a mnogobrojni su faktori koji utiču na to. Savremene radiološke dijagnostičke tehnike obećavaju određene uspjehe na tom polju a aktuelna saznanja govore da rasprostranjene aksonske lezije u korpus kalozumu, talamusu i moždanom stablu ukazuju na lošiju prognozu [158, 159].

1.1.5.7. Sudskomedicinski značaj difuzne aksonske lezije

Vrijeme nastanka konkretne povrede, dužina nadživljavanja, način i mehanizam povređivanja, mogućnosti psihomotornog djelovanja povređenog u tom periodu uvijek imaju neprocjenjiv forenzički značaj i predstavljaju neka od elementarnih pitanja na koja je potrebno što preciznije odgovoriti. U ovom posttraumatskom periodu u povređenom tkivu se dešavaju patofiziološki procesi koji ostavljaju patomorfološke promjene. Ove promjene, ako su pravovremeno i pravilno prepoznate i registrovane, mogu dati odgovore na gore nabrojana pitanja. Što je više prikupljenih medicinskih činjenica i podataka, veće su šanse za pravilnu interpretaciju cijelog događaja.

Slično ostalim kranocerebralnim povredama, difuzna aksonska lezija, kao izolovana trauma ili kombinovana sa drugim vrstama kranocerebralnih povreda, pored nesumnjivog kliničkog ima i sudskomedicinski značaj. U njenom dokazivanju imunohistohemija danas zauzima dominantnu ulogu i zbog svoje superiornosti uveliko je nadomjestila tradicionalne histološke tehnike bojenja.

Prije svega verifikovanje DAL-a potvrđuje pitanje zaživotnosti nastanka određene povrede, drugim riječima aksonska lezija je vitalna reakcija. Njen nastanak i razvoj takođe dokazuje da smrt nije nastupila neposredno nakon povređivanja. Savremene imunohistohemijske tehnike olakšavaju i realnije prikazuju prisustvo aksonske lezije u ispitivanom moždanom tkivu. Upoznavanjem patofiziološkog procesa razvoja aksonske lezije u funkciji vremena stvaraju se preduslovi za

preciznije utvrđivanje starosti lezije, tj. dužne nadživljavanja. Geddes i saradnici pokušali su pronaći vezu između prečnika varikozno zadebljanih aksona i dužine nadživljavanja, pretpostavljajući da dijametar lediranog aksona raste sa protokom vremena. Međutim, ispostavilo se da aksoni različitog dijametra različito reaguju na sile smicanja iste magnitude i da stepen zadebljanja povređenog aksona uglavnom zavisi od njegove početne debljine a tek u manjoj mjeri od patofizioloških procesa u aksonskom produžetku. Nažalost to je još uvijek nedovoljno precizan i pouzdan patofiziološki proces, koji zahtjeva dodatna sredstva, napore i fokusiranje na istraživanja u ovim područjima neurotraume.

Kada se govori o aksonskoj leziji uvijek u vazduhu lebdi pitanje njenog porijekla; da li je traumatska ili morbozna (ishemijsko-hipoksijska, hipoglikemijska, inflamatorna, neurodegenerativna [161 - 163]. Mora se naglasiti da u svakodnevnoj forenzičnoj praksi skoro redovno srećemo kombinovano prisustvo mehaničkim silama smicanja uzrokovane traumatske i ishemijsko-hipoksijske aksonske lezije. Razbacana ili grupisana distribucija aksonske lezije koja jasno zahvata pojedine fascikuluse u bijeloj masi ili poprma talasast oblik ukazuje na traumatsko porijeklo, dok nepravilne nakupine imunopozitivnih aksonskih varikoziteta favorizuju ishemijsko-hipoksijski mehanizam nastanka [164]. Kakogod, trenutno aktuelne histološke tehnike često ne mogu sa sigurnošću razgraničiti ove dvije vrste aksonske lezije, uprkos činjenici da je ishemijsko-hipoksijski mehanizam značajno zastupljen u ukupnom obimu aksonske lezije u slučajevima tupe neurotraume [165]. Veoma često se ove dvije vrste aksonske lezije preklapaju i istovremeno su prisutne u mozgu koji je pretprio mehaničku traumu a potom i ishemijsko-hipoksijske i/ili druge patofiziološke mehanizme. Kada je neophodno razjasniti dilemu između traumatskog ili ishemijskog porijekla aksonske lezije mogu pomoći kombinovana imunohistohemijska bojenja. Kod ishemijskim mehanizmima izazvane aksonske lezije pored eventualno pozitivnog bojenja na β APP marker, dodatna bojenja na neurofilamente i spectrin II ostaju negativna [115].

Ne smije se smetnuti s uma činjenica da aksonska lezija može nastati i relativno malim akceleracijskim silama. Štaviše, DAL može imati smrtonosan ishod i pri silama udara koje nisu dovoljne da prouzrokuju frakture lobanjskih kostiju i druge makroskopski uočljive intrakranijalne lezije [166].

Prisustvo petehijalnih krvarenja u bijeloj masi mozga često unosi nedoumicu u pogledu njegove etiologije; da li je uzrokovano mehaničkom traumom ili je netraumatske prirode npr. posljedica diseminovane intravaskularne koagulopatije, masne ili vazdušne embolije, vaskularne kongestije, cerebralne malarije. Lokacija i distribucija ovih petehija uz poznatu istoriju i okolnosti konkretnog slučaja mogu pomoći u razlikovanju traumatske od netraumatske prirode uočenih krvarenja [167].

Elektronski mikroskop omogućava vizualizaciju intraaksonalnih promjena u posttraumatskom periodu, mada je njegova upotreba u svakodnevnoj forenzičkoj praksi dosta ograničena [168]. Najbolje rezultate u pokušaju vremenskog datiranja nastanka povrede glave daje dokazivanje više različitih imunomarkera (β APP, C-Tau, neurofilamenti – laki i teški, SNTF - spectrin N-terminalni fragment...) zajedno sa drugim relevantnim forenzičkim činjenicama [169].

Pronalaženje imunohistohemijskih markera koji bi bili dovoljno efikasni u utvrđivanju vremena proteklog od povređivanja do smrti, imalo bi veliki forenzički potencijal. Nažalost, β APP imunomarker kao solitaran alat nije svemoguć po ovom pitanju, ali kombinovanjem različitih imunomarkera i komparativnom analizom rezultata mogu se dobiti mnogo upotrebljiviji podaci o tačnom vremenu povređivanja.

2 CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA

Predmet ovog istraživanja je difuzna aksonska lezija u akceleracijsko-deceleracijskim mehanizmima povređivanja glave sa smrtnim ishodom, u svjetlu njenog dokazivanja jednom konkretnom imunohistohemijskom metodom (β APP).

Specifični ciljevi istraživanja su:

1. Utvrditi prisustvo difuzne aksonske lezije u slučajevima nadživljavanja kraćeg od dva sata.
2. Ispitati učestalost i topografsku distribuciju aksonske lezije kod smrtno stradalih u akceleracijsko-deceleracijskim mehanizmima povređivanja.
3. Ispitati povezanost aksonske lezije sa drugim vrstama tupe kranio cerebralne povrede.
4. Ispitati postojanje udruženosti difuzne aksonske lezije sa traumatskim cerebralnim mikrokrvarenjima (difuznom vaskularnom lezijom).

Očekivani rezultati istraživanja, odnosno radne hipoteze su:

1. Imunohistohemijsko bojenje na β APP uspješno će dijagnostikovati prisustvo aksonske lezije u situacijama nadživljavanja kranio cerebralne traume kraćeg od dva sata.
2. Izabrana dijagnostička metoda - β APP imunohistohemijsko bojenje, potvrdiće distribuciju aksonske lezije kroz sve ispitivane središnje strukture mozga, a s obzirom na težinu kranio cerebralnog povređivanja sa konačnim smrtnim ishodom očekivano je da β APP ekspresivnost bude jače izražena u moždanom stablu kao sjedištu vitalno važnih funkcija.
3. Potvrdiće se pozitivna korelacija između prisustva aksonske lezije u moždanom stablu prezentovane kao tipično i veoma izražena β APP ekspresivnost (skala po Gentleman-u) i interhemisferično-paramezencefalično lokalizovane subarahnoidalne hemoragije.
4. Postoji udruženost difuzne aksonske lezije i prisustva traumatskih mikrokrvarenja u bijeloj masi, a s obzirom na sličan mehanizam nastanka difuzne aksonske i difuzne vaskularne lezije.

3 MATERIJAL I METODE

Istraživanje je obavljeno uz dozvole;

- Etičkog odbora Univerzitetsko-kliničkog centra Republike Srpske u Banjaluci,
- Etičkog odbora Kliničkog centra Vojvodine u Novom Sadu,
- Etičke komisije Medicinskog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu.

Saglasnost za ovo istraživanje obezbjeđena je i od nadležnog Okružnog javnog tužilaštva Republike Srpske u Banjaluci kao naredbodavca urađenih sudskomedicinskih obdukcija.

3.1. Materijal

Materijal za ovo prospektivno istraživanje predstavlja moždano tkivo smrtno stradalih osoba u akceleracijsko-deceleracijskim mehanizmima, obezbjeđen tokom redovnih sudskomedicinskih obdukcija u Zavodu za sudsku medicinu Republike Srpske u Banjaluci, u periodu od jula 2016. do kraja 2020. godine. Sve obdukcije su urađene u roku do 48 časova od nastupanja smrti. Najveći broj ispitivanih potiče iz saobraćajnih nezgoda, a manji broj ispitanika iz drugih tipova akceleracijsko-deceleracijskog mehanizma kao što su pad na tupotvrdu podlogu ili udarac tupotvrdim sredstvom u glavu.

Uzorak za istraživanje čine isječki moždanog tkiva smrtno stradalih osoba u akceleracijsko-deceleracijskim mehanizmima povređivanja. U istraživanje je uključeno ukupno 36 slučajeva smrtno stradalih osoba koji su zadovoljili sve potrebne kriterijume za uključenje u ovu studiju;

Odabranih ukupno 36 slučajeva podijeljeno je u dvije grupe, prema dužini nadživljavanja;

- Prvu grupu čini 17 slučajeva (mozgova) smrtno stradalih u akceleracijsko-deceleracijskim mehanizmima povređivanja, koji su umrli u vremenskom periodu kraćem od dva sata.
- Drugu grupu čini 19 slučajeva (mozgova) smrtno stradalih u akceleracijsko-deceleracijskim mehanizmima povređivanja, koji su umrli u vremenskom periodu od dva sata i dužem.

Grupe su usaglašene po polu, starosnoj dobi i mehanizmu povređivanja.

Materijal za kontrolnu grupu čini moždano tkivo deset slučajeva umrlih punoljetnih osoba kod kojih nisu verifikovane kranio cerebralne povrede (svježe ili stare), epilepsija, neurodegenerativne, difuzne ishemijsko-hipoksijske, hipoglikemijske ili inflamatorne promjene CNS-a. Radilo se o pet muških i pet ženskih osoba, starosne dobi od 21 do 77 godina. U šest slučajeva radilo se o prirodnoj smrti, u tri slučaja smrt je nastupila usljed asfiksije i jedan slučaj smrti od posljedica ubodne rane u grudni koš, uz isključene znake mehaničke traume glave.

Kriterijumi za uključivanje u studiju:

- stariji od 16 godina,
- umrli usljed kranio cerebralnog povređivanja u akceleracijsko-deceleracijskim mehanizmima povređivanja, sa tačno utvrđenim vremenom i načinom povređivanja te tačno utvrđenim vremenom smrti,
- slučajevi bez pozitivne istorije neurotraume.

Kriterijumi za isključenje iz studije:

- starosna dob \leq 16 godina,
- slučajevi sa nepoznatim načinom ili vremenom povređivanja, destrukcijom mozga,
- slučajevi sa globalnim ishemijsko-hipoksijskim promjenama mozga (coma de passe), dokazanom hipoglikemijom, neurodegenerativnim oboljenjima mozga, inflamatornim promjenama CNS-a, epilepsijom,
- slučajevi sa poznatom istorijom na neurotraumu (teži potres mozga i ozbiljnije kranio cerebralne povrede).

Uzimani su uzorci moždanog tkiva iz sljedećih regija mozga (Slike 8 -10);

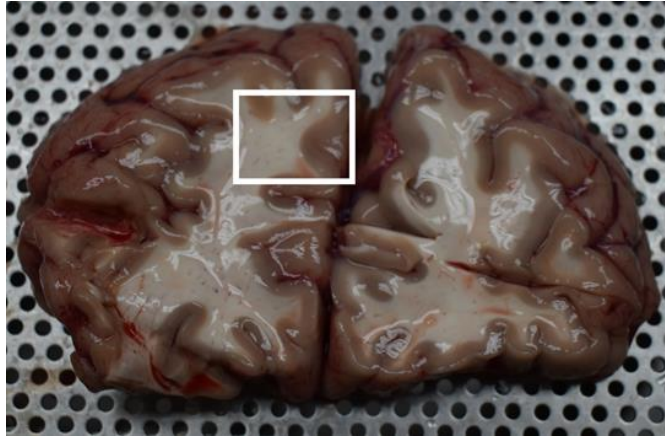
- parasagitalna bijela masa frontalnog režnja,
- prednji (genu) i zadnji dio (splenium) corpus callosum-a,
- rostralni dio ponsa ka gornjim cerebelarnim pedunkulima.

Ukupno po četiri uzorka iz svakog mozga.

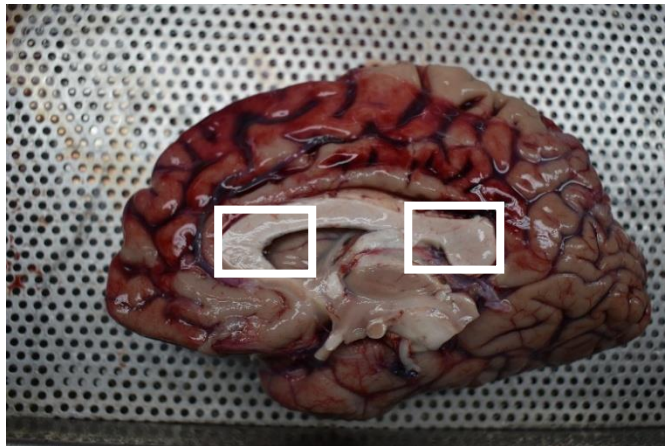
Ispitanici su oba pola, starosne dobi od 18 do 81 godinu. Osim utvrđivanja prisustva aksonske lezije, posmatrani su:

- pol i starosna dob,
- vrsta traume (saobraćajna nesreća - tip učesnika, pad s visine, udarac tupinom u glavu),
- dužina nadživljavanja,
- vrijednost GCS kod medicinski zbrinjanih (≤ 8 ; 9-12; 13-15),
- vidljive mekotkivne povrede glave,
- prelomi lobanjskih i kostiju lica,
- vrsta intrakranijalnog krvarenja (epiduralno, subduralno, subarahnoidalno, intrakranijalno), lokalizacija subarahnoidalnog krvarenja (svod, difuzno oko velikog i malog mozga, interhemisferično/paramezencefalično)
- mikrokrvarenja u bijeloj masi; mikroskopski verifikovana perivaskularna masivna ekstravazacija eritrocita do makroskopskih krvarenja promjera ≤ 10 mm (Slike 11 - 13)
- fokalne ozljede mozga (kontuzije mozga; coup - contracoup, intracerebralno krvarenje),
- difuzne ozljede mozga (edem, ishemijsko-hipoksijske promjene).

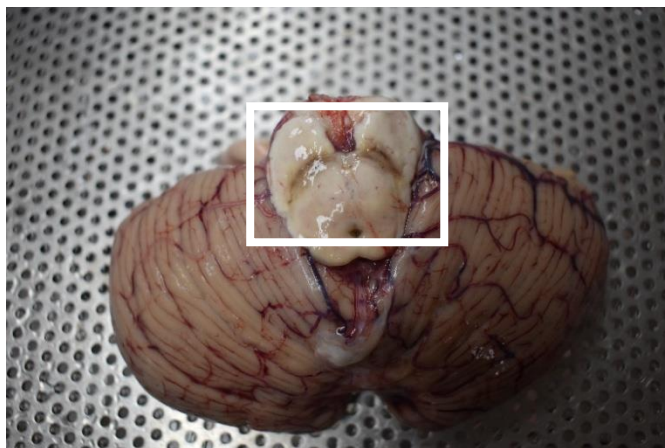
Iz policijskih izvještaja i medicinske dokumentacije pribavljeni su podaci o tačnom vremenu i načinu povređivanja, vrijeme smrti, odnosno period nadživljavanja, kao i vrijednosti GCS.



Slika 8. Frontalni lobus, parasagitalna bijela masa

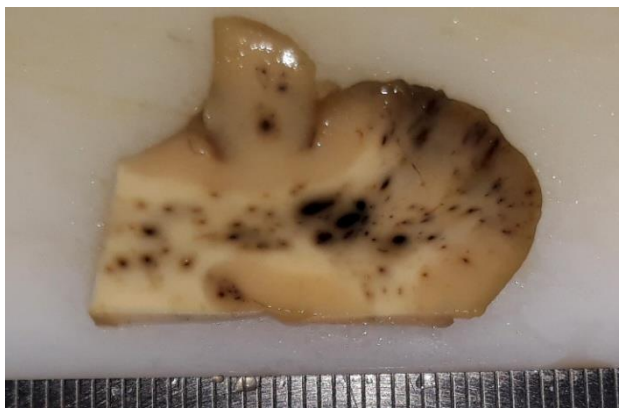


Slika 9. Korpus kalozum; genu i splenium

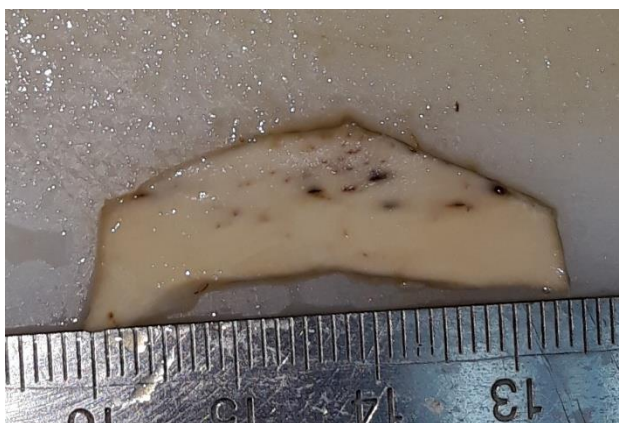


Slika 10. Pons cerebri, rostralni dio

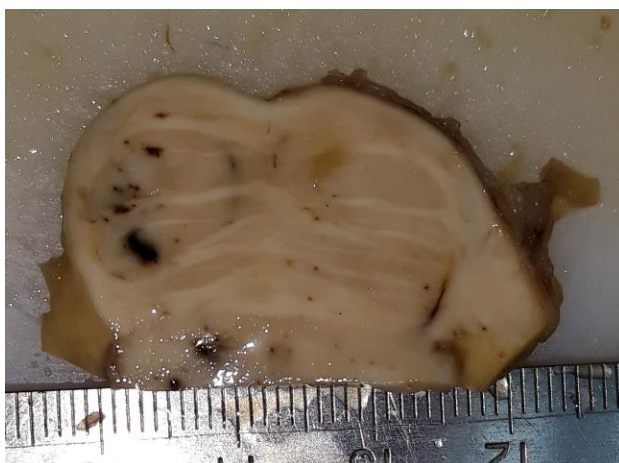
Primjeri mikrokrvarenja u parasagitalnoj bijeloj masi frontalnog režnja, korpus kalozumu i ponsu.



Slika 11. Mikrokrvarenja u parasagitalnoj bijeloj masi frontalnog režnja.



Slika 12. Mikrokrvarenja u regiji korpus kalozuma.



Slika 13. Mikrokrvarenja u području ponsa.

3.2. Metode

Sudskomedicinska obdukcija

Tokom postupka spoljašnjeg pregleda leša registrovane su sve spolja vidljive mehaničke povrede kranio-cerebralne i regije lica, kao i druge eventualno prisutne promjene. Sve mekotkivne povrede regije glave i lica svrstane su prema principu pravca djelovanja tupotvrde mehaničke sile; longitudinalno (čelo-potiljak) ili transverzalno (sljepoočno-tjemeno). Nakon toga klasičnom sudskomedicinskom tehnikom, polukružnim rezom pristupilo se skidanju poglavine i otkrivanju svoda lobanje, koji je otvoren kružnim rezom električnom rotacionom testerom i uklonjen da bi se pristupilo intrakranijalnom prostoru i sadržaju. Tokom ovog postupka pažljivo su eksplorirane sve kranijalne i intrakranijalne strukture u potrazi za tragovima mehaničkog povređivanja; frakturama lobanje, epiduralnom, subduralnom, subarahnoidalnom krvarenju (tačnoj lokalizaciji SAH-a), kontuzijama/laceracijama mozga, intracerebralnom, intraventrikularnom krvarenju ili drugim patološkim promjenama (edemu ili atrofiji mozga, inflamaciji, ožiljnim promjenama, anomalijama). Nakon što je početni dio kičmene moždine presiječen neposredno ispod velikog potiljačnog otvora, kompletan mozak je izvađen iz lobanjske duplje te se pristupi identičnom pretraživanju baze mozga. Nakon toga izmjeri se masa mozga, u gramima. Dalji pregled velikog mozga obavljen je poprečnim rezovima debljine oko 1 cm, a pregled moždanog stabla i malog mozga horizontalnim presjecima debljine oko 0,5 cm, pri čemu su eksplorirane intracerebralne strukture. U ovoj fazi obdukcije pristupilo se izuzimanju blokova moždanog tkiva iz gore nabrojanih lokalizacija mozga zanimljivim za predmetno istraživanje, koji se pohrane u pufervisani rastvor 10% formalina u trajanju tri nedjelje.

Opisani postupci i sve nađene promjene dokumentovani su fotografisanjem na licu mjesta (Nikon D60, f18-105).

Po obavljenom fiksiranju uzetih blokova moždanog tkiva, obavljeno je formatiranje isječaka moždanog tkiva koji će biti predmet istraživanja:

- Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja,
- Splenium i genu korpus kalozuma,
- Gornji dio ponsa ka gornjim cerebelarnim pedunkulima

Potom je uslijedilo kalupljenje preparata u parafinu za potrebe histološkog bojenja hematoksilin-eozinom i imunohistohemijskog bojenja na β APP marker. U formalinu fiksirani isječki moždanog tkiva ispirani su destilovanom vodom preko noći, zatim je obavljena postupna dehidracija u etil alkoholu: 30%, 50%, 70%, 80%, 90% po 24h, potom u 100% etanolu 2 x 2h. Poslije obavljene dehidracije tkivo je tretirano u ksilolu i parafinu I tokom 90 minuta, pa u parafinu II 3 h. Konačno ukalupljeno tkivo isječeno je u odsječke debljine do 5 μ m.

Histološko bojenje hematoksilin-eozinom:

Preparati su deparafinirani trostrukim uranjanjem u ksilol (15 minuta – 10 minuta – 5 minuta), ekvimolarnu mješavinu 96% etanola i ksilola u toku 5 minuta, 100% alkoholu u toku 3-5 minuta, zatim je uslijedila rehidracija u seriji rastvora 96% etil alkohola po 3 minuta, ispiranje u destilovanoj vodi i bojenje hematoksilin-eozinom (1g hematoksilina, 200mg kalijumtrijodata, 50g kalijum-aluminijumsulfata-12-hidrata i 50g hloralhidrata rastvori se u 1 litru destilovane vode i ostavi na tamnom mjestu u toku 5 dana prije upotrebe) 2-5 minuta. Nakon toga uslijedilo je ispiranje u destilovanoj vodi i bojenje u rastvoru eozina (1g eozin žutog u 1 litru destilovane vode) 30 sekundi, ispiranje u destilovanoj vodi, uranjanje u seriju od tri 96% rastvora etil alkohola po 2 do 5 minuta, te na kraju u 100% etanol u trajanju 5 minuta. Konačno, isječki su kompletirani i pripremljeni na predmetnim staklima pokrivanjem pokrovnim pločicama i dalje analizirani na odgovarajući način.

Imunohistohemijsko bojenje na β APP:

Iz parafinskih kalupa formirani su isječki debljine do 5 μ m, koji su postavljeni na predmetna stakla. Ova predmetna stakla izložena su djelovanju temperature od 37° C u inkubatoru tokom noći, zatim je izvršena deparafinizacija i rehidracija u ksilolima (I i II) i opadajućim rastvorima alkohola (100%, 95% i 75%) od po 3 minute. Pretretman je obavljen u citratnom puferu (target retrieval solution pH=9,9; Dakocytomation Kat.br. S 3308) tokom 20 minuta u mikrotalasnoj rerni snage 800W. Blokiranje endogene peroksidaze i povećanje ćelijske permeabilnosti izvedeno je ispiranjem isječaka TBS-om (pufer čiji je pH 7,6), inkubiranjem u blokirajućem rastvoru (0,3% H₂O₂ u metanolu, u odnosu 1:9) u toku 20 minuta na sobnoj temperaturi, te ispiranjem sa TBS-om. Imunohistohemijska analiza izvedena je monoklonalnim antitijelima za β -APP (Monoclonal Mouse Anti-Human β -Amyloid, Dakocytomation Kat.br. M 0872) koja se nakapavaju na isječke u

razblaženju od 1:50 i inkubiraju na sobnoj temperaturi 30 minuta, nakon čega se ispiraju TBS-om. Zatim je kompleks antigen-antitijelo obilježen streptavidin-biotin linkom (LSAB, Dakocytomation Kat.br. K 0690) od po 15 minuta na sobnoj temperaturi, a između isječki su ispirani TBS-om. Vizualizacija isječaka izvršena je nakapavanjem diamino-benzidina (DAB, Dakocytomation Kat.br. K 3466) i inkubiranjem 10 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon ovog postupka preparati su potopljeni u hematoksilin 45 sekundi, a zatim u seriju rastućih alkohola (75%, 95% i 100%) i ksilole (I i II). Konačno, tretirani isječki na navedeni način potom su pokriveni pokrovnim stakalcem na klasičan način i spremljeni za mikroskopsku analizu.

Histomorfološka analiza dobijenih isječaka:

Mikroskopiranje je izvršeno standardnim svjetlosnim mikroskopom (Leica DM2500) pri uvećanjima od 10x i 40x, te fotodokumentovano pomoću Leica Application Suite (LAS) EZ, version 3.3.0.

HE bojenjem dijagnostikovane/isključene su patološke promjene na moždanom tkivu kao edem/atrofija mozga, hemoragije, degenerativne, inflamatorne, hipoksijsko/ishemijske promjene. Posebno je evidentirano prisustvo mikrokrvarenja u posmatranim regijama moždanog tkiva, koje je manifestovano kao izdašna ekstravazacija svježih i/ili liziranih eritrocita, sa hemosiderinskom komponentom i lokalizovanom makrofagnom reakcijom.

Imunohistohemijskim bojenjem registrovana je β APP pozitivnost analiziranih isječaka prisustvom aksonskih loptica i/ili varikoziteta, te semikvantitativno procjenjena na sljedeći način [124]:

- „0“ ne postoji pozitivnost
- „+“ slabo izražena pozitivnost (izolovani, mjestimično raštrkani aksonski varikoziteti),
- „++“ tipična pozitivnost (pojedinačne ili grupisane aksonske loptice i varikoziteti),
- „+++“ veoma izražena pozitivnost (difuzno, ekstenzivno prebojavanje kroz bijelu masu, pokriva cijelo ili veći dio vidnog polja).

Gradiranje težine difuzne aksonske lezije kod svakog ispitanika obavljeno je prema standardnoj klasifikaciji po Adamsu u tri stepena [76];

- I stepen: mikroskopski verifikovana aksoplazmatska oštećenja u bijeloj masi velikog mozga, korpus kalozumu ili moždanom stablu,
- II stepen: I stepen + fokalne lezije (krvarenja) u korpus kalozumu,
- III stepen: I stepen + II stepen + fokalne lezije (krvarenja) u rostralnom dijelu moždanog stabla.

Kada je u pitanju dužina nadživljavanja, analizirana je pojava i osobine aksonske lezije u slučajevima nadživljavanja kraćeg od dva sata i kod nadživljavanja u vremenskom periodu dva sata i duže.

3.3. Mjesto istraživanja

Prikupljanje materijala tokom redovnih sudskomedicinskih obdukcija, fiksiranje i formatiranje isječaka, kalupljenje materijala i histološko bojenje hematoksilin-eozinom obavljeno su u Zavodu za sudsku medicinu Republike Srpske u Banjaluci.

Imunohistohemijsko bojenje na β APP obavljeno je u laboratoriji Centra za sudsku medicinu, toksikologiju i molekularnu genetiku Kliničkog centra Vojvodine u Novom Sadu.

3.4. Statistička obrada podataka

Dobijeni podaci obrađeni su metodama deskriptivne i inferencijalne statistike. Atributivna obilježja su prikazana kroz apsolutne i relativne brojeve a numerička mjerama centralne tendencije (aritmetička sredina, medijana), odnosno varijabiliteta (standardna devijacija, standardna greška). Imajući u vidu specifičnosti istraživnog problema i prirodu posmatranih podataka, te veličinu uzorka koja je trebala obezbjediti dovoljnu statističku snagu testiranja, za statističku obradu podataka upotrebljeni su neparametrijski testovi. Za testiranje razlika u raspodjeli atributivnih obilježja korišten je χ^2 test. Kruskal – Wallis-ovim testom testirane su razlike u raspodjeli varijabli sa ordinalnom skalom mjerenja između tri ili više nezavisnih kategorija. Analiza povezanosti dva obilježja sa ordinalnom skalom izvršena je upotrebom Spirmanove neparametrijske korelacije. Statistička značajnost je testirana nivoom vjerovatnoće $p < 0,05$.

Statistička obrada podataka izvršena je uz pomoć softvera IBM SPSS ver. 21 a rezultati prikazani tekstualno, tabelarno, grafički i fotografijama.

4. REZULTATI

4.1. Demografski i podaci o mehanizmu povređivanja u ukupnom uzorku

U studiju je uključeno ukupno 36 slučajeva smrtno stradalih osoba u akceleracijsko-deceleracijskim mehanizmima, koji su zadovoljili sve neophodne kriterijume uključenja u studiju.

Nastradale osobe bile su starosne dobi 18 do 81 godinu, prosjek 49,5 godina, median 51 godinu, što prikazuje Tabela 8.

Tabela 8. Starosna struktura u ukupnom uzorku

Starosna dob	Godine
raspon	18 – 81
srednja vrijednost	49,5 (SE 3,06)
medijan	51 (SD 18,36)

SE - standardna greška; SD - standardna devijacija

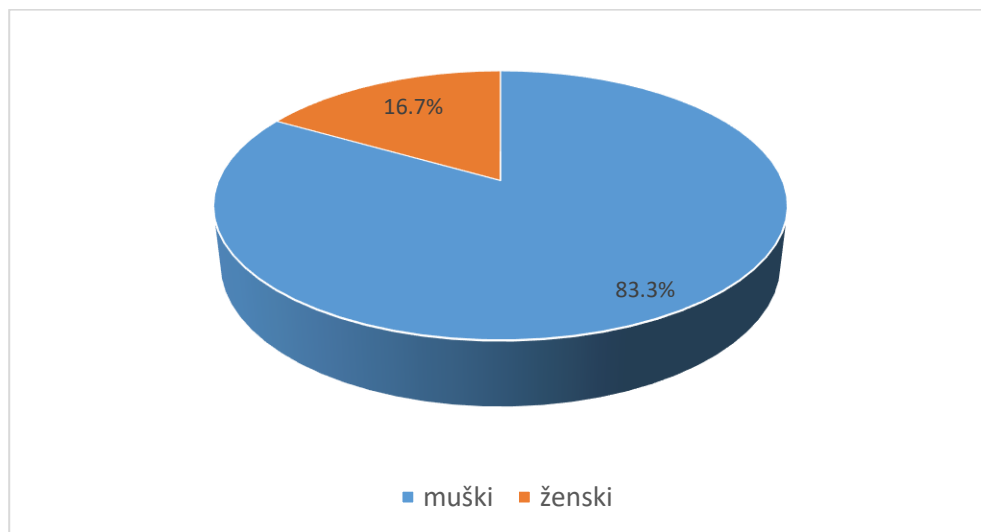
U Tabeli 9. predstavljena je starosna distribucija grupisana u kategorije.

Tabela 9. Starosna distribucija, grupisano

Starosna dob (godine)	Broj (%)
18 – 29	7 (19,4)
30 – 59	17 (47,2)
60 +	12 (33,3)

Distribucija podataka za varijablu „starosna dob“ izražena je mjerama asimetričnosti (skewnes) i homogenosti (kurtosis). Dobijene su vrijednosti blago negativne, možemo reći zanemarljive asimeričnosti (skewnes -0,060) i negativne homogenosti (kurtosis -0,918), koje ne odstupaju značajno od normalne distribucije.

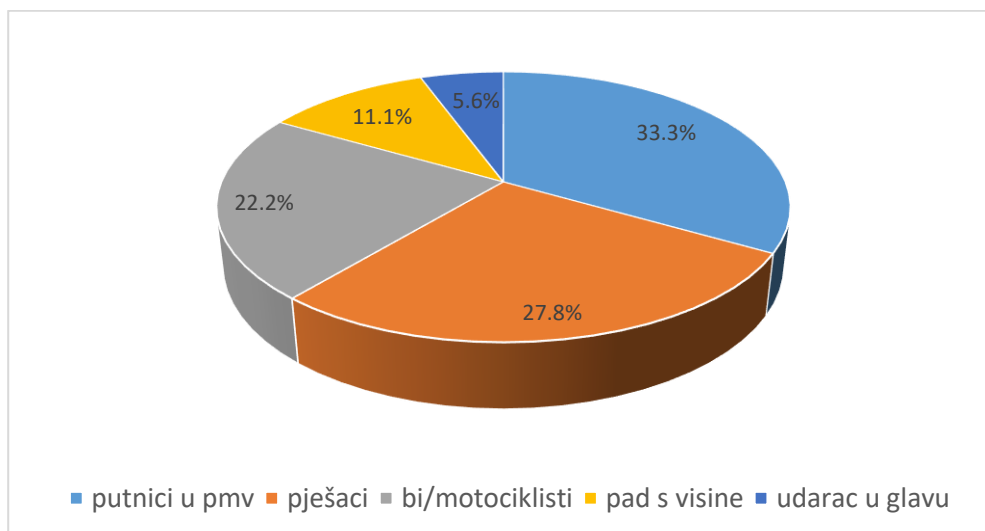
Uvjedljiva zastupljenost muškaraca u posmatranom uzorku jasno je prikazana na sljedećem grafikonu.



Grafikon 2. Polna distribucija u ukupnom uzorku

Starosna dob nastradalih muškog pola kretala se u intervalu 18 – 81 godine, prosjek 49,1 godinu (SD 18,764) a starosna dob nastradalih žena bila je u rasponu od 18 – 79 godina, prosjek 43 godine (SD 24,232).

Trećinu ukupnog broja ispitanika predstavljali su vozači i ostali putnici (suvozači i putnici na zadnjem sjedištu) u motornim vozilima, 27,8% su bili pješaci u koliziji sa motornim vozilima, još 22,2% motociklisti i biciklisti, tako da su žrtve saobraćajnih nezgoda činile 83,3 % ukupnog uzorka u ovom istraživanju (Grafikon 3.).



Grafikon 3. Struktura akceleracijsko-deceleracijskih mehanizama povređivanja

Nije utvrđena statistički značajna razlika polne distribucije u kontekstu mehanizma povređivanja (χ^2 test $p = 0,472$).

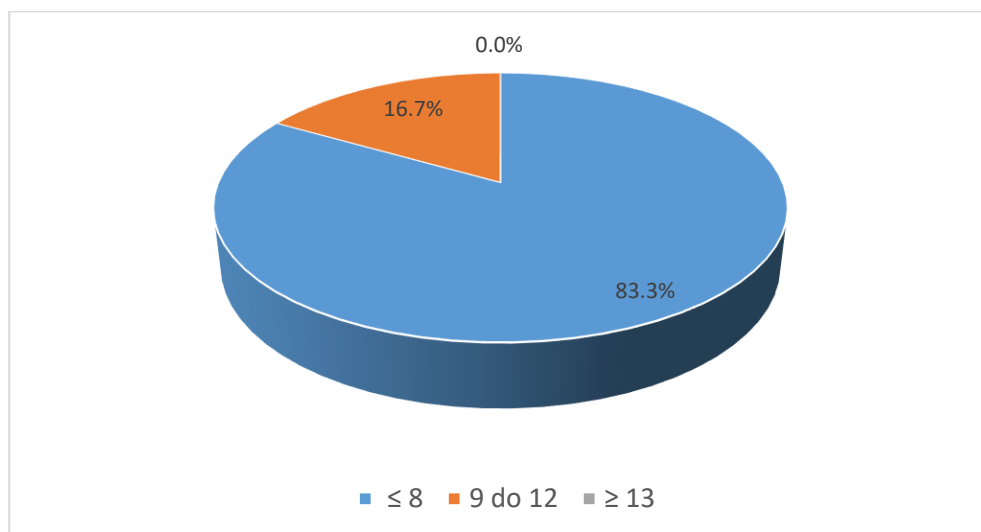
Kada je u pitanju polna distribucija u kontekstu starosne dobi nastradalih, T test nije pokazao značajnu razliku ($t = 0,694$, $df = 34$, $p = 0,493$).

4.2. Kliničke karakteristike povređenih u ukupnom uzorku

U kontekstu nastanka i razvoja difuzne aksonske lezije u ovom istraživanju posmatrane su sljedeće kliničke karakteristike kod nastradalih.

4.2.1. Glazgovska skala kome

Za procjenu težine kranocerebralnog povređivanja poslužila je GCS, prema kojoj je 30 (83,3%) povređenih imalo tešku kranocerebralnu povredu sa $GCS \leq 8$. Kod preostalih šest povređenih vrijednosti GCS bile su u rasponu 9 - 12, što reprezentuje srednje tešku kranocerebralnu povredu. Nije konstatovan nijedan slučaj sa blagom kranocerebralnom povredom i vrijednostima GCS 13 – 15. (Grafikon 4.)



Grafikon 4. GCS u vrijeme inicijalnog zbrinjavanja povređenih

4.2.2. Nadživljavanje

Najkraći period nadživljavanja povrede iznosio je 15 minuta, u slučaju muškarca motocikliste, starog 22 godine. Najduži vremenski period nadživljavanja iznosio je 22 dana (516 sati) u slučaju 51-godišnjeg muškarca, pješaka. Prosječno vrijeme preživljavanja bilo je 44,4 sata a medijan 3,4 sata (Tabela 10.)

Tabela 10. Vrijeme nadživljavanja povrede

Nadživljavanje u satima	
raspon	0,25 - 516
srednja vrijednost	44,4
medijan	3,4

Po pitanju odnosa starosne dobi i dužine nadživljavanja, samo u varijanti kada je varijabla starosna dob kategorisana, utvrđena je statistički značajna razlika ($p = 0,044$ Kruskal-Wallis), u smislu da su najmlađe kategorije (18 do 29 godina) najkraće nadživljavali.

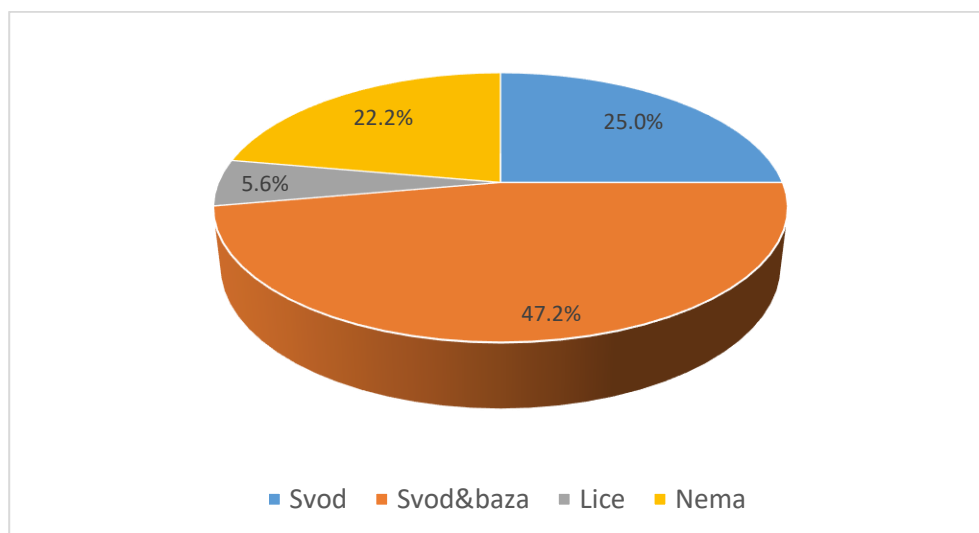
4.2.3. Pridružene kranio-cerebralne povrede

Spoljašnje povrede mekotivnih struktura kranio-cerebralne regije i lica

Tokom spoljašnjih pregleda smrtno stradalih spolja na glavi uočljive povrede (hematomi, ekzorijacije, kontuzije, lacero-kontuzione rane) nađene su kod svih nastradalih. Što se tiče lokalizacije ovih mekotivnih povreda poglavine i lica na posmatranom uzorku fronto-okcipitalna lokalizacija povreda nađena je kod 19 ili 52,8% a parijeto-temporalna lokalizacija kod 17 ili 47,2% smrtno stradalih.

Frakture lobanjskih i kostiju lica

Frakture lobanjskih i/ili kostiju lica verifikovane su u 77,8% stradalih dok u preostalih osam slučajeva (22,2%) nisu konstatovani prelomi kostiju kranio-facijalne regije. Prelomi svoda lobanje nađeni su kod devet ili 25% stradalih, prelomi svoda i baze lobanje kod 17 ili 47,2% slučajeva. Prelom kostiju lica nađeni su kod dva (5,6%) slučaja. Učestalost i lokalizacija preloma kostiju kranio-facijalne regije prikazani su u Grafikonu 5.

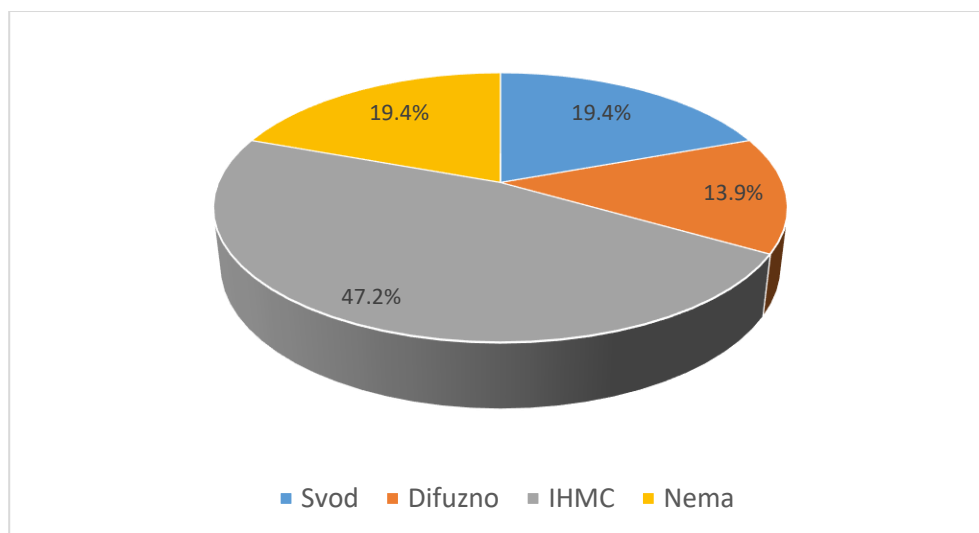


Grafikon 5. Učestalost preloma lobanjskih i kostiju lica u ukupnom uzorku

Intrakranijalna krvarenja

Najčešće prisutna HSD konstatovana su kod 30 ili 83,3% nastradalih a SAH u 28 (77,8%) slučajeva. Intraventrikularna krvarenja bila su prisutna kod 23 ili 63,9% nastradalih. Epiduralna krvarenja nađena su tek u dva slučaja (5,6%).

Posmatrajući posebno tačnu lokalizaciju SAH-a primjećeno je da je u 17 (47,2%) slučajeva ovo krvarenje lokalizovano interhemisferično - paramezencefalično, u sedam (19,4%) slučajeva to krvarenje bilo je lokalizovano samo diskretno po svodu a u pet (13,9%) slučajeva difuzno je okruživalo mozak. Kod sedam stradalih nije nađen bilo kakav SAH (Grafikon 6.).



Grafikon 6. Distribucija SAH u ukupnom uzorku

Kontuzije mozga

Kontuzije moždane kore bile su prisutne kod 18 ili 50% slučajeva u ukupnom posmatranom uzorku.

Krvarenja u korpus kalozumu

Fokalne lezije tipa golim okom vidljivih krvarenja u korpus kalozumu registrovane su u 11 ili 30,6% slučajeva.

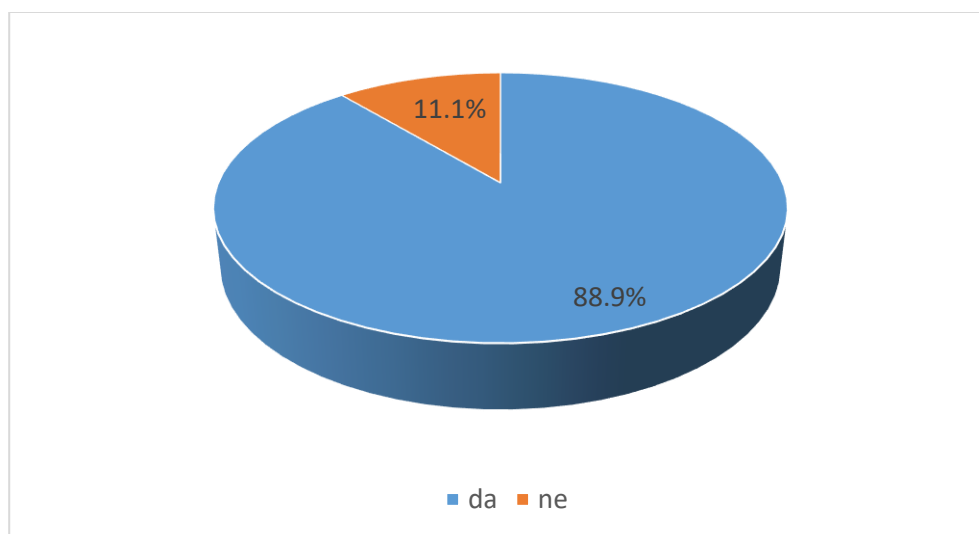
Krvarenja u moždanom stablu

Fokalna, golim okom uočljiva krvarenja u moždanom stablu, promjera od 2 - 8 mm, verifikovana su kod četiri nastradale osobe ili 11,1%.

Traumatska cerebralna mikrokrvarenja

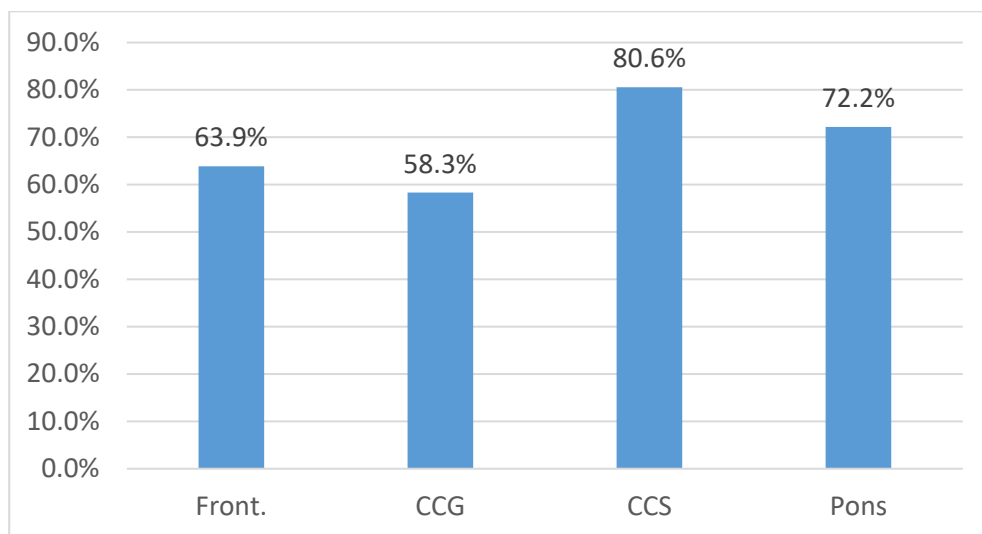
Golim okom uočljiva sitna tačkasta i nepravilna krvarenja u bijeloj masi velikog mozga promjera do 10 mm, registrovana su kod 11 ili 30,6% analiziranih slučajeva.

Kada se zajedno sa gore pomenutim petehijalnim hemoragijama uzmu u obzir i mikroskopski verifikovana krvarenja u posmatranim regijama mozga, onda traumatska cerebralna mikrokrvarenja konstatovana su u 88,9 % nastradalih, dok nisu uočena tek u četiri slučaja (11,1 %), što je predstavljeno u Grafikonu 7.



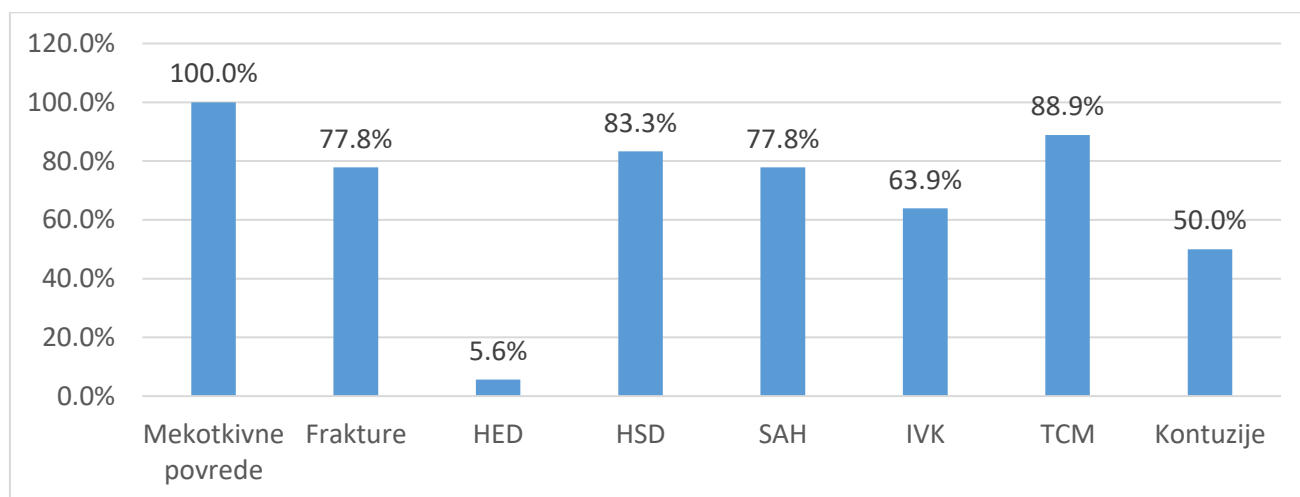
Grafikon 7. Traumatska cerebralna mikrokrvarenja, ukupni uzorak.

Učestalost prisustva traumatskih mikrokrvarenja u posmatranim regijama mozga (parasagitalnoj bijeloj masi frontalnih režnjeva, prednjim i zadnjim partijama korpus kalozuma i ponsu) prikazana je u Grafikonu 8. a može se primjetiti nešto veća incidenca u zadnjim aspektima mozga (80,6% u spleniumu korpus kalozuma i 72,2% u ponsu) u odnosu na prednje regije (63,9% u frontalnoj bijeloj masi, 58,3% u genu korpus kalozuma).



Grafikon 8. Prisustvo traumatskih cerebralnih mikrokrvarenja u posmatranim regijama mozga

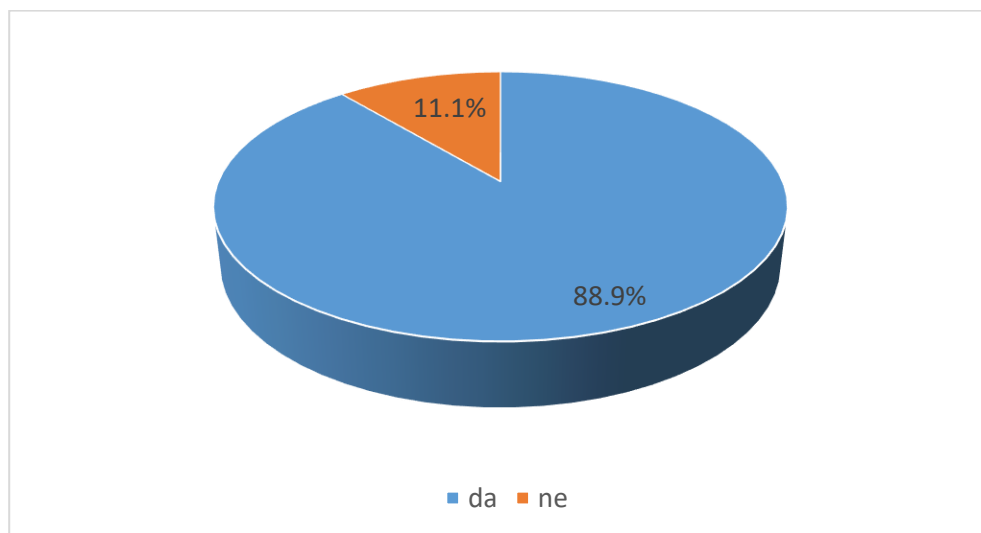
Na sljedećem grafikonu prikazana je učestalost i struktura svih pridruženih kranio-cerebralnih povreda u ukupnom uzorku.



Grafikon 9. Učestalost i struktura pridruženih kranio-cerebralnih povreda u ukupnom uzorku.

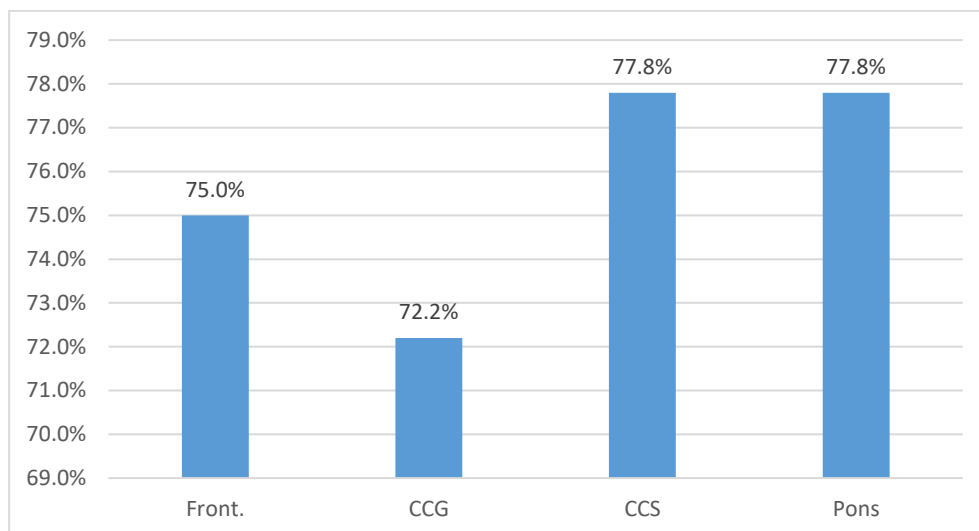
4.3. Aksonska lezija

Od ukupno 36 slučajeva smrtno stradalih u akceleracijsko-deceleracijskim mehanizmima, prisustvo aksonske lezije utvrđeno je u 32 ili (88,9%) nastradalih. U četiri slučaja nije dokazano prisustvo aksonske lezije (Grafikon 10).



Grafikon 10. Incidenca aksonske lezije potvrđena β APP imunobojeanjem, u ukupnom uzorku

Incidenca aksonske lezije po posmatranim regijama mozga prikazana je u Grafikonu 11., gdje se uočava blago veća učestalost β APP imunopozitivnosti ka zadnjim strukturama mozga - spleniumu korpus kalozuma i ponsu moždanog stabla.



Grafikon 11. Incidenca aksonske lezije po posmatranim regijama mozga u ukupnom uzorku.

4.3.1. Adamsova klasifikacija aksonske lezije

Adamsova klasifikacija gradira težinu difuzne aksonske lezije na globalnom moždanom nivou. U sljedećoj tabeli prikazana je težina difuzne aksonske lezije, prema Adamsovoj skali, u ukupnom uzorku od 36 slučajeva.

Tabela 11. Težina difuzne aksonske lezije u ukupnom uzorku, mjereno po Adamsovoj skali.

Težina aksonske lezije	Broj (%)
0 st.	4 (11,1)
I st.	20 (55,6)
II st.	9 (25,0)
III st.	3 (8,3)

Hi kvadrat test nije pokazao statistički značajnu razliku u težini aksonske lezije po Adamsu u odnosu na polnu distribuciju ukupnog uzorka ($\chi^2 = 0,356$) i mehanizam povređivanja ($\chi^2 = 0,547$). Slično, nije utvrđena statistička značajnost između starosne dobi i težine aksonske lezije po Adamsu ($\chi^2 = 0,371$), pa ni kada je varijabla starosna dob grupisana u kategorije ($\chi^2=0,712$), kako to prikazuje Tabela 12.

Hi kvadrat test nije potvrdio statističku značajnost u odnosu težine aksonske lezije mjerene po Adamsu i procjenjene vrijednosti GCS ($\chi^2 = 0,457$) ili prisustva petehijalnih krvarenja u bijeloj masi mozga ($\chi^2 = 0,459$).

Tabela 12. Odnos težine aksonske lezije (po Adamsu) i demografskih karakteristika

Demografske varijable	Aksonska lezija (po Adamsu), p
Pol	0,356
Starosna dob (godine)	0,371
18 – 29	
30 – 59	0,712
60 +	
Mehanizam povređivanja	0,547

4.3.2. Osobine aksonske lezije po posmatranim regijama mozga

Kada su u pitanju pojedinačno posmatrane regije mozga, prezentovane kroz β APP imunohistohemijski obojene isječke, ekspresivnost ovog imunobojenja mjerena je pomoću Gentleman-ove skale i izgleda kako je to prikazano u Tabeli 13.

Tabela 13. Težina aksonske lezije (po Gentleman-ovoj skali), distribuirana po posmatranim regijama mozga u ukupnom uzorku.

Aksonska lezija	Front.	CCG	CCS	Pons
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
0	9 (25)	10 (27,8)	8 (22,2)	8 (22,2)
+	15 (41,7)	8 (22,2)	8 (22,2)	7 (19,4)
++	10 (27,8)	16 (44,4)	17 (47,2)	9 (25,0)
+++	2 (5,5)	2 (5,5)	3 (8,3)	12 (33,3)

U Tabeli 13. može se zapaziti prilično ravnomjerna zastupljenost aksonske lezije kroz posmatrane regije mozga ali uočljivo je pomjeranje jačine ekspresije ka zadnjim strukturama moždanog tkiva i najveća učestalost jako izražene imunopozitivnosti u regiji ponsa.

Spirmanov test neparametrijske korelacije potvrdio je statistički značajnu povezanost između rezultata β APP imunopozitivnosti u parasagitalnoj bijeloj masi frontalnog režnja i prednjim partijama korpus kalozuma ($\rho=0,395$, slaba povezanost, nivo statističke značajnosti je 0,05) i između zadnjih partija korpus kalozuma i rostralne regije moždanog stabla ($\rho=0,627$, srednje jaka povezanost, nivo statističke značajnosti je 0,01).

Što se tiče statističke značajnosti u ekspresivnosti β APP imunobojenja posmatranih regija moždanog tkiva u odnosu na pol, starosnu dob i mehanizam povređivanja (Tabela 14.), χ^2 test potvrdio je prisustvo značajne razlike u pogledu β APP ekspresivnosti u zadnjem dijelu korpus kalozuma u odnosu na starosnu dob stradalih ($p = 0,013$), kada je ona grupisana u kategorije (18-29; 30-59 i 60+ godina). Stepenn vjerovatnoće 0,050 za odnos β APP ekspresivnost u frontalnoj bijeloj masi i mehanizam povređivanja na samoj je granici nivoa značajnosti.

Tabela 14. Statistička značajnost ekspresivnosti β APP imunobojenja posmatranih regija moždanog tkiva u odnosu na pol, starosnu dob i mehanizam povređivanja.

Demografske varijable	β APP Front. χ^2	β APP CCG χ^2	β APP CCS χ^2	β APP Pons χ^2
Pol	0,133	0,331	0,711	0,470
Starosna dob	0,588 (0,388*)	0,192 (0,711*)	0,335 (0,013 *)	0,433 (0,331*)
Mehanizam povrede	0,050	0,657	0,115	0,815

* stepen vjerovatnoće za varijablu „starosna dob“ kategorisanu u grupe (18-29; 30-59 i 60+ godina)

Nije nađena statistički značajna veza između β APP imunoekspresivnosti posmatranih regija moždanog tkiva i vrijednosti GCS, kako se to vidi u Tabeli 15.

Tabela 15. Odnos ekspresivnosti β APP imunobojenja posmatranih regija moždanog tkiva i nađene vrijednosti GCS

	β APP Front. χ^2	β APP CCG χ^2	β APP CCS χ^2	β APP Pons χ^2
GCS	0,572	0,343	0,638	0,955

4.3.3. Odnos aksonske lezije sa drugim vrstama kranio cerebralne traume

Analizirajući moguću vezu između prisustva aksonske lezije u posmatranim regijama mozga i drugih vrsta kranio cerebralnih povreda ustanovljena je povezanost ekspresije β APP imunopozitivnosti u prednjem segmentu korpus kalozuma (genu) sa prisustvom petehijalnih krvarenja u bijeloj masi velikog mozga ($p=0,023$) kao i ekspresije β APP imunopozitivnosti u moždanom stablu sa IHMC lokalizovanom SAH ($p=0,035$), što prikazuje Tabela 16. Utvrđenu statističku povezanost aksonske lezije u frontalnoj bijeloj masi i prednjim segmentima korpus kalozuma sa epiduralnim krvarenjem treba uzeti sa rezervom iz razloga veoma male zastupljenosti epiduralnog krvarenja u posmatranom uzorku (samo dva slučaja).

Tabela 16. Povezanost prisustva aksonske lezije u posmatranim regijama mozga i drugih vrsta kranio-cerebralne povrede

Povrede	Front. (χ^2)	CCG (χ^2)	CCS (χ^2)	Pons (χ^2)
Spoljašnje povrede glave	0,622	0,306	0,508	0,337
Prelomi	0,853	0,302	0,531	0,507
HED	0,034	0,035	0,085	0,237
HSD	0,849	0,410	0,711	0,330
SAH (SAH*)	0,263 (0,233)	0,460 (0,132)	0,872 (0,107)	0,884 (0,035)
IVK	0,107	0,566	0,156	0,325
CC krvarenje	0,316	0,785	0,245	0,940
Pons krvarenje	0,098	0,694	0,489	0,981
Kontuzije	0,286	0,119	0,076	0,324
TCM	0,064	0,023	0,956	0,977

Statistički značajne vrijednosti χ^2 testa su boldovane.

4.3.4. Odnos aksonske lezije i cerebralnih mikrokrvarenja u posmatranim regijama mozga

Rezultati statističke analize (χ^2 testa) ukazuju na povezanost traumatskih mikrokrvarenja u prednjem dijelu korpus kalozuma sa β APP imunopozitivnošću u sve četiri posmatrane regije mozga. Pri tome značajnost je najizraženija u vezi ove dvije varijable upravo u genu korpus kalozuma ($p=0,011$), što potvrđuje i Spirmanov test korelacije ($p=0,417$).

U Tabeli 17 prikazani su rezultati χ^2 testa i Spirmanove korelacije po pitanju moguće povezanosti β APP imunopozitivnosti (prema Gentleman-ovoj gradaciji) i traumatskih mikrokrvarenja u posmatranim regijama mozga.

Tabela 17. Veza između aksonske lezije (po Gentleman-u) i traumatskih mikrokrvarenja u posmatranim regijama mozga.

	TCM Front.	TCM CCG	TCM CCS	TCM Pons
βAPP Front.	0,138 (0,297*)	0,024 (0,417*)	0,613 (0,060*)	0,815 (0,031*)
βAPP CCG	0,544 (0,101*)	0,011 (0,312*)	0,695 (0,144*)	0,376 (-0,217*)
βAPP CCS	0,498 (-0,109*)	0,023 (0,130*)	0,723 (0,058*)	0,638 (-0,062*)
βAPP Pons	0,385 (-0,033*)	0,047 (0,176*)	0,944 (0,062*)	0,160 (0,010*)

p – χ^2 test, * Spirmanov test korelacije.

Kada se zanemari Gentleman-ova skala gradacije βAPP imunopozitivnosti i grupišemo podatke u smislu prisutna/nije prisutna aksonska lezija, χ^2 test potvrdio je statistički značajnu povezanost između prisustva aksonske lezije i mikrokrvarenja u bijeloj masi frontalnih režnjeva (p=0,028, Fišerov egzakti test 0,046), kao i prednjem segmentu (genu) korpus kalozuma (p=0,004, Fišerov egzakti test 0,007), dok nije utvrđena slična povezanost između ovih varijabli u spleniumu korpus kalozuma (p=0,653, Fišerov egzakti test 0,639) i ponsu moždanog stabla (p=0,112, Fišerov egzakti test 0,179), što se vidi u Tabeli 18.

Tabela 18. Veza između aksonske lezije (po Gentleman-u, podaci grupisani) i traumatskih mikrokrvarenja u posmatranim regijama mozga.

	TCM Front	TCM CCG	TCM CCS	TCM Pons
βAPP Front.	0,028	0,030	0,574	0,486
βAPP CCG	0,282	0,004	0,321	0,518
βAPP CCS	0,926	0,030	0,653	0,842
βAPP Pons	0,354	0,030	0,653	0,112

4.4. I grupa – umrli u vremenskom periodu < 2 sata

Ovu grupu čini 17 slučajeva smrtno stradalih usljed kranocerebralnog povređivanja u akceleracijsko-deceleracijskim mehanizmima, koji su umrli u vremenskom periodu kraćem od dva sata.

4.4.1. Period nadživljavanja povrede

Raspon perioda nadživljavanja iznosio je od 15 minuta do 1h 55min, srednja vrijednost 50 min. U ovoj grupi 12 (70,6%) nastradalih umrli su u vremenskom periodu kraćem od jednog sata a najkraće registrovano vrijeme nadživljavanja bilo je 15 minuta, u slučaju muškarca, motocikliste. Zatim slijede muškarac, biciklista (nadživljavanje 20tak minuta), 22-godišnji vozač automobila koji je nadživio 25 minuta, dva muškarca (pješak, vozač) koji su nadživjeli 25 minuta, muškarac vozač koji je nadživio 30 minuta itd.

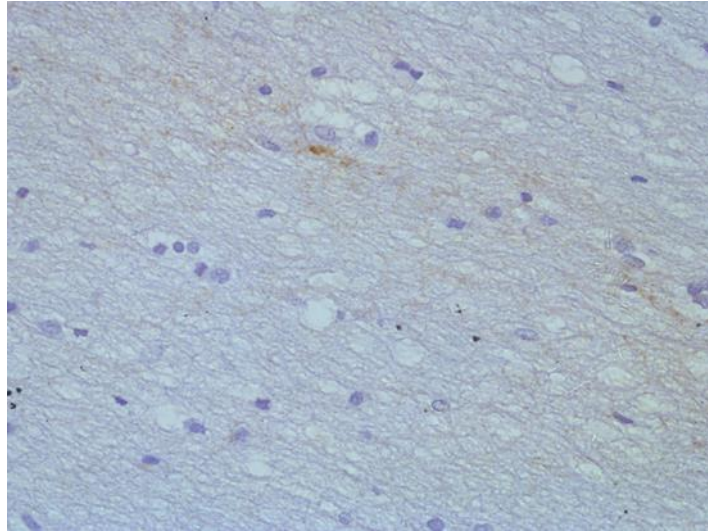
4.4.2. Distribucija i intenzitet aksonske lezije

Imunohistohemijsko bojenje na β APP marker bilo je pozitivno u 14 slučajeva (82,3%). U preostala tri slučaja negativna na β APP imunobojenje, nadživljavanje je bilo do pola časa.

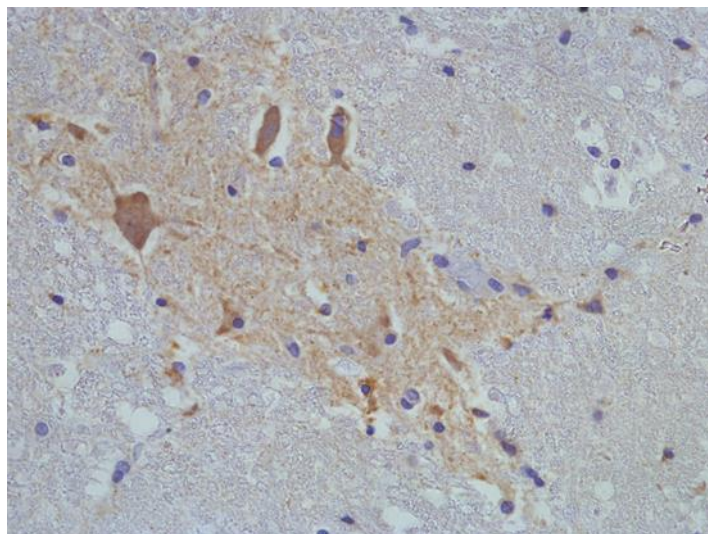
Najkraće vrijeme nadživljavanja sa potvrđenom pozitivnošću na β APP imunobojenje iznosilo je 20 - 25 minuta, kod tri nastradala učesnika saobraćajnih nezgoda.

Prvi slučaj je 30-godišnji muškarac, biciklista, sa slabo izraženom ekspresijom u spleniumu korpus kalozuma (sa rijetkim, razbacanim nepravilno zadebljanim približno paralelno usmjerenim aksonskim vlaknima, Slika 14.) i tipično izraženom imunopozitivnošću u ponsu (grupisana, smeđkasto prebojena aksonska vlakna, Slika 15.). Prema Adamsovoj klasifikaciji radilo se o najtežem III stepenu difuzne aksonske lezije.

Od pridruženih kranocerebralnih povreda nađeni su prelomi svoda i baze lobanje, unilateralno HSD i SAH po svodu i IHMC, zatim IVK te krvarenje u ponsu.



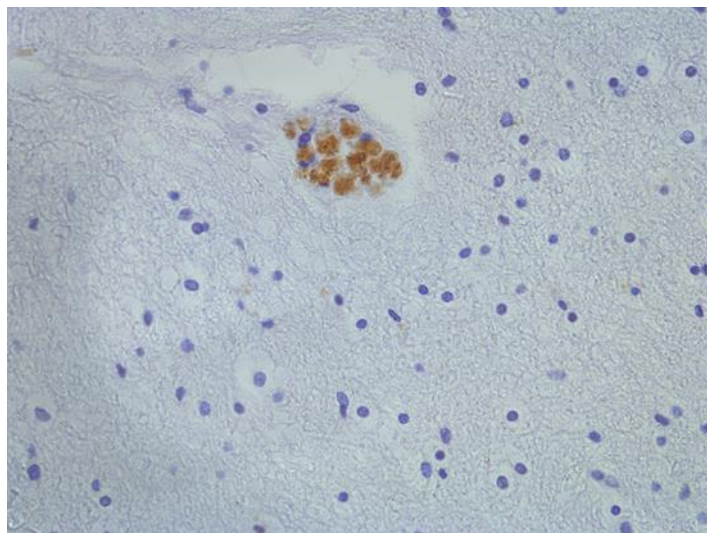
Slika 14. Splenium korpus kalozuma.



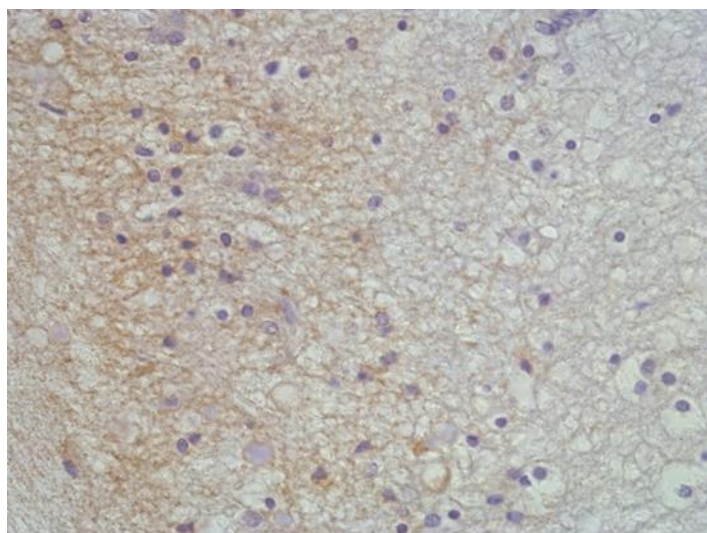
Slika 15. Pons, rostralni dio.

Drugi slučaj, 35-godišnji muškarac, pješak, sa slabo izraženom imunopozitivnošću u bijeloj masi frontalnog režnja (grupisane smeđkasto prebojene aksonske loptice, Slika 16.), tipičnim βAPP imunobojeanjem kroz korpus kalozum (smeđkasto prebojena gusto grupisana varikozno zadebljana aksonska vlakna i kuglaste formacije tzv. aksonske loptice, Slike 17. i 18.) i jako izraženom βAPP imunopozitivnošću u ponsu (difuzno kroz vidno polje razbacani prekinuti aksonski produžeci. Slika 19.). Takođe, radilo se o najtežem, III stepenu DAL-a po Adamsu.

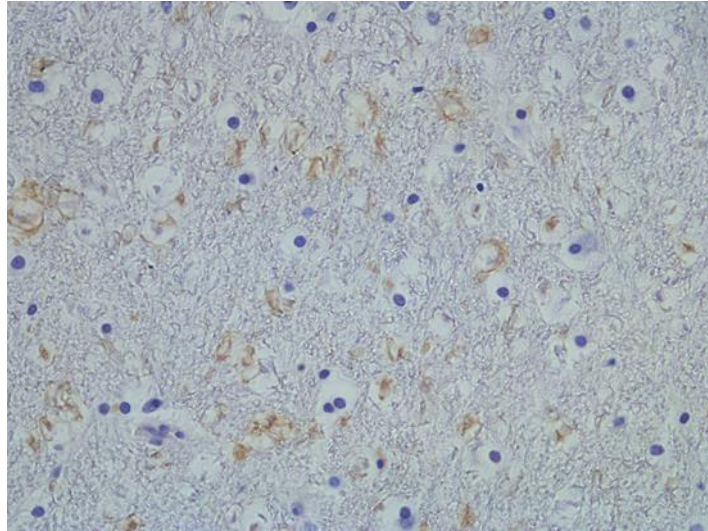
Od pridruženih povreda nađeni su prelom svoda i baze lobanje, petehijalna krvarenja u bijeloj masi, HSD bilateralno, SAH bilateralno i IHMC, IVK, krvarenja u korpus kalozumu i ponsu.



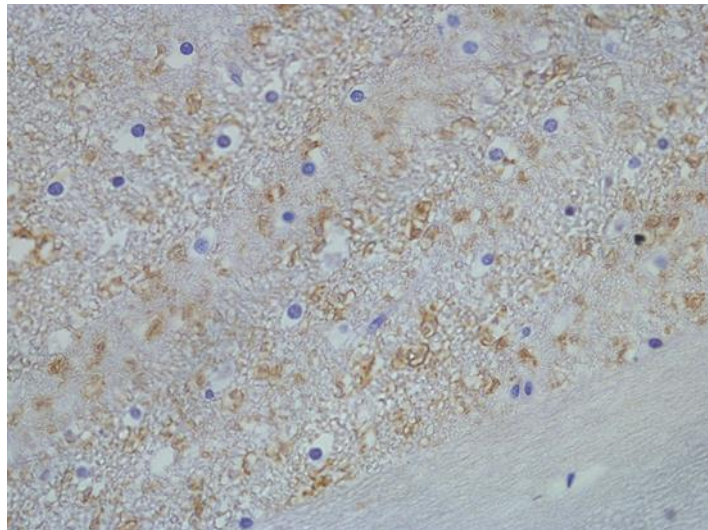
Slika 16. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 17. Korpus kalozum, genu.



Slika 18. Korpus kalozum, splenium.

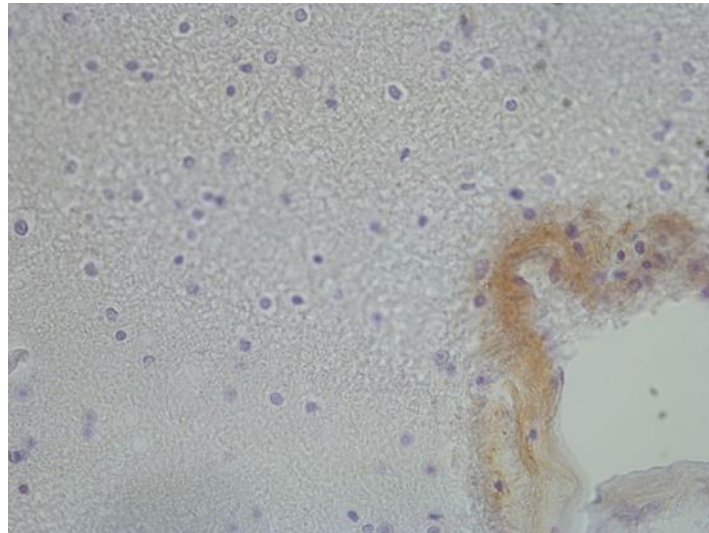


Slika 19. Pons, rostralni dio.

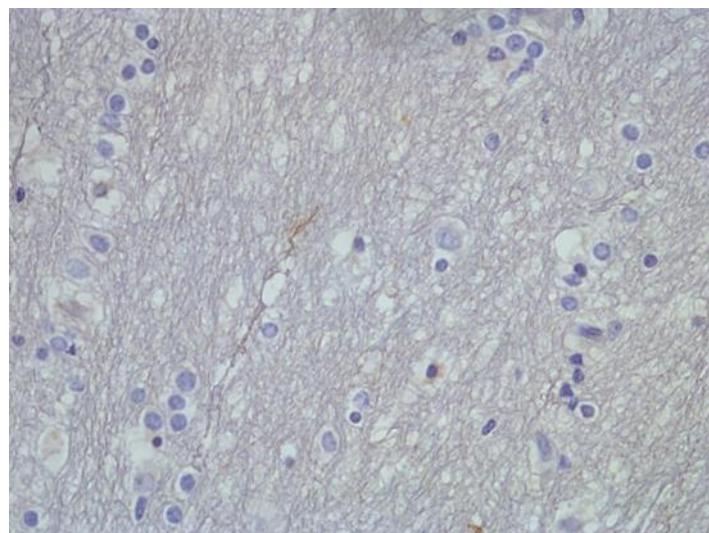
Treći slučaj je 34-godišnji muškarac, vozač automobila, sa tipičnom pozitivnošću u frontalnoj bijeloj masi (smeđkasto prebojena zadebljana aksonska vlakna grupisana u desnom dijelu fotografije. Slika 20.), slabo izraženom pozitivnošću u spleniumu korpus kalozuma (pojedinačno varikozno zadebljano i izvijugano aksonsko vlakno. Slika 21.) i jako izraženom pozitivnošću u

ponsu (aksonske loptice i varikozno zadebljani aksonski produžeci difuzno raštrkani kroz vidno polje. Slika 22.). U ovom slučaju radilo se o I stepenu DAL-a po Adamsu.

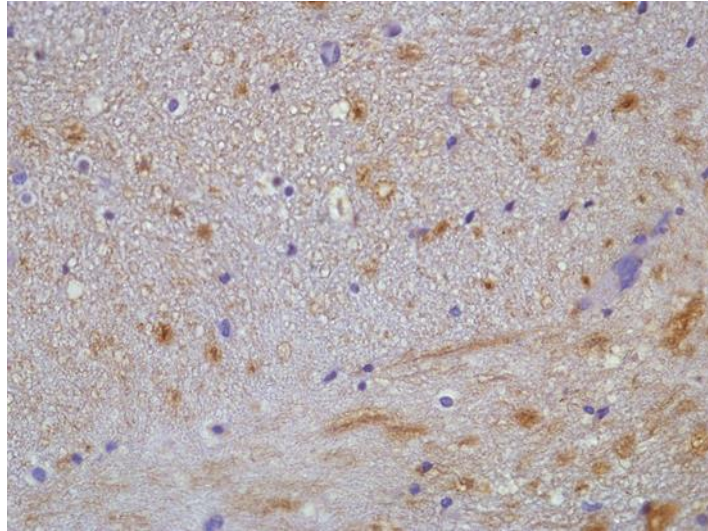
Od pridruženih povreda nađeno je HSD i SAH po svodu i IHMC.



Slika 20. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 21. Korpus kalozum, splenium.

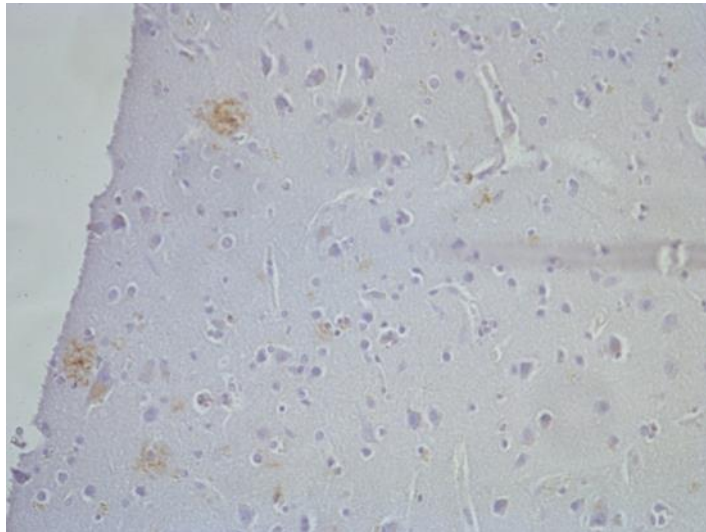


Slika 22. Pons, rostralni dio.

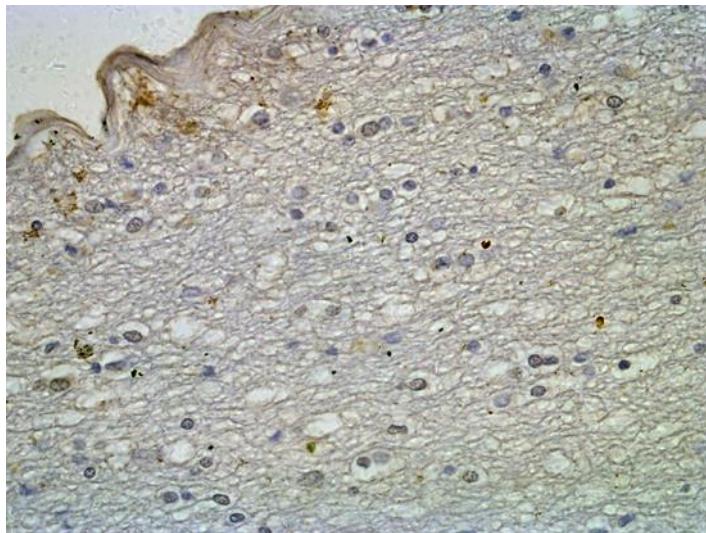
4.4.3. Mikrofotografski prikaz aksonske lezije

Na sljedećim stranicama slijedi mikrofotografski prikaz β APP imunohistohemijskog bojenja posmatranih regija mozga, za svaki pojedinačni slučaj u ovoj grupi umrlih u vremenskom periodu kraćem od 2 časa.

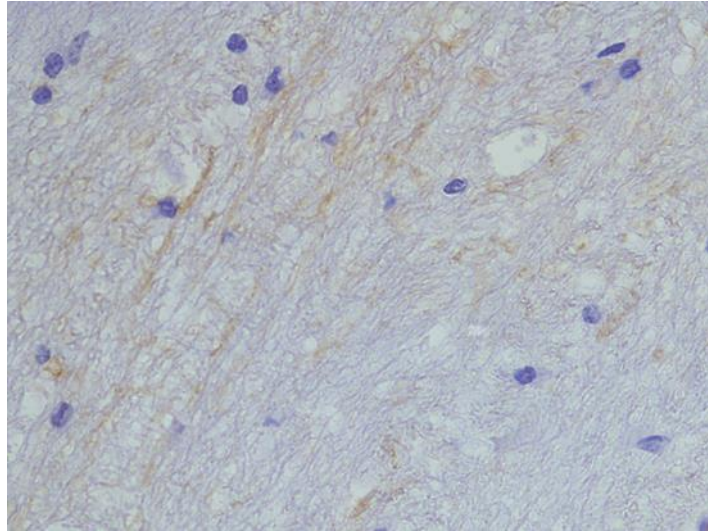
1. M/81, pješak, β APP imunobojenje, 40x.



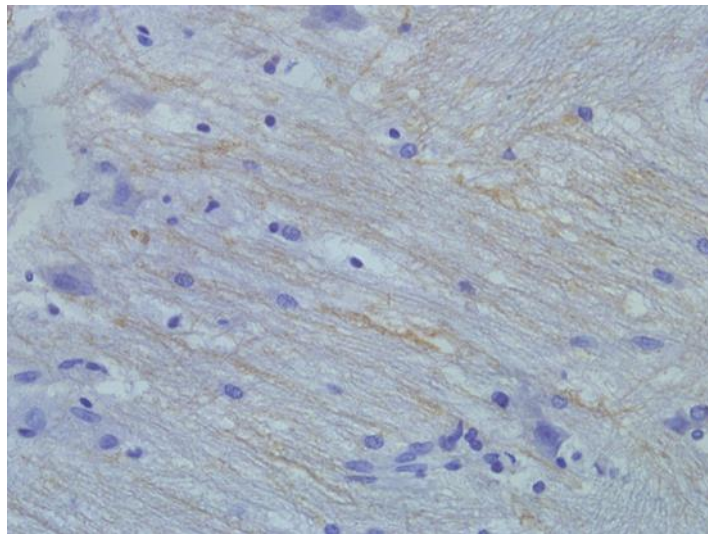
Slika 23. Parasagitalna bijela masa frontalnog reznja.



Slika 24. Korpus kalozum, genu.

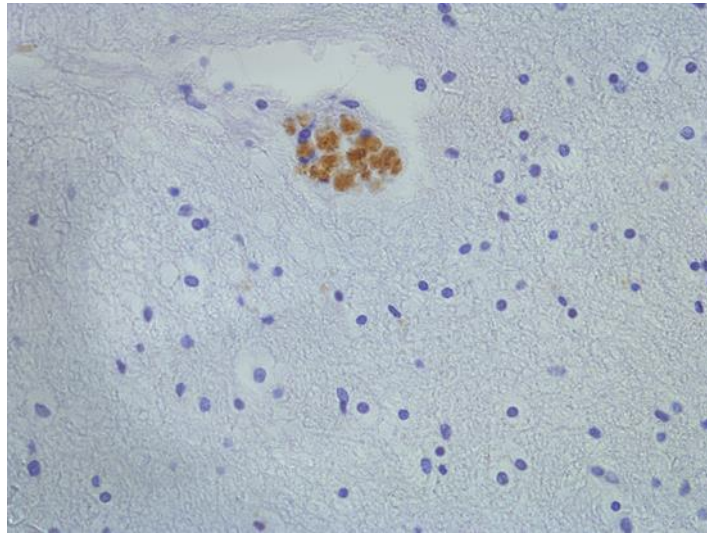


Slika 25. Korpus kalozum, splinum.

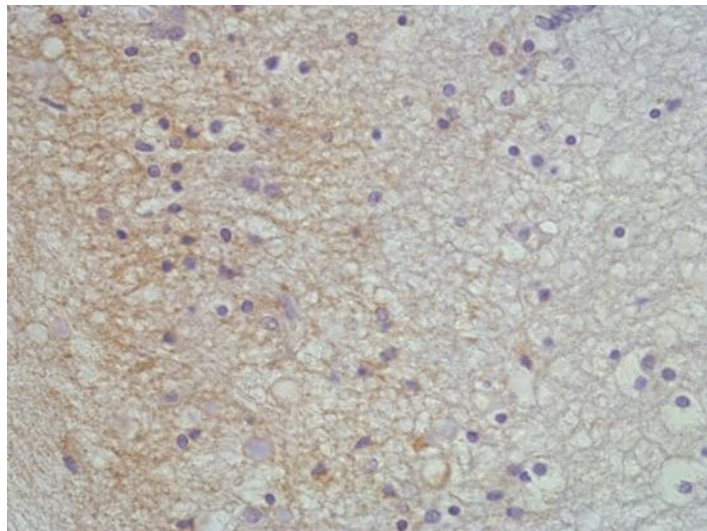


Slika 26. Pons, rostralni dio.

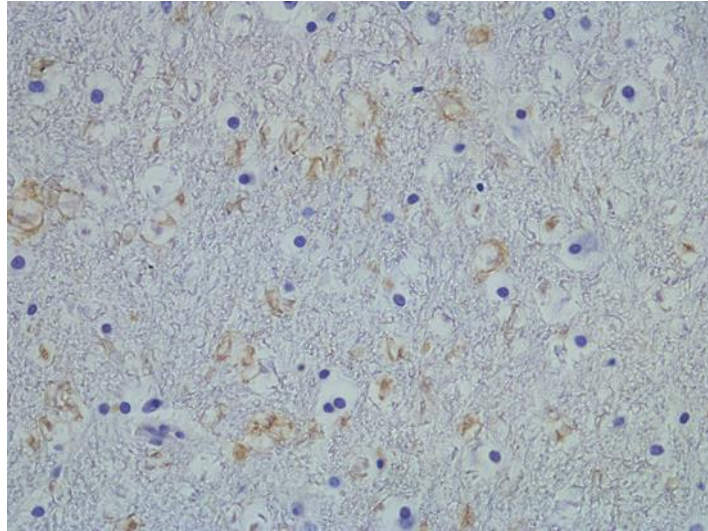
2. M/35, pješak. β APP imunobojenje, 40x.



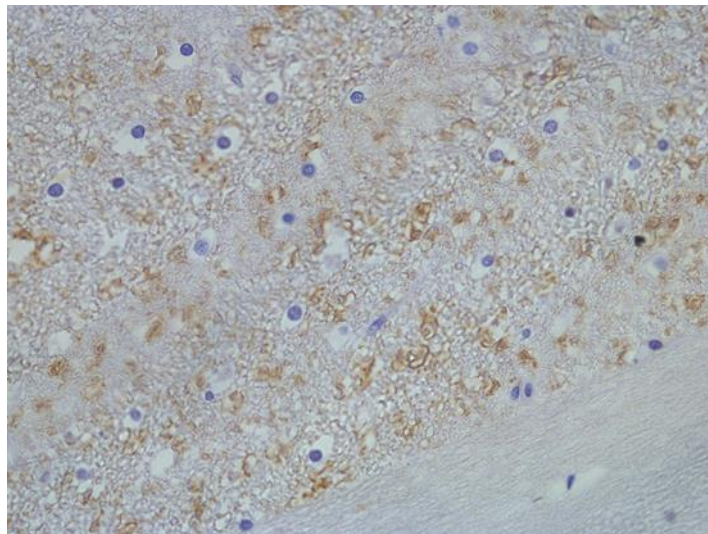
Slika 27. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 28. Korpus kalozum, genu.

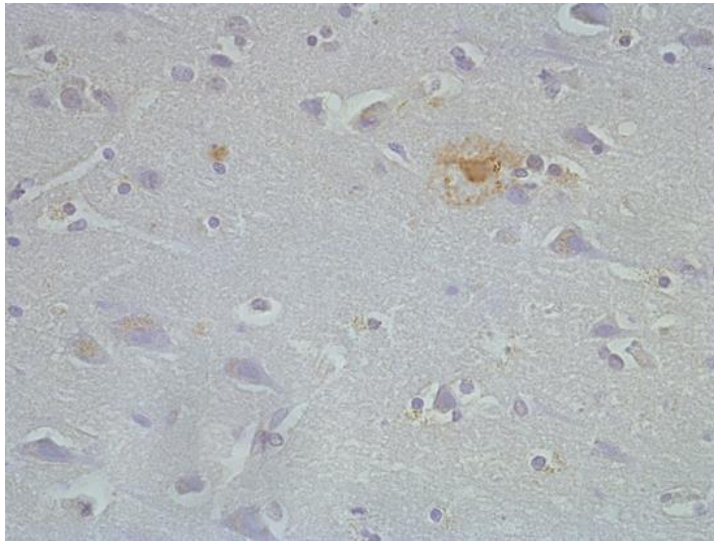


Slika 29. Korpus kalozum, splenium.

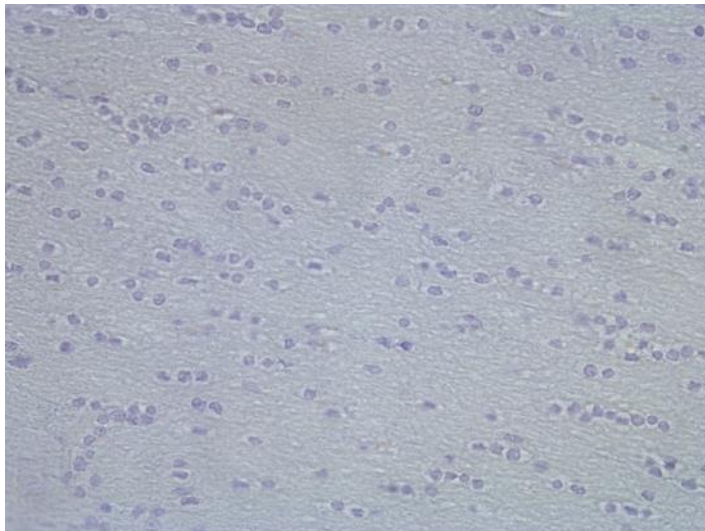


Slika 30. Pons, rostralni dio.

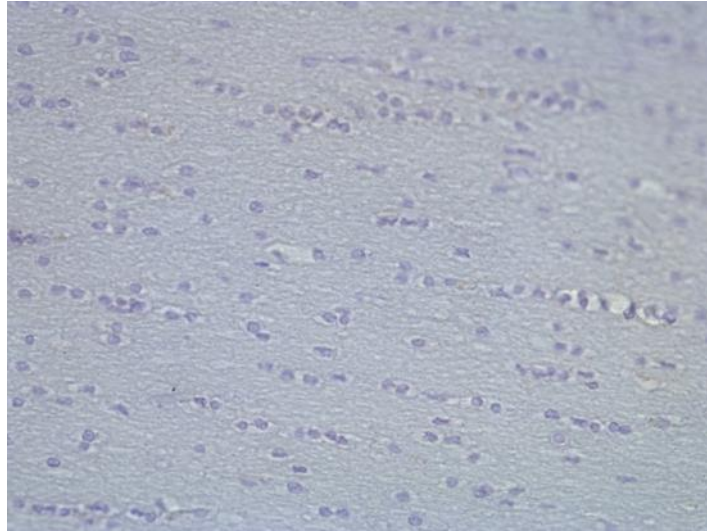
3. M/19, vozač. β APP imunobojenje, 40x.



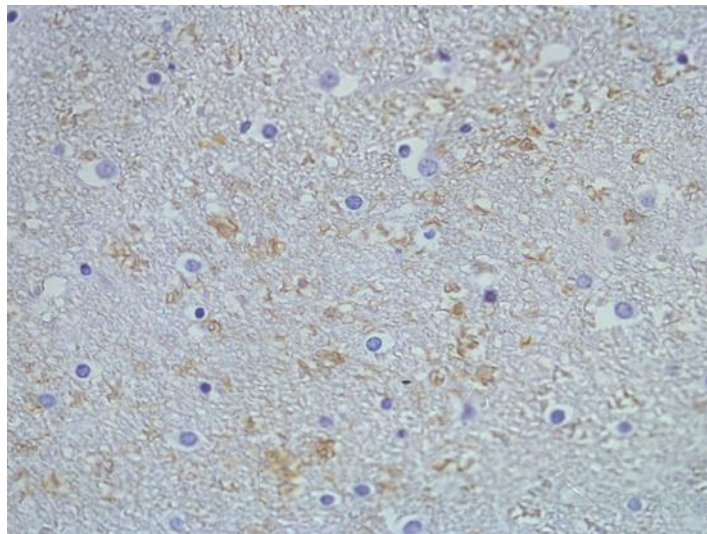
Slika 31. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 32. Korpus kalozum, genu.

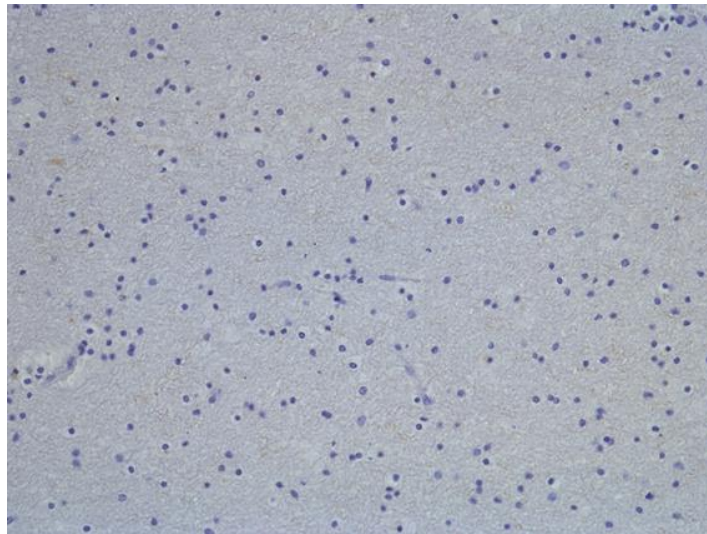


Slika 33. Korpus kalozum, splenium.

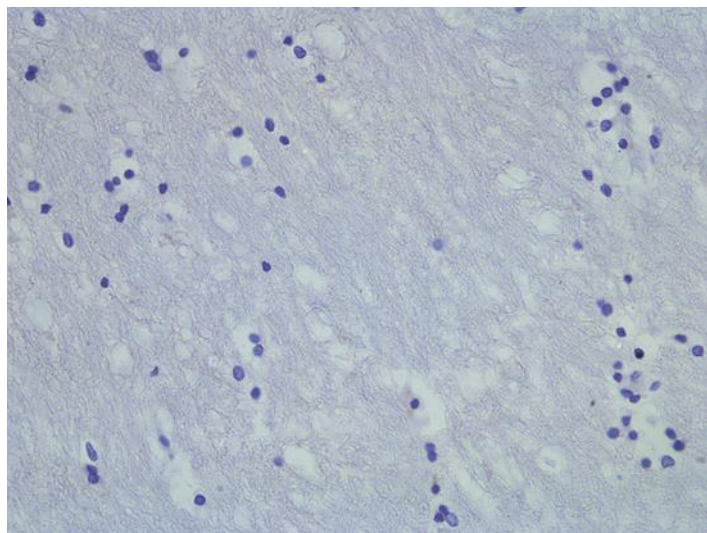


Slika 34. Pons, rostralni dio.

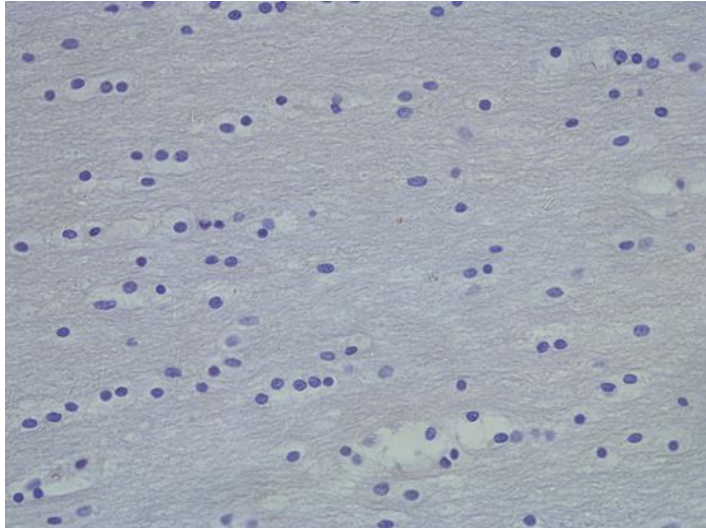
4. M/22, motociklista, β APP imunobojenje, 40x.



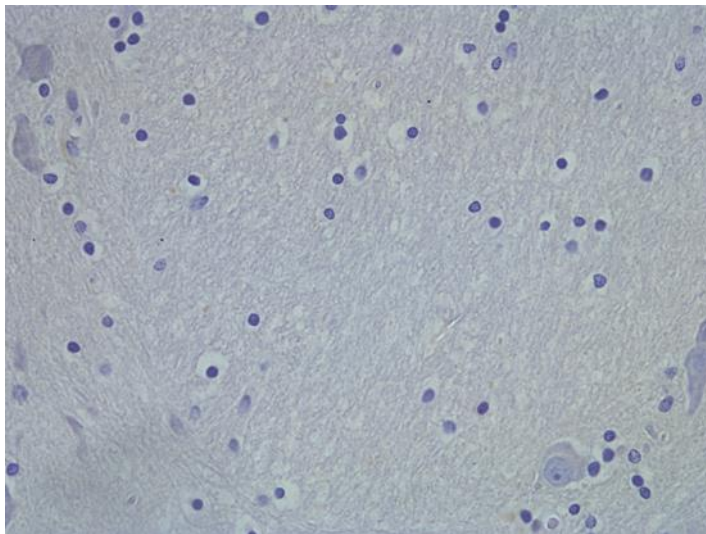
Slika 35. Parasagitalna bijela masa frontalnog reznja.



Slika 36. Korpus kalozum, genu.

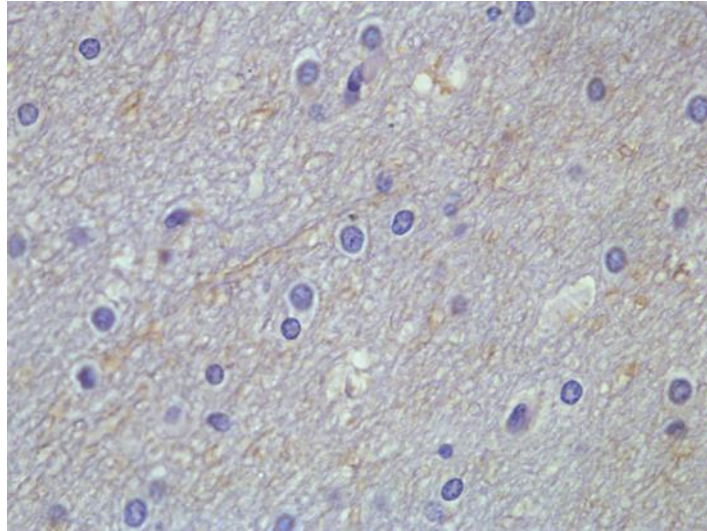


Slika 37. Korpsu kalozum, splenium.

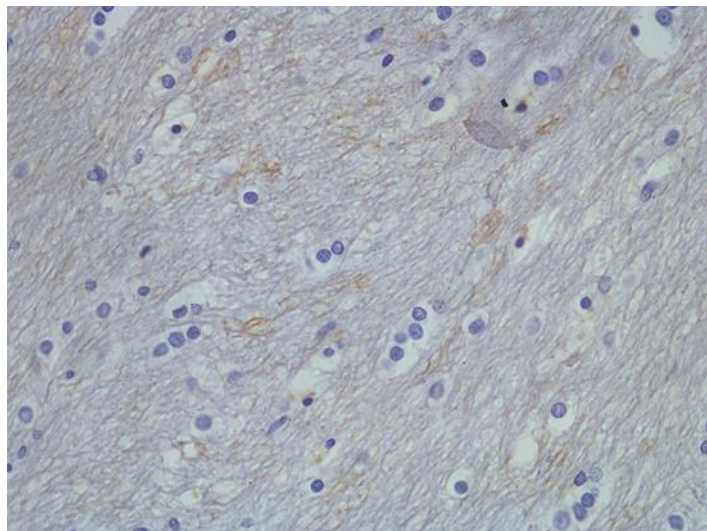


Slika 38. Pons, rostralni dio.

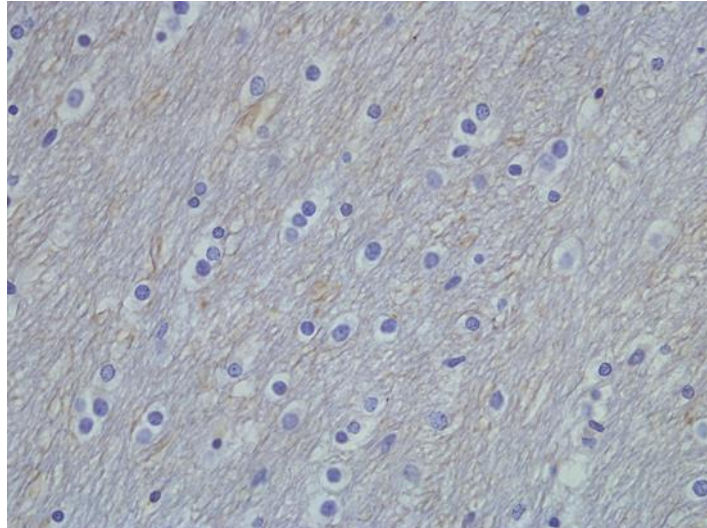
5. M/28, vozač, β APP imunobojenje, 40x.



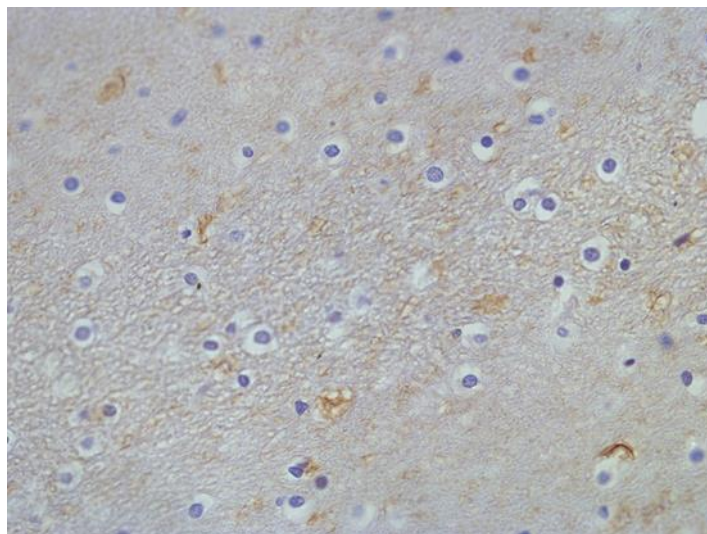
Slika 39. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 40. Korpus kalozum, genu.

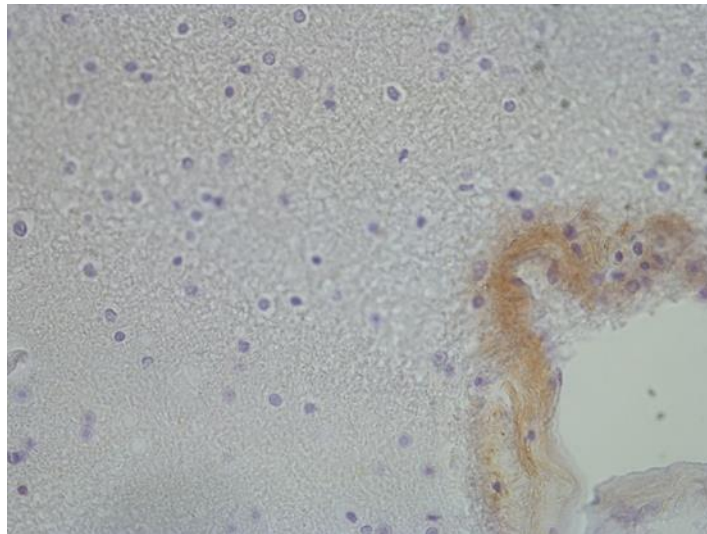


Slika 41. Korpus kalozum, splenium.

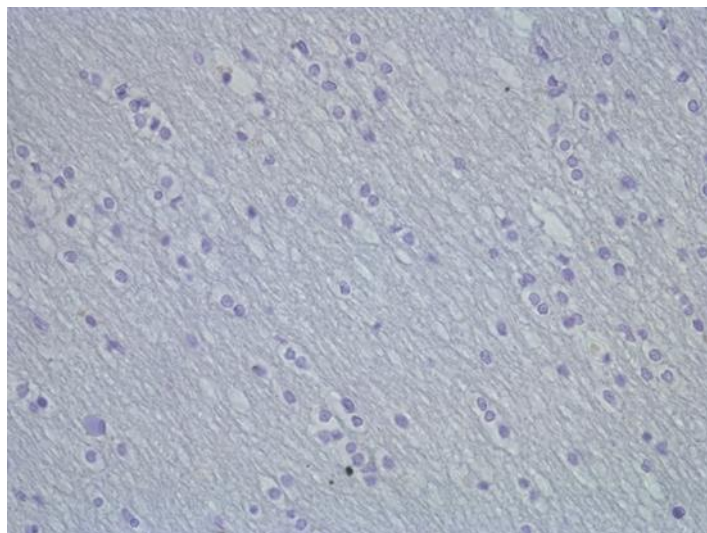


Slika 42. Pons, rostralni dio.

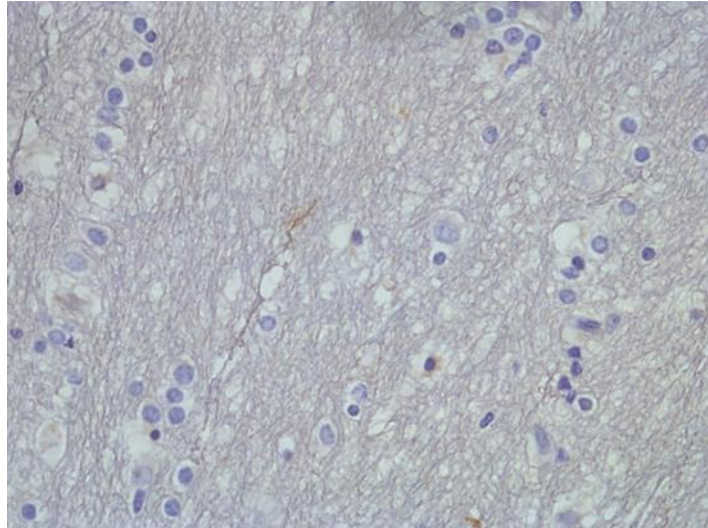
6. M/34, vozač. β APP imunobojenje, 40x.



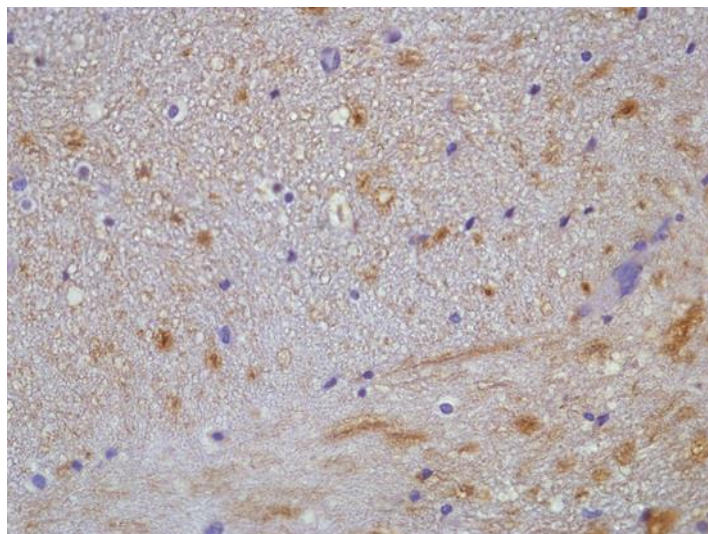
Slika 43. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 44. Korpus kalozum, genu.

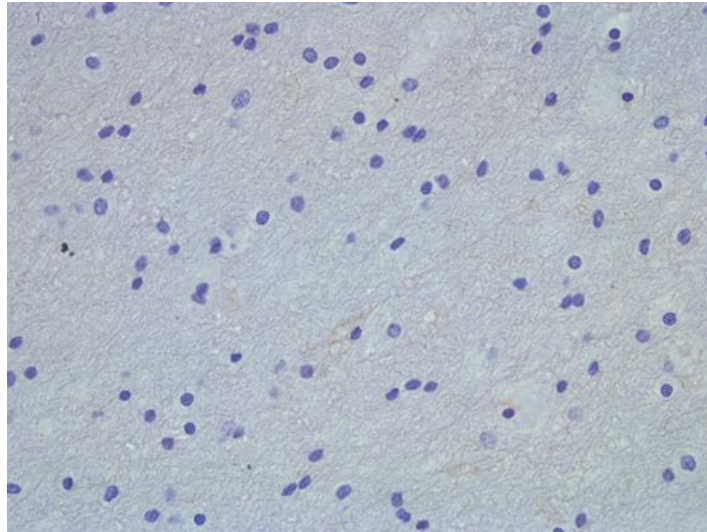


Slika 45. Korpus kalozum, splenium.

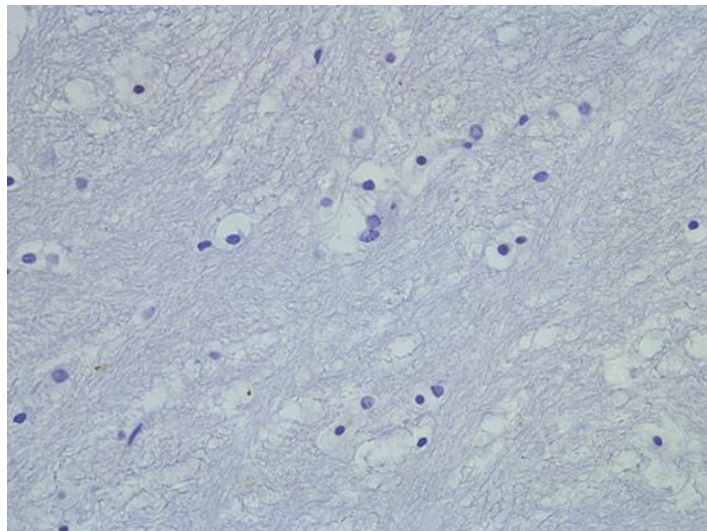


Slika 46. Pons, rostralni dio.

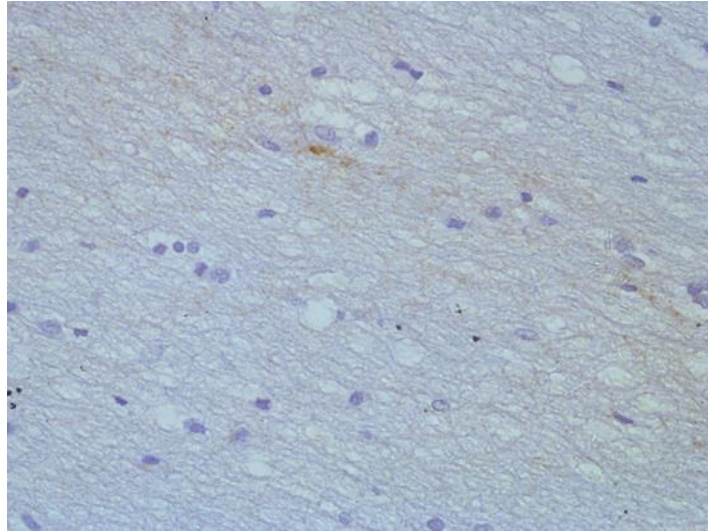
7. M/30, biciklista, β APP imunobojenje, 40x.



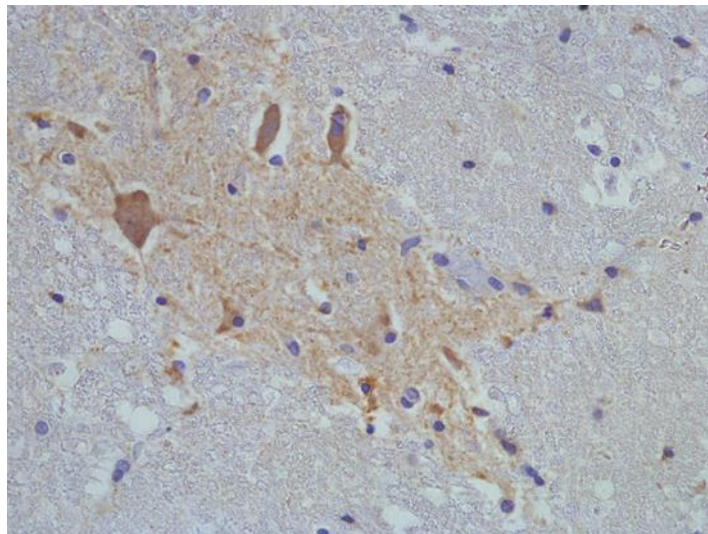
Slika 47. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 48. Korpus kalozum, genu.

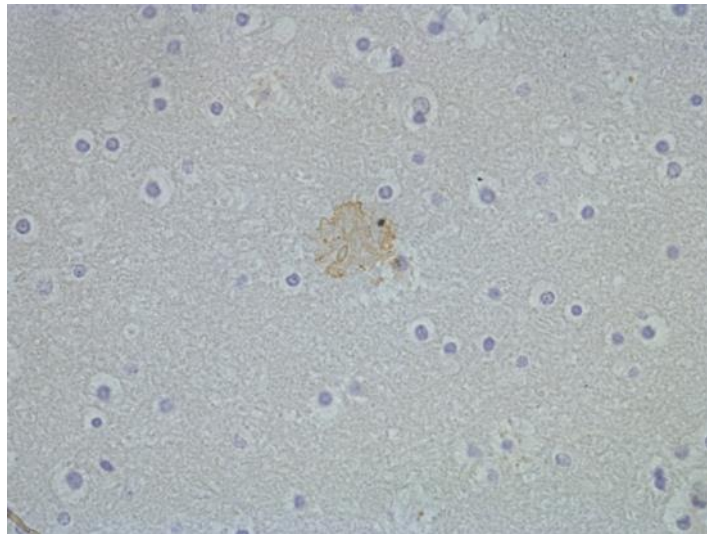


Slika 49. Korpus kalozum, splenium.

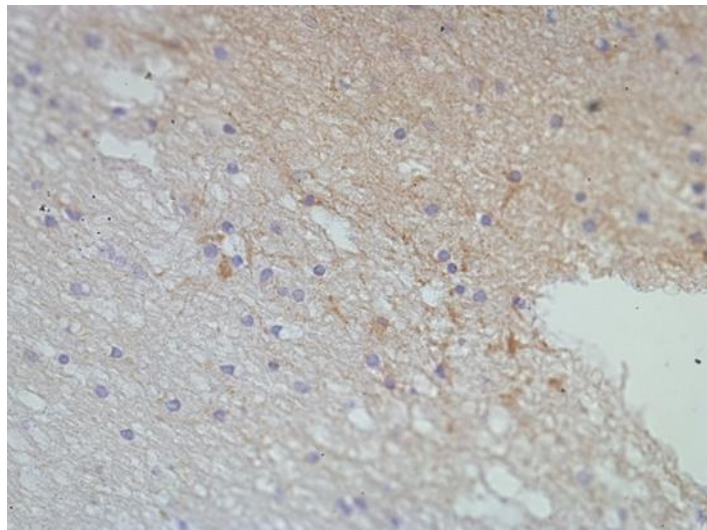


Slika 50. Pons, rostralni dio.

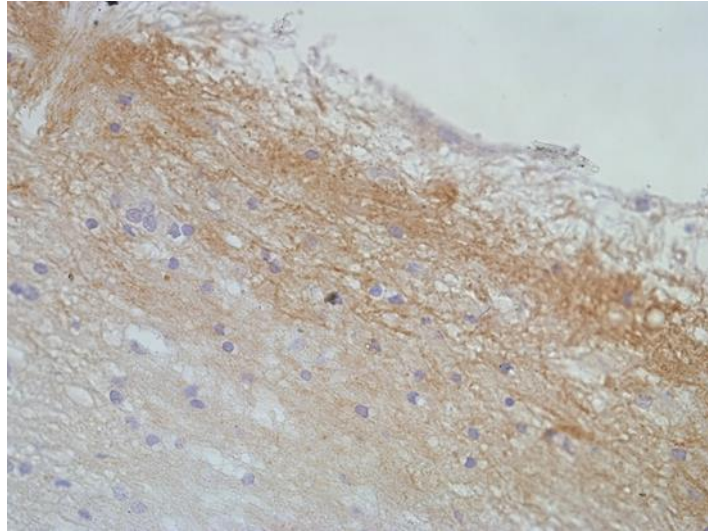
8. M/51, pešak. β APP imunobojenje, 40x.



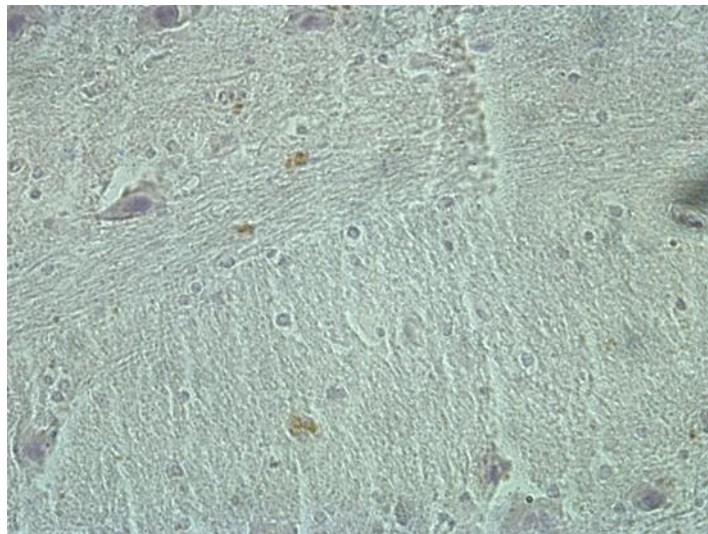
Slika 51. Parasagitalna bijela masa frontalnog reznja.



Slika 52. Korpus kalozum, genu.

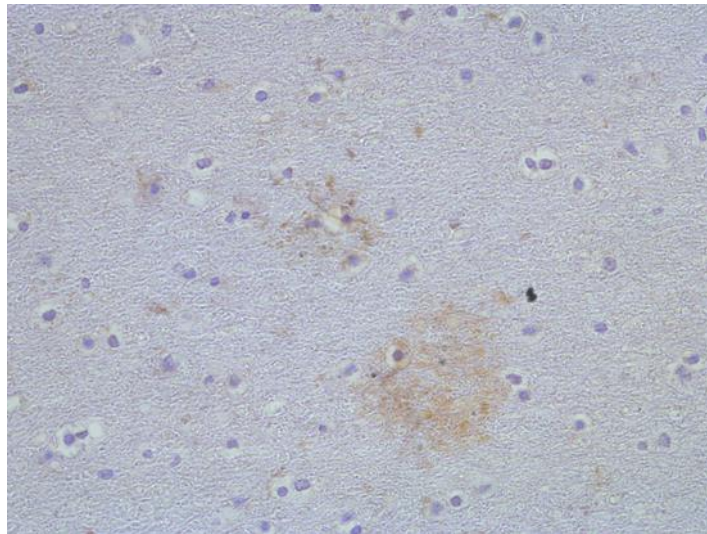


Slika 53. Korpus kalozum, splenium.

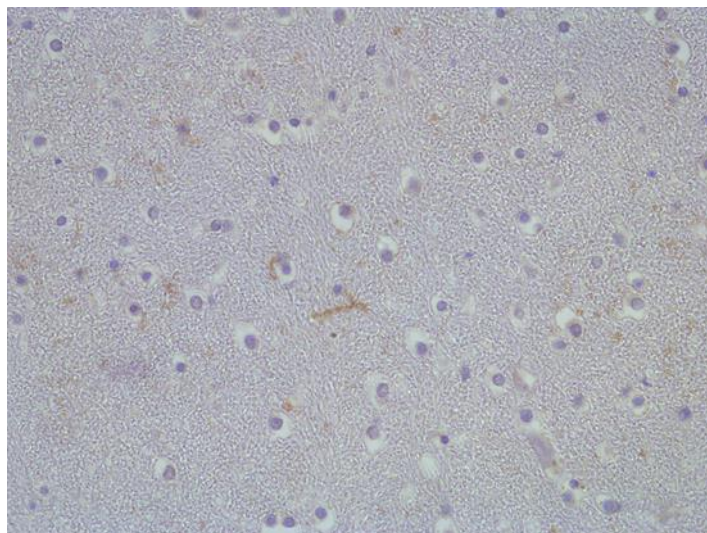


Slika 54. Pons, rostralni dio.

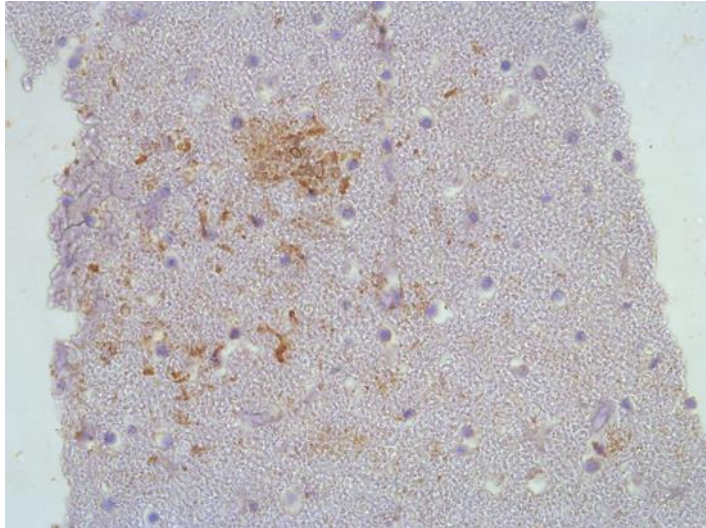
9. Ž/20, vozač. β APP imunobojenje, 40x.



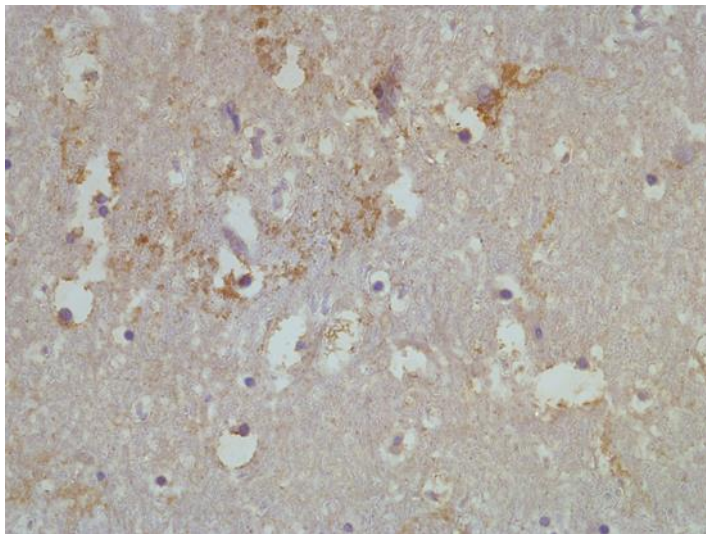
Slika 55. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 56. Korpus kalozum, genu.

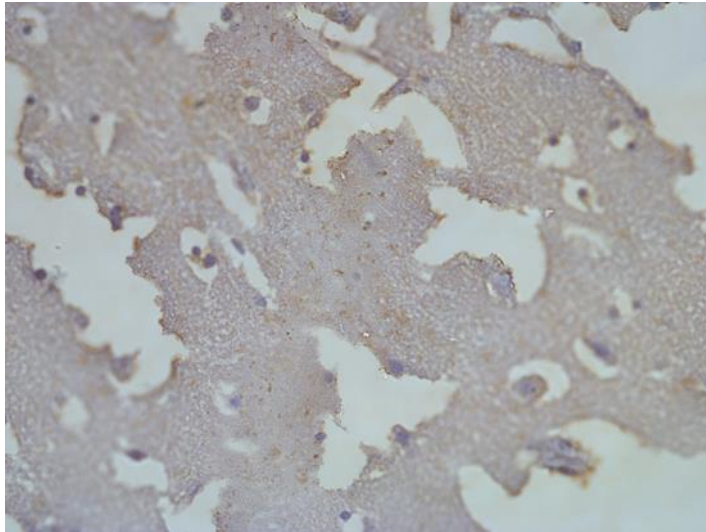


Slika 57. Korpus kalozum, splenium.

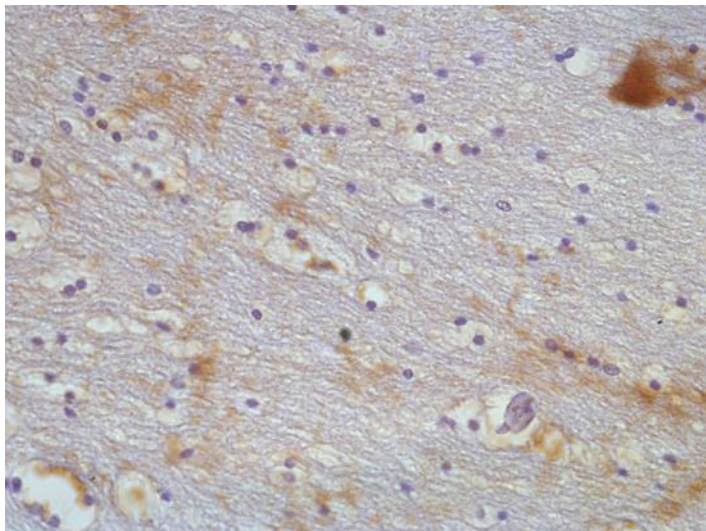


Slika 58. Pons, rostralni dio.

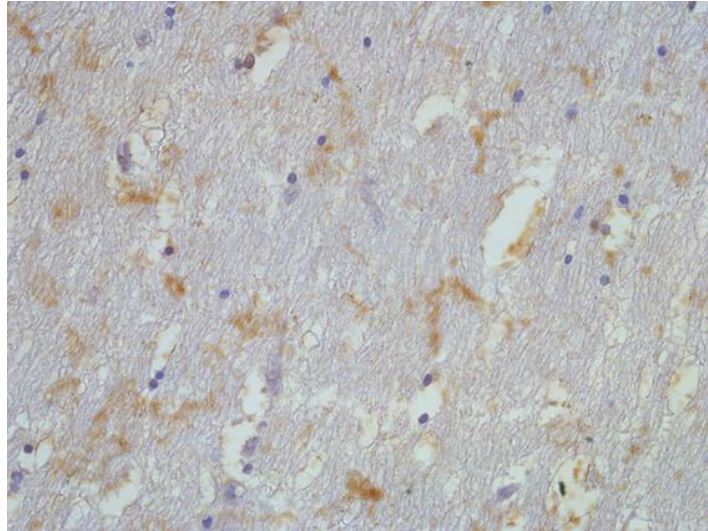
10. Ž/57, vozač. β APP imunobojenje, 40x.



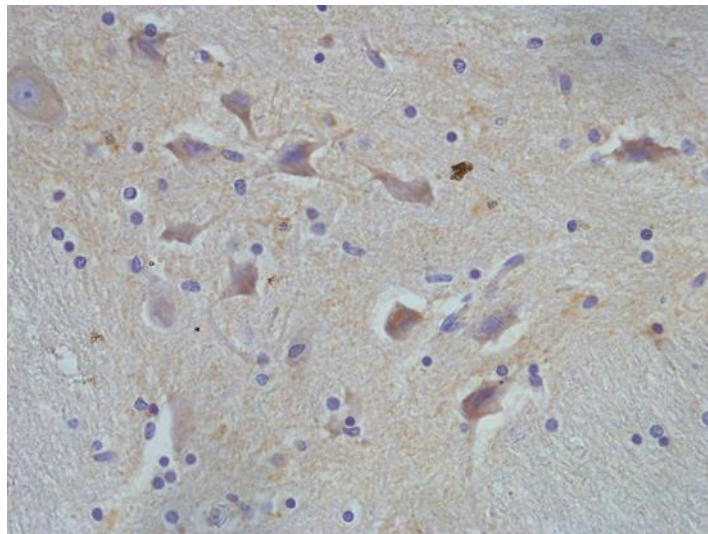
Slika 59. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 60. Korpus kalozum, genu.

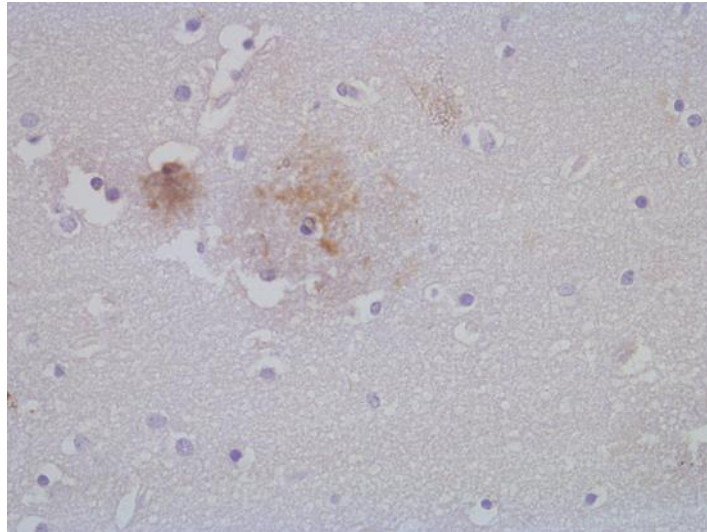


Slika 61. Korpus kalozum, splenium.

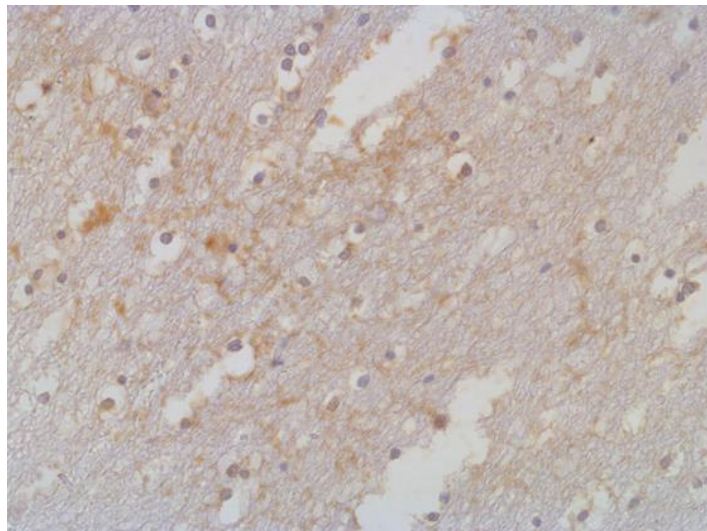


Slika 62. Pons, rostralni dio.

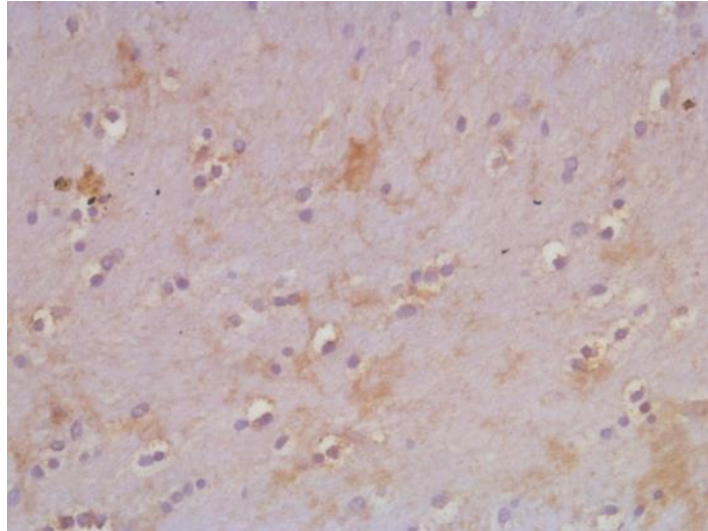
11. M/40, motociklista. β APP imunobojenje, 40x.



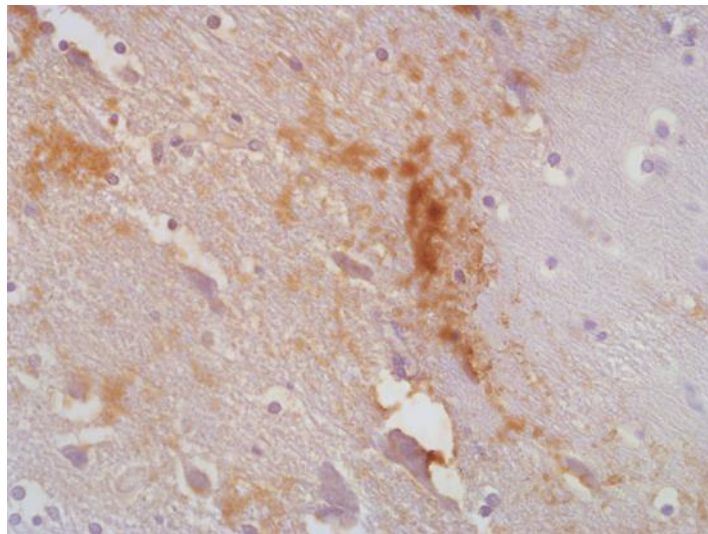
Slika 63. Parasagitalna bijela masa frontalnog reznja.



Slika 64. Korpus kalozum, genu.

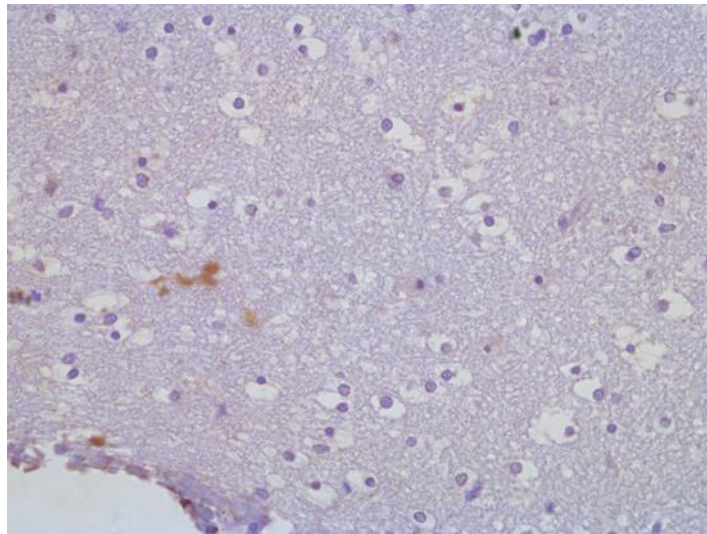


Slika 65. Korpus kalozum, splenium.

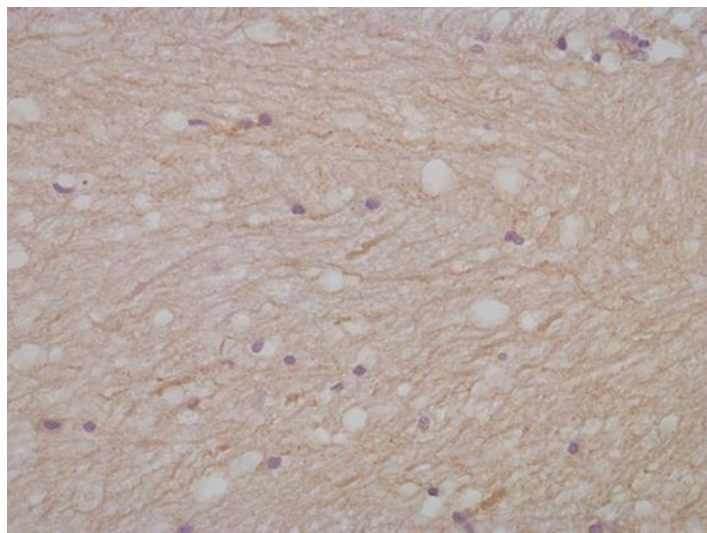


Slika 66. Pons, rostralni dio.

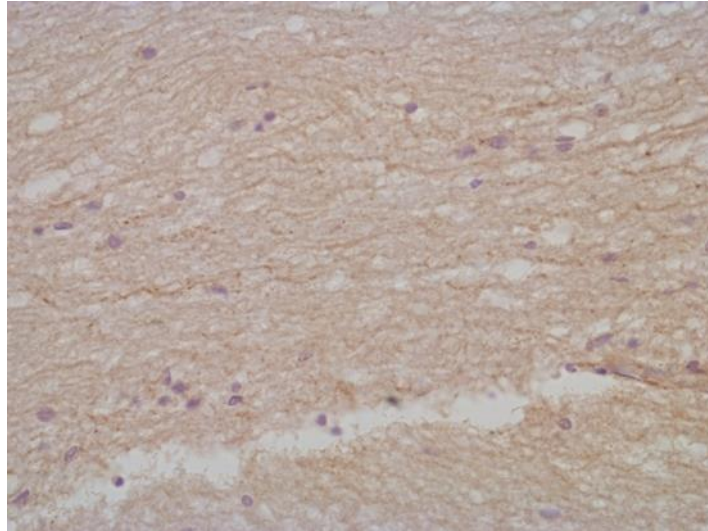
12. M/52, pad s visine. β APP imunobojenje, 40x.



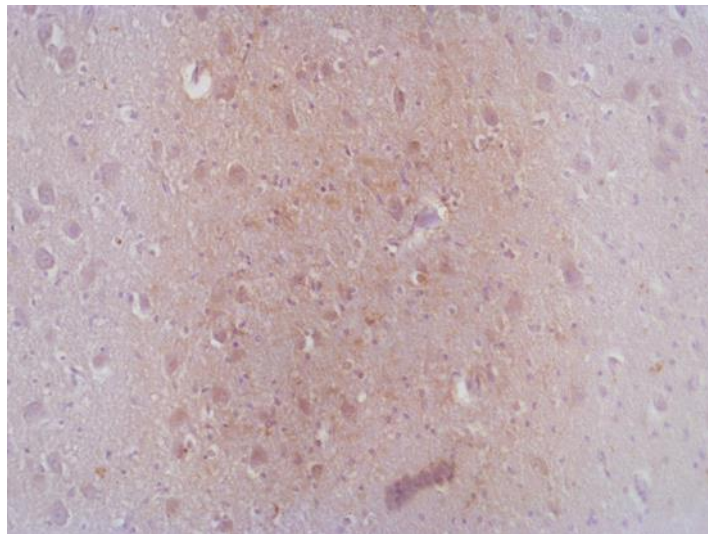
Slika 67. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 68. Korpus kalozum, genu.

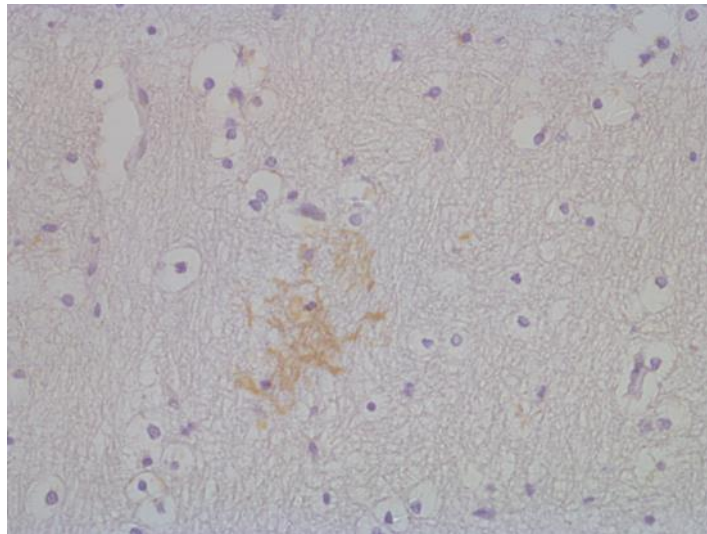


Slika 69. Korpus kalozum, splenium.

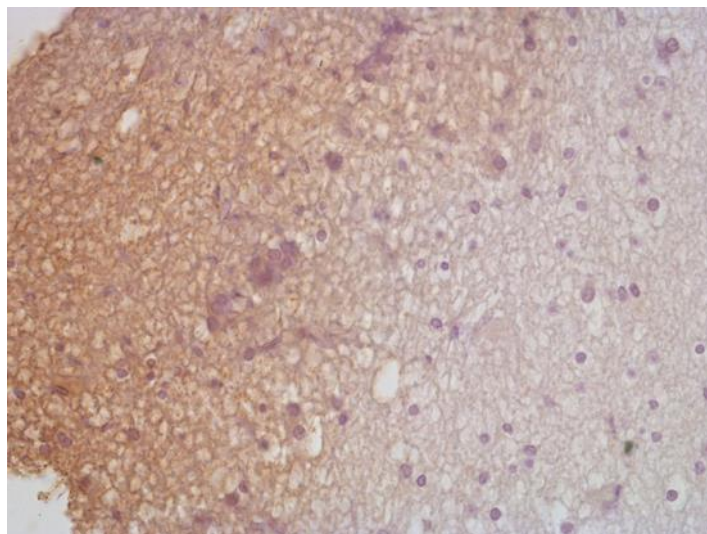


Slika 70. Pons, rostralni dio.

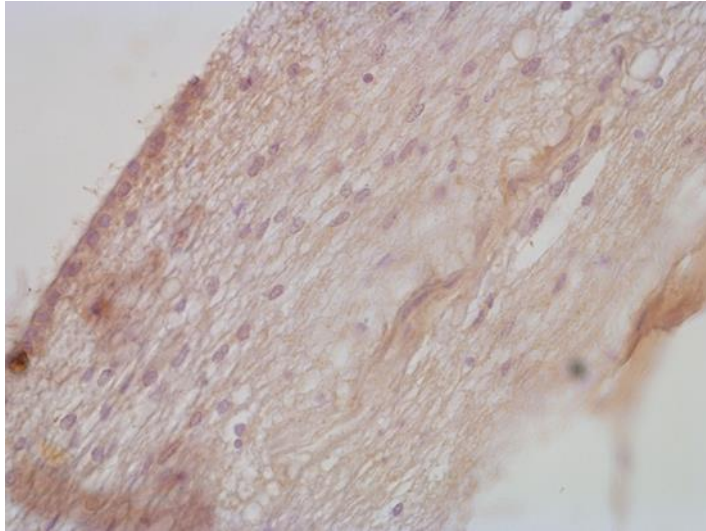
13. M/57, pad s visine. β APP imunobojenje, 40x.



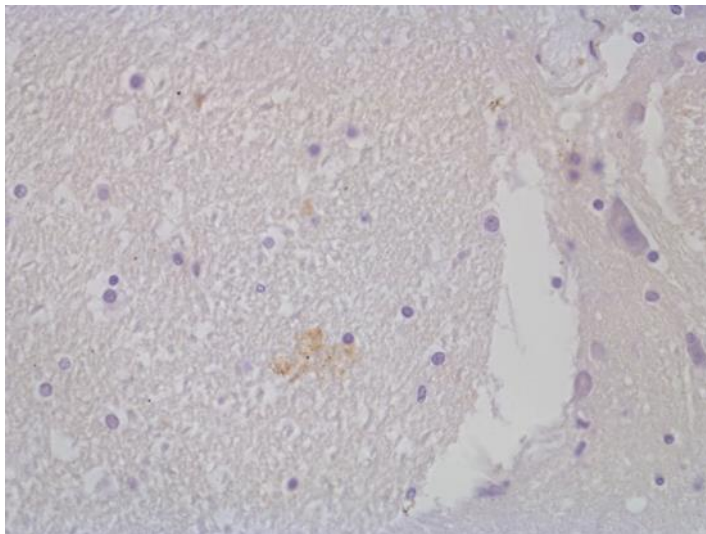
Slika 71. Parasagitalna bijela masa frontalnog reznja.



Slika 72. Korpus kalozum, genu.

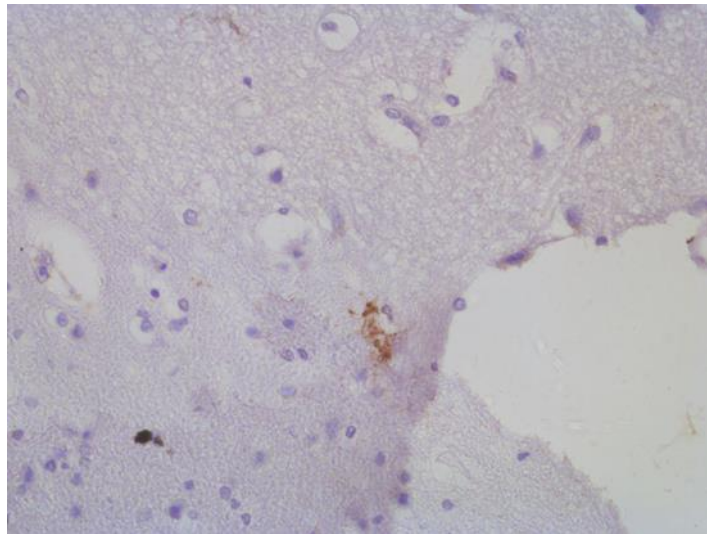


Slika 73. Korpus kalozum, splenium.

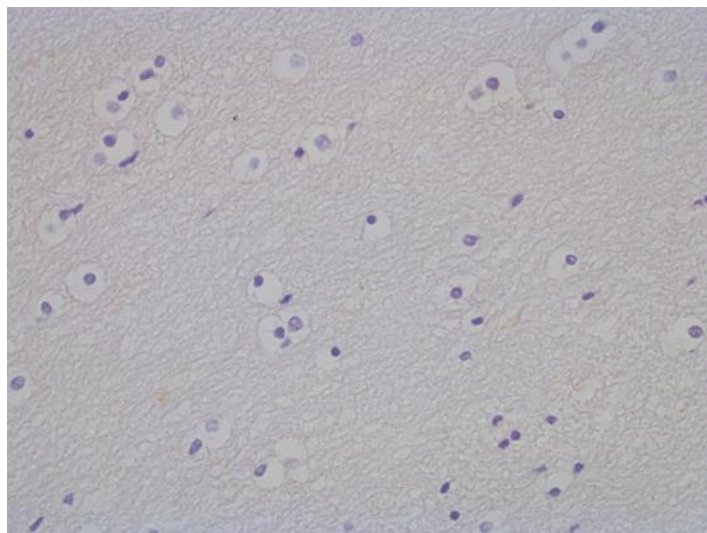


Slika 74. Pons, rostralni dio.

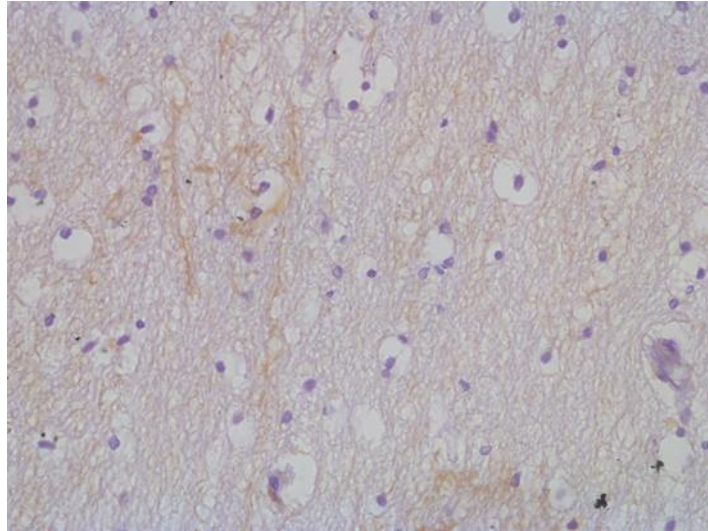
14. M/73, vozač. β APP imunobojenje, 40x.



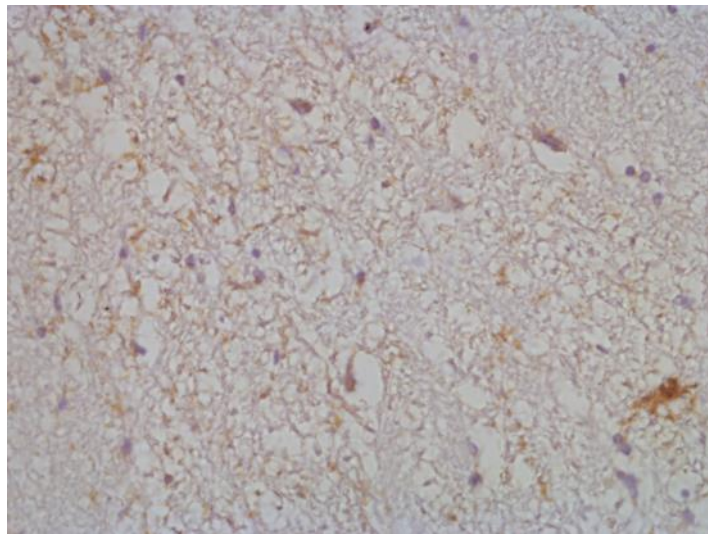
Slika 75. Parasagitalna bijela masa frontalnog reznja.



Slika 76. Korpus kalozum, genu.

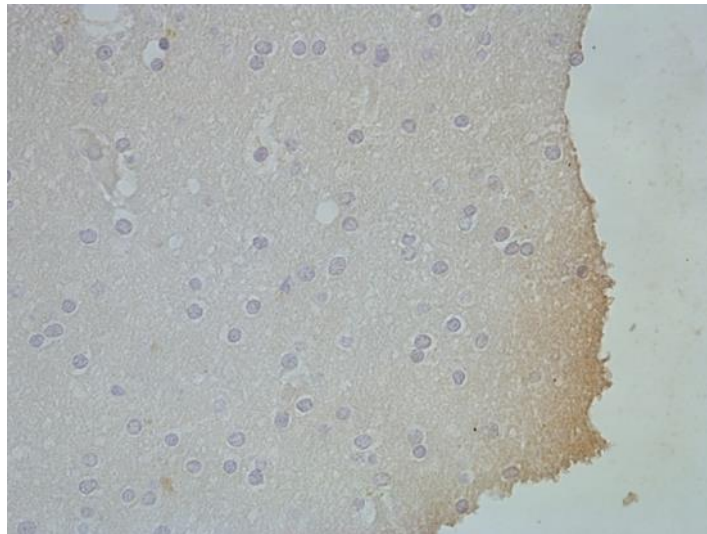


Slika 77. Korpus kalozum, splenium.

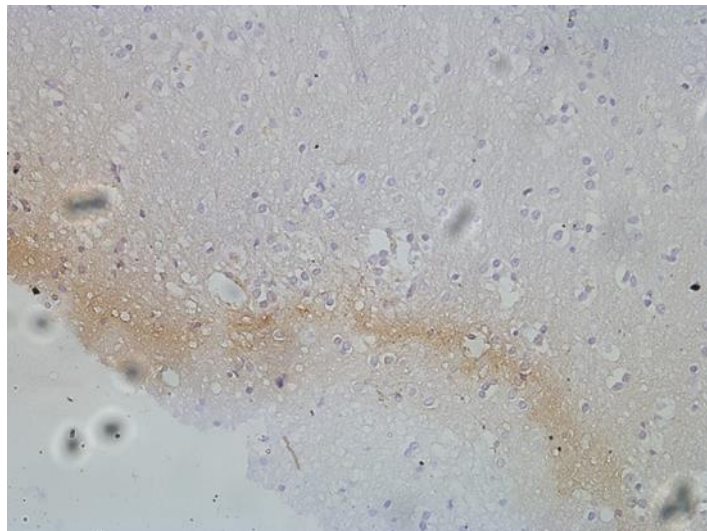


Slika 78. Pons, rostralni dio.

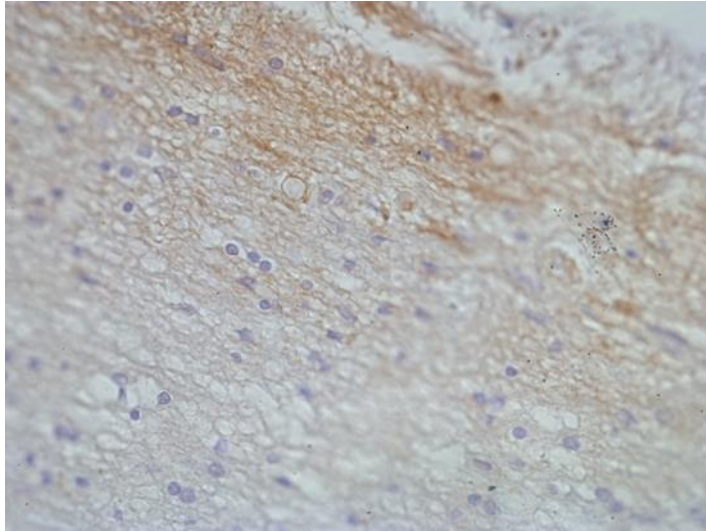
15. M/65, biciklista. β APP imunobojenje, 40x.



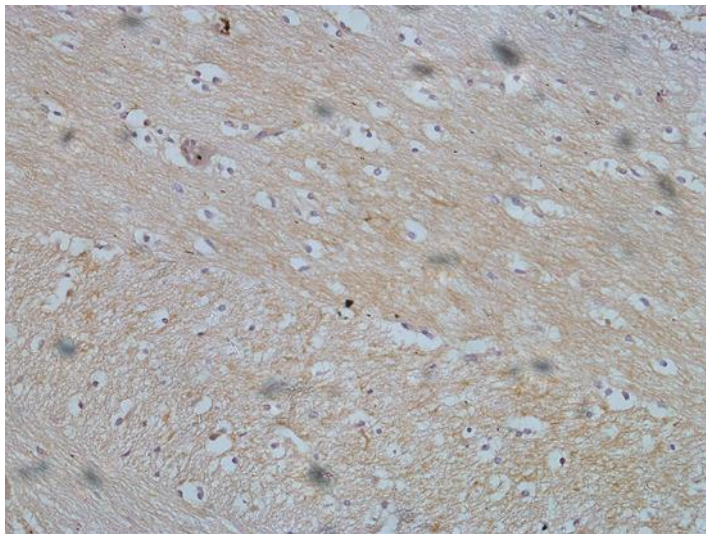
Slika 79. Parasagitalna bijela masa frontalnog reznja.



Slika 80. Korpsu kalozum, genu.

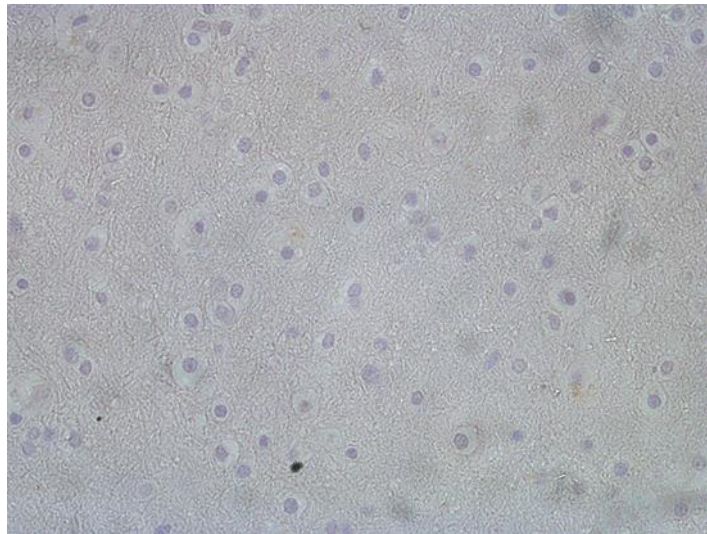


Slika 81. Korpus kalozum, splenium.

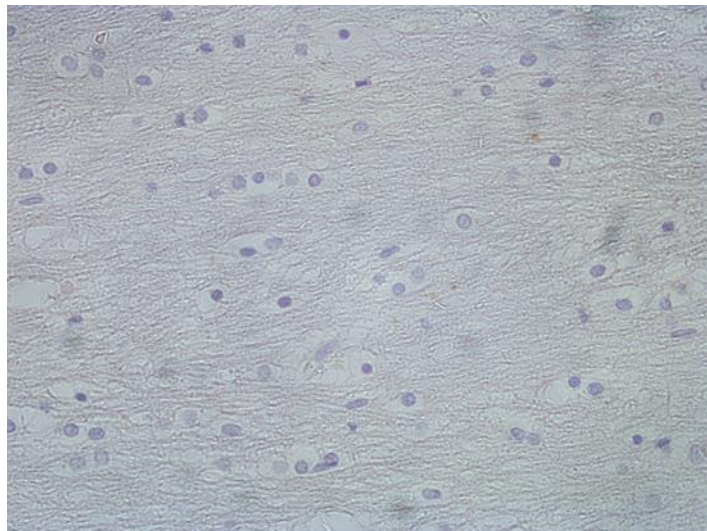


Slika 82. Pons, rostralni dio.

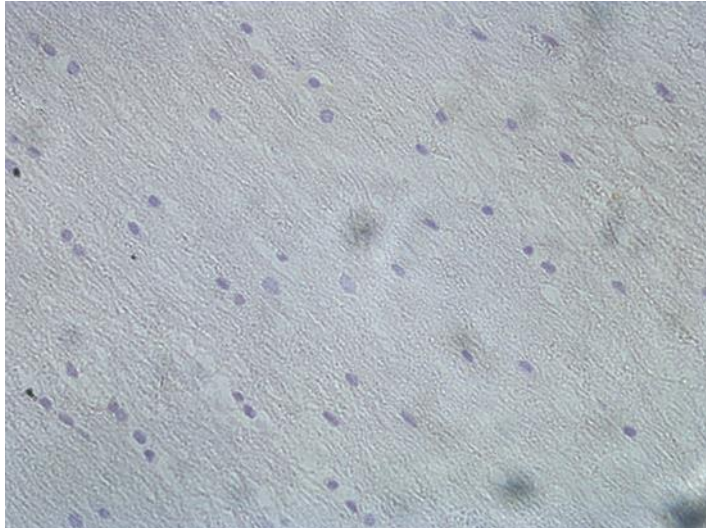
16. M/31, vozač. β APP imunobojenje, 40x.



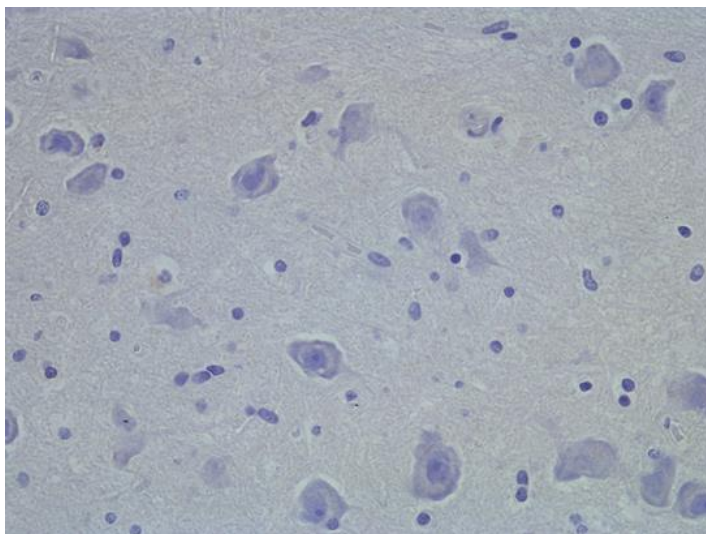
Slika 83. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 84. Korpus kalozum, genu.

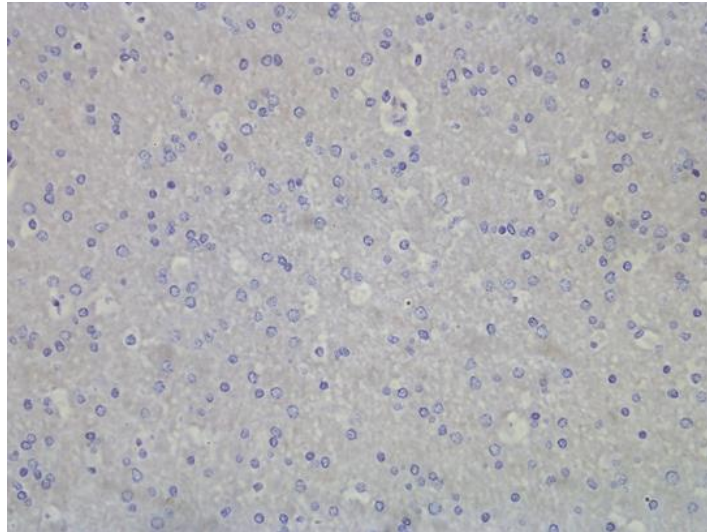


Slika 85. Korpus kalozum, splenium.

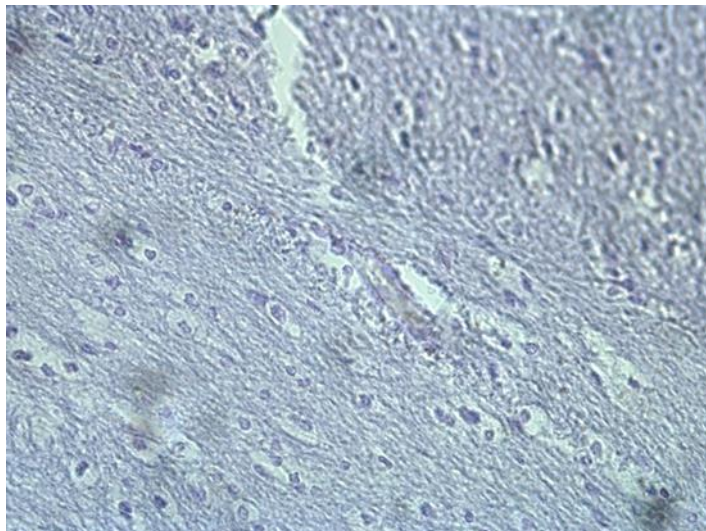


Slika 86. Pons, rostralni dio.

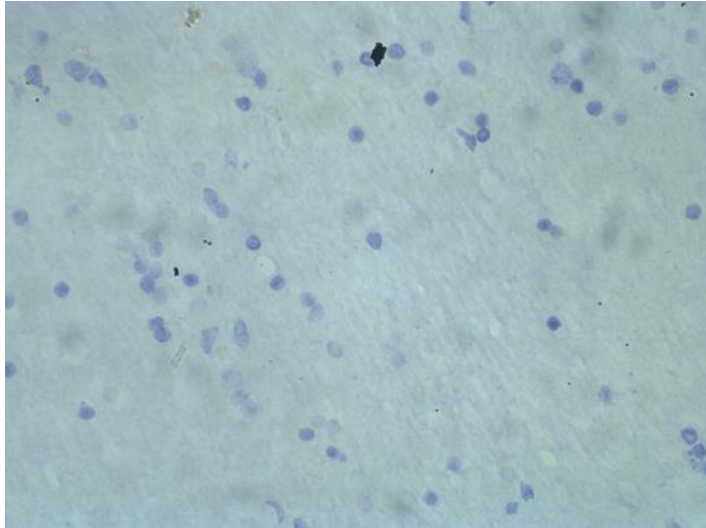
17. M/22, vozač. β APP imunobojenje, 40x.



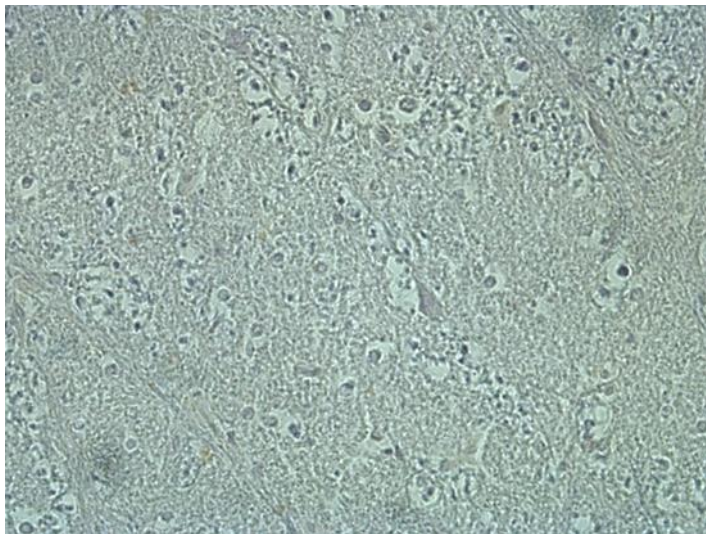
Slika 87. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 88. Korpus kalozum, genu.



Slika 89. Korpus kalozum, splenium.



Slika 90. Pons, rostralni dio.

4.5. II grupa – umrli u vremenskom periodu ≥ 2 sata

Drugu grupu čini 19 slučajeva smrtno stradalih usljed povređivanja u akceleracijsko-deceleracijskim mehanizmima, koji su umrli u vremenskom periodu od dva sata i dužem (≥ 2 h).

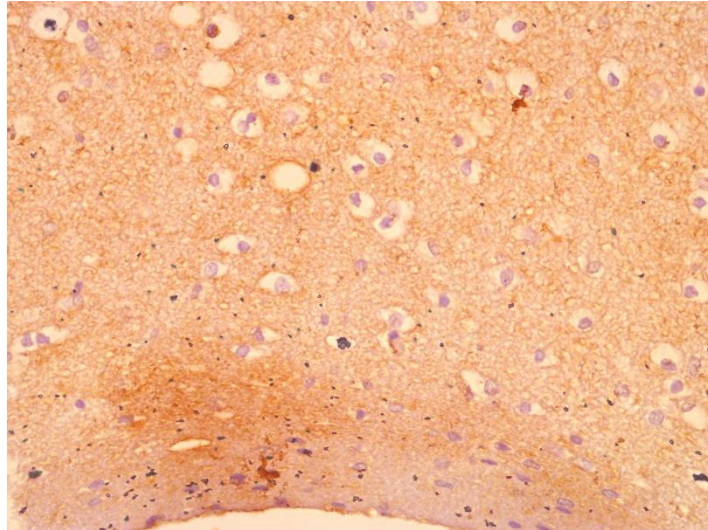
5.5.1. Period nadživljavanja povrede

Raspon vremena nadživljavanja u ovoj grupi iznosio je od 3 sata i 20 minuta do 22 dana, srednja vrijednost 106 časova. Najduži vremenki period preživljavanja iznosio je 22 dana (51-godišnji muškarac, pješak), zatim 12 dana (64-godišnji muškarac, pješak), 9 dana (75-godišnji muškarac, biciklista) itd. Najkraći period nadživljavanja u ovoj grupi iznosio je tri sata i 20 minuta, radilo se o 61-godišnjem muškarcu, pješaku.

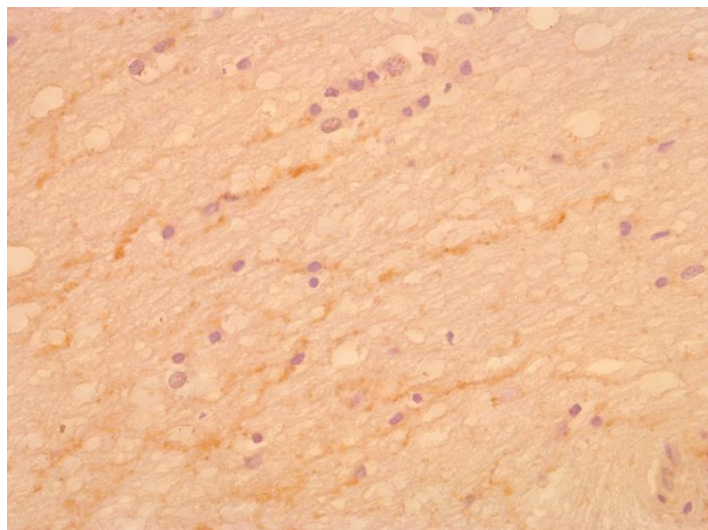
5.5.2. Mikrofotografski prikaz aksonske lezije

Na sljedećim stranicama slijedi mikrofotografski prikaz β APP imunohistohemijskog bojenja posmatranih regija mozga, za svaki pojedinačni slučaj u grupi umrlih u vremenskom periodu ≥ 2 sata.

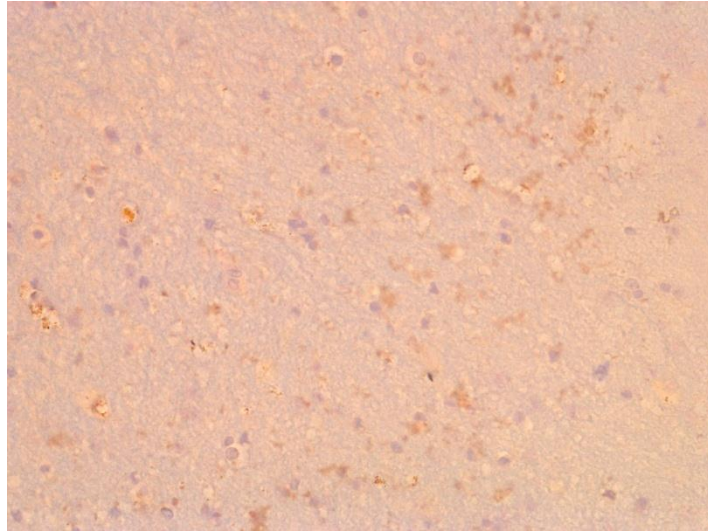
1. M/36, pad s visine. β APP imunobojenje, 40x.



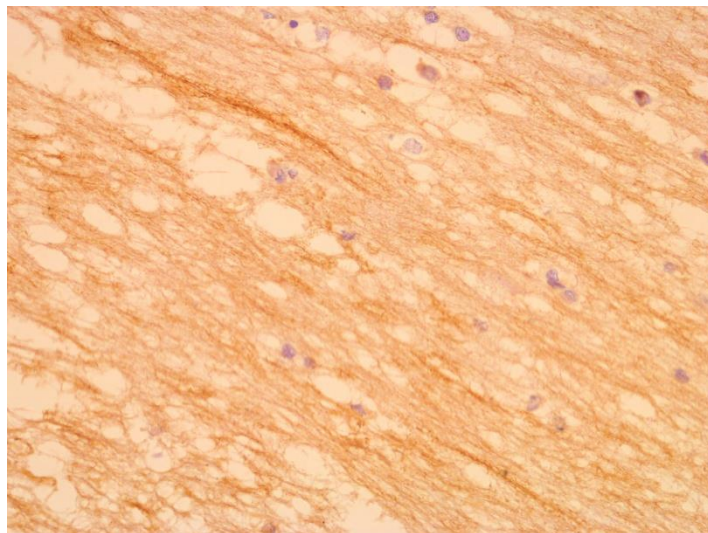
Slika 91. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 92. Korpus kalozum, genu.

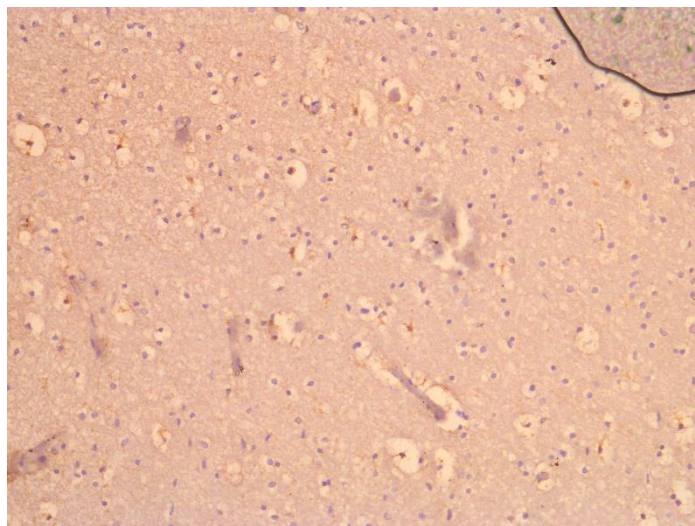


Slika 93. Korpus kalozum, splenium.

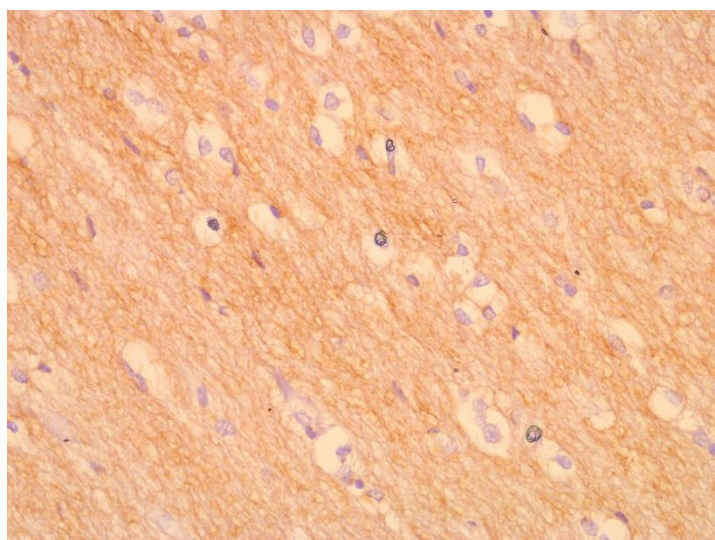


Slika 94. Pons, rostralni dio.

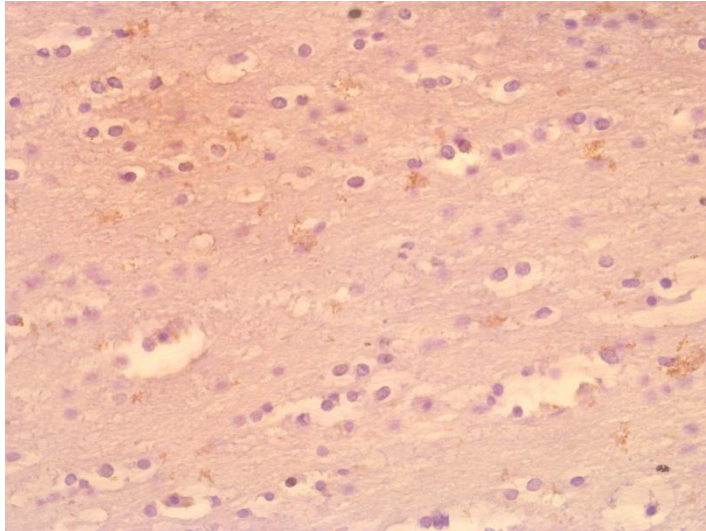
2. M/66, pješak. β APP imunobojenje, 40x.



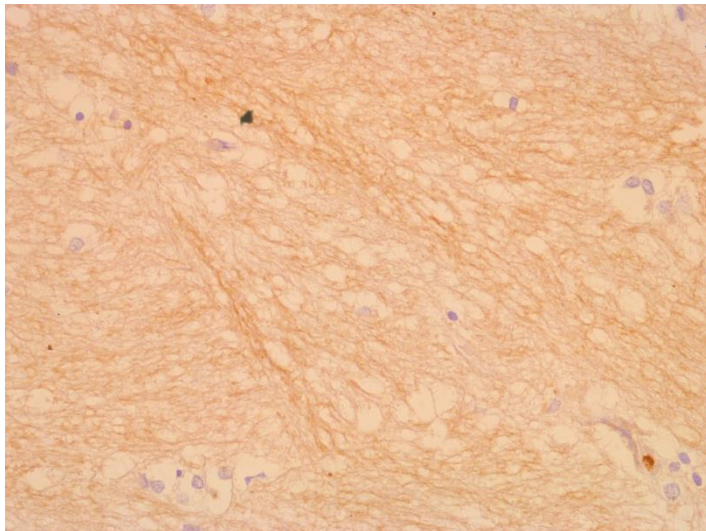
Slika 95. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 96. Korpus kalozum, genu.

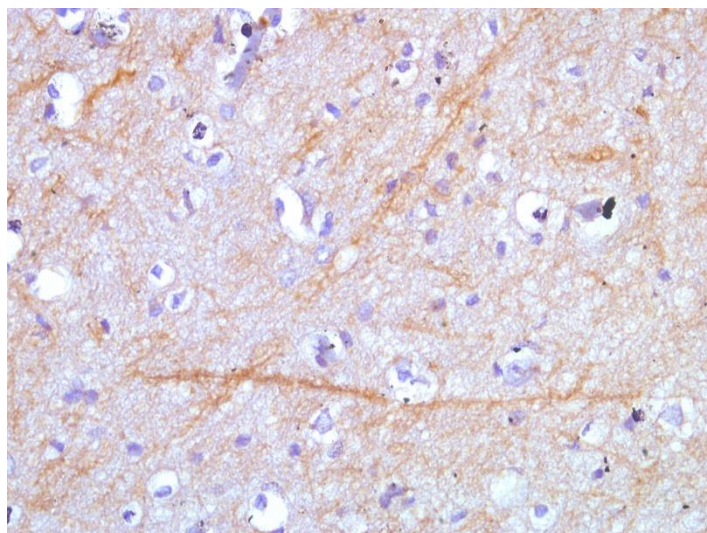


Slika 97. Korpus kalozum, splenium.

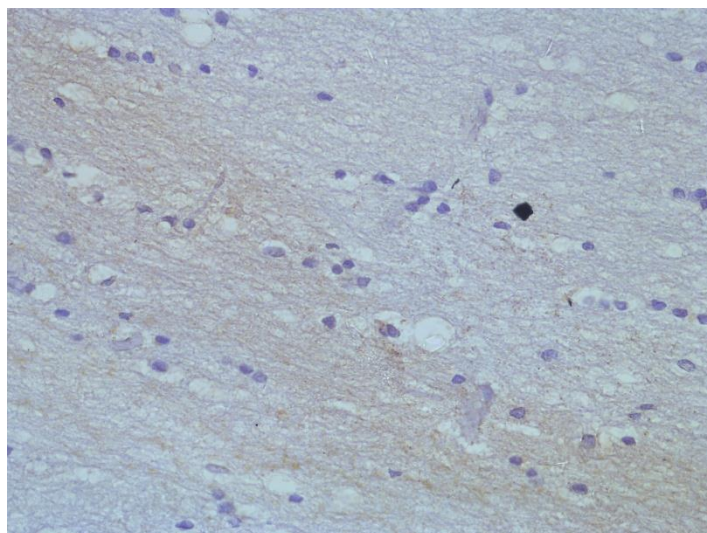


Slika 98. Pons, rostralni dio.

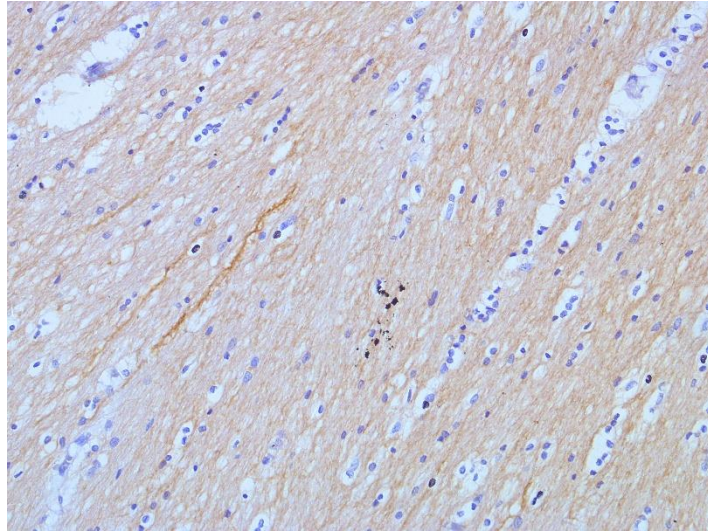
3. M/50, pad s visine. β APP imunobojenje, 40x.



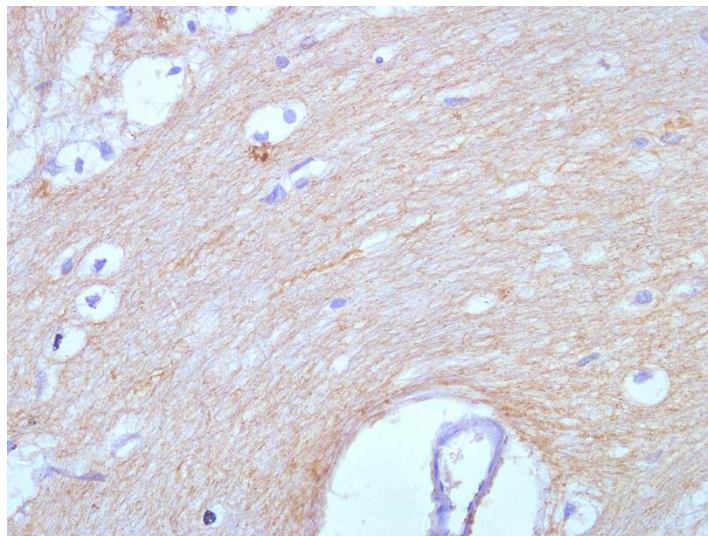
Slika 99. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 100. Korpus kalozum, genu.

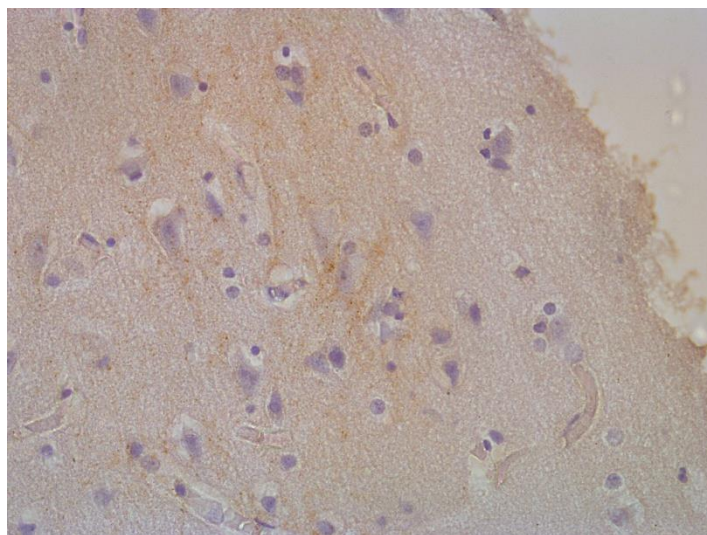


Slika 101. Korpus kalozum, splenium.

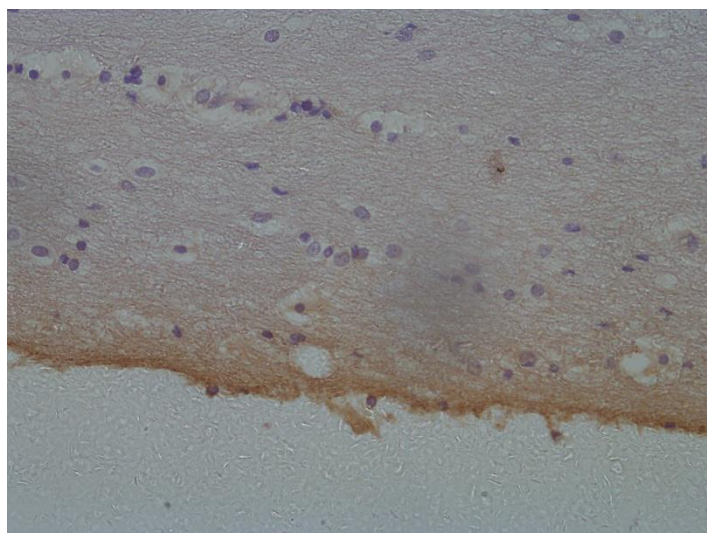


Slika 102. Pons, rostralni dio.

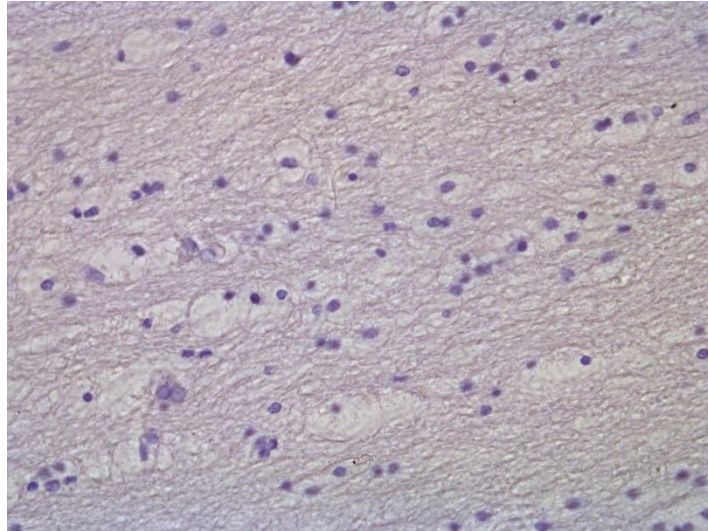
4. M/19, putnik na zadnjem sjedištu. β APP imunobojenje, 40x.



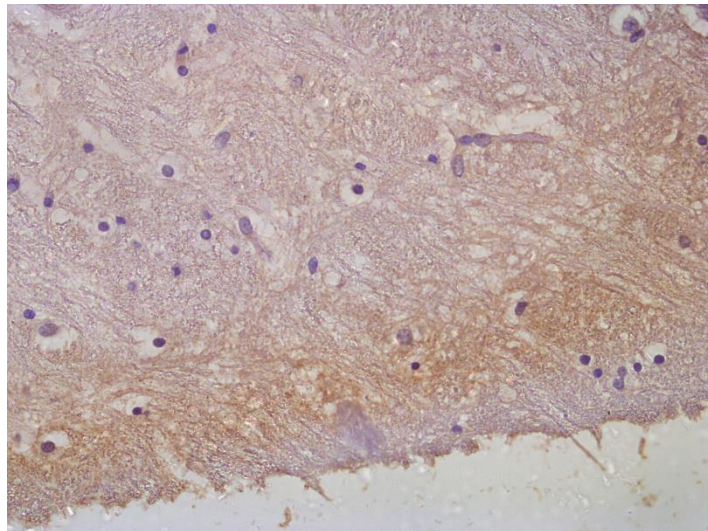
Slika 103. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 104. Korpus kalozum, genu.

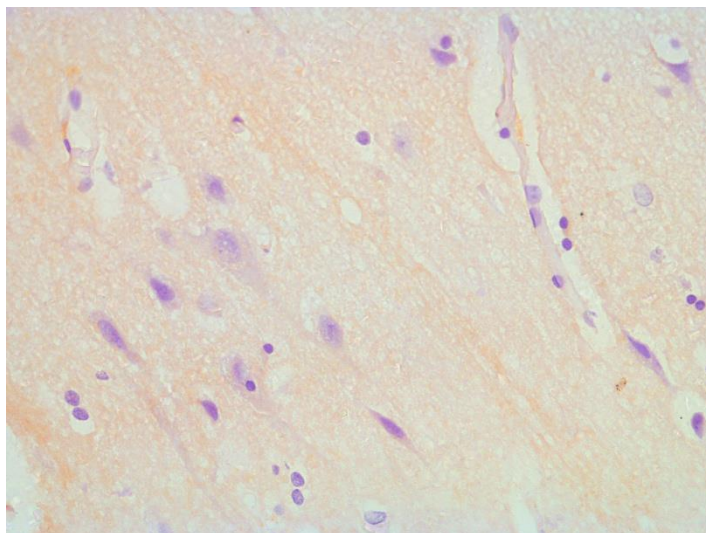


Slika 105. Korpus kalozum, splenium.

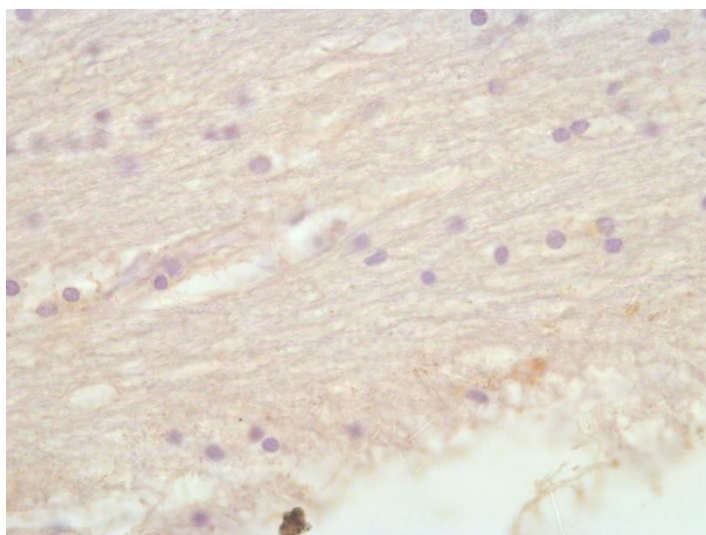


Slika 106. Pons, rostralni dio.

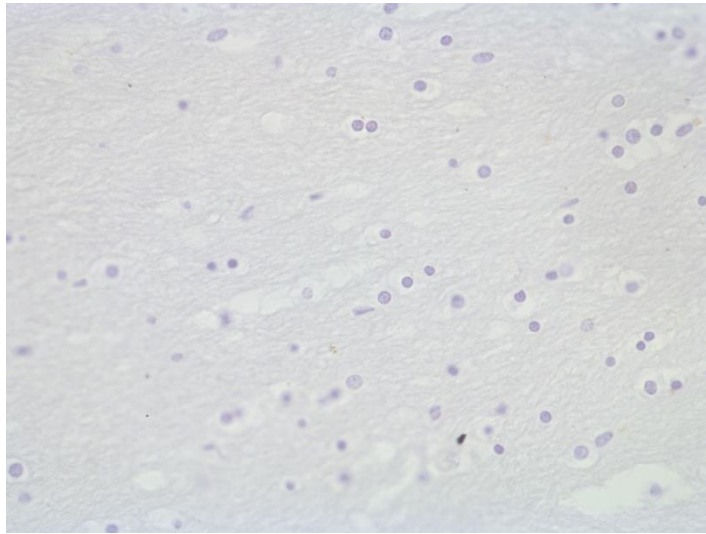
5. Ž/18, putnik na zadnjem sjedištu. β APP imunobojenje, 40x.



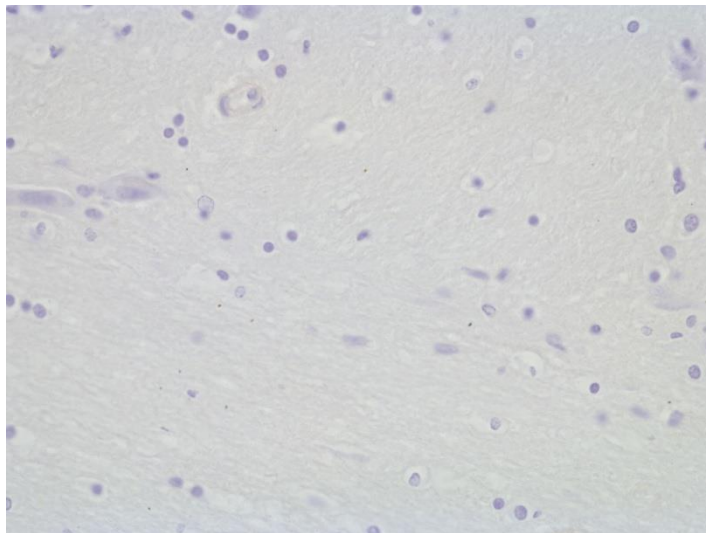
Slika 107. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 108. Korpus kalozum, genu.

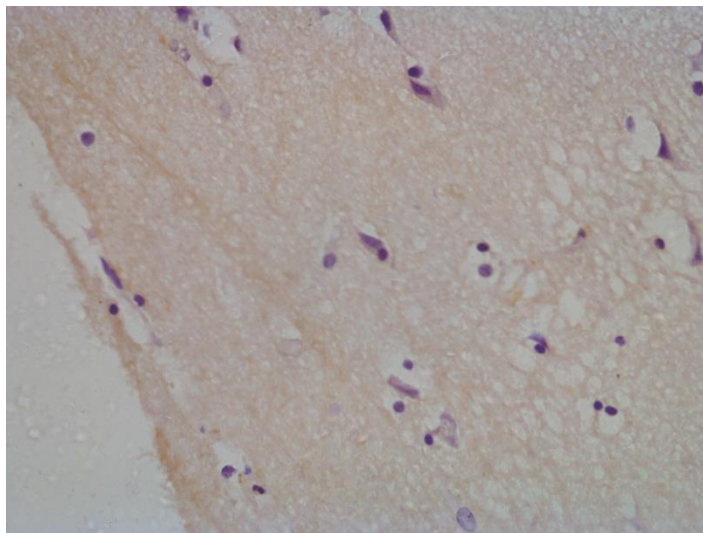


Slika 109. Korpus kalozum, splenium.

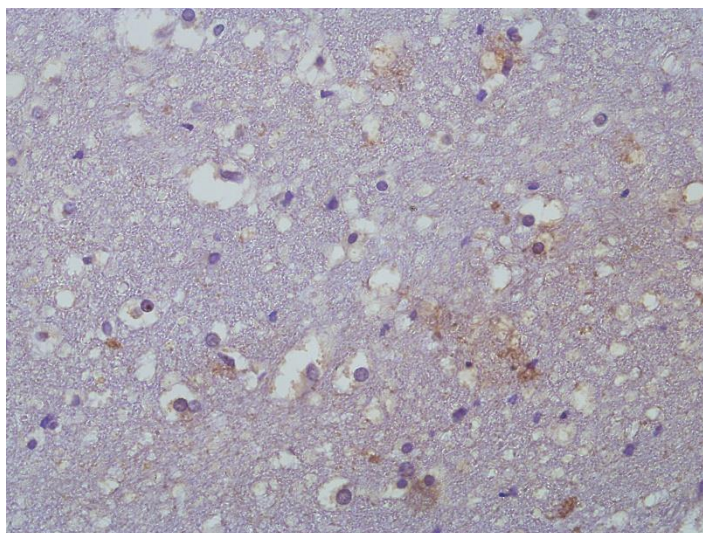


Slika 110. Pons, rostralni dio.

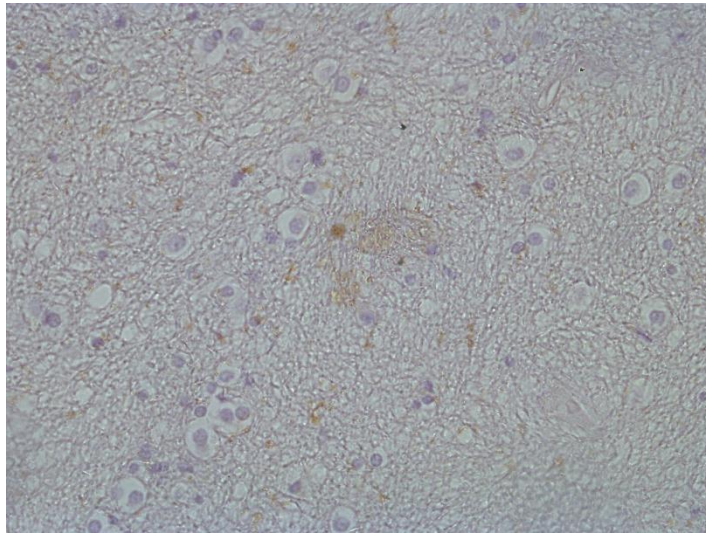
6. M/51, pješak. β APP imunobojenje, 40x.



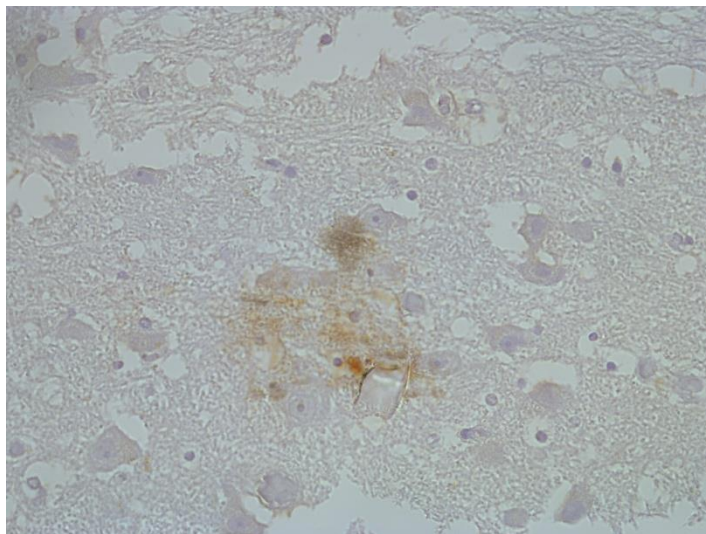
Slika 111. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 112. Korpus kalozum, genu.

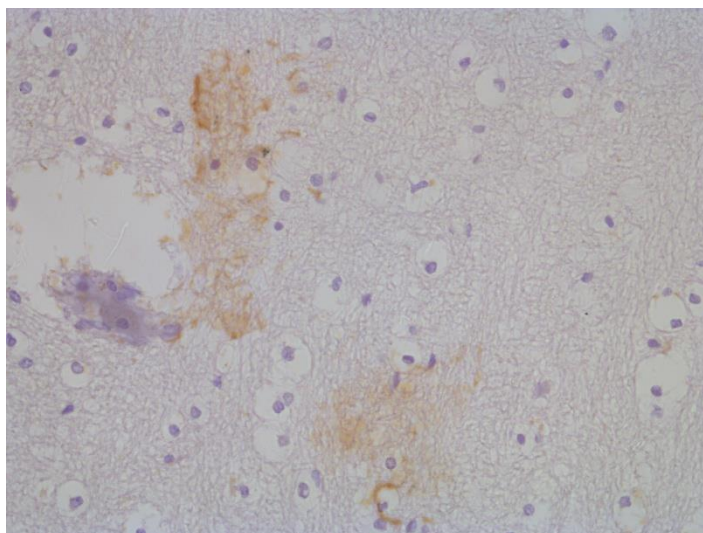


Slika 113. Korpus kalozum, splenium.

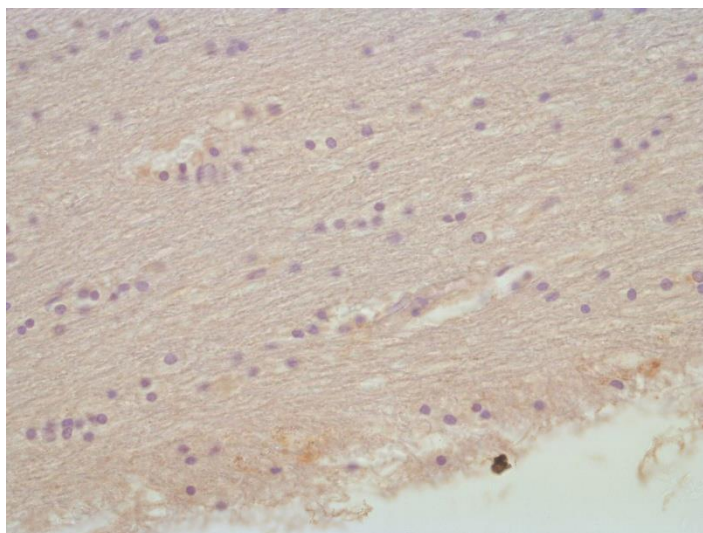


Slika 114. Pons, rostralni dio.

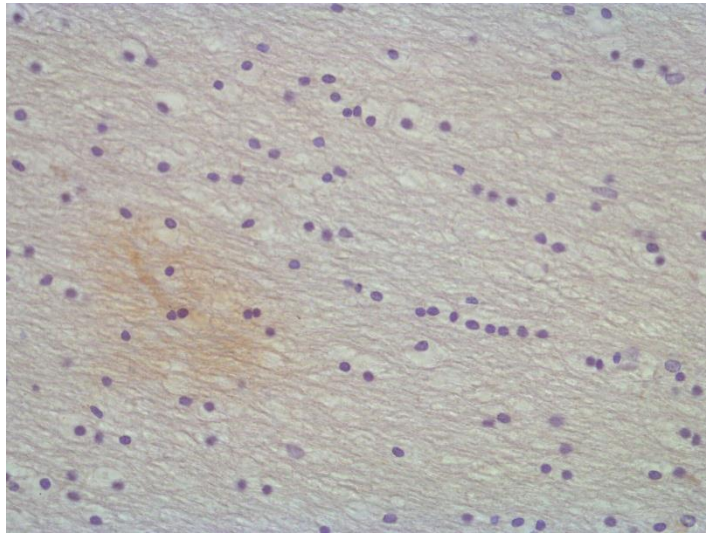
7. M/36, udarac u glavu. β APP imunobojenje, 40x.



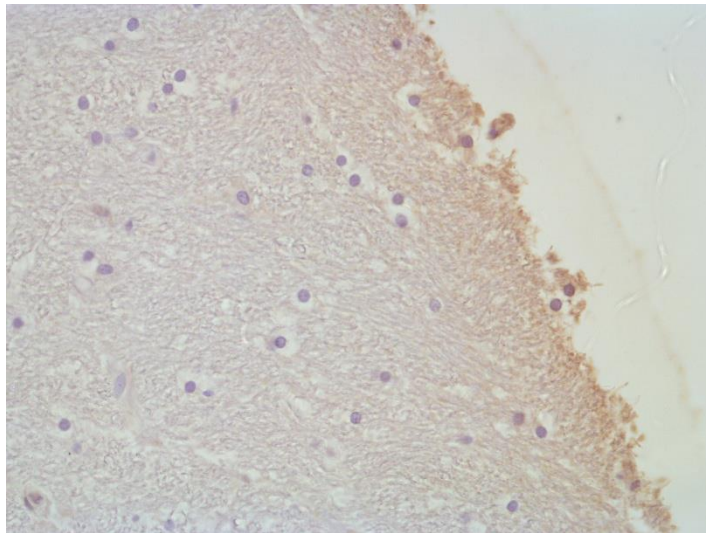
Slika 115. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja



Slika 116. Korpus kalozum, genu.

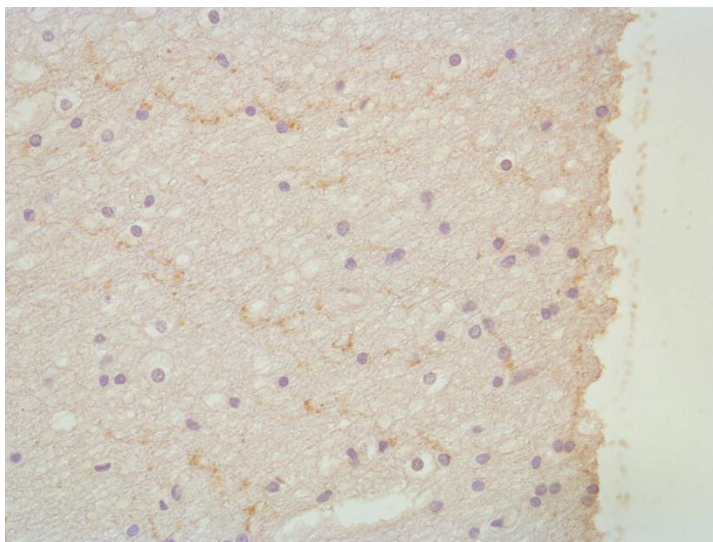


Slika 117. Korpus kalozum, splenium.

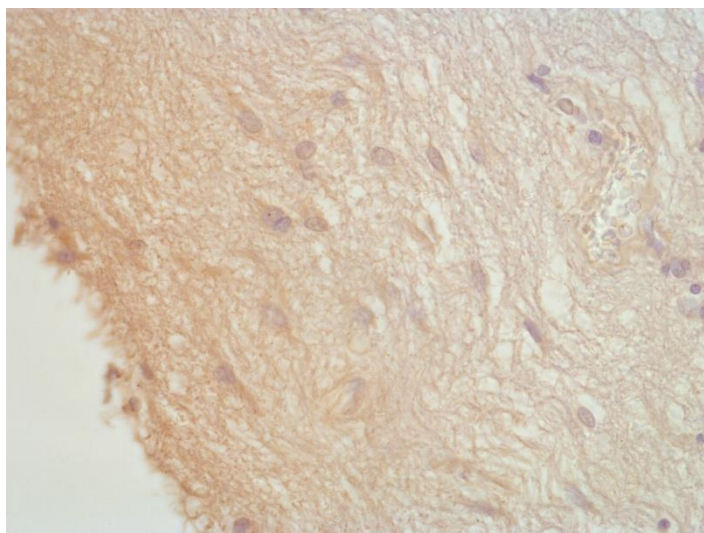


Slika 118. Pons, rostralni dio.

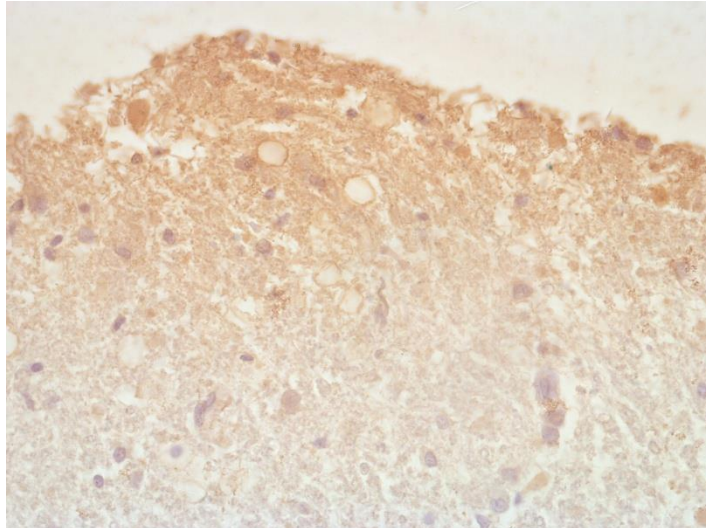
8. M/81, pješak. β APP imunobojenje, 40x.



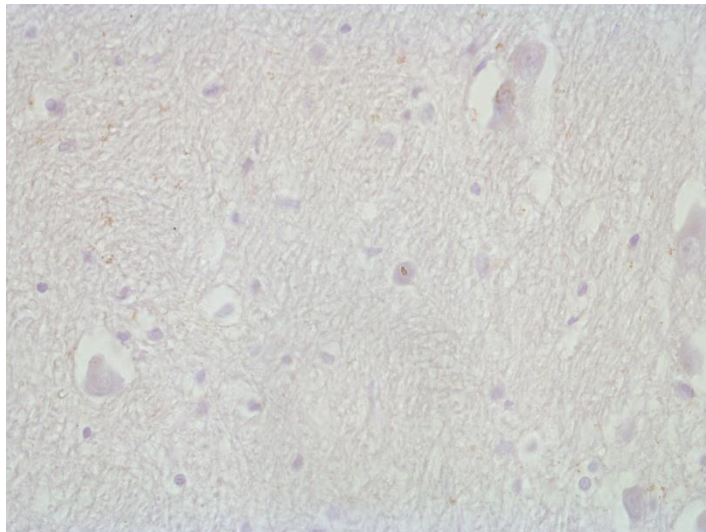
Slika 119. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 120. Korpus kalozum, genu.

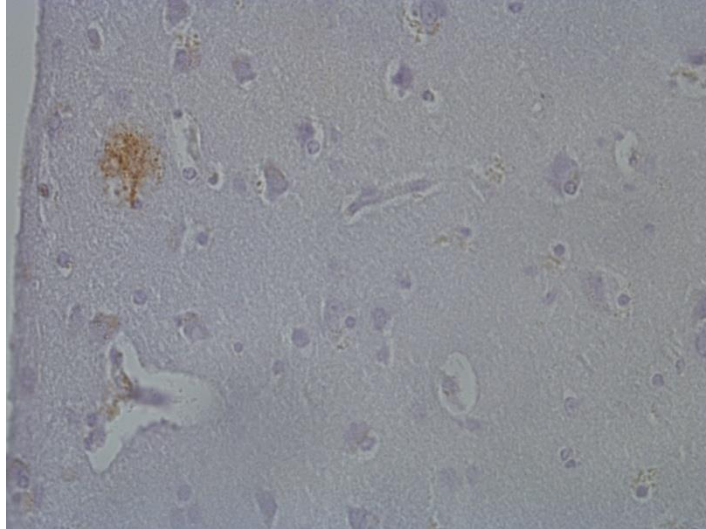


Slika 121. Korpus kalozum, splenium.

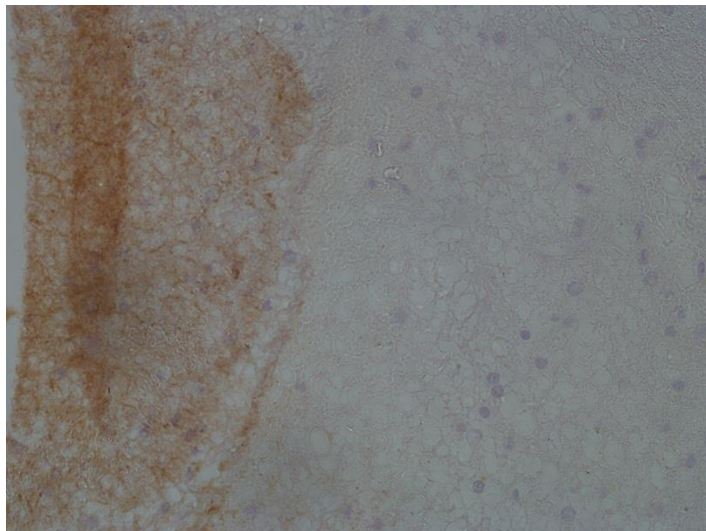


Slika 122. Pons, rostralni dio.

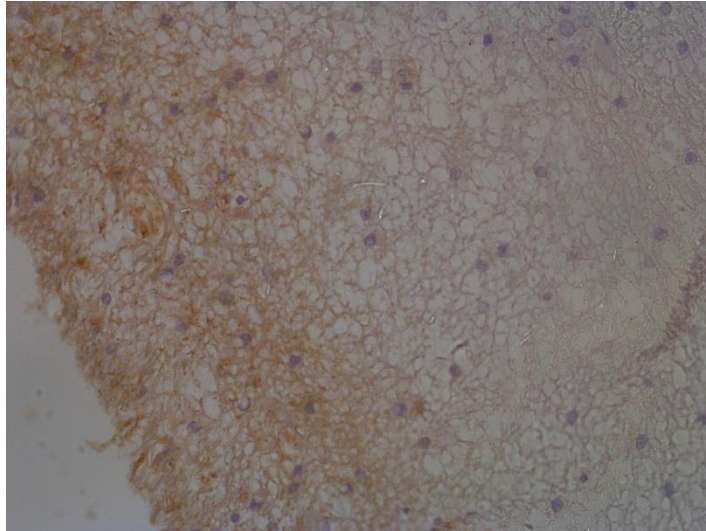
9. Ž/30, suvozač. β APP imunobojenje, 40x.



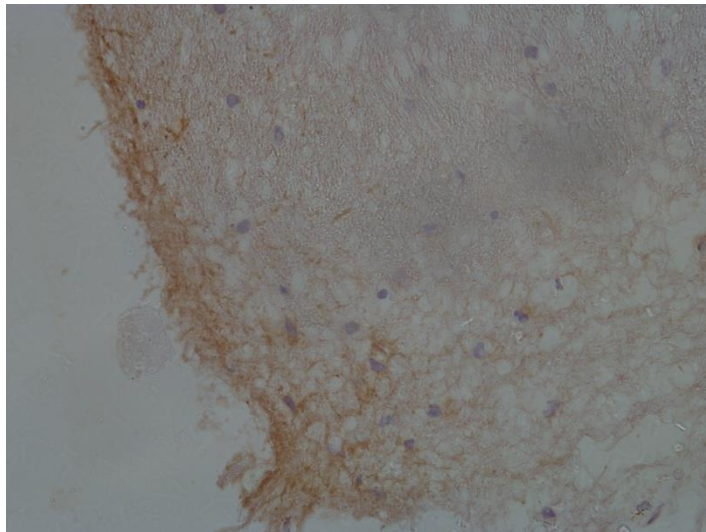
Slika 123. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 124. Korpus kalozum, genu.

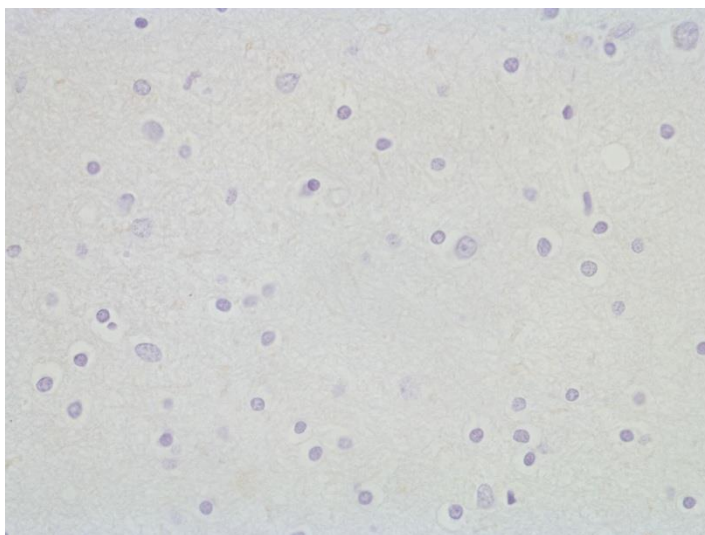


Slika 125. Korpus kalozum, splenium.

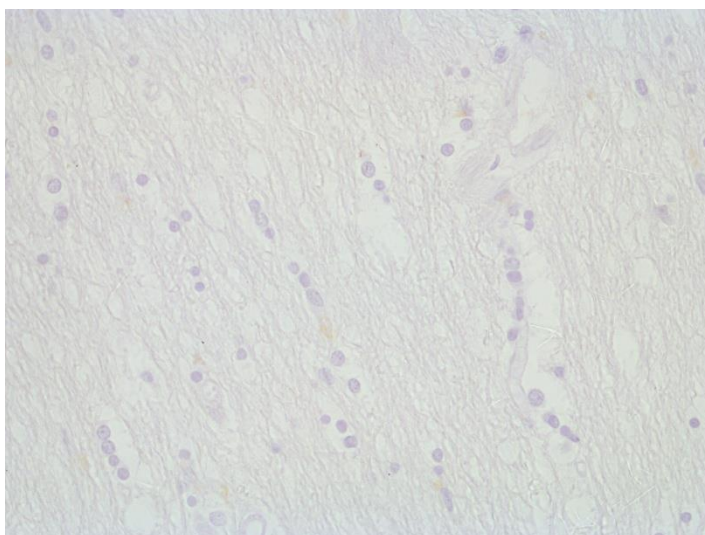


Slika 126. Pons, rostralni dio.

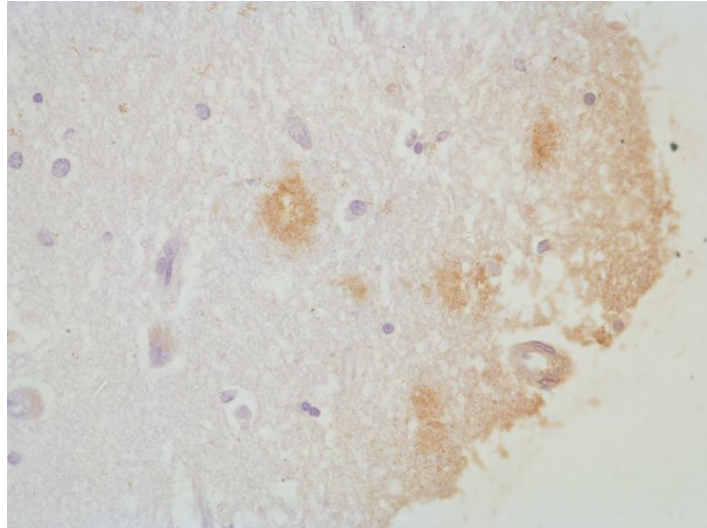
10. Ž/79, pješak. β APP imunobojenje, 40x.



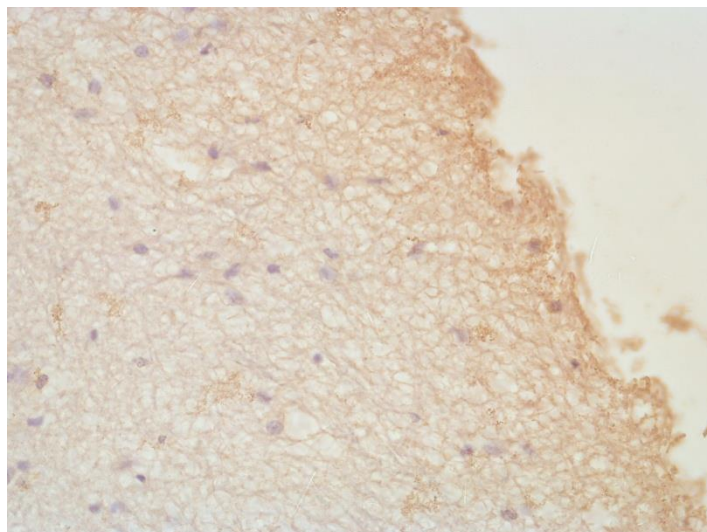
Slika 127. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 128. Korpus kalozum, genu.

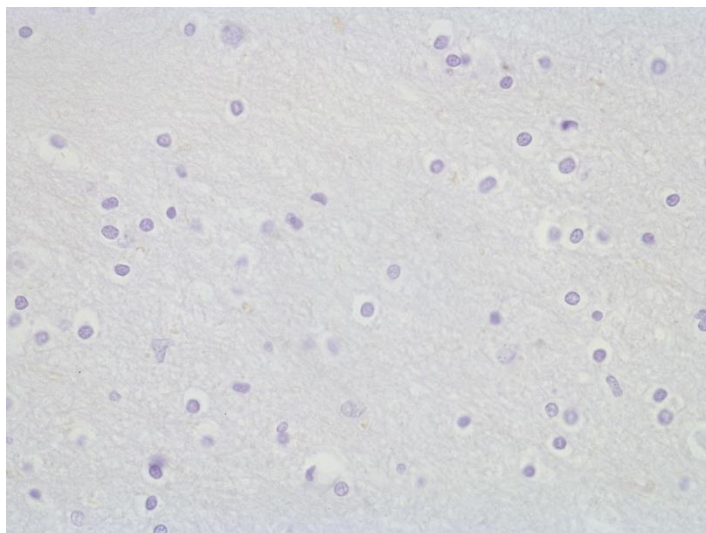


Slika 129. Korpus kalozum, splenium.

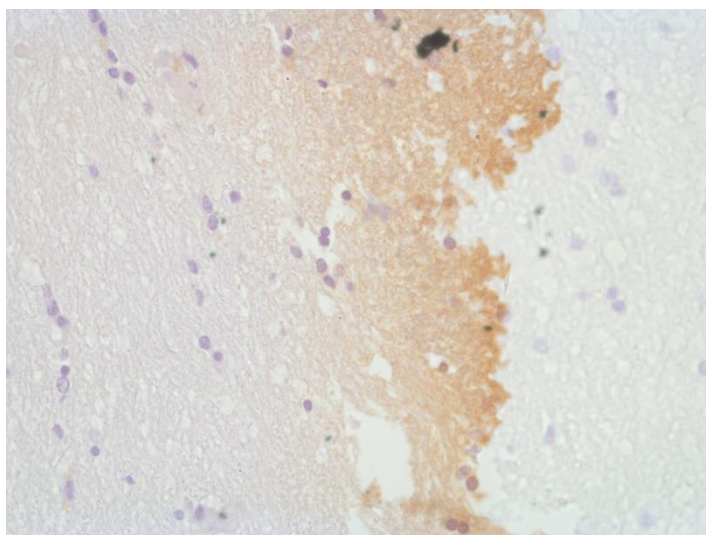


Slika 130. Pons, rostralni dio.

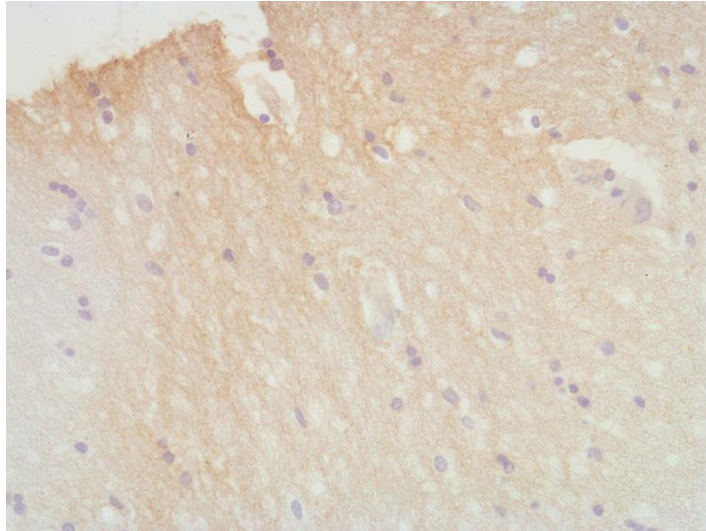
11. M/75, biciklista. β APP imunobojenje, 40x.



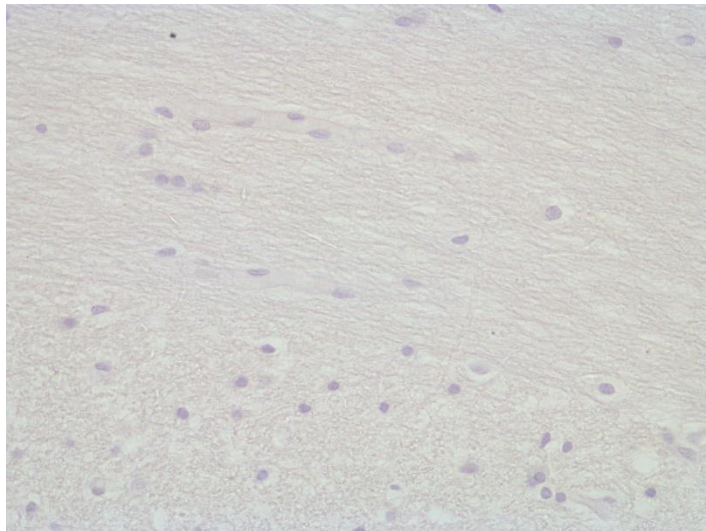
Slika 131. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 132. Korpus kalozum, genu.

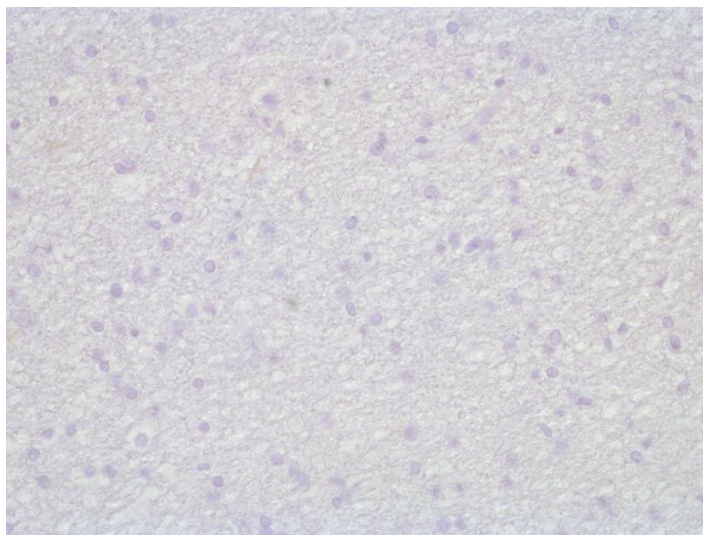


Slika 133. Korpus kalozum, splenium.

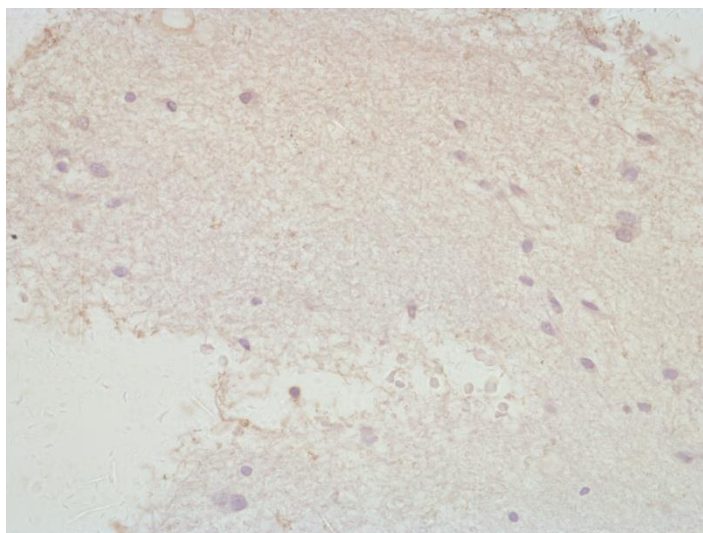


Slika 134. Pons, rostralni dio.

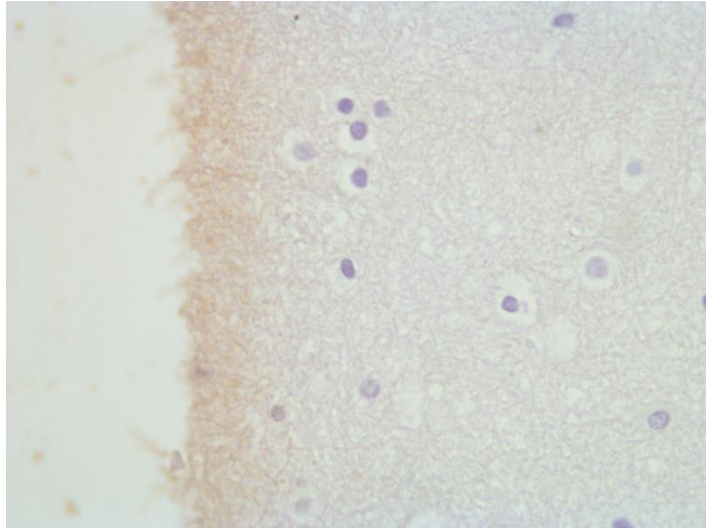
12. M/61, motociklista. β APP imunobojenje, 40x.



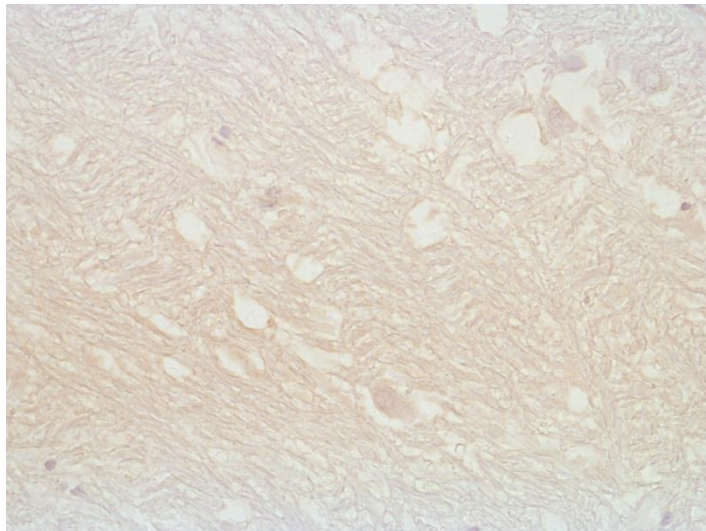
Slika 135. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 136. Korpus kalozum, genu.

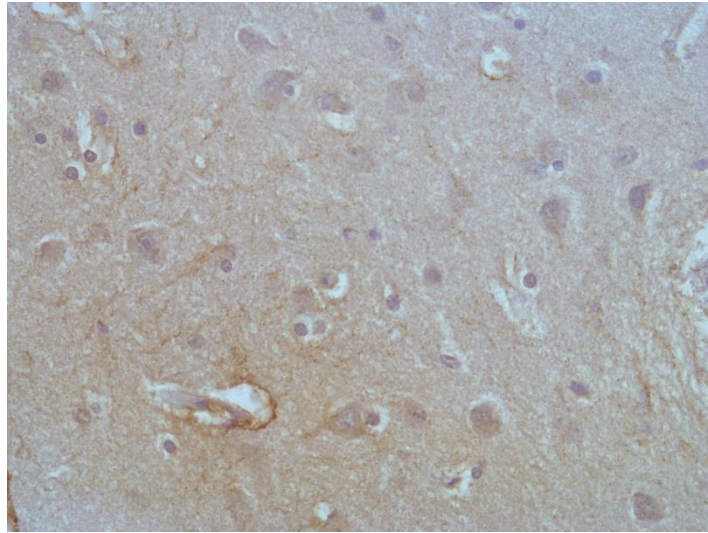


Slika 137. Korpus kalozum, splenium.

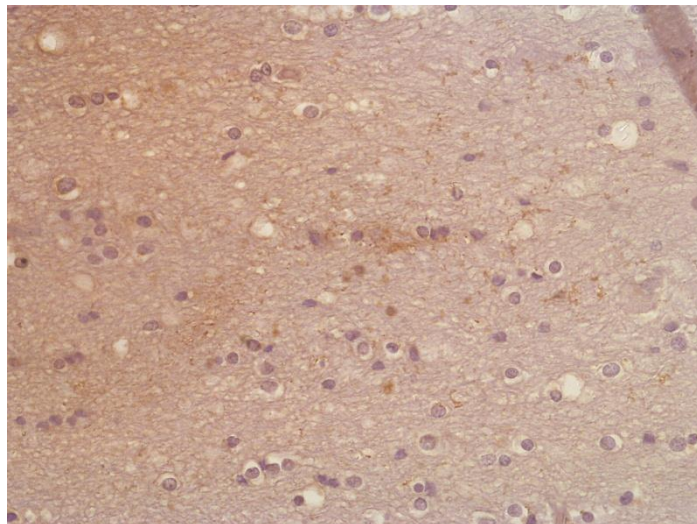


Slika 138. Pons, rostralni dio.

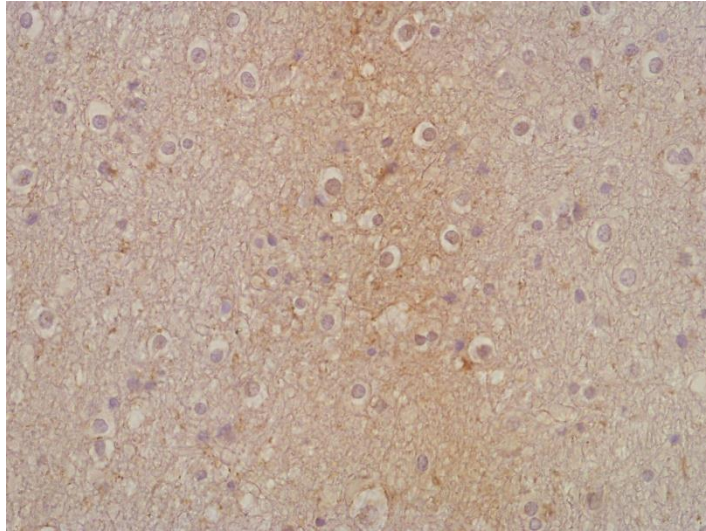
13. M/61, pješak. β APP imunobojenje, 40x.



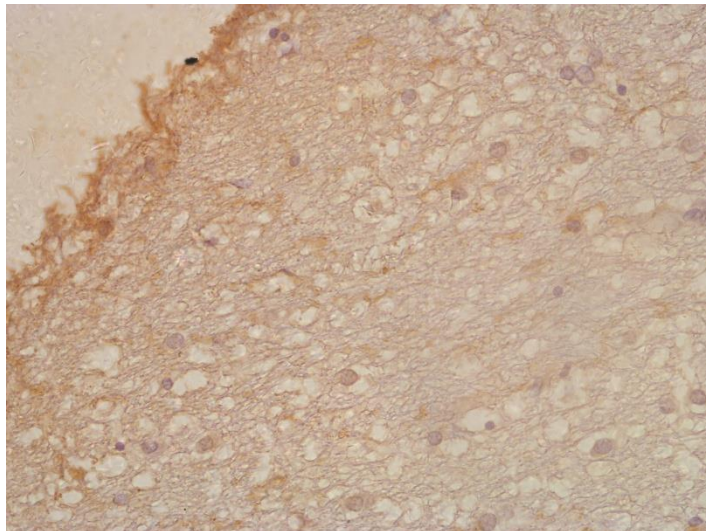
Slika 139. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 140. Korpus kalozum, genu.

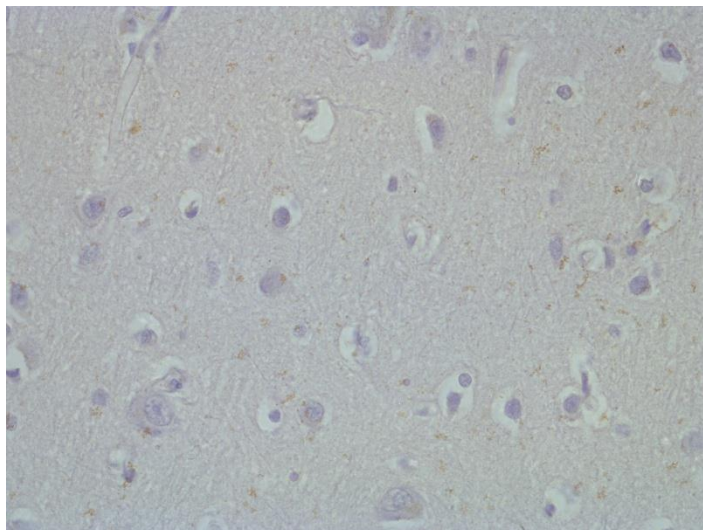


Slika 141. Korpus kalozum, splenium.

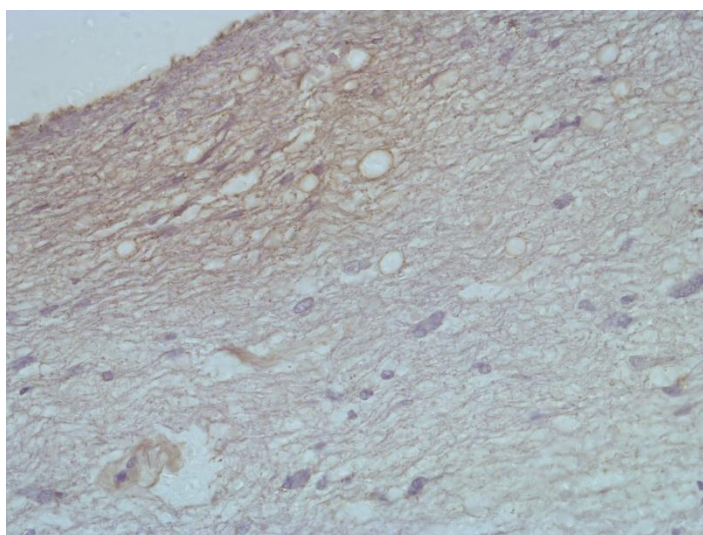


Slika 142. Pons, rostralni dio.

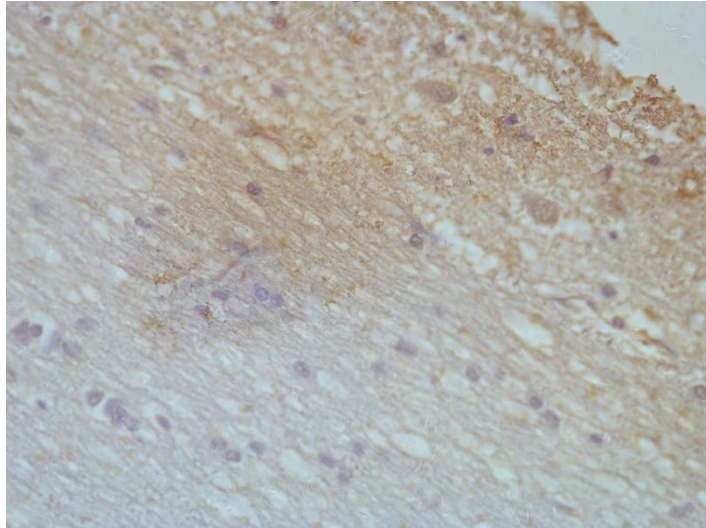
14. M/50, vozač. β APP imunobojenje, 40x.



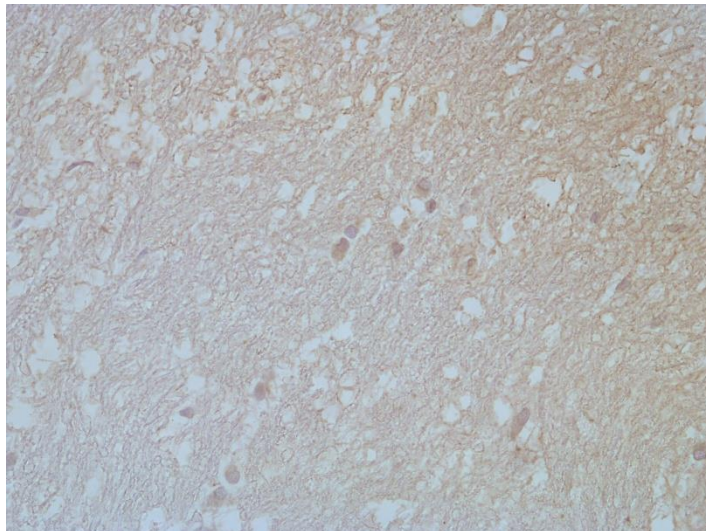
Slika 143. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 144. Korpus kalozum, genu.

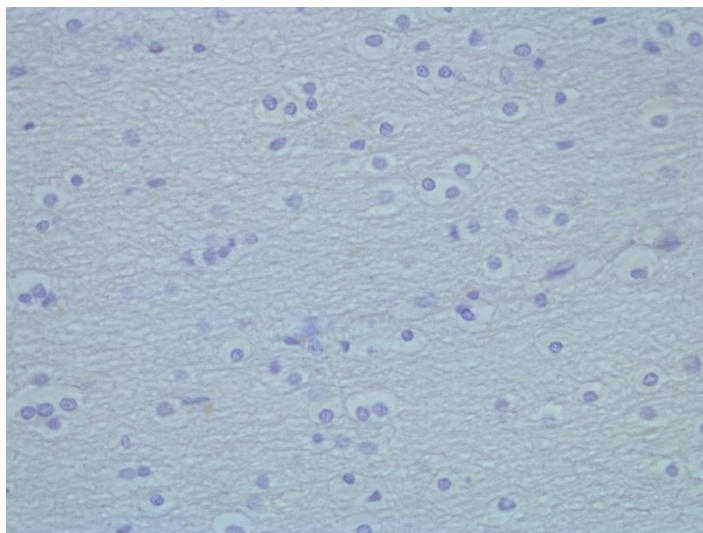


Slika 145. Korpus kalozum, splenium.

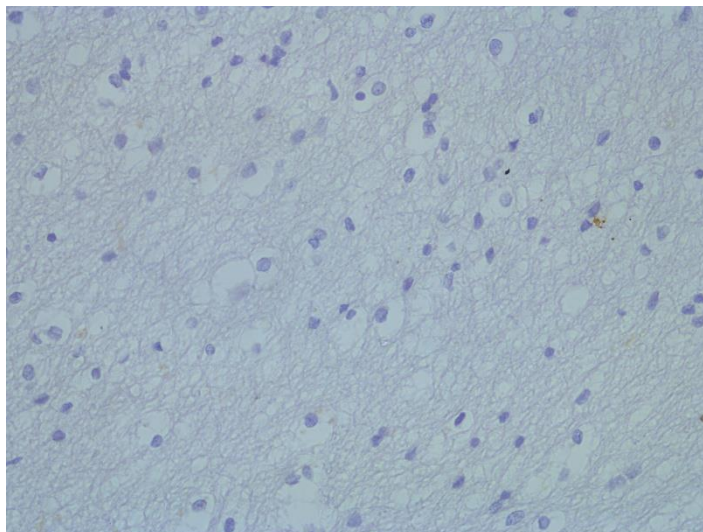


Slika 146. Pons, rostralni dio.

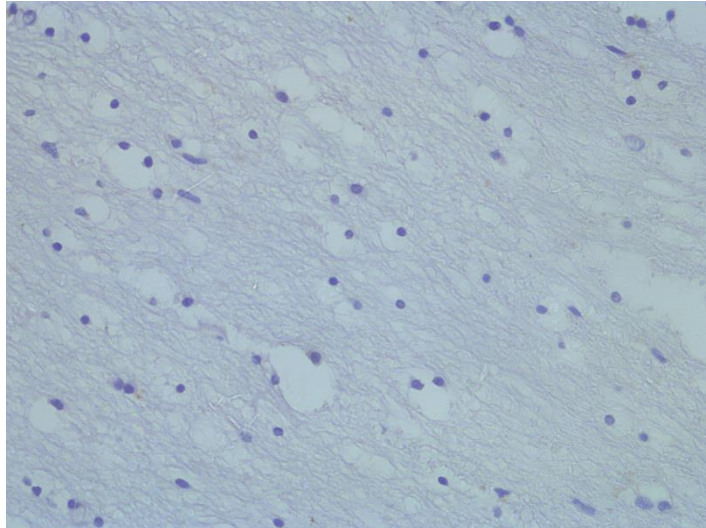
15. M/68, udarac u glavu. β APP imunobojenje, 40x.



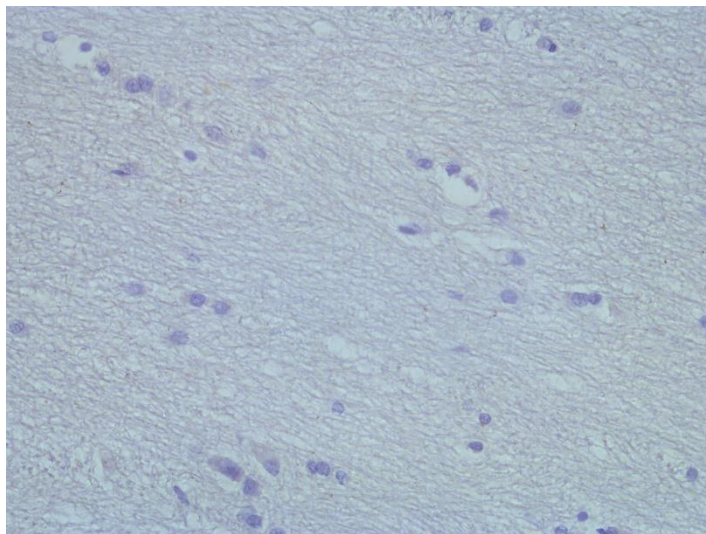
Slika 147. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 148. Korpus kalozum, genu.

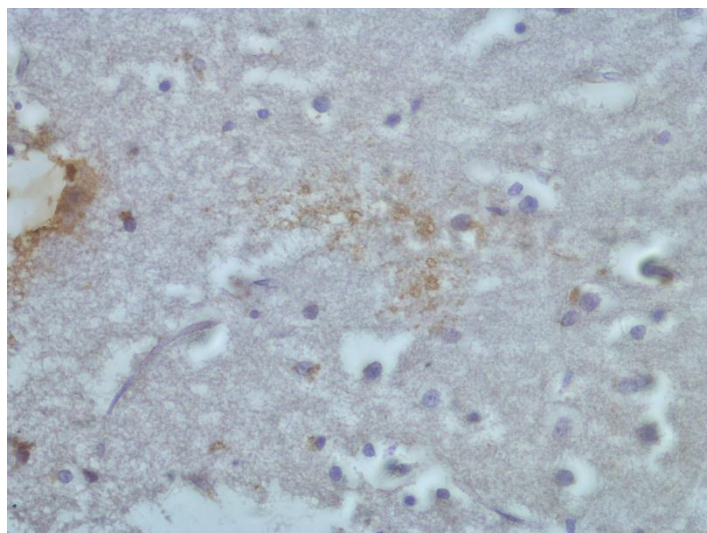


Slika 149. Korpus kalozum, splenium.

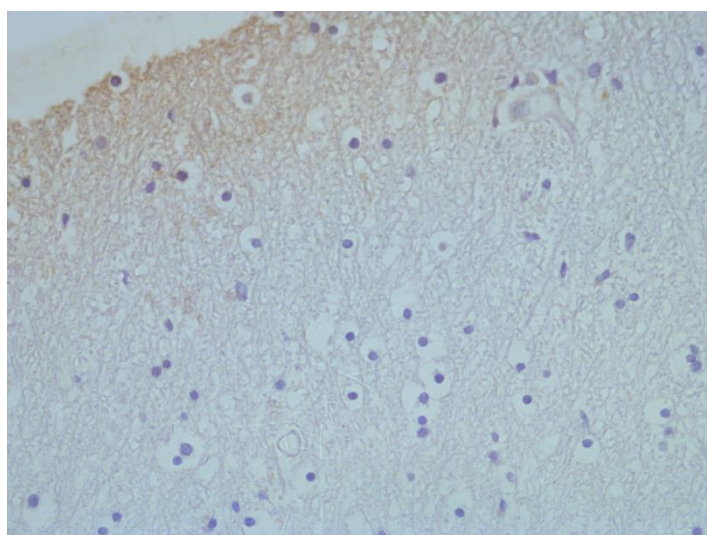


Slika 150. Pons, rostralni dio.

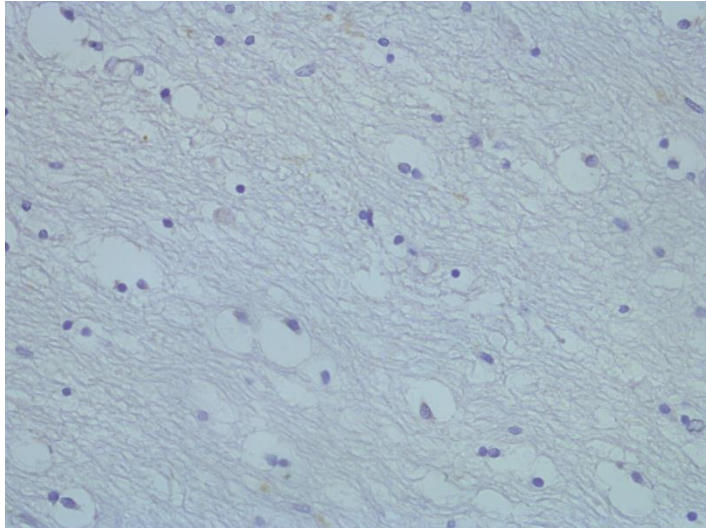
16. M/62, biciklista. β APP imunobojenje, 40x.



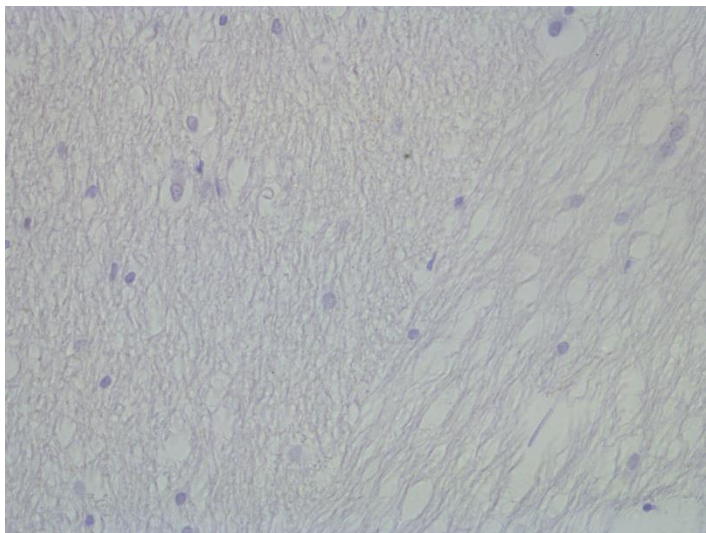
Slika 151. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 152. Korpus kalozum, genu.

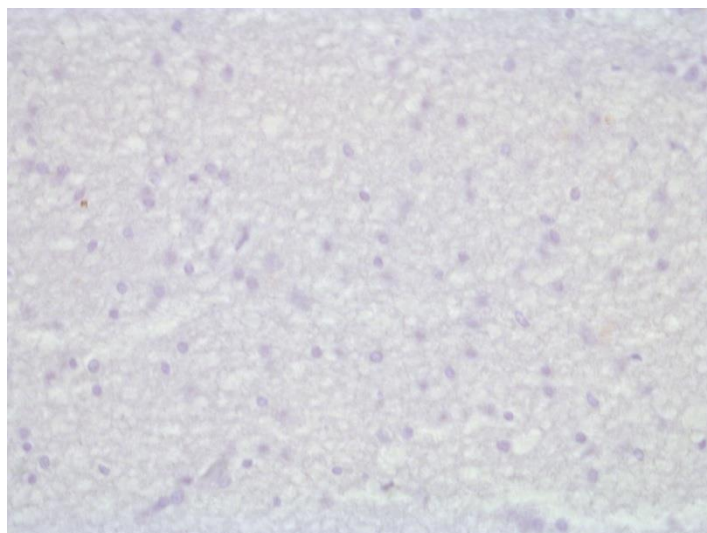


Slika 153. Korpus kalozum, splenium.

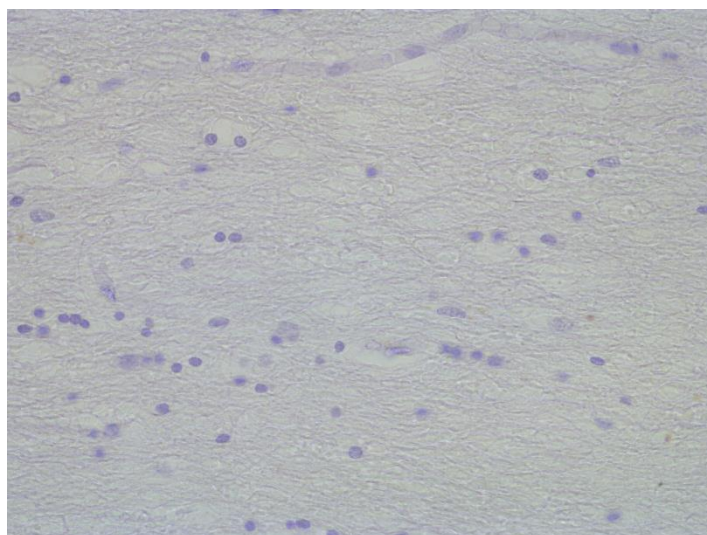


Slika 154. Pons, rostralni dio.

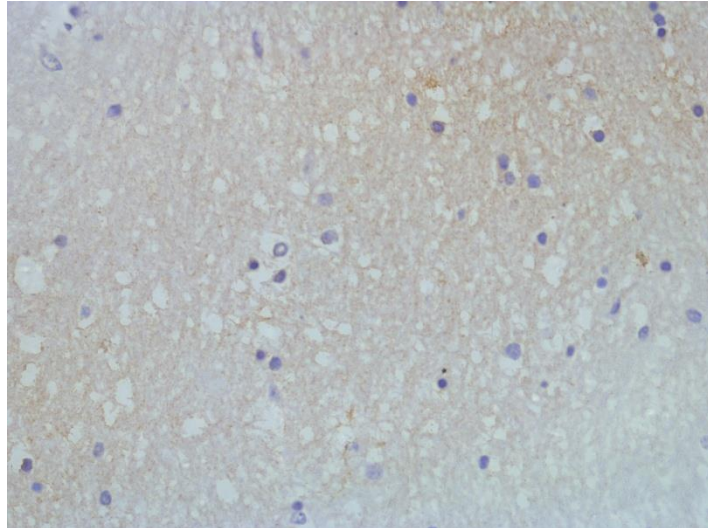
17. M/64, pješak. β APP imunobojenje, 40x.



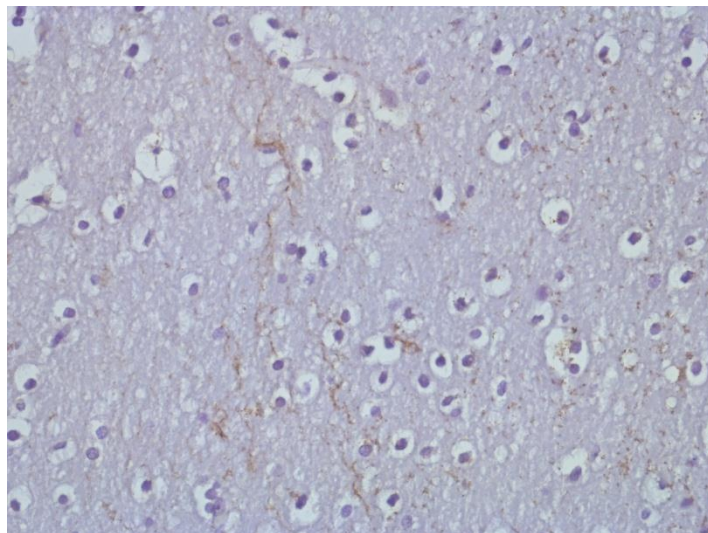
Slika 155. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 156. Korpus kalozum, genu.

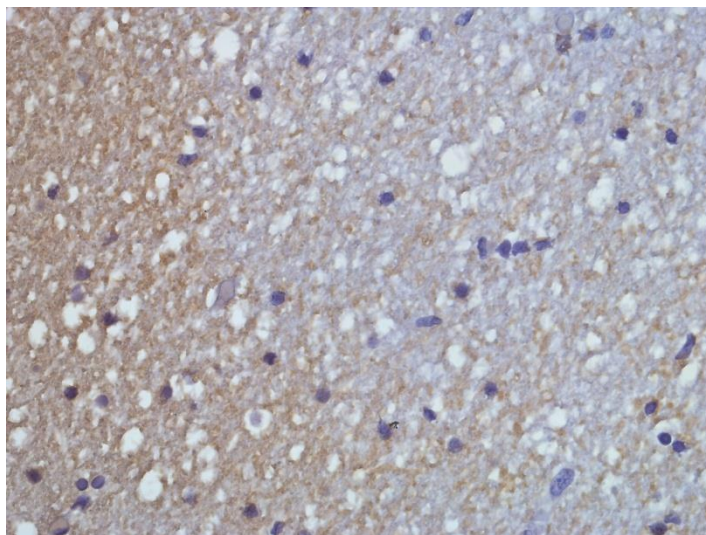


Slika 157. Korpus kalozum, splenium.

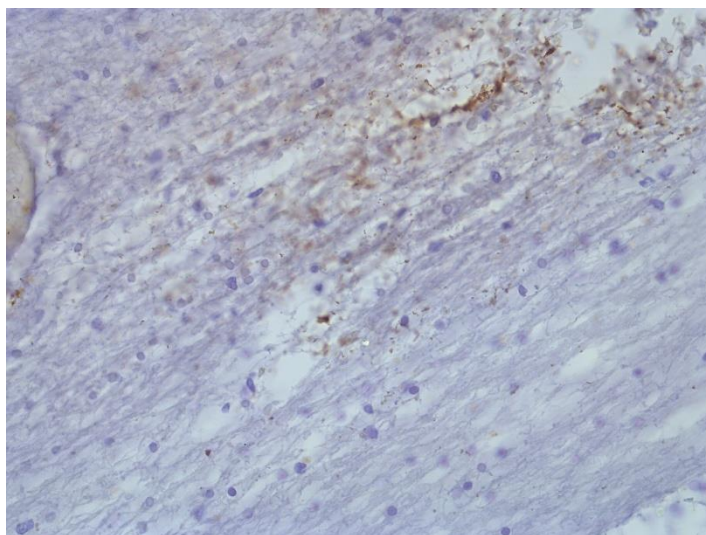


Slika 158. Pons, rostralni dio.

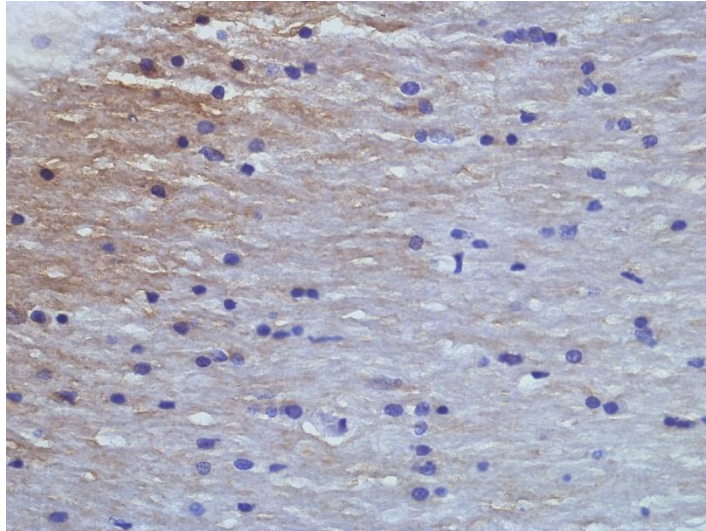
18. Ž/54, biciklista. β APP imunobojenje, 40x



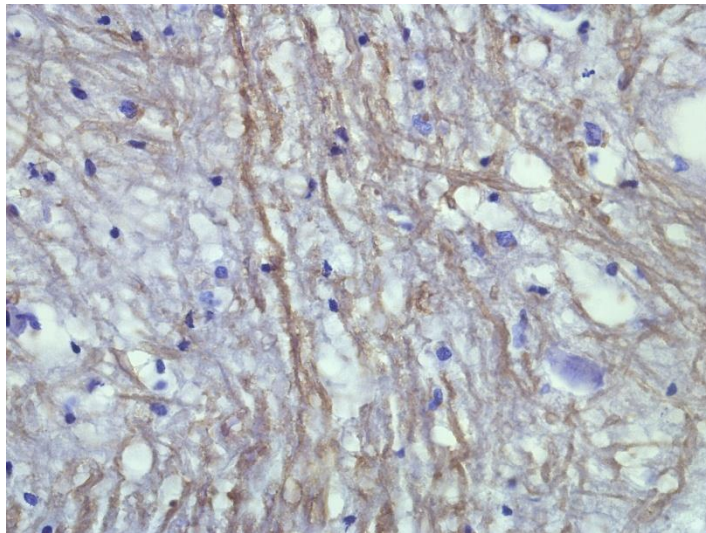
Slika 159. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 160. Korpus kalozum, genu.

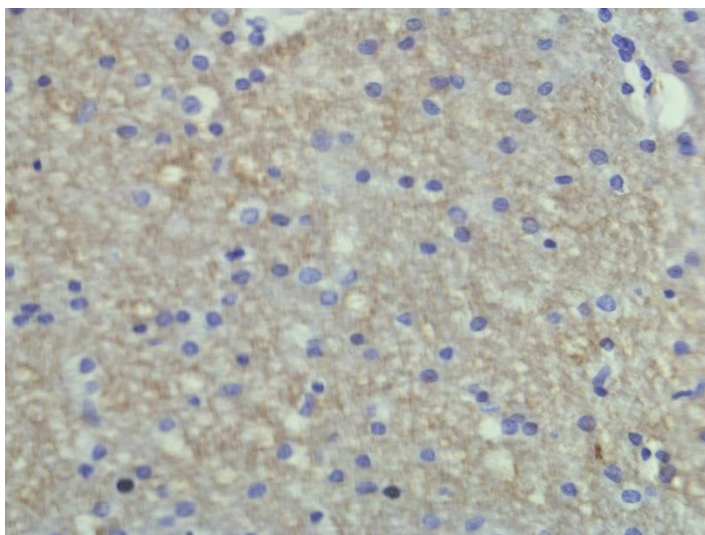


Slika 161. Korpus kalozum, splenium.

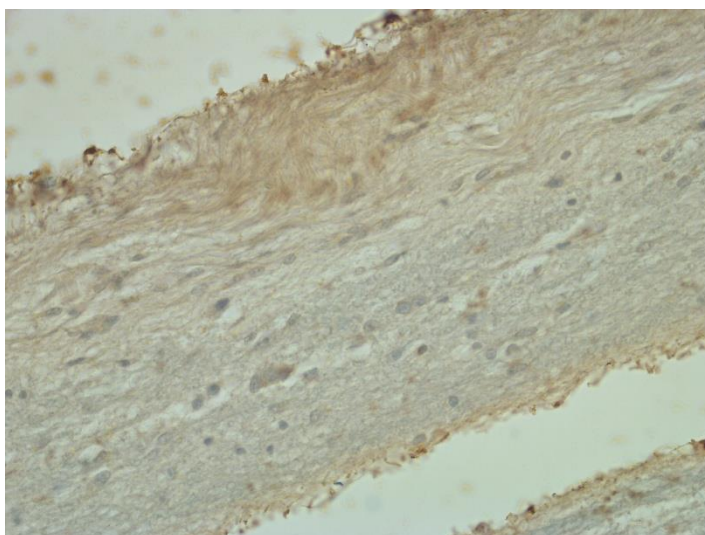


Slika 162. Pons, rostralni dio.

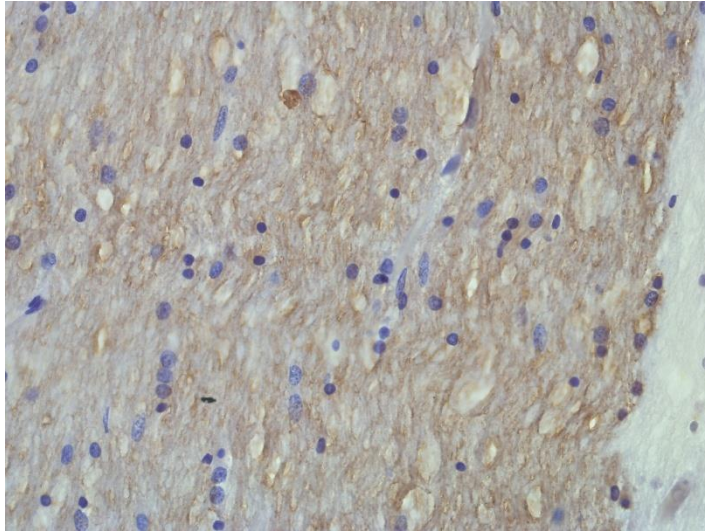
19. M/53, pješak. β APP imunobojenje, 40x.



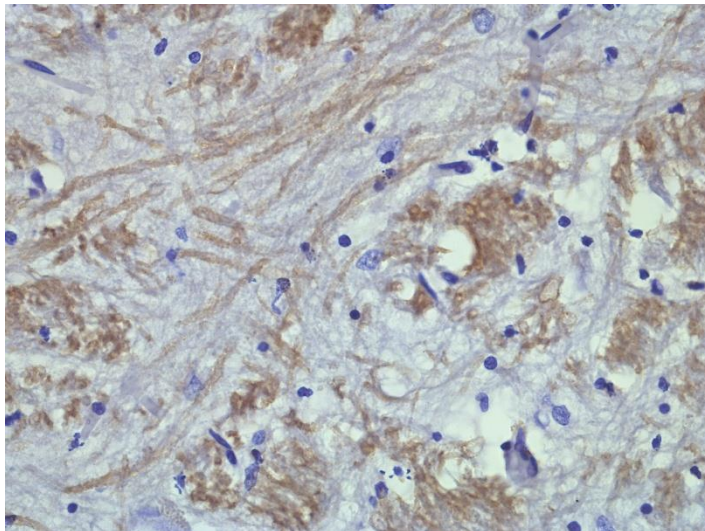
Slika 163. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja.



Slika 164. Korpus kalozum, genu.



Slika 165. Korpus kalozum, splenium.



Slika 166. Pons, rostralni dio.

4.6 Komparacija posmatranih grupa istraživanja

4.6.1. Osnovni demografski i podaci o mehanizmu povređivanja

Komparacijom demografskih podataka nije utvrđena statistički značajna razlika između posmatranih grupa, što se može vidjeti u Tabeli 19.

U grupi nadživljavanja < 2 sata bilo je 15 muških i dvoje ženskih nastradalih, u grupi nadživljavanja ≥ 2 sata 15 muških i četvero ženskih nastradalih. χ^2 test nije pokazao značajnu razliku u ovakvoj polnoj distribuciji ($p = 0,455$).

U grupi kraćeg nadživljavanja (< 2 sata) prosječna starost stradalih bila je 45,2 godine (SE 4,39), medijan 45 godina (SD 17,73) a raspon starosti kretao se između 19 i 81 godine. U grupi nadživljavanja ≥ 2 sata prosječna starost nastradalih bila je 53,4 godine (SE 4,25), medijan 54 godina (SD 18,52) a raspon starosti od 18 do 81 godine. Nije nađena statistički značajna razlika u ovakvoj starosnoj distribuciji posmatranih grupa (χ^2 test $p = 0,302$).

Tabela 19. Demografski podaci po posmatranim grupama

Demografski podaci	< 2 sata	≥ 2 sata	p
Pol;			
M/Ž	15/2	15/4	0,455 (0,640*)
Starosna dob (godine)			
prosjek,	45,2	53,4	
median (raspon)	45 (19-81)	54 (18-81)	0,302
18 – 29	5	2	
30 – 59	9	8	0,044*
60 +	3	9	
Mehanizam povređivanja			
vozači/putnici	7	5	
pješaci	4	6	
bi/motociklisti	4	4	0,372 (0,381*)
pad s visine	2	2	
udarac u glavu	0	2	

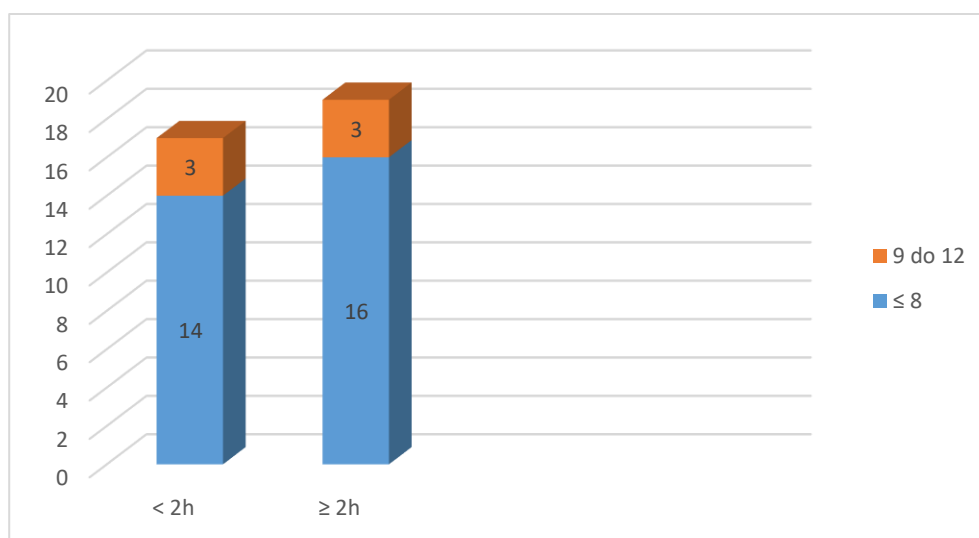
M/Ž – muški/ženski; p - χ^2 test, * Kruskal-Wallis

Statističku značajnost polne distribucije u funkciji vremena nadživljavanja nije potvrdio ni Kruskal-Wallis test ($p = 0,640$) kao ni Mann-Whitney U test ($p = 0,664$). Kruskal-Wallis test takođe nije potvrdio statističku značajnost po pitanju mehanizma povređivanja u kontekstu vremena nadživljavanja ($p = 0,381$).

Kada je u pitanju starosna distribucija, posmatrana u kategorijama, Kruskal-Wallis test potvrdio je statističku značajnost na samoj granici prihvatanja ($p = 0,044$), pri čemu su nastradali starosne dobi 18 do 29 godina kraće preživljavali u odnosu na starije kategorije.

4.6.2. Glazgovska skala kome

Vrijednosti GCS po posmatranim grupama prikazane su u Grafikonu 12 i upadljiva je dominantna zastupljenost teške kranio cerebralne povrede prezentovane kroz $GCS \leq 8$.



Grafikon 12. GCS po posmatranim grupama

Nije nađena statistički značajna razlika u vrijednosti GCS u zavisnosti od dužine nadživljavanja (χ^2 test $p = 0,881$; Mann-Whitney U test $p = 0,885$; Kruskal-Wallis test $p = 0,882$).

4.6.3. Pridružene kraniocerebralne povrede

Spoljna uočljive povrede glave bile su prisutne kod svih nastradalih, u obje grupe. Od ostalih povreda kraniocerebralne regije najčešće su bila prisutna HSD i SAH, zatim prelomi lobanjskih ili kostiju lica, intraventrikularna krvarenja. Epiduralna krvarenja nađena su u dva slučaja, oba u grupi koja je duže nadživljavala.

Statističkim poređenjem ovih varijabli između posmatranih grupa nađena je značajna razlika samo kod prisustva kontuzija moždanog tkiva, koje su bile značajno češće prisutne (14 kontuzija) u grupi koja je duže nadživljavala (χ^2 test $p = 0,003$; Kruskal-Wallis $p = 0,000$, Man Whitney U test $p = 0,000$), što prikazuje i Tabela 20.

Tabela 20. Pridružene kraniocerebralne povrede. Incidenca po grupama

Kraniocerebralne povrede	< 2 časa N (%)	≥ 2 časa N (%)	p χ^2
Spoljne povrede glave	17 (100)	19 (100)	0,766
Prelomi	13 (76,5)	15 (78,9)	0,323
HED	0 (0)	2 (10,5)	0,169
HSD	14 (82,3)	16 (84,2)	0,881
SAH	14 (82,3)	14 (73,7)	0,532
IVK	12 (70,6)	11 (57,9)	0,429
CC krvarenje	6 (35,3)	5 (26,3)	0,559
Pons krvarenje	3 (17,6)	1 (5,3)	0,238
Kontuzije	4 (23,5)	14 (73,7)	0,003
Petehijalna krvarenja	5 (29,4)	6 (31,6)	0,888

Kruskal-Wallis test potvrdio je visoko značajnu razliku samo po pitanju kontuzija moždane kore značajno češćih u grupi koja je duže nadživljavala, dok za ostale vrste kraniocerebralnih povreda nije utvrđena statistički značajna razlika (Tabela 21).

Tabela 21. Pridružene kraniocerebralne povrede u odnosu na dužinu nadživljavanja, Kruskal-Wallis.

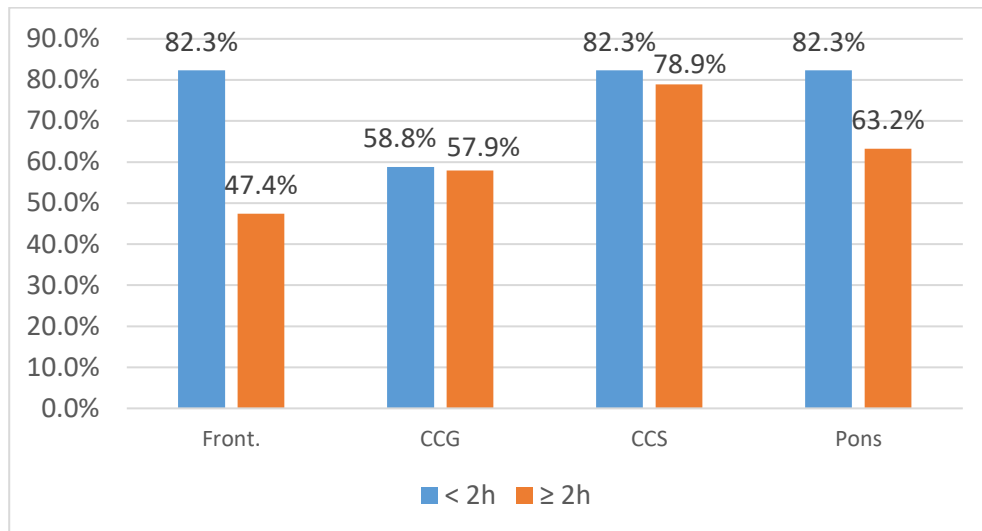
Kraniocebralne povrede	p
Spoljašnje povrede glave	0,606
Prelomi	0,545
HED	0,678 (0,714*)
HSD	0,308 (0,327*)
SAH	0,469 (0,489*)
SAH lokal.	0,979
IVK	0,668 (0,673*)
CC krvarenje	0,503 (0,520*)
Pons krvarenje	0,062 (0,065*)
Kontuzije	0,000 (0,000*)
TCM	0,547 (0,565*)

p - Kruskal-Wallis, * Mann Whitney U test

4.6.4. Traumatska cerebralna mikrokrvarenja u posmatranim grupama

Prisustvo traumatskih mikrokrvarenja u posmatranim regijama moždanog tkiva, po grupama, prikazuje Grafikon 13. U grupi kraćeg nadživljavanja najmanja učestalost ove vrste mikrokrvarenja registrovana je u frontalnoj bijeloj masi (47,4%), nešto češće u genu korpus kalozuma (57,9%), ponsu moždanog stabla (63,2%) i konačno najčešće prisutno u spleniumu korpus kalozuma (78,9%). U grupi koja je duže nadživjela traumatu distribucija traumatskih cerebralnih mikrokrvarenja u frontalnim partijama, zadnjem dijelu korpus kalozuma i ponsu bila je identična

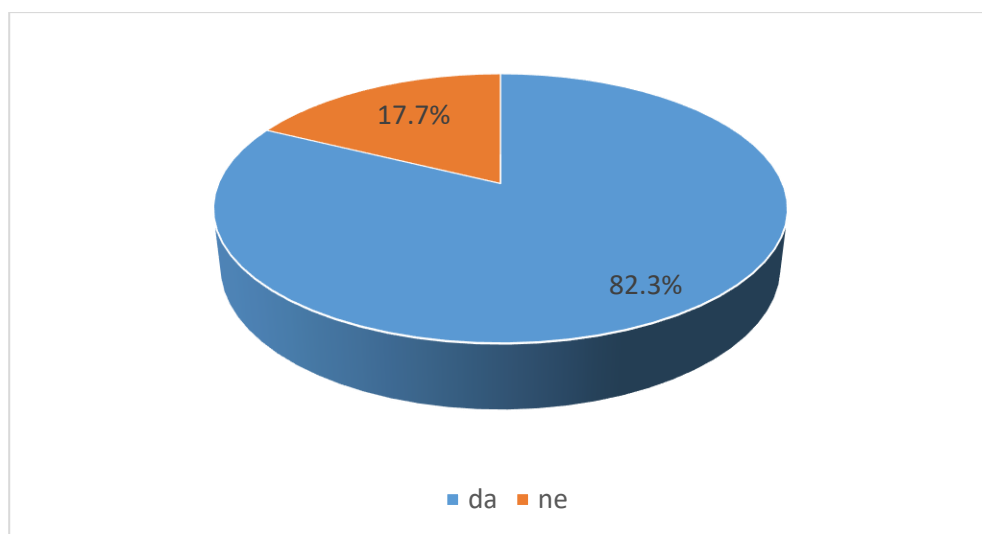
(82,3%) dok su u prednjem dijelu korpus kalozuma (genu) mikrokrvarenja konstatovana u 58,8% slučajeva.



Grafikon 13. Učestalost traumatskih cerebralnih mikrokrvarenja, po grupama

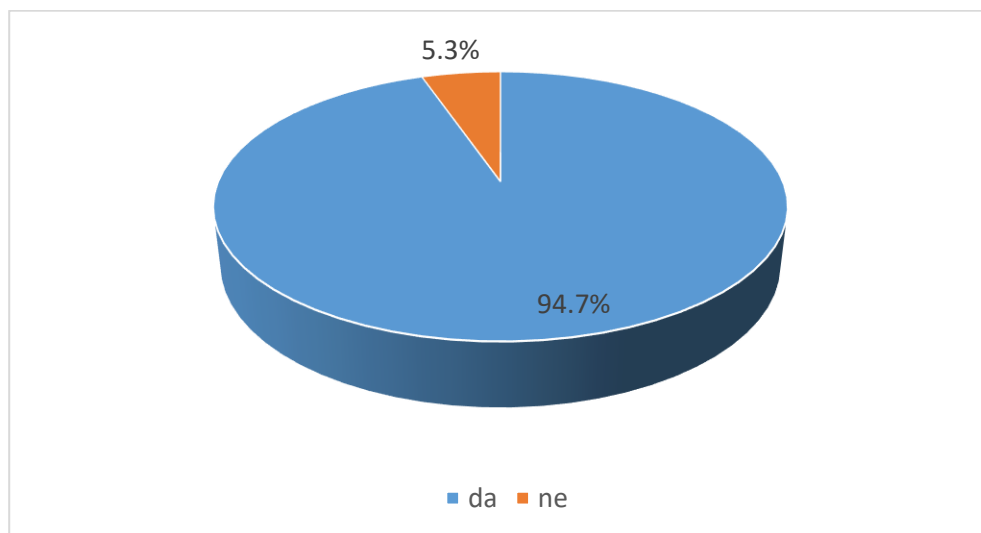
4.6.5. Aksonska lezija

U grupi < 2 sata nadživljavanja β APP imunobojenje bilo je pozitivno u 82,3 % nastradalih (Grafikon 14.).



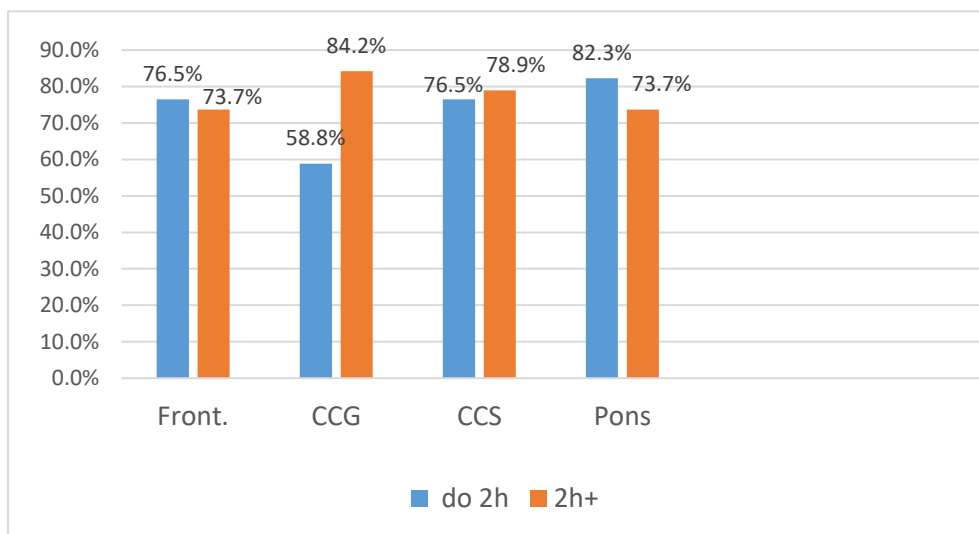
Grafikon 14. Aksonska lezija u grupi < 2 sata

U grupi koja je nadživljavala ≥ 2 sata β APP imunopozitivnost potvrđena je u 18 od 19 slučajeva ili 94,7% (Grafikon 15.).



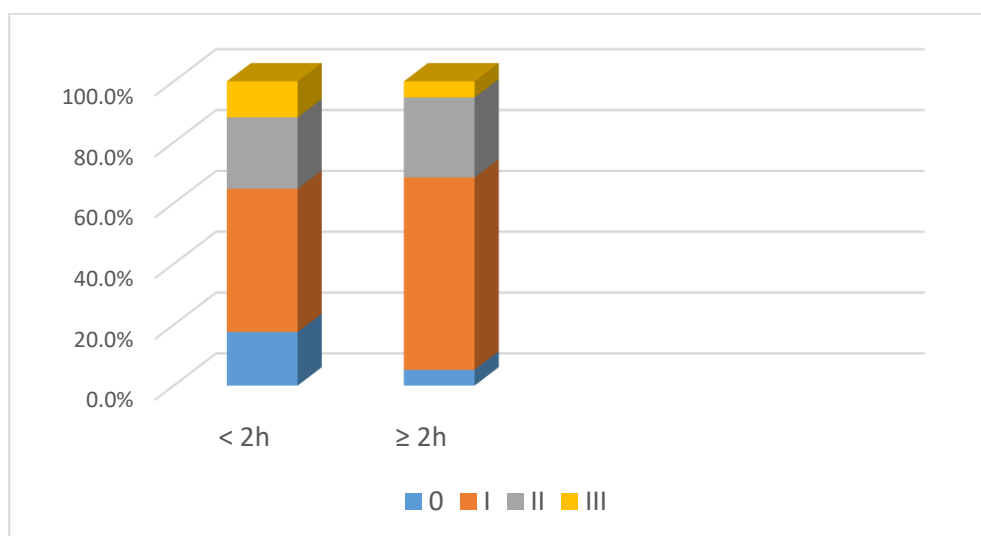
Grafikon 15. Aksonska lezija u grupi ≥ 2 sata

Prisustvo β APP imunopozitivnost kroz posmatrane lokalizacije moždanog tkiva po grupama, prikazano je u Grafikonu 16.



Grafikon 16. Prisustvo aksonske lezije u posmatranim regijama mozga, po grupama

Težina aksonske lezije, izražena Adamsom skalom, po posmatranim grupama, predstavljena je u Grafikonu 17., gdje se može vidjeti da u obje grupe dominiraju I i II stepen aksonske lezije po Adamsu. Nije potvrđena statistički značajna razlika u težini aksonske lezije, mjereno po Adamsu, kako χ^2 testom ($p=0,544$), tako ni Kruskal-Wallis testom ($p=0,079$).

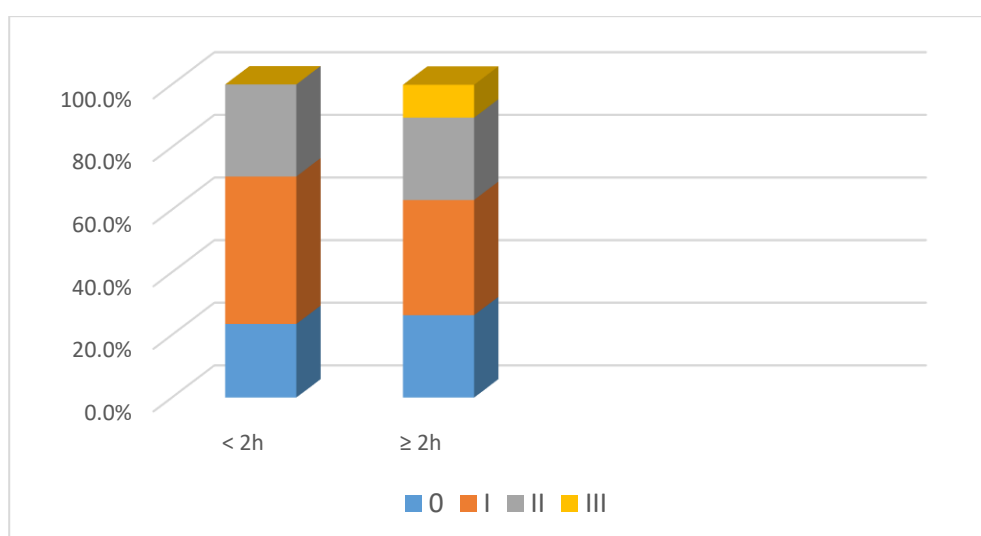


Grafikon 17. Težina aksonske lezije (Adams) po grupama

4.6.5.1. Parasagitalna bijela masa frontalnog režnja

U grupi umrlih < 2 sata ekspresija β APP imunopozitivnosti pripremljenih preparata iz parasagitalne regije frontalnih režnjeva potvrđena je u 76,5% a u grupi umrlih ≥ 2 sata u 73,7% slučajeva.

Komparacija intenziteta ekspresivnosti (po Gentleman-u) kroz ovu regiju mozga prikazana je u Grafikonu 18. Uočljiva je dominacija slabo pozitivne ekspresije i tipične pozitivnosti (76,5% u grupi < 2 sata i 63,1% u grupi ≥ 2 sata nadživljavanja).



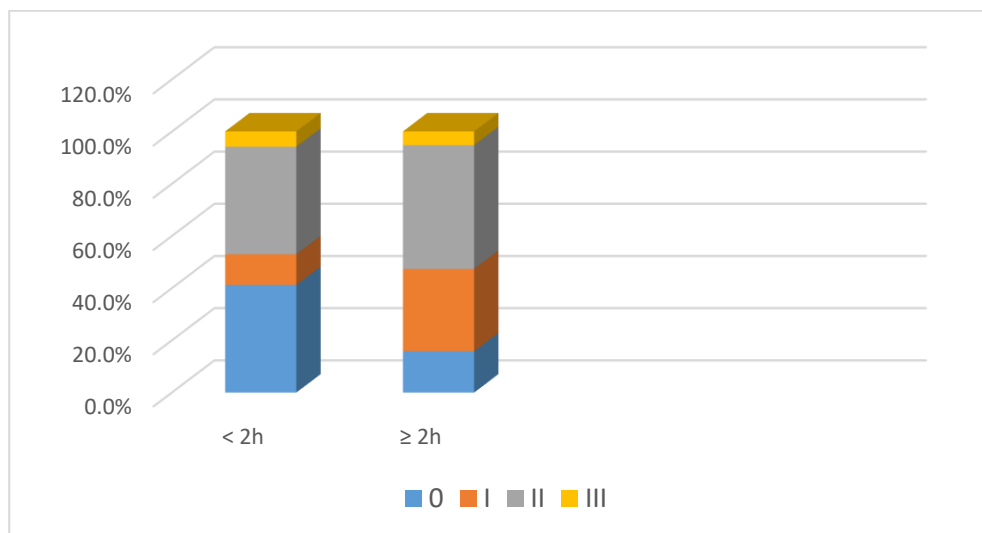
Grafikon 18. Intenzitet β APP imunopozitivnosti u parasagitalnoj bijeloj masi frontalnih režnjeva, po grupama

χ^2 testom nije potvrđena statistički značajna razlika u β APP ekspresivnosti između posmatranih grupa ($p = 0,557$), što vrijedi i za Kruskal-Wallis test ($p = 0,706$).

4.6.5.2. Korpus kalozum - genu

U grupi nadživljavanja < 2 sata β APP ekspresivnost u prednjim partijama korpus kalozuma nađena je u 58,8% imunobojenja. U grupi koja je nadživljavala ≥ 2 sata β APP ekspresivnost potvrđena je u 84,2% imunobojenja ove regije korpus kalozuma.

Komparacija intenziteta ekspresivnosti (po Gentleman-u) kroz prednje dijelove korpus kalozuma prikazana je u Grafikonu 19, koji takođe ukazuje na predominaciju slabe i tipične pozitivnosti (53,1% u grupi < 2 sata i 79,0% u grupi ≥ 2 sata nadživljavanja). U ovoj regiji mozga može se primjetiti visok procenat (41,2%) odsustva β APP imunopozitivnosti u grupi nadživljavanja ispod dva časa.



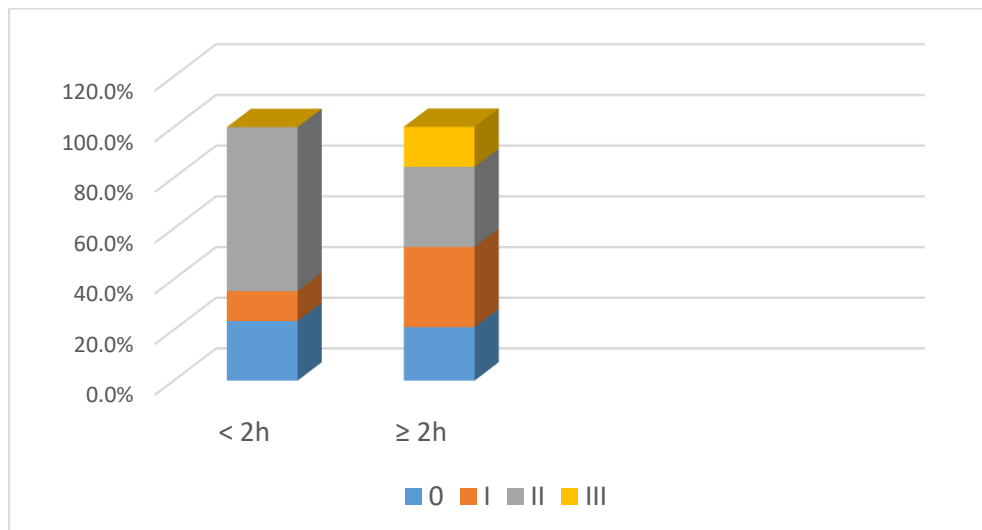
Grafikon19. Intenzitet β APP imunopozitivnosti u prednjem dijelu korpus kalozuma (genu), po grupama

Nije nađena značajna razlika u distribuciji i intezitetu β APP imunopozitivnosti ove regije korpus kalozuma u odnosu na dužinu nadživljavanja (χ^2 test $p = 0,290$, Kruskal-Wallis $p = 0,051$).

4.6.5.3. Korpus kalozum - splenium

U grupi nadživljavanja < 2 sata β APP ekspresivnost u zadnjim partijama korpus kalozuma nađena je u 76,5% imunobojenja. U grupi koja je nadživljavala ≥ 2 sata β APP ekspresivnost potvrđena je u 78,9% imunobojenja regije spleniuma korpus kalozuma.

Intenzitet β APP imunobojenja kroz splenium korpus kalozuma u posmatranim grupama prikazana je u Grafikonu 20. Slično prethodnim regijama i ovde dominiraju slaba i tipična pozitivnost (76,5% u grupi < 2 sata i 63,2% u grupi ≥ 2 sata nadživljavanja), uz upadljivo visok procenat tipične imunopozitivnosti (64,7%) u grupi koja je nadživljavala < 2 sata.



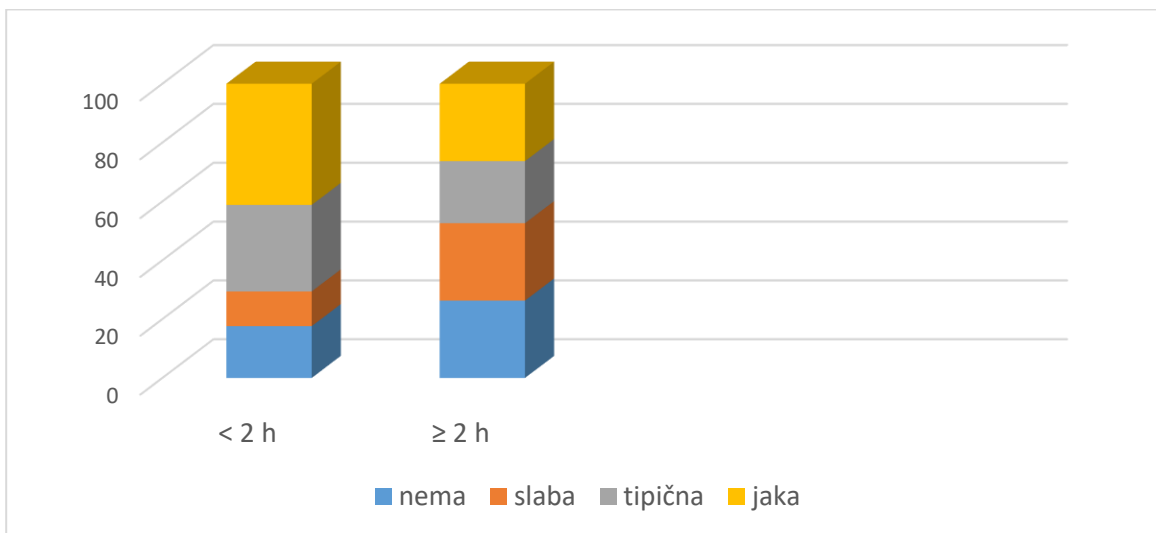
Grafikon 20. Intenzitet β APP imunopozitivnosti u spleniumu korpus kalozuma, po grupama

Nije nađena statistički značajna razlika u intenzitetu β APP imunopozitivnosti ove regije korpus kalozuma u odnosu na dužinu nadživljavanja (χ^2 test $p = 0,095$, Kruskal-Wallis $p = 0,283$).

4.6.5.4. Pons, rostralni dio

U grupi nadživljavanja < 2 sata β APP ekspresivnost u rostralnim regijama ponsa konstatovana je u 82,3 % imunobojenja. U grupi koja je nadživljavala ≥ 2 sata β APP ekspresivnost ove regije moždanog stabla potvrđena je u 73,7 % imunobojenja.

Intenzitet β APP imunobojenja kroz rostralnu regiju ponsa u posmatranim grupama prikazana je u Grafikonu 21. U ovoj regiji moždanog stabla upadljiva je učestalost jako izražene imunopozitivnosti (III stepen po Gentleman-u), koja u grupi nadživljavanja < 2 sata dostiže 41,2 %, dok u grupi koja je duže nadživljavala 26,3 % imunobojenja. U grupi kraćeg nadživljavanja kod 70,6 % nastradalih registrovan je visok stepen β APP imunopozitivnosti (tipična i jako izražena β APP ekspresija po Gentleman-u).



Grafikon 21. Intenzitet β APP imunopozitivnosti u rostralnom dijelu ponsa, po grupama

Nije nađena statistički značajna razlika u ekspresiji β APP imunopozitivnosti ove regije moždanog stabla u odnosu na dužinu nadživljavanja (χ^2 test $p = 0,547$, Kruskal-Wallis $p = 0,394$).

5. DISKUSIJA

Kraniocerebralne povrede glave vodeći su globalni uzrok smrtnosti i invaliditeta u starosnoj dobi do 45 godina - najvitalnijem i naproductivnijem dijelu populacije svakog društva [170]. Podaci na svjetskom nivou ukazuju na uvećanje incidence i prevalence kraniocerebralnih povreda, te posljedično procjenjenih godina života sa invaliditetom, pri čemu su saobraćajne nezgode i padovi najčešći uzroci povređivanja glave [171]. Prema istraživanju Petersona i saradnika u SAD kao najčešći mehanizam kraniocerebralne traume dominira samopovređivanje (32,5%), zatim slijede padovi (28,1%) i saobraćajne nezgode (18,7%), uz očekivano najveću smrtnost u starijoj populaciji [172]. U razvijenim zemljama zapadne Evrope primjetno je blago smanjivanje učestalosti kraniocerebralnih povreda u saobraćajnim nezgodama uz istovremen porast njihovog broja uzrokovanih padovima, što se pripisuje unapređenju bezbjednosti javnog saobraćaja uz ubrzano starenje stanovništva [173]. Rezultati ove studije potvrđuju ovakve tendencije po pitanju najčešćeg mehanizma nastanka kraniocerebralnih povreda, gdje su saobraćajne nezgode bile ubjedljivo dominantan način povređivanja, tačnije četiri od pet nastradalih je u saobraćaju. Mehanizam povređivanja preostalih bio je pad s visine ili udarac tupotvrdim sredstvom u glavu. Kada je u pitanju starosna distribucija posmatranog uzorka u našem istraživanju dvije trećine stradalih pripada radno aktivnoj populaciji, 18 - 60 godina starosti, što takođe potvrđuje značaj ove vrste traume i za nemedicinske, prije svega ekonomske i socijalne aspekte pojedinca, porodice i cijelog društva. Posebno upadljiva je višestruko veća zastupljenost muškog pola među stradalim (odnos muški/ženski 5:1). To je disproporcija veća od skorašnjih literaturnih navoda prema kojima muškarci 1,5 do tri puta češće zadobijaju povrede kraniocerebralne regije [174, 175], ali veoma bliska odnosu koji se spominje u nekim drugim istraživanjima [54, 176, 177, 178]. Nije zgoreg naglasiti da su sve nastradale žene iz ove studije, povređene u saobraćajnim nezgodama, što može ukazivati na saobraćaj kao potencijalno posebno rizične svakodnevnne situacije za odraslu žensku populaciju našeg podneblja. Ubjedljiva predominacija muškog pola u posmatranom uzorku naše studije mogla bi se objašnjavati opštim većim rizikom povređivanja muškaraca u društvu u kojem su oni izloženiji rizičnim aktivnostima kao što su teži teži fizički poslovi, ekstremnije sportske aktivnosti, sklonost ispoljavanju agresivnijih oblika ponašanja u socijalnim kontaktima kao i saobraćaju.

Za procjenu težine kraniocerebralnog povređivanja u našoj studiji poslužila je Glazgovska skala kome i prema njenim vrijednostima jasno je da je kod većine povređenih postojala teška

kraniocerebralna povreda, dok je samo manji broj (16,7%) zadobio srednje tešku povredu glave i lobanjskog sadržaja. Ovi rezultati su u skladu sa činjenicom da je predmet istraživanja bila kraniocerebralna povreda sa smrtnim ishodom, zbog čega u posmatranom uzorku nisu bile ni očekivane blage kraniocerebralne povrede sa vrijednostima GCS 13-15. Pored toga, ovako niske vrijednosti GCS govore u prilog opšteprihvaćenim stavovima da je promptni gubitak svijesti redovan pratilac difuzne aksonske lezije [179, 180]. U našoj studiji nađene vrijednosti GCS nisu pokazivale statistički značajnu razliku zavisno od dužine nadživljavanja ($p = 0,881$).

Prema našim rezultatima utvrđeno je da su nastradali starosne dobi 18 do 29 godina statistički značajno kraće nadživljavali povrede i umirali u prva dva dana od povređivanja, tačnije u vremenskom periodu do 43 časa ($p = 0,044$). Ovakvi, donekle iznenađujući rezultati vjerovatno bi objašnjenje mogli tražiti u težini kraniocerebralnog povređivanja a što bi eventualno indirektno ukazivalo i na veće mehaničke sile kojim je glava bila izložena, npr. usljed većih brzina kretanja u saobraćaju, odnosno agresivnijem i rizičnijem ponašanju u saobraćaju. Svakako bi veći i reprezentativniji uzorak nosio i veću dokaznu snagu u zaključivanju po ovom pitanju.

5.1. Pridružene kraniocerebralne povrede

Prisustvo i struktura pojedinih vrsta kraniocerebralnih povreda generalno je bila u skladu sa očekivanjima s obzirom na najčešći mehanizam povređivanja – saobraćajnu traumatologiju. Spoljašnje povrede kraniocerebralne i regije lica, u vidu ekzorijacija, hematoma, kontuzija ili lacero-kontuzionih rana bile su prisutne kod svih povređenih, što je opet lako razumljivo i očekivano, s obzirom na intenzitete mehaničkih sila kojima su nastradali bili izloženi te ozbiljnost zadobijenih povreda glave i lobanjskog sadržaja.

Njihova distribucija na glavi, koja bi mogla ukazivati na smjer djelovanja povredne sile (linearne, transverzalne ili rotacione sile) nije pokazivala statističku značajnost u smislu potvrđivanja stavova da rotacione povrede glave češće uzrokuju pojavu aksonske lezije. Ne može se reći da je to iznenađujuće u situaciji kada je istraživanje obavljeno u realnim uslovima, u kojima pravci djelovanja sila ipak najčešće nisu strogo definisani nego redovno uz jednu dominantnu vektorsku silu djeluju i sile drugih pravaca i smjerova. To rezultira složenim kretanjem glave u kojem pored translacionog kretanja obično postoji i određen stepen rotacije i obrnuo.

HSD je bio najčešći vid (83,3%) intrakranijalne povrede, odmah zatim SAH i prelomi lobanjskih i/ili kostiju lica (po 77,8%), potom IVK (63,9%) itd. Imajući u vidu da se istraživanje bavilo

akceleracijsko-deceleracijskim mehanizmima povređivanja glave, prvenstveno u saobraćajnoj traumatologiji ovo su sasvim očekivani rezultati, koji ne odudaraju od drugih sličnih istraživanja [181, 182, 183]. Prema odvojenim studijama Griswold i saradnika te Modi i saradnika, najčešći uzrok SAH-a je kranocerebralna trauma i ovaj vid intrakranijalnog krvarenja je uobičajen klinički nalaz u srednje teškim i teškim povredama glave, sa incidencom do 60% [184, 185]. U našoj studiji taj procenat je nešto veći (77,8%), što možda objašnjava činjenica da se nije radilo o solitarnim SAH nego najčešće kombinovanom sa IVK i drugim tipovima kombinovane kranocerebralne traume koja je rezultirala letalnim ishodom. Učestalost nađenih krvarenja u komorskom sistemu mozga (63,9%) u ovom istraživanju znatno je veća od 13,4% koliko su našli Hashimoto i saradnici u studiji na 329 pacijenata [186]. Skorašnja istraživanja navode značajno manju učestalost IVK. Li sa saradnicima u kliničkoj studiji na 5000 pacijenata našli su IVK u 2,98 % a Shibahashi i saradnici tek kod 0,7% pacijenata [187, 188]. Za ovako neobično čest nalaz IVK u našoj studiji objašnjenje bi se moglo tražiti u specifičnom uzorku koji su činili slučajevi sa najtežim, smrtonosnim povredama glave dok se u navedenim kliničkim studijama ipak radilo o pacijentima sa ne tako teškom kranocerebralnom traumom, uglavnom bez letalnog ishoda. Svi slučajevi IVK u ovoj studiji istovremeno su imali verifikovan i SAH. U produženom posttraumatskom periodu nadživljavanja bilo je dovoljno vremena da prisutna krv u subarahnoidalnom prostoru prodre u ventrikularni sistem.

Bilo je za očekivati manju učestalost HED u odnosu na HSD, što je u ovoj studiji potvrđeno. Samo dva slučaja (5,6%), oba uz istovremeno postojanje frakture krova i baze lobanje i oba u slučaju nadživljavanja dužeg od dva sata. Sličnu incidencu HED (5%) našao je Griffin sa saradnicima [189] na uzorku pacijenata sa teškom kranocerebralnom povredom, a Algahtany istražujući kranocerebralnu traumu u saobraćajnim nezgodama na uzorku preko hiljadu povređenih u Saudijskoj Arabiji ustanovio je učestalost HED od 7,86% [190].

Kontuzije moždane kore u ovoj studiji nađene su kod tačno polovine nastradalih, što je veoma blisko rezultatima Moe i saradnika (47%) u istraživanju srednje teške i teške kranocerebralne povrede u saobraćajnim nezgodama i padovima [116]. To je jedina vrsta pridružene kranocerebralne povrede u ovom istraživanju koja je pokazala statističku značajnost između posmatranih grupa ($p = 0,003$). Naime, u grupi nastradalih koji su nadživjeli duže od dva sata značajno češće je registrovano prisustvo cerebralnih kontuzija (73,7% vs 23,5%). Ekspanzija cerebralnih kontuzija u smislu uvećanja postojećih ili pojave novih kontuzionih žarišta često se dešava u posttraumatskom periodu i dobro je poznata u sudskomedicinskoj praksi. Upravo ova vrsta cerebralne traume primjer je tzv.

sekundarnih povreda koje se u posttraumatskom periodu razvijaju kao rezultat patofizioloških mehanizama iniciranih primarnom lezijom.

Prema rezultatima nekih skorašnjih istraživanja pojava novih kontuzija na moždanom tkivu može biti komplikacija dekompresivnih kraniektomija [191, 192, 193]. Nasi i saradnici potvrđuju ovu vezu i navode da bi sama neurohirurška manipulacija uklanjanja akutnog HSD na traumatizovanom moždanom tkivu mogla pokrenuti patofiziološke procese progresije postojećeg ili formiranja novog kontuzionog žarišta [194]. U ovoj studiji nije analizirana ova moguća veza jer nije u bliskoj vezi sa glavnom temom istraživanja a bavljenje ovim problemom metodološki bi značajno opteretilo samo istraživanje. Ako prihvatimo da je u posttraumatskom periodu dužem od dva časa svakako za očekivati više neurohirurških intervencija tipa dekompresivne kraniotomije nego u grupi onih koji su umrli u kratkom vremenskom periodu i nisu imali vremena stići do neurohirurškog stola, ovo objašnjenje ne bi se moglo isključiti. Ovakav nalaz ne bi trebalo posebno da iznenađuje ako se uzme u obzir poznata osobina cerebralnih kontuzija da se razvijaju u funkciji vremena i progrediraju u posttraumatskom periodu, najintenzivnije tokom prvih 24 časa od povređivanja, a sljedećih tri do četiri dana u manjem obimu [195, 196]. Na taj način, u početku minimalna kontuziona lezija vremenom se širi i vizuelno postaje lakše uočljiva. Važnu ulogu u ovom patofiziološkom procesu igraju lezija mikrovaskulature u kontuzovanoj regiji sa redukcijom cerebralne perfuzije, razvojem citotoksičnog a sa napredovanjem lezije i vazogenog edema i oslobađanje faktora transkripcije 1 i nuklearnog faktora kapa B [197, 198, 199].

Petehijalna krvarenja u bijeloj masi, makroskopski uočljiva krvarenja u korpus kalozumu i ponsu, rjeđe su verifikovana u uzorku ovog istraživanja, bez statistički značajne razlike u odnosu na vrijeme preživljavanja ($p = 0,888$; $p = 0,559$; $p = 0,238$)

Traumatski uzrokovane cerebralne mikrohemoragije bile su prisutne u 32 od ukupno 36 slučajeva (88,9%). Težina kranio cerebralnih povreda koje su sve rezultirale letalnim ishodom vjerovatno može djelimično objasniti ovako visok procenat ove vrste vaskularne lezije, mada je to i dalje više od rezultata koji se spominju u relevantnoj literaturi. U radiološkim kliničkim studijama koje ovu vrstu krvarenja poistovjećuju sa tzv. hemoragičnim oblikom aksonske lezije, cerebralna mikrokrvarenja koreliraju sa težinom traume glave i smatra se da su veoma česta u srednje teškim i teškim kranio cerebralnim povredama [189, 200, 201]. Griffin i saradnici u istraživanju koje je obuhvatalo i postmortalnu MRI sa naknadnom imunohistohemijskom analizom, traumom uzrokovane mikrohemoragije u moždanom parenhimu našli su kod 27% pacijenata sa blagom povredom glave, kod 47% pacijenata sa srednje teškom kranio cerebralnom povredom i u 58% onih

sa teškom povredom glave, uz naglašavanje korelacije prisustva mikrohemoragija u moždanom parenhimu sa lošijom prognozom oporavka i povećanim rizikom zaostajanja invaliditeta, kao i mišljenja da su cerebralne mikrohemoragije uobičajen MRI nalaz kod pacijenata sa teškom kraniocerebralnom traumom, a relativno često mogu se očekivati i kod blagih povreda glave [189]. Rizk i saradnici u novijem istraživanju našli su učestalost traumom uzrokovanih cerebralnih mikrohemoragija od 60%, što objašnjavaju velikim udjelom srednje teških i teških povreda glave u ukupnom uzorku [42], a u studiji Lawrence i saradnika incidenca mikrohemoragija iznosila je 46% [41]. Haller i saradnici su mišljenja da su ovi brojevi u stvarnosti znatno veći jer ni NMR dijagnostika kao ni postmortalne histološke tehnike nisu u mogućnosti otkriti sve mikrohemoragije razbacane kroz moždani parenhim [48]. Još uvijek ne postoje pouzdani dokazi u kojoj mjeri ova vrsta krvarenja utiče na prognozu kraniocerebralne povrede. Dok pojedine studije ukazuju na pozitivnu korelaciju između prisustva/broja traumom uzrokovanih mikrohemoragija u moždanom tkivu i lošije prognoze oporavka [189, 202, 203], druga istraživanja nisu našla sigurne dokaze za ovakvu vezu [50, 204, 205]. Rezultati skorašnjih istraživanja govore u prilog tome da lokalizacija traumatskih mikrokrvarenja u moždanom parenhimu igra važniju ulogu u predikciji ishoda povrede [50, 159, 205, 206]. Sve je više dokaza da sa starenjem lakše nastaju cerebralna mikrokrvarenja i kod manje teških kraniocerebralnih povreda [207, 208]. Starenjem se gubi kolagen i elastin u zidovima krvnih sudova, ponestaje vazoprotektivnog hormona insulinu sličnog faktora rasta (IGF-1) u cirkulaciji, čime se potencira fragilnost mikrovaskulature i olakšava nastanak traumatskih cerebralnih mikrohemoragija [207, 209, 210]. U našoj studiji na teškim kraniocerebralnim povredama može se reći da su cerebralne mikrohemoragije bile veoma česte ili uobičajene a rezultati su pokazali nešto veću zastupljenost ovih mikrohemoragija u spleniumu korpus kalozuma (80,6%) i ponsu (72,2%) u odnosu na prednje regije (u frontalnoj bijeloj masi 63,9% i genu korpus kalozuma 58,3%), što opet odgovara činjenici da se radilo o praktično najtežim povredama lobanjskog sadržaja, uzrokovanim posebno velikim silama karakterističnim za saobraćajnu traumatologiju, padove s visine i sl. Odavno je poznato da su središnje strukture mozga bolje zaštićene od perifernih regija, pošto magnituda sila smicanja koje djeluju na mozak ima centripetalni smjer, pa stepen deformacije i oštećenja moždanog parenhima raste od centra ka periferiji [211]. Stoga samo veoma jake sile akceleracije/deceleracije ili rotacije uzrokuju lezije ovih duboko položenih struktura mezencefalona i diencefalona, sa veoma lošim prognozama oporavka [107, 180, 212].

5.2. Aksonska lezija

Zbog veličine i relativne težine u odnosu na tijelo, ljudski mozak pokazuje posebnu vulnerabilnost na akceleracijsko-deceleracijske mehanizme povređivanja. Još od polovine prošlog vijeka i radova Holbourn-a [70], Strich [71], Rand-a [72] prepoznat je značaj aksonske lezije u kranocerebralnoj traumatologiji. Od tada se mnogo učinilo na upoznavanju mehanizma nastanka ove vrste cerebralne lezije i njenih konsekvenci i dalje se ulažu posebni napori u pronalaženju što uspješnijih terapijskih modaliteta. Danas je opštepoznato da je difuzna aksonska lezija među vodećim uzrocima smrtnosti i trajnog invaliditeta širom svijeta [213]. Sa upoznavanjem mehanizma nastanka aksonske lezije uočen je i njen ogroman forenzički značaj a naučni i tehnološki napredak poslednjih decenija omogućio je moćniju dijagnostiku i efikasnije dokazivanje ove vrste kranocerebralne povrede. Adams i saradnici u istraživanjima s kraja 80-tih godina prošlog vijeka našli su aksonsku leziju u 29% tupih povreda glave, dok Vieira i saradnici u skorašnjem sistematskom pregledu radova koji se bave svim vrstama kranocerebralnog povređivanja navode incidencu DAL-a od 33%, uz mišljenje da su stvarne brojke ipak veće jer DAL je često kamufliran drugim vrstama neurotraume ili teškim hipoksijskim poremećajima [54, 76]. Ova pretpostavka potcjenjivanja incidence aksonske lezije posebno važi za Adamsova istraživanja obavljena bojenjima pomoću H&E, Luxol fast blue i bojenjem na srebro, bez pomoći senzitivnijih i mnogo efikasnijih imunohistohemijskih metoda [214, 215]. Davceva i saradnici u studiji na respektabilnom uzorku od 63 slučaja, traumatsku aksonsku leziju utvrdili su u 47,6% stradalih, takođe najčešće u saobraćajnoj traumatologiji [216]. Moen i saradnici aksonsku leziju našli su u 69% srednje teških i u 89% teških kranocerebralnih povreda [158]. U studiji Skandsena i saradnika navodi se mišljenje da u slučajevima teških trauma mozga skoro uvijek postoji neki oblik difuzne aksonske lezije [109], dok Gentleman i saradnici iznose rezultate prema kojima je aksonska lezija na autopsijskom materijalu prisutna u 100% slučajeva teške traume glave sa $GCS \leq 8$ [124]. Slične rezultate navodi i Finnie kada tvrdi da je aksonska lezija prisutna u 90% slučajeva zatvorene povrede glave [217]. U istraživanju Vieira i saradnika iznosi se mišljenje da prava incidenca DAL nažalost i dalje ostaje nepoznata. Postoje grube procjene da 10% pacijenata primljenih u bolnicu sa kranocerebralnom povredom imaju neki oblik DAL-a a da mortalitet ovih pacijenata iznosi oko 10%. Takođe naglašavaju da bi ove brojke mogle biti veće iz razloga što mnogi pacijenti sa različitim intrakranijalnim krvarenjima i drugim formama kranocerebralne povrede ne podliježu minucioznoj dijagnostičkoj obradi u svrhu dokazivanja DAL-a [156]. Na materijalu našeg postmortalnog istraživanja traume glave u akceleracijsko-deceleracijskim mehanizmima povređivanja, DAL je dokazan u 88,9% slučajeva, što je u bliskom odnosu sa nekim od gore izloženih stavova o učestalosti aksonske lezije kod tupe

povrede glave i lobanjskog sadržaja, te potvrđuje tezu da je aksonska lezija skoro pa redovan patomorfološki entitet kod teških povreda glave akceleracijsko-deceleracijskog tipa. Uspješno potvrđivanje aksonske lezije u ovako visokom procentu vjerovatno je rezultat postmortalnog istraživanja pažljivo odabranih slučajeva određenog tipa povrede glave i lobanjskog sadržaja primjenom optimalne dijagnostičke imunohistohemijske metode a što je teško ostvarivo u kliničkim studijama, čak i sa najsavremenijim raspoloživim radiološkim NMR tehnikama.

Kada je u pitanju uticaj vrste akceleracijsko-deceleracijskog mehanizma kranocerebralnog povređivanja na ispoljavanje aksonske lezije, rezultati ovog istraživanja ne ukazuju na upadljive veze sa specifičnim načinom povređivanja ali mogu se porediti sa studijom Davceve i saradnika koji primjećuju da se aksonska lezija „tipično javlja“ kod stradalih putnika u vozilima i padovima s visine, dok je pad iz stojećeg stava i udarac tupotvrđim predmetom u glavu češće uzrokovao akutno subduralno krvarenje [87]. Slično, u radu Moe i saradnika kao najčešći mehanizam povređivanja koji rezultira težim stepenima DAL-a navodi se saobraćajna traumatologija a kao posebno vulnerabilna grupa izdvajaju se pješaci sa najčešće verifikovanim i najtežim oblicima aksonske lezije. Iza njih slijede vozači i putnici u automobilima, zatim padovi na skijanju i padovi s visine. Potom autori zaključuju da saobraćajna traumatologija predstavlja poseban rizikofaktor nastanka aksonske lezije, što objašnjavaju intenzitetom povrednih mehaničkih sila kojima je glava izložena u ovoj vrsti traume [116]. U svakom slučaju, ubjedljiva zastupljenost saobraćajne traumatologije u uzorku ovog istraživanja potvrđuje uvriježene stavove prema kojima je saobraćajni traumatizam jedan od najčešćih akceleracijsko/deceleracijskih mehanizama traume glave i može se posmatrati kao rizikofaktor nastanka aksonske lezije u savremenom načinu života.

5.2.1. Lokalizacija i težina aksonske lezije

Aksonska lezija je diseminovan proces, razbacan širom bijele mase CNS-a ali ipak sa tendencijom koncentrisanja aksonskih oštećenja u parasagitalnoj bijeloj masi i granici siva-bijela masa velikomoždanih hemisfera, korpus kalozumu, moždanom stablu (ponsu), te bijeloj masi cerebeluma, kako su definisali Adams i saradnici još 80-tih godina prošlog vijeka [75, 76]. Istraživanja koja su uslijedila u narednim godinama i decenijama potvrdila su ovakvu distribuciju uz prepoznavanje još nekih uglavnom parasagitalno smještenih struktura, posebno vulnerabilnih na ovu vrstu aksonskih oštećenja, kao što su kapsula interna, talamus, fornix, gornji cerebelarni

pedunkuli, kičmena moždina [77, 99]. Jolly i saradnici u kliničkoj studiji provedenoj pomoću naprednih tehnologija magnetne rezonance (DTI NMR) kao posebno interesantne lokalizacije analizirali su korpus kalozum, kortikospinalni trakt, kapsulu internu, fasciculus longitudinalis inferior, pedunculus cerebellaris medius, nakon čega zaključuju da je lokalizacija aksonske lezije veoma varijabilna, skoro redovno široko rasprostranjena kroz moždano tkivo kod srednje teških i teških kranio cerebralnih povreda ali da je neophodan prilagođeni individualni pristup u radiološkom istraživanju ove vrste traume [176].

U ovom istraživanju analizirane četiri lokalizacije moždanog tkiva koje se smatraju predilekcionim mjestima pojave traumatske aksonske lezije pokazale su njenu prilično ravnomjernu distribuciju kroz ove parasagitalne strukture, u rasponu od 72,2% do 77,8%. Uočena je nešto češća prisutnost u zadnjim aspektima moždanog tkiva (splenium korpus kalozuma i ponsu moždanog stabla), ipak bez statističke značajnosti. Ovakav raspored sa blagom prevagom u zadnjim partijama mozga ne odudara od rezultata kako starijih studija [78, 105] koji takođe navode korpus kalozum i pons kao najčešće lokalizacije aksonske lezije kod težih kranio cerebralnih povreda, tako i skorašnjih istraživanja savremenim radiološkim tehnikama [99, 218]. Sandhu i saradnici u studiji iz 2019. godine potvrđuju značaj aksonske lezije u ponsu na nepovoljan neurološki oporavak i ishod liječenja [219]. Dobijeni rezultati naše studije ne bi trebalo da iznenađuju s obzirom da se radilo o fatalnim kranio cerebralnim povredama a vitalne moždinske strukture upravo su smještene blisko ili upravo u ovim područjima mozga. Tu se prije svega misli na moždano stablo sa pansom kao njegovim integralnim dijelom te susjednu regiju diencefalona.

Osim što je registrovana nešto veća učestalost pojave aksonske lezije u zadnjim aspektima korpus kalozuma i ponsu, intenzivnija je ekspresija β APP-a u ovim regijama mozga. Naime, za mjerenje intenziteta aksonske lezije prezentovane kroz β APP imunoekspresivnost u ovoj vrsti istraživanja kao optimalna najčešće se upotrebljava semikvantitativna metoda po Gentleman-u [124], što je bio slučaj i u ovom istraživanju. Dobijeni rezultati ukazuju na jačanje intenziteta aksonske lezije u smjeru od prednjih ka zadnjim aspektima mozga; spleniumu korpus kalozuma i ponsu. Dakle zadnje partije korpus kalozuma i pons su češće i jače zahvaćeni ovom vrstom cerebralne lezije, ipak bez statističke značajnosti nađenih razlika. Ovakav nalaz samo potvrđuje gore izneseno mišljenje da je distribucija kao i težina aksonske lezije u posmatranom uzorku u skladu sa težinom kranio cerebralnog povređivanja i konačnim fatalnim ishodom povređenih.

Uočena pozitivna korelacija između jačine aksonske lezije bijele mase frontalnih režnjeva i prednjih partija korpus kalozuma, odnosno spleniuma korpus kalozuma i rostralnih partija ponsa može biti

rezultat relativno bliskog međusobnog odnosa i lokalizacija ovih moždanih struktura, zbog čega bi one bile izložene približno sličnim intenzitetima i vektorima sila smicanja i istezanja. Naravno, za smjeliju tvrdnju u ovom pravcu neophodna su dalja istraživanja, prije svega na većim uzorcima i sa strožije kontrolisanim uslovima djelovanja mehaničke sile na moždano tkivo.

U patohistološkoj procjeni težine DAL-a u literaturi egzistira i danas je opšteprihvaćena Adamsova klasifikacija [75], koja je stoga upotrebljena i u ovom istraživanju. S obzirom na težinu kranocerebralnog povređivanja u izabranom uzorku, sa smrtnim ishodom, očekivan je veći broj težih oblika DAL-a, sa težom gradacijom po Adamsu koja se ogleda u II i III stepenu. Kod četiri petine (80,6%) stradalih konstatovan je I i II stepen DAL po Adamsu, samo u tri slučaja radilo se o najtežem III stepenu. Najlogičnije objašnjenje ovakvih rezultata moglo bi biti redovno prisustvo pridruženih drugih tipova kranocerebralnih povreda (prije svega intrakranijalna krvarenja i kontuzije) koji su dodatno pogoršavali opšte stanje i šanse za povoljniji ishod. Težina DAL-a utvrđena po Adamsovoj klasifikaciji nije se mogla dovesti u određenu vezu sa polom, starosnom dobi ili mehanizmom povređivanja ($p = 0,675$; $p = 0,228$, $p = 0,319$), što je u skladu sa rezultatima drugih sličnih istraživanja [75 – 77, 82, 177].

Kada se posmatra odnos aksonske lezije u analiziranim regijama moždanog tkiva sa mehanizmom povređivanja, ovo istraživanje nije našlo statistički značajnu razliku, osim u pogledu izražene β APP ekspresivnost u frontalnoj bijeloj masi gdje je stepen vjerovatnoće ($p = 0,050$) na samoj granici nivoa značajnosti a ukazuje na nešto veću zastupljenost i jaču β APP ekspresivnost u saobraćajnim nezgodama, koje su inače dominantan mehanizam povređivanja u ovoj studiji. S obzirom na veličinu uzorka smatramo da ova značajnost nije reprezentativna i bezrezervno prihvatljiva, te zahtjeva dalja istraživanja i provjere.

Uticaj starosne dobi na ispoljavanje aksonske lezije u ovom istraživanju nije dokazan. Tek kada se starosna dob grupiše (18-29; 30-59 i 60+ godina) nađena je određena korelacija starosne dobi sa pojavom β APP ekspresivnosti u zadnjim aspektima korpus kalozuma, u smislu nešto manjeg rizika mlađe populacije (18 do 29 godina starosti) za razvoj aksonske lezije u spleniumu korpus kalozuma. Kako je ovo izolovan slučaj u analiziranim regijama mozga, a imajući u vidu veličinu uzorka, teško je donositi zaključke o njegovoj eventualnoj relevantnosti bez opsežnijih istraživanja.

5.2.2. Odnos aksonske lezije i drugih vrsta kraniocerebralne traume

U situacijama teških kraniocerebralnih povreda veoma često se sreće polimorfna patomorfologija; frakture lobanjskih kostiju, intrakranijalna krvarenja, fokalne ozljede moždanog tkiva uz pridružene difuzne lezije među kojima je veoma česta i aksonska lezija. U ovim slučajevima veoma je teško, najčešće i nemoguće razgraničiti razmjere uticaja aksonske lezije na konačni ishod povređivanja od uticaja ostalih prisutnih intrakranijalnih lezija. Dosadašnja brojna istraživanja iz oblasti neurotraume nisu utvrdila pouzdanu vezu između pojave aksonskih oštećenja i drugih tipova neurotraume, ozljeda koštanih struktura, moždanog tkiva ili specifičnih vrsta intrakranijalnih krvarenja. Ipak, pojedina skorašnja istraživanja upućuju na razmišljanje o mogućoj vezi određenog tipa SAH i aksonske lezije. U tom smjeru govore rezultati studije Mata-Mbemba i saradnika koji ukazuju na slične mehanizme nastanka aksonske lezije i subarahnoidalnih krvarenja u središnjim regijama mozga (interhemisferično i paramezencefalično) zbog čega prisustvo ove vrste SAH-a na inicijalnom CT-u povezuju sa težim oblicima DAL-a i lošijom prognozom [220]. Sličnog su razmišljanja Viera i saradnici kada iznose jedan od zaključaka svoje studije da izostanak traumatskog SAH ili IVK na inicijalnom CT-u najčešće govori u prilog blaže forme aksonske lezije i bolje prognoze [54], kao i druga istraživanja [183, 221]. Guarnizo i saradnici u opsežnoj kliničkoj studiji našli su vezu između subkalozalno lokalizovane hemoragije i težih oblika aksonske lezije, na taj način predstavljajući subkalozalnu hemoragiju radiološkim prediktorom težih oblika DAL-a [222]. Rezultati našeg istraživanja upućuju na korelaciju između subarahnoidalnog krvarenja u parasagitalnim regijama mozga (IHMC) i aksonske lezije u ponsu ($p = 0,035$), uz opasku da je većina ovih slučajeva imala i prateće IVK, što s obzirom na neposrednu blizinu i anatomsku povezanost ovih struktura ne može se smatrati neočekivanim. Takav razvoj dešavanja potvrđuju i druge studije čiji rezultati ukazuju na moguću vezu IVK i težih oblika aksonske lezije, prvenstveno lokalizovane u korpus kalozumu [223, 224]. Moždano stablo kao i korpus kalozum smješteni su u središnjim partijama mozga, u neposrednoj blizini komorskog sistema. Mehaničke sile smicanja i istezanja koje djeluje na aksone ovih regija istovremeno djeluju i na krvne sudove istih područja prouzrokujući njihove rupture sa posljedičnim krvarenjima u ventrikule ili obližnji subarahnoidalni prostor. Iako bi se u ovakvom scenariju možda očekivala veza ove vrste SAH sa aksonskom lezijom u korpus kalozumu, ova studija to nije potvrdila. Osim forenzičke, nesumnjiva je klinička važnost ovog pitanja i ono u svakom slučaju zaslužuje dalja istraživanja na većim uzorcima, kako na autopsijskom materijalu tako i u kliničkim studijama.

Rezultati ovog istraživanja ukazuju na statistički značajnu vezu pojavljivanja HED i aksonske lezije u prednjim aspektima mozga; bijeloj masi frontalnog režnja i genu korpus kalozuma ($p = 0,034$; p

= 0,035). Oba verifikovana HED takođe su bila lokalizovana u čeono-parijeto-temporalnim regijama, dakle prednjim aspektima lobanje, što implicira i mjesto djelovanja udarne sile koja je „usput“ izazvala i aksonska oštećenja predilekcionih, bliskih moždanih struktura. Ipak, ovo teoretsko razmatranje mora se uzeti sa popriličnom dozom obazrivosti iz razloga veoma malog broja (samo dva) konstatovanih epiduralnih krvarenja u posmatranom uzorku, što dobijene rezultate čini krajnje diskutabilnim. Osim toga, uz HED u oba slučaja postojale su i druge lezije; frakture lobanjskih kostiju, HSD i SAH, kontuzije moždane kore i mikrokrvarenja, pravi konglomerat različitih tipova kranio-cerebralnih povreda iz kojeg je veoma teško izdvojiti i izmjeriti uticaj epiduralnog krvarenja na pojavu aksonske lezije.

5.2.3. Aksonska lezija i traumatska cerebralna mikrokrvarenja

U ovoj tezi ispitivana je distribucija cerebralnih mikrohemoragija u istim regijama mozga u kojima je tražena i aksonska lezija. Na taj način pokušalo se utvrditi da li identičan ili sličan traumatski mehanizam smicanja i istezanja pojedinih slojeva moždanog tkiva istovremeno uzrokuje leziju aksona i sitnih krvnih sudova. Brojne studije ukazuju na mogućnost da traumom izazvana mikrokrvarenja u bijeloj masi mozga mogu biti neka vrsta indirektnog markera DAL-a ali još uvijek nije potvrđena jasna i pouzdana veza između ova dva entiteta [37, 50, 206, 225]. Još krajem prošlog vijeka Adams je primjetio da se u korpus kalozumu često udruženo sreću mikrohemoragije i aksonska lezija, dok se za druge moždane regije to nije moglo tvrditi [76]. Slično potvrđuju i rezultati skorašnje kliničke studije Andreasena sa saradnicima, sprovedene uz pomoć savremene NMR tehnologije (SWI i DTI), koji to pokušavaju objasniti uniformnim položajem velikog broja aksona u korpus kalozumu, čime je olakšana detekcija njihovih oštećenja [50]. Rezultati skorašnjih studija govore u prilog tome da akceleracijsko-deceleracijske sile koje djeluju na glavu dovode do smicanja slojeva moždanog tkiva uzrokujući na taj način leziju sitnih krvnih sudova sa okolnim mikrokrvarenjima, i pratećom aksonskom lezijom u istim regijama [226, 227, 228]. Griffin i sar. nisu potvrdili sigurnu vezu između ova dva tipa difuzne ozljede moždanog tkiva ali ne isključuju mogućnost da kod pacijenata sa DAL-om koegzistiraju i traumatska mikrokrvarenja u bijeloj masi [189].

Prema rezultatima naše studije traumatska cerebralna mikrokrvarenja dokazana su u 32 od 36 slučajeva (88,9%), što je identično prisustvu DAL u posmatranom uzorku. Iako na prvi pogled

ovakva koincidencija potiče sklonost da se vjeruje u određenu povezanost ove dvije varijable, statistička analiza nije dokazala bilo kakvu korelaciju. Ako se analiziraju preostala četiri slučaja odsustva aksonske lezije i cerebralnih mikrohemoragija, samo u jednom slučaju, 45-godišnjeg motocikliste, postojalo je preklapanje izostanka mikrokrvarenja i β APP negativnosti (nije utvrđeno prisustvo mikrohemoragija niti aksonske lezije u bilo kojoj posmatranoj regiji). Preostala tri slučaja β APP imunonegativnosti i TCM negativnosti nisu koincidirali.

Komparacijom prisustva mikrohemoragija u pojedinim analiziranim regijama mozga i β APP imunopozitivnosti u istim moždanim regijama nađena je veza ove dvije vrste lezije u genu korpus kalozuma, potvrđene χ^2 testom ($p = 0,011$). Kada su podaci o aksonskoj leziji grupisani (ima/nema) ova veza osim za genu korpus kalozuma ($p = 0,004$) nađena je i u parasagitalnoj bijeloj masi frontalnih režnjeva ($p = 0,028$). Istovremeno ustanovljena je slična veza između prisustva mikrohemoragija u genu korpus kalozuma sa aksonskom lezijom i u ostale tri posmatrane regije.

Ovakvi rezultati su na tragu gore izloženih stavova da najvjerojatnije postoji određena pozitivna korelacija između traumatskih mikrokrvarenja i aksonske lezije u središnjim strukturama mozga, kojima upravo pripadaju korpus kalozum i parasagitalna bijela masa frontalnih lobusa.

Korpus kalozum je smješten u dubini središnjeg dijela mozga, sa preko 300 miliona aksona (u međusobnom odnosu: mijelinizovani 70% / nemijelinizovani 30%) predstavlja najmasivniju strukturu cerebralne bijele mase. Povezujući dvije kontralateralne hemisfere korpus kalozum omogućava njihovu komunikaciju i predstavlja glavni interhemisferični komisuralni put. Takođe ostvaruje ipsilateralnu komunikaciju između različitih regija jedne hemisfere. Prednji aspekti korpus kalozuma (genu i rostrum) povezuju frontalne i frontoparijetalne regije kontralateralnih hemisfera, dok preko tijela i zadnjih kalozalnih partija komuniciraju parijetalne, temporalne i okcipitalne kontralateralne regije. Osim ovih puteva, preko korpus kalozuma međusobnu komunikaciju ostvaruju insularne i limbičke regije kao i bazalne ganglije. Drugim riječima, zadnje partije korpus kalozuma stjecište su integracije i transfera vizuelnih, slušnih, somatosenzornih i motornih signala, dok kroz prednje aspekte prolaze aksoni koji učestvuju u obradi motornih i kognitivnih informacija [229, 230]. Uprkos velikoj važnosti ove interhemisferične strukture, vjerovatno zbog skrivenosti i teške pristupačnosti, dugo je ostala nedovoljno istražena i tzv. „terra incognita“ za radiologe, sve do pojave savremenih radioloških tehnika (MRI DTI) koje omogućavaju mnogo detaljnija istraživanja. Međutim, još uvijek nisu dovoljno poznate razmjere traumom uzrokovane aksonske lezije u korpus kalozumu i njihove veze sa ostalim moždanim regijama a što neposredno utiče na težinu kliničke slike i ishod kranio cerebralnog povređivanja.

Primjećeno je da manja oštećenja kalozalnih aksonskih puteva usporavaju interhemisferični transfer informacija, odnosno komunikaciju između različitih moždanih regija. Interhemisferična integracija vizuomotornih i viših kognitivnih funkcija može biti stimulišuća ili inhibitorna zavisno od složenih interakcija unutar kortiko-subkortikalnih mreža svake pojedinačne hemisfere i potrebe za njihovom kooperacijom sa kontralateralnom hemisferom [231].

Fitsiori sa saradnicima navodi da je mikrohemoragija najčešći oblik traumatske lezije korpus kalozuma [232]. Ubukata sa saradnicima ustanovio je korelaciju između DAL-om uzrokovanih hroničnih kognitivnih deficita i volumenskih i mikrostrukturnih promjena u korpus kalozumu. Ovo objašnjavaju usporavanjem obrade kognitivnih informacija na trajektoriju parieto-okcipitalnih regija kontralateralnih hemisfera preko spleniuma korpus kalozuma. To su moždane regije zadužene za obradu vizuo-spacijalnih informacija i pažnje. Ipak, naglašavaju da ovo vrijedi za hronične promjene dok bi marker akutnih neuroloških sekvela i težine povrede mogao biti u nekim drugim regijama kao što je moždano stablo [233]. Rutgers i saradnici našli su da je kod blažih kraniocerebralnih povreda lezija korpus kalozuma smještena u prednjem dijelu (genu) obično reverzibilne prirode, prisutna do tri mjeseca. Kod srednje teških i teških povreda glave zahvaćene su sve regije korpus kalozuma i ove promjene su hroničnog karaktera [234]. U skorašnjoj studiji Mazwi i saradnici otkrili su vezu mikrokrvarenja u korpus kalozumu i hipokampusu sa trajanjem posttraumatske amnezije [235]. Hofer i Frahm u svojoj studiji na osam zdravih dobrovoljaca revidirali su kalozalnu topografiju i ustanovili da aksoni iz motorne kore ne putuju samo prednjim dijelovima korpus kalozuma, odnosno da su dvije prednje trećine korpus kalozuma povezane sa motornim korteksom velikomoždanih hemisfera, što je mnogo veća regija nego što se ranije smatralo. Oni su takođe potvrdili stavove da genu i prednje partije spleniuma korpus kalozuma čine gusto zbijena tanka vlakna, prečnika ispod 0,4 μm , dok su deblji aksoni promera 3-5 μm lokalizovani u srednjim kalozalnim regijama - tijelu i istmusu [236]. Ovakvi stavovi i rezultati gore navedenih istraživanja u značajnoj mjeri korespondiraju sa rezultatima naše studije u smislu da su kod teških kraniocerebralnih povreda sa fatalnim ishodom aksonskom lezijom zahvaćene kako prednje tako i zadnje partije korpus kalozuma, bez obzira na donekle različite anatomske karakteristike aksonskih vlakana u različitim regijama korpus kalozuma, kao što su njihov dijametar, ne/mijelinizacija, gustina.

Uzmemo li u obzir sve gore navedeno, ne čudi nađena veza između prisustva mikrokrvarenja u prednjim aspektima korpus kalozuma i aksonske lezije topografski bliskih okolnih moždanih regija koje su bile analizirane u ovoj studiji.

5.2.4. Aksonska lezija u funkciji vremena

Gu i saradnici u eksperimentalnoj studiji na miševima 2017. godine dokazali su da mikromehanički stres izaziva veoma brzu pojavu aksonskih varikoziteta, već nekoliko sekundi nakon mehaničke traume ali i njihovo nepotpuno povlačenje i oporavak u roku dvadesetak minuta [229]. Nakon ove studije, više neovisnih istraživanja upotrebom savremenih tehnoloških metoda potvrdili su pojavu aksonskih varikoziteta nekoliko časova do dva dana poslije tupe mehaničke traume glave [97, 99, 230, 231]. Imunohistohemijsko dokazivanje aksonske lezije na autopsijskom materijalu odavno je aktuelno a β APP imunobojenje pokazalo se kao najefikasnije. Ostalo je otvoreno pitanje najkraćeg vremenskog intervala od povređivanja do smrti u kojem se β APP imunobojenjem može potvrditi ova vrsta lezije? Brojne studije urađene u drugoj polovini 90-tih godina prošlog vijeka pokazale su efikasnost β APP imunobojenja u dokazivanju DAL-a kod umiranja nekoliko časova od traume glave [105, 122, 232], odnosno u slučajevima nadživljavanja 1,5 do dva časa [233]. Lewis i saradnici su u studiji na modelu sa ovcama registrovali β APP imunoekspresivnost jedan čas nakon traume [234], dok je Gorrie sa saradnicima na pedijatrijskom materijalu potvrdio β APP imunopozitivnost u vremenskom periodu nadživljavanja povrede između 35 i 45 minuta [235]. Početkom ovog milenijuma Hortobágyi i saradnici u studiji na humanom materijalu imunobojenjem na β APP uspjeli su u sedam slučajeva detektovati aksonsku leziju pri nadživljavanu ispod jednog časa, a najkraće vrijeme nadživljavanja iznosilo je 35 minuta nakon teške tupe traume glave. U svim slučajevima β APP depoziti nađeni su diseminovano u različitim partijama mozga; bijeloj masi tjemernih režnjeva, prednjim i zadnjim aspektima korpus kalozuma, kapsuli interni, medijalnim cerebeleranim pedunkulima i ponsu [120]. U odvojenim eksperimentalnim studijama na miševima, Otsuka sa saradnicima i Stone i saradnici uspjeli su detektovati β APP depozite u edematoznim aksonima u vremenskom periodu od 30 minuta nadživljavana povrede [236, 237]. Skorašnje studije Pinchi i saradnika kao i Hunea sa saradnicima., koje porede različite imunohistohemijske markere aksonske lezije, potvrdile su efikasnost β APP imunopozitivnost u vremenskom periodu od dva časa nakon traume, uz zanimljiv rezultat studije Hunea i saradnika da su najranije promjene na aksonima ipak registrovane pomoću GFAP i CD68 markera. Ovi autori takođe ističu da β APP-imunobojenje ostaje negativno kod netraumatizovanog moždanog tkiva, dok pokazivanje imunoekspresivnosti redovono se primjećuje oko dva časa od kraniocerebralne traume [238, 239].

U našem istraživanju β APP imunopozitivnost dobijena je u velikoj većini u obje posmatrane grupe, bez statistički značajne razlike. U grupi stradalih koji su nadživjeli kraće od dva časa aksonska lezija nije detektovana tek u tri slučaja, čije je vrijeme preživljavanja bilo kraće od pola časa. Najkraći period nadživljavanja sa potvrđenom pozitivnošću na β APP imunobojenje iznosilo je 20 - 25

minuta, kod tri nastradala učesnika saobraćajnih nezgoda, sva tri muškarca (pješač, vozač, biciklista), sa težim stepenima DAL-a po Adamsu. U sva tri slučaja verifikovana je β APP imunoekspresivnost u korpus kalozumu i ponsu. Međutim, kod sva tri nastradala postojale su pridružene kranocerebralne povrede (HSD, SAH, IVK), frakture svoda i baze lobanje, krvarenja u ponsu, tako da je veoma teško opredijeliti se za tačan neposredni uzrok smrti i najprihvatljivije objašnjenje jeste da se radilo o kumulativnom dejstvu različitih tipova kranocerebralnog povređivanja koji je vodio ka brzom egzitusu. Ovako kratak vremenski interval nismo uspjeli naći u raspoloživoj svjetskoj literaturi, ali jako je blizak rezultatima gore spomenutih autora (Hortobágyi i saradnika, Otsuka sa saradnicima., Stone i saradnici). Vremenski interval od 30 minuta spominju Van den Heuvel i saradnici u istraživanju RNA regulacije oslobađanja APP u uslovima mehaničke traume moždanog tkiva ovaca [240]. Ovu tezu podržava i istraživanje Iino i saradnika iz 2003. godine ali pomoću mRNA β APP vezujućeg proteina FE65 koji počinje da se naglo umnožava 30 minuta nakon povrede glave i dostiže pik oko 1 sat poslije traume [241].

Brzina aksoplazmatskog transporta β APP iznosi oko 5 – 7 $\mu\text{m/s}$ [242]. Međutim, primjećeno je da sa starošću ova brzina anterogradnog aksoplazmatskog transporta opada, što implicira da se β APP brže nakuplja kod mlađih osoba [243]. U našem istraživanju u sva tri slučaja detektovanja β APP imunopozitivnosti kod nadživljavanja ispod pola sata radilo se upravo o muškarcima mlađe dobi, u tridesetim godinama, što sasvim odgovara iznesenim tvrdnjama u gore spomenutim studijama. Dakle, dobijeni rezultati nedvosmisleno potvrđuju efikasnost ove imunohistohemijske metode u dokazivanju aksonske lezije u slučajevima kratkog nadživljavanja povrede, ispod dva časa, a dobijena imunoekspresivnost u vremenskom periodu čak ispod 30 minuta potvrđuje β APP imunomarker kao trenutno optimalno imunohistohemijsko bojenje u postmortalnom dokazivanju aksonske lezije. Istovremeno, utvrđeni minimalni vremenski okvir u kojem se registruje β APP ekspresivnost nesumnjivo je velikog forenzičkog značaja. Moguće je da se ovako brza akumulacija β APP dešava u teško oštećenim aksonima, prezentovanim kroz teže stepene DAL-a po Adamsu, a svakako bilo bi zanimljivo istražiti da li se β APP nakuplja istom brzinom i u slučajevima manje teških kranocerebralnih povreda, koje ne završavaju letalno. S obzirom da u tim slučajevima nemamo na raspolaganju moždano tkivo za imunohistohemijsko bojenje, istraživanje aksonske lezije ograničeno je na radiološke kliničke studije ili studije potrage za markerima aksonske lezije u krvi/likvoru, ali bez mogućnosti imunohistohemijskih bojenja (β APP ili drugih). Samim tim teško je porediti dobijene rezultate.

Davceva i saradnici istraživali su uticaj prisustva aksonske lezije na dužinu preživljavanja i ustanovili su da je kraće preživljavanje praćeno težim stepenom aksonske lezije ali bez statističke

značajnosti [216]. U najsvježijem istraživanju Hunea i saradnika nađena je statistički značajna negativna korelacija između težine aksonske lezije i dužine preživljavanja [239]. U našoj studiji nismo mogli nedvosmisleno potvrditi ove stavove ali rezultati svakako nisu kontradiktorni. Naime, mjereno Adamsovom klasifikacijom nije nađena značajna razlika u težini DAL-a između posmatranih grupa tj, u odnosu na dužinu nadživljavanja (χ^2 test $p = 0,544$; Kruskal-Wallis $p = 0,079$). Kada je komparirana težina aksonske lezije prezentovana β APP imunoekspresivnošću (po Gentleman-u) po posmatranim regijama mozga opet nije nađena značajna razlika u u funkciji vremena nadživljavanja. U obe posmatrane grupe slične su tendencije jačanja intenziteta imunoekspresivnosti od prednjih ka zadnjim regijama posmatranih lokalizacija moždanog tkiva. Dok je u frontalnoj bijeloj masi i korpus kalozumu dominirala blaga i tipična β APP imunopozitivnost, u ponsu su naglašeno prisutna intenzivnija bojenja na β APP imunomarker, posebno naglašeno u grupi onih koji su umirali u kraćem vremenskom periodu.

Mada bez statistički značajne potvrde, rezultati naše studije ne odstupaju od poznatih stavova da su težina aksonske lezije i vrijeme preživljavanja obrnuto proporcionalni, kao i da lokalizacija težih oblika aksonske lezije u vitalnim moždinskim strukturama ukazuje na izvjesnu prediktivnost bržeg letalnog ishoda.

Ograničenja studije i budući koraci: Veći uzorak svakako bi bio reprezentativniji i omogućio relevantnije rezultate statističke obrade. Nemogućnost isključivanja uticaja drugih tipova kranio cerebralnog povređivanja na konačan ishod traume otežava prepoznavanje pravih razmjera uticaja aksonske lezije. Naime, DAL je skoro redovno sastavni dio složenog kranio cerebralnog povređivanja a često prisutna u sklopu politraume, udružena sa ozbiljnim i vitalno ugrožavajućim povredama drugih organskih sistema, što dodatno produžava vrijeme hospitalizacije, komplikuje način liječenja i smanjuje šanse za uspješan oporavak [244]. U takvim situacijama teško je, često i nemoguće razgraničiti uticaj aksonske lezije od uticaja drugih povreda na konačan ishod. Bilo bi veoma poželjno pokušati ukloniti ili minimizirati ova ograničenja u budućim istraživanjima, po mogućnosti u multicentričnim studijama na većim uzorcima, sa pažljivo probranim slučajevima solitarne aksonske lezije čiji tok i ishod ne bi bio opterećen i kamufliran drugim tipovima kranio cerebralne traume.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovu dobijenih rezultata i u odnosu na postavljene ciljeve istraživanja, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Odabrana imunohistohemijska metoda bojenjem na β APP marker pokazala se visoko efikasnom u dokazivanju prisustva aksonske lezije kod teških kranio-cerebralnih povreda sa kratkim periodom nadživljavanja, ispod dva časa. Štaviše, dokazano je prisustvo aksonske lezije u slučajevim nadživljavanja kraćim od 30 minuta.
2. β APP imunohistohemijsko bojenje potvrdilo je distribuciju aksonske lezije kroz sve ispitivane središnje strukture mozga, bez statistički značajne razlike. Dokazana je jaća β APP ekspresivnost u moždanom stablu kao sjedištu vitalno važnih funkcija, iako bez statističke značajnosti. Ovakav rezultat je u skladu sa težinom povređivanja intrakranijalnog sadržaja u posmatranom uzorku.
3. Potvrđena je pozitivna korelacija između prisustva aksonske lezije u ponsu prezentovane kao tipično/veoma izražena β APP ekspresivnost (skala po Gentleman-u) i interhemisferično-paramezencefalično lokalizovane subarahnoidalne hemoragije. Nije utvrđena bilo kakva korelacija između prisustva aksonske lezije i drugih vrsta kranio-cerebralnih povreda. Dobijena statistički značajna povezanost između pojavljivanja HED i aksonske lezije u prednjim aspektima mozga mora se uzeti sa rezervom i obazrivošću iz razloga veoma male zastupljenosti ove varijable u izabranom uzorku, što značajno kompromituje statističku snagu dokaza.
4. U ovom istraživanju nije potvrđena sigurna povezanost između traumom uzrokovanih mikrohemoragija i aksonske lezije analiziranih regija moždanog tkiva. Ipak, nađena pozitivna korelacija između prisustva mikrohemoragija i β APP imunopozitivnosti u prednjim aspektima korpus kalozuma (genu) u skladu je sa aktuelnim stavovima da najvjerovatnije postoji određena veza između TCM i aksonske lezije u mediosagitalnim regijama mozga.

7. LITERATURA

1. James SL, Theadom A, Ellenbogen RG, Bannick MS, Montjoy-Venning W, Lucchesi LR et al. Global, regional, and national burden of traumatic brain injury and spinal cord injury, 1990-2016: a systematic analysis for the global burden of disease study 2016. *Lancet Neurol.* 2019;18:56–87.
2. Taylor CA, Bell JM, Breiding MJ, Xu L. Traumatic Brain Injury-Related Emergency Department Visits, Hospitalizations, and Deaths - United States, 2007 and 2013. *MMWR Surveill Summ.* 2017;66(9):1-16.
3. Frati A, Cerretani D, Fiaschi AI, Frati P, Gato V, La Rusa R et al. Diffuse Axonal Injury and Oxidative Stress: A Comprehensive Review. *Int J Mol Sci.* 2017;18(12):1-20.
4. Daugherty J, Waltzman D, Sarmiento K, Xu L. Traumatic Brain Injury–Related Deaths by Race/Ethnicity, Sex, Intent, and Mechanism of Injury — United States, 2000–2017. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2019;68:1050–1056.
5. Maas A, Menon D, Steyerberg E, Citerio G, Lecky F, Manley G et al. Collaborative European NeuroTrauma Effectiveness Research in Traumatic Brain Injury (CENTER-TBI): A Prospective Longitudinal Observational Study. *Neurosurgery.* 2015;76(1):67–80.
6. Peeters W, van den Brande R, Polinder S, Brazinova A, Steyerberg EW, Lingsma HF et al. Epidemiology of traumatic brain injury in Europe. *Acta Neurochir (Wien).* 2015;157(10):1683-96.
7. Dewan MC, Rattani A, Gupta S, Baticulon RE, Hung YC, Punchak M et al. Estimating the global incidence of traumatic brain injury. *J Neurosurg.* 2019;130:1080–97.
8. Andjelic N, Anke A, Skandsen T, Sigurdardottir S, Sandhaug M, Ader T, Roe C. Incidence of Hospital-Admitted Severe Traumatic Brain Injury and In-Hospital Fatality in Norway: A National Cohort Study. *Neuroepidemiology* 2012;38:259–267.
9. Mauritz W, Brazinova A, Majdan M, Leitgeb J, Epidemiology of traumatic brain injury in Austria, *Wien Klin Wochenschr.* 2014;126:42–52.
10. Nikolic RM, Mijajlovic MZ, Nikolic DR, Nikolic VB, Peulic MS, Lukic SM. Prognosis of the outcome following severe close craniocerebral injury. *Serbian J Exp Clin Res.* 2008;9:105–10.
11. Teasdale G, Jennett B. Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. *Lancet.* 1974;2(7872):81-84.
12. Tasić M. *Sudska medicina, Zmaj, Novi Sad, 2006.p.254-73.*

13. Masel BE, DeWitt DS. Traumatic brain injury: a disease process, not an event. *J Neurotrauma*. 2010;27(8):1529-40.
14. Zhang S, Wang, S, Wan X, Liu S, Shu K, Lei T. Clinical evaluation of post-operative cerebral infarction in traumatic epiduralhaematoma. *Brain Inj*. 2017;31:215–20.
15. Gutowski P, Meier U, Rohde V, Lemcke J, von der Brelie C. Clinical Outcome of Epidural Hematoma Treated Surgically in the Era of Modern Resuscitation and Trauma Care. *World Neurosurg*. 2018;118:166–74.
16. Karnjanasavitree W, Phuenpathom N, Tunthanathip T. The Optimal Operative Timing of Traumatic Intracranial Acute Subdural Hematoma Correlated with Outcome. *Asian J Neurosurg*. 2018;13:1158–64.
17. Mack LR, Chan SB, Silva JC, Hogan TM. The use of head computed tomography in elderly patients sustaining minor head trauma. *J Emerg Med*. 2003;24(2):157–62.
18. Teo DB, Wong HC, Yeo AW, Lai YW, Choo EL, Merchant RA. Characteristics of fall-related traumatic brain injury in older adults. *Intern Med J*. 2018;48:1048–55.
19. Pruitt P, Ornam JV, Borczuk PA. Decision Instrument to Identify Isolated Traumatic Subdural Hematomas at Low Risk of Neurologic Deterioration, Surgical Intervention, or Radiographic Worsening. *Acad Emerg Med*. 2017;24:1377–86.
20. Gerard C, Busl KM. Treatment of acute subdural hematoma. *Curr Treat Options Neurol*. 2014;16:275.
21. Aromatario M, Torsello A, D’Errico S, Bertozzi G, Sessa F, Cipolloni L et al. Traumatic Epidural and Subdural Hematoma: Epidemiology, Outcome, and Dating. *Medicina* 2021;57:125.
22. Greenberg SM. Traumatic haemorrhagic condition. In: *Handbook of Neurosurgery*. 9thed. Thieme New York. 2006. p. 937.
23. Alvarez-Sabin J, Turon A, Lozano-Sanchez M. et al. Delayed Posttraumatic Hemorrhage “Spät-Apoplexie”, *Stroke*, 1995;26:1531-35.
24. Ammerman MJ, Jarrell TS, Polin SR. Traumatic Intracranial Hemorrhage. In: Evans WR editor. *Neurology and trauma*, 2th ed. Oxford University press. 2006. p.88-9.
25. Nag S, Manias JL, Stewart DJ. Pathology and new players in the pathogenesis of brain edema. *Acta Neuropathol*. 2009;118:197–217.
26. Unterberg, A.W., Stover, J., Kress, B. & Kiening, K.L. Edema and brain trauma, *Neuroscience*, 2004;129(4):1021-9.
27. Marmarou A. A review of progress in understanding the pathophysiology and treatment of brain edema, *Neurosurgical focus*, 2007;22(5):E1.

28. Marmarou A, Signoretti S, Aygok G, Fatouros P, Portella G. Traumatic brain edema in diffuse and focal injury: cellular or vasogenic?, *Acta neurochirurgica. Supplement*, 2006;96:24-29.
29. Smith C. Non-traumatic neurological conditions in medico-legal work. In *Forensic Neuropathology* (1st ed.). Taylor & Francis. 2005. p. 152-167.
30. Stewart W, Black M, Kalimo H, Graham DI. Non-traumatic forensic neuropathology, *Forensic Sci Int*. 2004;146(2-3):125-47.
31. Rotin K., *Neurotraumatologija, Medicinska naklada, Zagreb* 2006. p.17-18.
32. Gennarelli TA, Cerebral concussion and diffuse brain injuries, In: Cooper PR (ed) *Head Injury*, 3^{ed} ed. Williams & Wilkins, Baltimore, 1993;137-58.
33. Giza CC, Kutcher JS, Ashwal S, et al. Summary of evidence-based guideline update: Evaluation and management of concussion in sports: Report of the Guideline Development Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2013;80:2250–7.
34. Fineman I, Hovda DA, Smith M, Yoshino A, Becker DP. Concussive brain injury is associated with a prolonged accumulation of calcium: a ⁴⁵Ca autoradiographic study. *Brain Res*. 1993;624:94-102.
35. Osteen CL, Moore AH, Prins ML, Hovda DA. Agedependency of ⁴⁵calcium accumulation following lateral fluid percussion: acute and delayed patterns. *J Neurotrauma* 2001;18:141-162.
36. Chiara Ricciardi M, Bokkers RPH, Butman JA, Hammoud DA, Pham DL, Warach S et al. Trauma - specific brain abnormalities in suspected mild traumatic brain injury patients identified in the first 48 hours after injury: a blinded magnetic resonance imaging comparative study including suspected acute minor stroke patients. *J Neurotrauma*. 2017;34:23–30.
37. Hütter BO, Altmepfen J, Kraff O, Maderwald S, Theysohn JM, Ringelstein A et al. Higher sensitivity for traumatic cerebral microbleeds at 7 T ultra-high field MRI: is it clinically significant for the acute state of the patients and later quality of life? *Ther Adv Neurol Disord*. 2020;13:1-12.
38. Viswanathan A, Chabriat H, Cerebral microhemorrhage, *Stroke*. 2006;37:550-555.
39. Mori Y, Murakami M, Arima Y, Zhu D, Terayama Y, Komai Y et al. Early pathological alterations of lower lumbar cords detected by ultrahigh-field MRI in a mouse multiple sclerosis model. *Int Immunol*. 2014;26:93-101.
40. Toth A, Berente Z, Bogner P, Környei B, Balogh B, Czeiter E, Amrein K, Dóczy T, Büki A, Schwarcz A, et al. Cerebral microbleeds temporarily become less visible or invisible in acute

- susceptibility weighted magnetic resonance imaging: a rat study. *J Neurotrauma*. 2019;36(10):1670–77.
41. Lawrence TP, Pretorius PM, Ezra M, Cadoux-Hudson T, Voets NL. Early detection of cerebral microbleeds following traumatic brain injury using MRI in the hyper-acute phase. *Neurosci Lett*. 2017;655:143–50.
 42. Rizk T, Turtzo LC, Cota M, Van Der Merwe AJ, Latour L, Whiting MD et al. Traumatic microbleeds persist for up to five years following traumatic brain injury despite resolution of other acute findings on MRI. *Brain Inj*. 2020;34(6):773-81.
 43. Lehnhardt FG, von Smekal U, Ruckriem B, Stenzel W, Neveling M, Heiss WD, Jacobs AH. Value of gradient-echo magnetic resonance imaging in the diagnosis of familial cerebral cavernous malformation. *Arch Neurol*. 2005;62:653– 8.
 44. Liu J, Kou Z, Tian Y. Diffuse axonal injury after traumatic cerebral microbleeds: an evaluation of imaging techniques, *Neural Regen Res*. 2014;9(12):1222-30.
 45. Puy L, Pasi M, Rodrigues M, van Veluw JS, G, Shoamanesh A, Cordonnier C. Cerebral microbleeds: from depiction to interpretation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2021;92:598-607.
 46. Guo Z, Hu RJ, Zhu DM, Zhu ZQ, Zhang HB, Wang W. Usefulness of deep hypothermic circulatory arrest and regional cerebral perfusion in children. *Ther Hypothermia Temp Manag*. 2013;3:126-31.
 47. Zhu D, Jin L, Wang X, Xu L, Liu T. Combined anticalcification treatment of bovine pericardium with decellularization and hyaluronic acid derivative. *Biomed Mater Eng*. 2014;24:741-9.
 48. Haller S, Vernooij MW, Kuijter JPA, Larsson EM, Jäger HR, Barkhof F. Cerebral Microbleeds: Imaging and Clinical Significance. *Radiology*. 2018;287(1):11-28.
 49. Di Ieva A, Lam T, Alcaide-Leon P, Bharatha A, Montanera W, Cusimano MD. Magnetic resonance susceptibility weighted imaging in neurosurgery: current applications and future perspectives. *J Neurosurg*. 2015;123:1463–75.
 50. Andreasen SH, Andersen KW, Conde V, Dyrby TB, Puonti O, Kammersgaard LP et al. Limited co-localization of microbleeds and microstructural changes after severe traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 2020;37(4):581-92.
 51. Watanabe J, Maruya J, Kanemaru Y, Miyauchi T, Nishimaki K. Transient disappearance of microbleeds in the subacute period based on T2*-weighted gradient echo imaging in traumatic brain injury. *Acta Neurochir (Wien)*. 2016;158(7):1247–50.

52. Meythaler JM, Peduzzi JD, Eleftheriou E, Novack TA. Current concepts: Diffuse axonal injury – associated traumatic brain injury, *Arch Phys Med Rehabil.* 2001;82(10):1461-71.
53. Humble SS, Wilson DL, Wang L, Long AD, Smith AM, Siktberg CJ et al. Prognosis of diffuse axonal injury with traumatic brain injury. *J Trauma Acute Care Surg.* 2018;85(1):155-9.
54. Figueira Rodrigues Vieira G, Guedes Correa JF. Early computed tomography for acute post-traumatic diffuse axonal injury: a systematic review. *Neuroradiology.* 2020;62(6):653-60.
55. Johnson VE, Stewart W, Smith DH. Axonal pathology in traumatic brain injury. *Exp Neurol.* 2013;246:35–43.
56. Davidsson J, Risling M. A new model to produce sagittal plane rotational induced diffuse axonal injuries. *Front Neurol.* 2011;2:41.
57. Xiaoshengi H, Guitao Y, Xiang Z, Zhou F. A morphological study of diffuse axonal injury in a rat model by lateral head rotation trauma. *Acta Neurol Belg.* 2010;110:49-56.
58. Fleminger S, Oliver DL, Lovestone S, Rabe-Hesketh S, Giora A. Head injury as a risk factor for Alzheimer’s disease: the evidence 10 years on; a partial replication. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2003; 74:857–862.
59. Browne K.D., Chen X.H., Meaney D.F., Smith D.H. Mild traumatic brain injury and diffuse axonal injury in swine. *J. Neurotrauma,* 2011;2:1747–1755.
60. Geddes JF, Whitwell HL, Graham DI. Traumatic axonal injury: practical issues for diagnosis in medicolegal cases. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2000;26(2):105-16.
61. Hill C. Experimental Modelling and Molecular Mechanisms of Wallerian Degeneration in Traumatic Axonal Injury. (Doctoral thesis). 2018; <https://doi.org/10.17863/CAM.25243>. Available from: <https://www.repository.cam.ac.uk/handle/1810/277908>
62. Miki H, Okada Y, Hirokawa N. Analysis of the kinesin superfamily: insights into structure and function, *Trends Cell Biol.* 2005;15(9):467-76.
63. Roy S, Zhang B, Lee VM, Trojanowski JQ. Axonal transport defects: a common theme in neurodegenerative diseases, *Acta Neuropathol.* 2005;109(1):5-13.
64. El-Kadi AM, Soura V, Hafezparast M. Defective axonal transport in motor neuron disease, *J Neurosci Res.* 2007;85(12):2557-66.
65. Miller KE, Heidemann SR. "What is slow axonal transport?". *Exp Cell Res.* 2008;314(10):1981-90.
66. Scott DA, Daas U, Yong T, Subhojit R. Mechanistic Logic Underlying the Axonal Transport of Cytosolic Proteins. *Neuron.* 2011;70:441-54.

67. Bryantseva SA, Zhapparova ON. Bidirectional transport of organelles: unity and struggle of opposing motors. *Cell Biol Int.* 2012;36:1–6.
68. Gennerich A, Vale RD. Walking the walk: how kinesin and dynein coordinate their steps. *Curr Opin Cell Biol.* 2009;21:59–67.
69. Hirokawa N, Niwa S, Tanaka Y. Molecular motors in neurons: transport mechanisms and roles in brain function, development, and disease. *Neuron.* 2010;68:610–38.
70. Holbourn AHS. Mechanics of Head Injury. *The Lancet.* 1943;242:438–41.
71. Strich SJ. Diffuse degeneration of the cerebral white matter in severe dementia following head injury. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1956;19:163–185.
72. Rand CW, Courville CB. Histologic changes in the brain in cases of fatal injury to the head; alterations in nerve cells. *Arch Neurol Psychiatry.* 1946;55:79–110.
73. Zimmerman RA, LarisaT, Bilaniuk LT, Gennarelli TA. Computed tomography of shearing injuries of the cerebral white matter. *Radiology.* 1978;127:393-6.
74. Grcevic N. Neuropathological correlates of supratentorial lesions in traumatic and nontraumatic apallic syndrome. In: Ore GD, Gerstenbard F, Lucking CH, Peters G, Peters UH, editors. *The apallic syndrome.* Berlin; Springer-Verlag. 1977. p.109-13.
75. Adams JH, Graham DI, Murray LS, Scott G. Diffuse axonal injury due to nonmissile head injury in humans: An analysis of 45 cases. *Ann Neurol.* 1982; 12:557–63.
76. Adams JH, Doyle D, Ford I, Gennarelli TA, Graham DI.. Diffuse axonal injury in head injury: definition, diagnosis and grading. *Histopathology.* 1989;15:49–59.
77. Graham DI, Adams JH, Gennarelli TA. Mechanisms of non-penetrating head injury. *Prog Clin Biol Res.* 1988;234:159–68.
78. Blumbergs PC, Jones NR, North JB. Diffuse axonal injury in head trauma. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1989;52:838-41.
79. Gennarelli TA, Thibault LE, Adams JH, Graham DI, Thompson CJ, Marcincin RP. Diffuse axonal injury and traumatic coma in the primate. *Ann Neurol.* 1982;12:564–574.
80. Gennarelli TA. Mechanisms of Primary Head Injury. *J Emerg Med.* 1993,11(1):5–11.
81. Smith DH, Chen XH, Xu BN, McIntosh TK, Gennarelli TA, Meaney DF. Characterization of diffuse axonal pathology and selective hippocampal damage following inertial brain trauma in the pig. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1997;56:822–34.
82. Smith DH, Meaney DF. Axonal damage in traumatic brain injury. *Neuroscientist.* 2000;6(6):483-95.
83. Smith DH, Meaney DF, Shull WH. Diffuse axonal injury in head trauma. *J Head Trauma Rehabil.* 2003;18:307–16.

84. Yoganandan N, Li J, Zhang J, Pintar FA, Gennarelli TA. Influence of angular acceleration-deceleration pulse shapes on regional brain strains. *J Biomech.* 2008;41:2253–62.
85. Yoganandan N, Gennarelli TA, Zhang J, Pintar FA, Takhounts E, Ridella SA. Association of contact loading in diffuse axonal injuries from motor vehicle crashes. *J Trauma.* 2009;66(2): 309–15.
86. Yoganandan N, Pintar FA, Stemper BD, Gennarelli TA, Weigelt JA. Biomechanics of side impact: injury criteria, aging occupants, and airbag technology. *J Biomech.* 2007;40:227–43.
87. Davceva N, Janevska V, Ilievski B, Petrushevska G, Popeska Z. The occurrence of acute subdural haematoma and diffuse axonal injury as two typical acceleration injuries. *J Forensic Leg Med.* 2012;19:480-4.
88. Davceva N, Janevska V, Ilievski B, Spasevska L, Popeska Z. Dilemmas concerning the diffuse axonal injury as clinicopathological entity in forensic medical practice, *J Forensic Leg Med.* 2012;19:413-18.
89. Tang-Schomer MD, Johnson VE, Baas P, Stewart W, Smith DH, Partial interruption of axonal transport due to microtubule breakage accounts for the formation of periodic varicosities after traumatic axonal injury. *Exp Neurol.* 2012;233:364-72.
90. Sblano S, Campobasso CP, Zotti F, Arpaio A, Di Vella G, Colonna MF. β -App immunoreactivity as diagnostic tool of diffuse axonal injury (DAI). *Rom J Leg Med.* 2012; 20(2):89–94.
91. Iwata A, Stys PK, Wolf JA, Chen XH, Taylor AG, Meaney DF et al. Traumatic Axonal Injury Induces Proteolytic Cleavage of the Voltage-Gated Sodium Channels Modulated by Tetrodotoxin and Protease Inhibitors. *J Neurosci.* 2004;24(19):4605-13.
92. Barkhoudarian G, Hovda DA, Giza CC. The molecular pathophysiology of concussive brain injury. *Clin Sports Med.* 2011;30:33–48.
93. Siedler DG, Chuah MI, Kirkcaldie MTK, Vickers JC, King AE. Diffuse axonal injury in brain trauma: insights from alterations in neurofilaments. *Front Cell Neurosci.* 2014;8:429.
94. Villegas R, Martinez NW, Lillo J, Pihan P, Hernandez D, Twiss JL et al. Calcium Release from Intra-Axonal Endoplasmic Reticulum Leads to Axon Degeneration through Mitochondrial Dysfunction. *J Neurosci.* 2014;34(21):7179-89.
95. Tang-Schomer MD, Patel AR, Baas PW, Smith DH. Mechanical breaking of microtubules in axons during dynamic stretch injury underlies delayed elasticity, microtubule disassembly, and axon degeneration. *Faseb J.* 2010;24:1401-10.

96. Lafrenaye AD, Todani M, Walker SA, Povlishock JT. Microglia processes associate with diffusely injured axons following mild traumatic brain injury in the micro pig. *J Neuroinflammation*. 2015;12:186.
97. Pernici CD, Kemp BS, Murray TA. Time course images of cellular injury and recovery in murine brain with high-resolution GRIN lens system. *Sci. Rep.* 2019;9:7946.
98. Gu J, Jukkola P, Wang Q, Esparza T, Zhao Y, Brody D et al. Polarity of varicosity initiation in central neuron mechanosensation. *J Cell Biol.* 2017;216:2179–99.
99. Marion CM, Radomski KL, Cramer NP, Galdzicki Z, Armstrong RC. Experimental traumatic brain injury identifies distinct early and late phase axonal conduction deficits of white matter pathophysiology, and reveals intervening recovery. *J. Neurosci.* 2018;38:8723–36.
100. Huang X, You W, Zhu Y, Xu K, Yang X, Wen L. Microglia: A potential drug target for traumatic axonal injury. *Neural Plast.* 2021 May 20;2021:5554824.
101. Mohamed AZ, Corrigan F, Collins-Praino LE, Plummer SL, Soni N, Nasrallah FA. Evaluating spatiotemporal microstructural alterations following diffuse traumatic brain injury. *Neuroimage Clin.* 2020;25:102136.
102. Chen X, Chai Y, Wang SB, Wang JC, Yue SY, Yiang RC et al. Risk factors for corticosteroid insufficiency during the sub-acute phase of acute traumatic brain injury. *Neural Regen Res.* 2020; 15(7):1259–65.
103. Kim M, Ahn JS, Park W, Hong SK, Jeon SR, Roh SW et al. Diffuse axonal injury (DAI) in moderate to severe head injured patients: Pure DAI vs. non-pure DAI. *Clin Neurol Neurosurg* 2018;171(8):116–23.
104. Geddes JF, Vowles GH, Beer TW, Ellison DW. The diagnosis of diffuse axonal injury: implications for forensic practice. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 1997;23:339–47.
105. Oehmichen M, Meissner C, Schmidt V, Pedal I, König HG, Saternus KS. Axonal injury—a diagnostic tool in forensic neuropathology?: A review. *Forensic Sci Int.* 1998;95:67-83.
106. Hostiuc S, Pirici D, Negoii I, Ion DA, Ceausu M. Detection of diffuse axonal injury in forensic pathology. *Rom J Leg Med.* 2014;(22):145-152.
107. Abu Hamdeh S, Marklund N, Lannsjö M, Howells T, Raininko R, Wikström J et al. Extended anatomical grading in diffuse axonal injury using MRI: hemorrhagic lesions in the substantia nigra and mesencephalic tegmentum indicate poor long-term outcome. *J Neurotrauma.* 2017;34(2):341–52.
108. Gennarelli TA, Thibault LE, Graham DI. Diffuse axonal injury: An important form of traumatic brain damage. *The Neuroscientist.* 1998; 4(3):202-15.

109. Skandsen T, Kvist KA, Solheim O, Strand IH, Folvik M, Vik A. Prevalence and impact of diffuse axonal injury in patients with moderate and severe head injury: a cohort study of early magnetic resonance imaging findings and 1-year outcome. *J Neurosurg.* 2010;113:556–63.
110. Chelly H, Chaari A, Daoud E, Dammak H, Medhioub F, Mnif J et al. Diffuse axonal injury in patients with head injuries: an epidemiologic and prognosis study of 124 cases. *J C Trauma.* 2011;71(4):838–46.
111. Mitra J, Shen K, Ghose S, Bourgeat P, Fripp J, Salvado O et al. Statistical machine learning to identify traumatic brain injury (TBI) from structural disconnections of white matter networks. *NeuroImage*, 2016;129(Suppl. C):247–59.
112. Buttram SDW, Garcia-Filion P, Miller J, Youssfi M, Brown SD, Dalton HJ et al. Computed Tomography Vs Magnetic Resonance Imaging for Identifying Acute Lesions in Pediatric Traumatic Brain Injury. *Hosp Pediatr.* 2015;5(2):79–84.
113. Lee SJ, Bae CH, Seo JP, Jang SH. Diagnosis of Tinnitus Due to Auditory Radiation Injury Following Whiplash Injury: A Case Study. *Diagnostics (Basel).* 2019;30:10.
114. Jang, S.H.; Lee, H.D. Diagnostic Approach to Traumatic Axonal Injury of the Spinothalamic Tract in Individual Patients with Mild Traumatic Brain Injury. *Diagnostics (Basel)* 2019; 21, 9.
115. Ma J, Zhang K, Wang Z, Chen G. Progress of research on diffuse axonal injury after traumatic brain injury. *Neural Plast.* 2016; Article ID 9746313. <https://doi.org/10.1155/2016/97463132016>.
116. Moe HK, Myhr JL, Moen KG, Haberg AK; Skandsen T, Vik A. Association of cause of injury and traumatic axonal injury: a clinical MRI study of moderate and severe traumatic brain injury. *J Neurosurg* 2019;11(10):1-9.
117. Zhang Y, Li L, He L. Radiological - prognostic correlation of diffusion tensor imaging in a mild traumatic brain injury model. *Exp Ther Med.* 2020;20(6):256.
118. McKenzie KJ, McLellan DR, Gentleman SM, Maxwell WL, Gennarelli TA, Graham DI. Is beta-APP a marker of axonal damage in short-surviving head injury? *Acta Neuropathol* 92(6): 608-613.
119. Gleckman AM, Bell MD, Evans RJ, Smith TW. Diffuse Axonal Injury in Infants With Nonaccidental Craniocerebral Trauma: Enhanced Detection by β -Amyloid Precursor Protein Immunohistochemical Staining. *Arch Pathol Lab Med.* 1999;123(2):146-51.

120. Hortobagyi T, Wise S, Hunt N, Cary N, Djurovic V, Fegan-Earl A et al. Traumatic axonal damage in the brain can be detected using beta-APP immunohistochemistry within 35 min after head injury to human adults. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2007;33(2):226-37.
121. Ogata M, Tsuganezawa O. "Neuron-specific enolase as an effective immunohistochemical marker for injured axons after fatal brain injury". *International journal of legal medicine,* 1999;113(1):19-25.
122. Sherriff FE, Bridges LR, Sivaloganathan S. Early detection of axonal injury after human head trauma using immunocytochemistry for beta amyloid precursor protein. *Acta Neuropathol.* 1994;87:55-62.
123. Povlishock JT, Katz DI. Update of neuropathology and neurological recovery after traumatic brain injury. *J Head Trauma Rehabil.* 2005;20:76–94.
124. Gentleman SM, Roberts GW, Gennarelli TA, Maxwell WL, Adams JH, Kerr S et al. Axonal injury: a universal consequence of fatal closed head injury? *Acta Neuropathol.* 1995;89(6):537-43.
125. Joseph MJ, Caliaperumal J, Schlichter LC. After intracerebral hemorrhage, oligodendrocyte precursors proliferate and differentiate inside white-matter tracts in the rat striatum. *Transl Stroke Res.* 2016;7:192–208
126. Lioutas VA, Alfaro-Martinez F, Bedoya F, Chung CC, Pimentel DA, Novak V. Intranasal insulin and insulin-like growth factor 1 as neuroprotectants in acute ischemic stroke. *Transl Stroke Res.* 2015;6:264–75.
127. Rotherl RD, Woertgen C, Holzschuh M, Metz C, Brawanski A. S-100 serum levels after minor and major head injury. *J Trauma.* 1998;45:765–7.
128. Woertgen C, Rotherl RD, Holzschuh M, Metz C, Brawanski A. Comparison of serial S-100 and NSE serum measurements after severe head injury. *Acta Neurochir.* 1997; 139:1161–4.
129. Shannon RJ, van der Heide S, Carter EL, Jalloh I, Menon DK, Hutchinson PJ, Carpenter KL. Extracellular N-Acetylaspartate in Human Traumatic Brain Injury. *J Neurotrauma.* 2016;33(4):319-29.
130. Mahan, MY, Thorpe, M, Ahmadi, A, Abdallah, T, Casey, H, Sturtevant, D et al. Glial fibrillary acidic protein outperforms S100 calcium-binding protein B and ubiquitin C-terminal hydrolase L1 as predictor for positive computed tomography of the head in trauma subjects. *World Neurosurg.* 2019;128:S434–44.
131. Tsitsopoulos PP, Abu Hamdeh S, Marklund N. Current Opportunities for Clinical Monitoring of Axonal Pathology in Traumatic Brain Injury. *Front Neurol.* 2017;20(8):599.

132. Olsson A, Csajbok L, Ost M, Höglund K, Nylén K, Rosengren L et al. Marked increase of beta-amyloid (1-42) and amyloid precursor protein in ventricular cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury. *J Neurol*. 2004;251:870–6.
133. Manivannan S, Makwana M, Ahmed AI, Zaben M. Profiling biomarkers of traumatic axonal injury: From mouse to man. *Clin Neurol Neurosurg* 2018;171:6–20.
134. Tomita K, Nakada T, Oshima T, Motoshima T, Kawaguchi R, Oda S. Tau protein as a diagnostic marker for diffuse axonal injury. *PLoS One*. 2019;14(3):e0214381.
135. Walter J, Haass C. Posttranslational modifications of amyloid precursor protein: ectodomain phosphorylation and sulfation. *Methods Mol Med*. 2000;32:149-68.
136. Bayer TA, Cappai R, Masters CL, Beyreuther K, Multhaup G. It all sticks together - the APP-related family of proteins and Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry*. 1999;4(6):524-8.
137. Hall AM, Robertson ED. Mouse models of Alzheimer's disease. *Brain Res Bull*. 2012;88(1):3-12.
138. Forloni G, Demicheli F, Giorgi S, Bendotti C, Angeretti N. Expression of amyloid precursor protein mRNAs in endothelial, neuronal and glial cells: modulation by interleukin-1. *Mol Brain Res*. 1992;16:128-34.
139. Li QX, Evin G, Small DH, Multhaup G, Beyreuther K, Masters CL. Proteolytic processing of Alzheimer's disease PA4 amyloid precursor protein in human platelets. *J Biol Chem*. 1995;270: 140-7.
140. O'Brien JR, Wong PC. Amyloid Precursor Protein Processing and Alzheimer's Disease. *Annu Rev Neurosci*. 2011;34:185-204.
141. Nunan J, Small DH. Regulation of APP cleavage by K-, L- and Q-secretases. *FEBS Letters*, 2000;483:6-10.
142. Thinakaran G, Koo EH. Amyloid precursor protein trafficking, processing, and function, *J Biol Chem*. 2008;283(44):29615-9.
143. Rodrigues EM, Weissmiller AM, Goldstein LS. Enhanced β -secretase processing alters APP axonal transport and leads to axonal defects. *Hum Mol Genet*. 2012;21(21):4587-601.
144. Gralle M, Ferreira ST. Structure and functions of the human amyloid precursor protein: the whole is more than the sum of its parts. *Prog Neurobiol*. 2007;82(1):11-32.
145. Pearson HA, Peers C. Physiological roles for amyloid β peptides. *J Physiol*. 2006;575:5-10.
146. Gentleman SM, Nash MJ, Sweeting CJ, Graham DI, Roberts GW. Beta-amyloid precursor protein (beta APP) as a marker for axonal injury after head injury. *Neurosci Lett*. 1993;160(2):139-44.

147. Jang SH. Diagnostic problems in diffuse axonal injury. *Diagnostics (Basel)* 2020; 10(2):1-8.
148. Callaway CCM, Kosofsky BE. Autonomic dysfunction following mild traumatic brain injury. *Curr Opin Neurol.* 2019;32(6):802–7.
149. Bigler ED. Anterior and middle cranial fossa in traumatic brain injury: relevant neuroanatomy and neuropathology in the study of neuropsychological outcome. *Neuropsychology.* 2007;21:515–31.
150. Wallesch C, Curio N, Galazky I, Jost S, Synowitz H. The neuropsychology of blunt head injury in the early postacute stage: effects of focal lesions and diffuse axonal injury *J Neurotrauma.* 2001;18:11–20.
151. Scheid R, Walther K, Guthke T, Preul C, von Cramon DI. Cognitive sequelae of diffuse axonal injury. *Arch Neurol.* 2006;63:418–24.
152. Sardinha DS, Vieira RCA, Paiva WS, de Oliveira DV, de Sousa RMC. Behavioral changes and associated factors after diffuse axonal injury. *J Trauma Nurs.* 2019;26(6):328–39.
153. Parker R, Rolland S. *Concussive Brain Injury: Neurobehavioral Impairment and Maladaptation.* Boca Raton, CRC Press. 2000;1:1-20.
154. Ingebrigtsen T, Romner B, Kock-Jensen C. Scandinavian guidelines for initial management of minimal, mild, and moderate head injuries. The Scandinavian Neurotrauma Committee. *J Trauma.* 2000;48:760–6.
155. Crupi R, Cordaro M, Cuzzocrea S, Impellizzeri D. Management of traumatic brain injury: from present to future. *Antioxidants (Basel)* 2020;9(4):297.
156. Vieira RC, Paiva WS, de Oliveira DV, Teixeira MJ, de Andrade AF, de Sousa RM. Diffuse axonal injury: epidemiology, outcome and associated risk factors. *Front Neurol.* 2016;7(10):178.
157. Henninger N, Compton RA, Khan MW, Carandang R, Hall W, Muehlschlegel S. Don't lose hope early: Hemorrhagic diffuse axonal injury on head CT is not associated with poor outcome in moderate-severe TBI patients. *J Trauma Acute Care Surg.* 2018;84(3):473–82.
158. Moen KG, Brezova V, Skandsen T, Haberg AK, Folvik M, Vik A. Traumatic axonal injury: the prognostic value of lesion load in corpus callosum, brain stem, and thalamus in different magnetic resonance imaging sequences. *J Neurotrauma.* 2014;31(17):1486-96.
159. Izzy S, Mazwi NL, Martinez S, Spencer CA, Klein JP, Parikh G et al. Revisiting Grade 3 Diffuse Axonal Injury: Not All Brainstem Microbleeds are Prognostically Equal. *Neurocrit Care.* 2017;27(2):199-207.

160. Geddes JF, Whitwell JL, Graham DI. Traumatic axonal injury: practical issues for diagnosis in medicolegal cases. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2000;26:105–16.
161. Dolinak D, Smith C, Graham DI. Global hypoxia per se is an unusual cause of axonal injury, *Acta Neuropathol.* 2000;100(5):553-60.
162. Dolinak D, Smith C, Graham DI. Hypoglycaemia is a cause of axonal injury, *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2000;26(5): 448-453.
163. Barranco R, Bonsignore A, Ventura F. Immunohistochemistry in postmortem diagnosis of acute cerebral hypoxia and ischemia: A systematic review. *Medicine.* 2021;100(25):e26486.
164. Oemichen M, Meissner C, von Wurmb-Schwark N, Schwark T. Methodological approach to brain ischemia-hypoxia as a fundamental problem in forensic neuropathology. *Legal Med.* 2003;5:190–201.
165. Blumbergs PC, Reilly PL, Vink R. Trauma. In: Louis DN, Love S, Ellison DW, 8th ed. *Greenfield's Neuropathology.* London, CRC Press. 2008.p.318.
166. Bruggeman GF, Haitsma IK, Dirven CMF, Volovici V. Traumatic axonal injury (TAI): definitions, pathophysiology and imaging - narrative review. *Acta Neurochir (Wien).* 2021;163(1):31-44.
167. Shkrum MJ, Ramsay DA. *Forensic Pathology of Trauma: Common Problems for the Pathologists.* (1st ed.), Humana Press, Totowa New Jersey. 2007.pp.558-65.
168. Erb DE, Povlishock JT. Axonal damage in severe traumatic brain injury: an experimental study in cat. *Acta neuropathol.* 1988;76:347-58.
169. Manivannana S, Makwanaa M, Ahmed AI, Zaben M. Profiling biomarkers of traumatic axonal injury: From mouse to man. *Clin Neurol Neurosurg.* 2018;171:6-20.
170. Bertozzi G, Maglietta F, Sessa F, Scoto E, Cipolloni L, Di Mizio G, Salerno M, Pomara C. Traumatic Brain Injury: A Forensic Approach: A Literature Review. *Curr Neuropharmacol.* 2020;18(6):538-50.
171. James SL, Theadom A, Ellenbogen R, Bannick M, Mountjoy-Venning WC, Lucchesi L et al. Global, regional, and national burden of traumatic brain injury and spinal cord injury. *Lancet Neurol.* 2019;18:56–87.
172. Peterson AB, Xu L, Daugherty J, Breiding MJ. Surveillance Report of Traumatic Brain Injury-related Emergency Department Visits, Hospitalizations, and Deaths—United States, 2014. Centers for Disease Control and Prevention, U.S. Department of Health and Human Services. 2019. Available to: https://www.cdc.gov/traumaticbraininjury/pdf/TBI-Surveillance-Report-FINAL_508.pdf

173. Brazinova A, Rehorcikova V, Taylor MS, Buckova V, Majdan M, Psota M et al. Epidemiology of Traumatic Brain Injury in Europe: A Living Systematic Review. *J Neurotrauma*. 2021;38:1411–40.
174. Wilson BA, Winegardner J, van Heugten CM, Ownsworth T. *Neuropsychological Rehabilitation: The International Handbook*. London, Routledge. 2017;6:6.
175. Mollayeva T, Mollayeva S, Pacheco N, Colantonio A. Systematic Review of Sex and Gender Effects in Traumatic Brain Injury: Equity in Clinical and Functional Outcomes. *Front Neurol*. 2021;12:678971.
176. Jolly A, Bălăeț M, Azor A, Friedland D, Sandrone S, Graham N et al. Detecting axonal injury in individual patients after traumatic brain injury, *Brain*, 2021;144(1):92–113.
177. Javeed F, Rehman L, Afzal A, Abbas A. Outcome of diffuse axonal injury in moderate and severe traumatic brain injury. *Surg Neurol Int*. 2021;12:384.
178. Lee HJ, Sun HW, Lee JS, Choi NJ, Jung Yj, Hong S. Clinical Outcomes of Diffuse Axonal Injury According to Radiological Grade. *J Trauma Inj*. 2018;31(2):51-57.
179. Moe HK, Follestad T, Anđelić N, Haberg AK, Flusund AMH, Kvistad KA et al. Traumatic axonal injury on clinical MRI: association with the Glasgow Coma Scale score at scene of injury or at admission and prolonged posttraumatic amnesia. *J Neurosurg*. 2020;23:1-12.
180. Moe HK, Moen KG, Skandsen T, Kvistad KA, Laureys S, Håberg A, et al. The Influence of Traumatic Axonal Injury in Thalamus and Brainstem on Level of Consciousness at Scene or Admission: A Clinical Magnetic Resonance Imaging Study. *J Neurotrauma*. 2018; 35(7):975–84.
181. Li F, Li H, Xiao Z, Lu R, Zhang Z, Zhu H et al. A review on injury mechanism of intracerebral hemorrhage in vehicle accidents. *Curr Pharm Des*. 2017;23(15):2177-92.
182. Shin DS, Hwang SC. Neurocritical Management of Traumatic Acute Subdural Hematomas. *Korean J Neurotrauma*. 2020;16(2):113-125.
183. Aromatario M, Torsello A, D'Errico S, Bertozzi G, Sessa F, Cipolloni L et al. Traumatic Epidural and Subdural Hematoma: Epidemiology, Outcome, and Dating. *Medicina (Kaunas)*. 2021;57(2):125.
184. Griswold DP, Fernandez L, Rubiano A. Traumatic Subarachnoid Hemorrhage: A Scoping Review. *J Neurotrauma*. 2022;39(1-2):35-48.
185. Modi NJ, Agrawal M, Sinha VD. Post-traumatic subarachnoid hemorrhage: a review. *Neurol. India*. 2016;64(7):S8–S13.
186. Hashimoto T, Nakamura N, Ke R, Ra F. Traumatic intraventricular hemorrhage in severe head injury. *No Shinkei Geka*. 1992;20(3):209-15.

187. Li CY, Chuang CC, Chen CC, Tu PH, Wang YC, Yeap MC et al. The role of intraventricular hemorrhage in traumatic brain injury: A novel scoring system. *J Clin Med.* 2022;11(8):2127.
188. Shibahashi K, Sugiyama K, Okura Y, Hoda H, Hamabe Y. Intraventricular hemorrhage after head injury: A multicenter, retrospective, cohort study. *World Neurosurg.* 2018(114):e350-e355.
189. Griffin AD, Turtzo LC, Parikh GY, Tolpygo A, Lodato Z, Moses AD et al. Traumatic microbleeds suggest vascular injury and predict disability in traumatic brain injury. *Brain.* 2019;142(11):3550–64.
190. Algahtany MA. Extra-axial hematomas due to road traffic accidents and their outcome: a ten-year study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2022;26:120-9.
191. Kurland DB, Khaladj-Ghom A, Stokum JA, Carusillo B, Karimy JK, Gerzanich V et al. Complications associated with decompressive craniectomy: a systematic review. *Neurocrit Care.* 2015;23:292–304.
192. Wang JL, Jin GL, Yuan ZG. Artificial neural network predicts hemorrhagic contusions following decompressive craniotomy in traumatic brain injury. *J Neurosurg Sci.* 2021 Feb;65(1):69-74.
193. Carnevale JA, Segar DJ, Powers AY, Shah M, Doberstein C, Drapcho B et al. Blossoming contusions: identifying factors contributing to the expansion of traumatic intracerebral hemorrhage. *J Neurosurg.* 2018 Nov 1;129(5):1305-16.
194. Nasi D, di Somma L, Gladi M, Moriconi E, Scerrati M, Iacoangeli M et al. New or Blossoming Hemorrhagic Contusions After Decompressive Craniectomy in Traumatic Brain Injury: Analysis of Risk Factors. *Front. Neurol.* 2019 Jan 15;9:1186.
195. Sharma M, Mittal R, Sharma A, Gandhi A. Posttraumatic contusion: clinical and radiologic factors for progression in early postinjury period. *Indian J Neurotrauma.* 2016;13(1):1–6.
196. Kurland D, Hong C, Aarabi B, Gerzanich V, Simard JM. Hemorrhagic progression of a contusion after traumatic brain injury: a review. *J Neurotrauma.* 2012;29(1):19–31.
197. Juratli TA, Zang B, Litz RJ, Sitoci KH, Aschenbrenner U, Gottschlich B et al. Early hemorrhagic progression of traumatic brain contusions: frequency, correlation with coagulation disorders, and patient outcome: a prospective study. *J Neurotrauma.* 2014 Sep 1;31(17):1521-7.
198. Cepeda S, Gómez PA, Castaño-Leon AM, Martínez-Pérez R, Munarriz PM, Lagares A. Traumatic intracerebral hemorrhage: risk factors associated with progression. *J Neurotrauma.* 2015 Aug 15;32(16):1246-53.

199. Adatia K, Newcombe VFJ, Menon DK. Contusion progression following traumatic brain injury: a review of clinical and radiological predictors and influence on outcome. *Neurocrit Care*. 2021 Feb;34(1):312-24.
200. Babikian T, Freier MC, Tong KA, Nickerson JP, Wall CJ, Holshouser BA et al. Susceptibility weighted imaging: neuropsychologic outcome and pediatric head injury. *Pediatr neurol*. 2005;33(3):184-94.
201. Beauchamp MH, Beare R, Ditchfield M, Coleman L, Babl FE, Kean M et al. Susceptibility weighted imaging and its relationship to outcome after pediatric traumatic brain injury. *Cortex*. 2013;49(2):591-8.
202. Yuh EL, Mukherjee P, Lingsma HF, Jue JK, Ferguson AR, Gordon WA et al. Magnetic resonance imaging improves 3-month outcome prediction in mild traumatic brain injury. *Ann Neurol*. 2013;73:224–35.
203. Spitz G, Maller JJ, Ng A, O'Sullivan R, Ferris NJ, Ponsford JL. Detecting lesions after traumatic brain injury using susceptibility weighted imaging: a comparison with fluidattenuated inversion recovery and correlation with clinical outcome. *J Neurotrauma*. 2013;30:2038–50.
204. van der Horn HJ, de Haan S, Spikman JM, de Groot JC, van der Naalt J. Clinical relevance of microhemorrhagic lesions in subacute mild traumatic brain injury. *Brain Imaging Behav*. 2018;12:912–6.
205. de Haan S, de Groot JC, Jacobs B, van der Naalt J. The association between microhaemorrhages and post-traumatic functional outcome in the chronic phase after mild traumatic brain injury. *Neuroradiology*. 2017;59:963–9.
206. Toth A, Kornyei B, Kovacs N, Rostas T, Buki A, Doczi T et al. Both hemorrhagic and non-hemorrhagic traumatic MRI lesions are associated with the microstructural damage of the normal appearing white matter. *Behav Brain Res*. 2018;340:106–16.
207. Ungvari Z, Tarantini S, Kirkpatrick AC, Csiszar A, Prodan CI. Cerebral microhemorrhages: mechanisms, consequences, and prevention. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2017;312(6):H1128–h43.
208. Ding J, Sigurdsson S, Jonsson PV, Eiriksdottir G, Meirelles O, Kjartansson O et al. Space and location of cerebral microbleeds, cognitive decline, and dementia in the community. *Neurology*. 2017;88(22):2089–97.
209. Freitas-Rodriguez S, Folgueras AR, Lopez-Otin C. The role of matrix metalloproteinases in aging: Tissue remodeling and beyond. *Biochim Biophys Acta. Mol Cell Res*. 2017;1864(11 Pt A):2015–25.

210. Tarantini S, Giles CB, Wren JD, Ashpole NM, Valcarcel-AresMN, Wei JY et al. IGF-1 deficiency in a critical period early in life influences the vascular aging phenotype in mice by altering miRNA-mediated post-transcriptional gene regulation: implications for the developmental origins of health and disease hypothesis. *AGE*. 2016;38(4):239–58.
211. Stray-Pedersen A, Strisland F, Rognum TO, Schiks LAH, Loeve AJ. Violent Infant Surrogate Shaking: Continuous High-Magnitude Centripetal Force and Abrupt Shift in Tangential Acceleration May Explain High Risk of Subdural Hemorrhage. *Neurotrauma Rep*. 2021;2(1):224-31.
212. Cicuendez M, Castaño-León A, Ramos A, Hilario A, Gómez PA, Lagares A. The added prognostic value of magnetic resonance imaging in traumatic brain injury: The importance of traumatic axonal injury when performing ordinal logistic regression. *J Neuroradiol*. 2019;46(5):299-306.
213. Palmieri M, Frati A, Santoro A, Frati P, Fineschi V, Pesce A. Diffuse axonal injury: clinical prognostic factors, molecular experimental Models and the Impact of the Trauma Related Oxidative Stress. An Extensive Review Concerning Milestones and Advances. *Int. J Mol Sci*. 2021;22:10865.
214. Cicuendez M, Castaño-León A, Ramos A, Hilario A, Gómez PA, Lagares A. Magnetic resonance in traumatic brain injury: a comparative study of the different conventional magnetic resonance imaging sequences and their diagnostic value in diffuse axonal injury. *Neurocirugia (Astur)* 2017;28:266–75.
215. Hellstrøm T, Westlye LT, Kaufmann T, Trung Doan N, Sjøberg HL, Sigurdardottir S et al. White matter microstructure is associated with functional, cognitive and emotional symptoms 12 months after mild traumatic brain injury. *Sci Rep*. 2017;7:13795.
216. Davceva N, Sivevski A, Basheska N. Traumatic axonal injury - a clinical - pathological correlation. *J Forensic Leg Med*. 2017;48:35-40.
217. Finnie JW. Forensic pathology of traumatic brain injury. *Vet pathol*. 2016;53(5):962-78.
218. Chung SW, Park YS, Nam TK, Kwon JT, Min BK, Hwang SN. Locations and clinical significance of non-hemorrhagic brain lesions in diffuse axonal injuries. *J Korean Neurosurg Soc*. 2012;52(4):377-83.
219. Sandhu S, Soule E, Fiester P, Natter P, Tavanaiepour D, Rahmathulla G et al. Brainstem diffuse axonal injury and consciousness. *J Clin Imaging Sci*. 2019;9:32.
220. Mata-Mbemba D, Mugikura S, Nakagawa A, Murata T, Ishii K, Kushimoto S et al. Traumatic midline subarachnoid hemorrhage on initial computed tomography as a marker of severe diffuse axonal injury. *J Neurosurg*. 2018;129(5):1317-24.

221. Kummer TT, Magnoni S, MacDonald CL, Dikranian K, Milner E, Sorrell J et al. Experimental subarachnoid haemorrhage results in multifocal axonal injury. *Brain*. 2015;138(Pt 9):2608-18.
222. Guarnizo A, Chung HS, Chakraborty S. Subcallosal haemorrhage as a sign of diffuse axonal injury in patients with traumatic brain injury. *Clin Radiol*. 2021;76(3):237.e15-237.e21.
223. Mata-Mbemba D, Mugikura S, Nakagawa A, Murata T, Kato Y, Tatewaki Y et al. Intraventricular hemorrhage on initial computed tomography as marker of diffuse axonal injury after traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 2015;32(5):359-65.
224. Matsukawa H, Shinoda M, Fujii M, Takahashi O, Murakata A, Yamamoto D et al. Intraventricular hemorrhage on computed tomography and corpus callosum injury on magnetic resonance imaging in patients with isolated blunt traumatic brain injury. *J Neurosurg*. 2012;117(2):334-9.
225. Studerus-Germann AM, Gautschi OP, Bontempi P, Thiran JP, Daducci A, Romascano D et al. Central nervous system microbleeds in the acute phase are associated with structural integrity by DTI one year after mild traumatic brain injury: a longitudinal study. *Neurol Neurochir Pol* 2018 Nov-Dec;52(6):710-9.
226. Irimia A, Van Horn JD, Vespa PM. Cerebral microhemorrhages due to traumatic brain injury and their effects on the aging human brain. *Neurobiol Aging*. 2018;66:158–64.
227. Glushakova OY, Johnson D, Hayes RL. Delayed increases in microvascular pathology after experimental traumatic brain injury are associated with prolonged inflammation, blood-brain barrier disruption, and progressive white matter damage. *J Neurotrauma*. 2014;31(13):1180-93.
228. de Haan S, de Groot JC, Jacobs B, van der Naalt J. The association between microhaemorrhages and post - traumatic functional outcome in the chronic phase after mild traumatic brain injury. *Neuroradiology*. 2017;59(10):963–9.
229. Fabri M, Pierpaoli C, Barbaresi P, Polonara G. Functional topography of the corpus callosum investigated by DTI and fMRI. *World J Radiol*. 2014;6(12):895-906.
230. Shah A, Jhavar S, Goel A, Goel A. Corpus callosum and its connections: A fiber dissection study. *World Neurosurg*. 2021;151:e1024-e1035.
231. Shulte T, Müller-Oehring E. Contribution of Callosal Connections to the Interhemispheric Integration of Visuomotor and Cognitive Processes. *Neuropsychol Rev*. 2010;20(2):174–90.
232. Fitsiori A, Nguyen D, Karentzos A, Delavelle J, Vargas MI. The corpus callosum: white matter or terra incognita. *Br J Radiol*. 2011;84(997):5-18.

233. Ubukata S, Ueda K, Sugihara G, Yassin W, Aso T, Fukuyama H et al. Corpus callosum pathology as a potential surrogate marker of cognitive impairment in diffuse axonal injury. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 2016;28(2):97–103.
234. Rutgers DR, Fillard P, Paradot G, Tadie M, Lasjaunias P, Ducreux D. Diffusion tensor imaging characteristics of the corpus callosum in mild, moderate, and severe traumatic brain injury. *Am J Neuroradiol*. 2008;29(9):1730-5.
235. Mazwi NL, Izzy S, Tan CO, Martinez S, Glenn MB, Giacino JT et al. Traumatic microbleeds in the hippocampus and corpus callosum predict duration of posttraumatic amnesia. *J Head Trauma Rehabil*. 2019;34(6):E10-E18.
236. Hofer S, Frahm J. Topography of the human corpus callosum revisited—Comprehensive fiber tractography using diffusion tensor magnetic resonance imaging. *Neuroimage*. 2006;32(3):989-94.
237. Gu Y, Jukkola P, Wang Q, Esparza T, Zhao Y, Brody D et al. Polarity of varicosity initiation in central neuron mechanosensation. *J Cell Biol*. 2017;216:2179-99.
238. Ziogas NK, Koliatsos VE. Primary traumatic axonopathy in mice subjected to impact acceleration: a reappraisal of pathology and mechanisms with high-resolution anatomical methods. *J Neurosci*. 2018;38:4031-47.
239. Weber MT, Arena JD, Xiao R, Wolf JA, Johnson VE. CLARITY reveals a more protracted temporal course of axon swelling and disconnection than previously described following traumatic brain injury. *Brain Pathol*. 2019;29:437-50.
240. Hoshino S, Kobayashi S, Furukawa T, Asakura T, Teramoto A. Multiple immunostaining methods to detect traumatic axonal injury in the rat fluid-percussion brain injury model. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 2003;43(4):165-73.
241. Blumbergs PC, Scott G, Manavis J, Wainwright H, Simpson DA, McLean AJ. Topography of axonal injury as defined by amyloid precursor protein and the sector scoring method in mild and severe closed head injury. *J Neurotrauma*. 1995 Aug;12(4):565-72.
242. Lewis SB, Finnie JW, Blumbergs PC, Scott G, Manavis J, Brown C et al. A head impact model of early axonal injury in the sheep. *J Neurotrauma*. 1996;13(9):505-14.
243. Gorrie C, Oakes S, Duflou J, Blumbergs P, Waite P. Axonal injury in children after motor vehicle crashes: extent, distribution, and size of axonal swellings using beta-APP immunohistochemistry. *J Neurotrauma*. 2002;19(10):1171-82.
244. Otsuka N, Tomonaga M, Ikeda K. Rapid appearance of beta-amyloid precursor protein immunoreactivity in damaged axons and reactive glial cells in rat brain following needle stab injury. *Brain Res*. 1991;568(1-2):335-8.

245. Stone JR, Okonkwo DO, Dialo AO, Rubin DG, Mutlu LK, Povlishock JT et al. Impaired axonal transport and altered axolemmal permeability occur in distinct populations of damaged axons following traumatic brain injury. *Exp Neurol.* 2004;190(1):59-69.
246. Pinchi E, Frati A, Cipolloni L, Aromatario M, Gatto V, La Russa R et al. Clinical-pathological study on β -APP, IL-1 β , GFAP, NFL, Spectrin II, 8OHdG, TUNEL, miR-21, miR-16, miR-92 expressions to verify DAI-diagnosis, grade and prognosis. *Sci Rep.* 2018;8(1):2387.
247. Hunea I, Riscanu L, Girlescu N, Diac M, Knieling A, David S et al. Clinical-Pathological Study on Expressions β -APP, GFAP, NFL, Spectrin II, CD68 to Verify Diffuse Axonal Injury Diagnosis, Grade and Survival Interval. *Appl Sci.* 2022;12(7):3638.
248. Van den Heuvel C, Blumbergs PS, Finnie W, Manavis J, Jones NR, Reilly PL et al. Upregulation of amyloid precursor protein messenger RNA in response to traumatic brain injury; an ovine head impact model. *Exp Neurol.* 1999;159:441-50.
249. Iino M, Nakatome M, Ogura Y, Fujimura H, Kuroki H, Inoue H et al. Real-time PCR quantitation of FE65 a beta-amyloid precursor protein-binding protein after traumatic brain injury in rats. *Int J Legal Med.* 2003;117(3):153-9.
250. Stone JR, Singleton RH, Povlishock JT. Antibodies to the C-terminus of the beta-amyloid precursor protein (APP): a site specific marker for the detection of traumatic axonal injury. *Brain Res.* 2000; 21;871(2):288-302.
251. Viancour TA, Kreiter NA. Vesicular fast axonal transport rates in young and old rat axons. *Brain Res.* 1993;628:209-17.
252. Angelova P, Kehayov I, Davarski A, Kitov B. Contemporary insight into diffuse axonal injury. *Folia Med (Plovdiv).* 2021;63(2):163-70.

Овај Образац чини саставни део докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта који се брани на Универзитету у Новом Саду. Попуњен Образац укорицити иза текста докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта.

План третмана података

Назив пројекта/истраживања
Постмортална имунохистохемијска дијагностика дифузне аксонске лезије у случајевима краниocereбралног повређивања
Назив институције/институција у оквиру којих се спроводи истраживање
а) Завод за судску медицину Републике Српске у Бањалуци б) Центар за судску медицину, токсикологију и молекуларну генетику, Клиничког центра Војводине у Новом Саду.
Назив програма у оквиру ког се реализује истраживање
Докторске академске студије – Клиничка истраживања
1. Опис података
<p>1.1 Врста студије</p> <p>Проспективна студија на постморталном материјалу (мозговима) настрадалих и умрлих у акцелерацијско-децелерацијским механизмима тупе краниocereбралне трауме.</p> <hr/>
<p>1.2 Врсте података</p> <p>а) <u>квантитативни</u></p> <p>б) <u>квалитативни</u></p>
<p>1.3. Начин прикупљања података</p> <p>а) анкете, упитници, тестови</p> <p>б) <u>клиничке процене, медицински записи, електронски здравствени записи</u></p> <p>в) генотипови: навести врсту _____</p>

г) административни подаци: навести врсту _____

д) узорци ткива: навести врсту: мождано ткиво

ђ) снимци, фотографије: навести врсту микрофотографије патохистолошки припремљених и обрађених исечака можданог ткива

е) текст, навести врсту - литературни наводи

ж) мапа, навести врсту _____

з) остало: описати _____

1.3 Формат података, употребљене скале, количина података

1.3.1 Употребљени софтвер и формат датотеке:

а) Excel фајл, датотека .xlsx

б) SPSS фајл, датотека .sav

в) PDF фајл, датотека .pdf

г) Текст фајл, датотека .docx

д) JPG фајл, датотека .jpg

е) Остало, датотека _____

1.3.2. Број записа (код квантитативних података)

а) број варијабли велики број варијабли

б) број мерења (испитаника, процена, снимака и сл.) по 4 узорка из укупно 36 испитаника

1.3.3. Поновљена мерења

а) да

б) не

Уколико је одговор да, одговорити на следећа питања:

а) временски размак између поновљених мера је _____

б) варијабле које се више пута мере односе се на _____

в) нове верзије фајлова који садрже поновљена мерења су именоване као _____

Напомене: _____

Да ли формати и софтвер омогућавају дељење и дугорочну валидност података?

а) Да

б) Не

Ако је одговор не, образложити _____

2. Прикупљање података

2.1 Методологија за прикупљање/генерисање података

2.1.1. У оквиру ког истраживачког нацрта су подаци прикупљени?

а) експеримент, навести тип _____

б) корелационо истраживање, навести тип – проспективно корелационо истраживање на материјалу прикупљеном током одабраних рутинских судскомедицинских обдукција

ц) анализа текста, навести тип прикупљање литературних података

д) остало, навести шта _____

2.1.2 Навести врсте мерних инструмената или стандарде података специфичних за одређену научну дисциплину (ако постоје).

1. патохистолошка анализа (Х&Е и βАПП имунобојење) исјечака одабраних локализација можданог ткива.

2.2 Квалитет података и стандарди

2.2.1. Третман недостајућих података

а) Да ли матрица садржи недостајуће податке? Да Не

Ако је одговор да, одговорити на следећа питања:

- а) Колики је број недостајућих података? _____
 - б) Да ли се кориснику матрице препоручује замена недостајућих података? Да Не
 - в) Ако је одговор да, навести сугестије за третман замене недостајућих података
-

2.2.2. На који начин је контролисан квалитет података? Описати

Добијени подаци у овом истраживању резултат су клиничког истраживања. Поступак обраде података дефинисан је одговарајућим стандардом/техничком регулативом или релевантном стручном литературом. Квалитет клиничких резултата је контролисан у складу са стандардима добре клиничке праксе. Поузданост добијених клиничких података обезбјеђен је пажљивим бирањем одговарајућег броја узорака тако да се при обради резултата могу примјенити статистичке методе.

2.2.3. На који начин је извршена контрола уноса података у матрицу?

Контрола уноса података вршена је вишеструким личним провјеравањима и независном провјером од стране сарадника и ментора.

3. Третман података и пратећа документација

3.1. Третман и чување података

3.1.1. *Подаци ће бити депоновани у репозиторијуму Докторских дисертација Универзитета у Новом Саду*

3.1.2. *URL адреса <https://cris.uns.ac.rs/searchDissertations.jsf>*

3.1.3.

DOI

3.1.4. *Да ли ће подаци бити у отвореном приступу?*

- а) *Да (публиковањем резултата добијених током истраживања)*

б) Да, али после ембарга који ће трајати до _____

в) Не

Ако је одговор не, навести разлог _____

3.1.5. Подаци неће бити депоновани у репозиторијум, али ће бити чувани.

Образложење

3.2 Метаподаци и документација података

3.2.1. Који стандард за метаподатке ће бити примењен?

3.2.1. Навести метаподатке на основу којих су подаци депоновани у репозиторијум.

Ако је потребно, навести методе које се користе за преузимање података, аналитичке и процедуралне информације, њихово кодирање, детаљне описе варијабли, записа итд.

3.3 Стратегија и стандарди за чување података

3.3.1. До ког периода ће подаци бити чувани у репозиторијуму? Трајно

3.3.2. Да ли ће подаци бити депоновани под шифром? Да Не

3.3.3. Да ли ће шифра бити доступна одређеном кругу истраживача? Да Не

3.3.4. Да ли се подаци морају уклонити из отвореног приступа после извесног времена?

Да Не

Образложити

4. Безбедност података и заштита поверљивих информација

Овај одељак МОРА бити попуњен ако ваши подаци укључују личне податке који се односе на учеснике у истраживању. За друга истраживања треба такође размотрити заштиту и сигурност података.

4.1 Формални стандарди за сигурност информација/података

Истраживачи који спроводе испитивања с људима морају да се придржавају Закона о заштити података о личности (https://www.paragraf.rs/propisi/zakon_o_zastiti_podataka_o_licnosti.html) и одговарајућег институционалног кодекса о академском интегритету.

4.1.2. Да ли је истраживање одобрено од стране етичке комисије? Да Не

Ако је одговор Да, навести датум и назив етичке комисије која је одобрила истраживање
18.12.2020. Етичка комисија Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду,
23.04.2021. Етички одбор Клиничког центра Војводине у Новом Саду

4.1.2. Да ли подаци укључују личне податке учесника у истраживању? Да Не

Ако је одговор да, наведите на који начин сте осигурали поверљивост и сигурност информација везаних за испитанике:

- a) Подаци нису у отвореном приступу
- b) Подаци су анонимизирани
- ц) Остало, навести шта

5. Доступност података

5.1. Подаци ће бити

- a) јавно доступни
- b) *доступни само уском кругу истраживача у одређеној научној области*
- ц) *затворени*

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести под којим условима могу да их користе:

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести на који начин могу приступити подацима:

5.4. Навести лиценцу под којом ће прикупљени подаци бити архивирани.

Ауторство –некомерцијално - дијелити под истим условима.

6. Улоге и одговорност

6.1. Навести име и презиме и мејл адресу власника (аутора) података

Далибор Недић, danedic@gmail.com

6.2. Навести име и презиме и мејл адресу особе која одржава матрицу с подацима

Далибор Недић, danedic@gmail.com

6.3. Навести име и презиме и мејл адресу особе која омогућује приступ подацима другим истраживачима

Далибор Недић, danedic@gmail.com