

**ΕΤΗΣΙΕΣ ΣΥΝΔΡΟΜΕΣ
ΠΕΡΙΟΔΙΚΟΥ
"THE HJM - ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ ΕΠΙΘΕΩΡΗΣΗ -
HELLENIC JOURNAL
OF MEDICINE "**



**ΟΙ ΕΤΗΣΙΕΣ ΣΥΝΔΡΟΜΕΣ ΤΟΥ ΠΕΡΙΟΔΙΚΟΥ "HJM -
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ ΕΠΙΘΕΩΡΗΣΗ - HELLENIC JOURNAL
OF MEDICINE" ΓΙΑ 4 ΤΕΥΧΗ ΤΟ ΕΤΟΣ, ΕΙΝΑΙ ΓΙΑ ΙΑΤΡΟΥΣ
40 ΕΥΡΩ ΚΑΙ ΓΙΑ ΙΔΡΥΜΑΤΑ - ΕΤΑΙΡΙΕΣ 130 ΕΥΡΩ.**

**ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΜΠΟΡΕΙΤΕ ΝΑ ΛΑΒΕΤΕ ΤΗΛΕΦΩΝΙΚΩΣ
ΣΤΟΥΣ ΑΡΙΘΜΟΥΣ ΤΗΛΕΦΩΝΩΝ: 210 8980461 - 697 2090020
ΕΙΤΕ ΜΕΣΩ**

e m a i l : m e d i c i n e @ v e g a c o m . g r

thehjm

Hellenic Journal
of Medicine

Ελληνική Ιατρική
Επιθεώρηση

Τριμηνιαίο Ιατρικό Περιοδικό

Αναγνωρισμένο από το Υπουργείο Υγείας και το ΚΕ.Σ.Υ - Κεντρικό Συμβούλιο Υγείας,
Αριθμός Πρωτοκόλλου ΔΥ2α / Γ.Π. 36548, Φύλλο Εφημερίδας Κυβερνήσεως - Φ.Ε.Κ. 546: 07/05/2003
Τροποποίηση της Α3α / 10651 / 05-11-1991

Ιδρυτής - Ιδιοκτήτης - Εκδότης: Δημήτριος Ι. Γκρίλλας

Τηλ.: 210 8980461, 697 2090020

url: [http:// www.vegacom.gr](http://www.vegacom.gr)

email: medicine@vegacom.gr, hjm@vegacom.gr

Εκδίδεται από την Εταιρία:

"VEGA E.C.M. Εκδοτική, Διαφημιστική, Εκθεσιακή, Μονοπρόσωπη Ε.Π.Ε."

Ιδρυτής - Ιδιοκτήτης - Πρόεδρος Δ.Σ.: Δημήτριος Ι. Γκρίλλας

Διεύθυνση Συντάξεως Ύλης :

Συντακτική Επιτροπή Πανεπιστημιακών Καθηγητών Ιατρικών Σχολών.

Έδρα Εταιρίας: Ιουστινιανού 45-47, Γλυφάδα, Αιξωνή, 166 74

Founder - Owner - Publisher: Dimitrios I. Gkrillas

Founder - Owner - Chairman & CEO at "VEGA E.C.M. LTD"

Editorial Directors : Editorial Board of University Medical Schools Professors .

www.vegacom.gr - email: chairman@vegacom.gr

45 - 47, Ioustinianou Str. 166 74, Glyfada, Aixoni, Hellas.

Tel.: + 30 210 8980461, 697 2090020

ΒΟΗΘΟΙ ΣΥΝΤΑΞΕΩΣ ΠΕΡΙΟΔΙΚΟΥ ΤΗΕ ΗJΜ

Υπεύθυνη Επικοινωνίας Περιοδικού Ανθή Παναγιώτη Αδαμοπούλου (Αθήνα) email: adamopoulou@vegacom.gr, Τηλ.: 210 8980461
Βιβλιογραφική Ενημέρωση - Ανασκόπηση Διεθνούς Ιατρικού Τύπου Ιωάννης Γκουγκουρέλας (Επιμελητής Β΄, Παθολογική Κλινική Γ.Ν.Θ. «Άγιος Δημήτριος» Επιμέλεια Σελίδας Συνεδρίων Αποστολοπούλου Μάρθα (Επιμελήτρια Β΄ ΕΣΥ, Θεσ/νίκη) Επιμέλεια Επαγγελματικών Θεμάτων Κωτούλας Σόλων (Ελεύθ. Επαγγελματίας, Τρίκαλα) Επιμέλεια Θεμάτων Συναφών Ειδικοτήτων Κανέλλος Ηλίας (Ειδ. Καρδιολογίας, Θεσ/νίκη)

Εκτύπωση-Βιβλιοδεσία Pressious Αρβανιτίδης ΑΒΕΕ

Τιμή Τεύχους 1 λεπτό € - 1Eurocent ΕΤΗΣΙΕΣ ΣΥΝΔΡΟΜΕΣ: Ιατροί 40€, Φοιτητές Ιατρικής 30€, Ιδρύματα - Εταιρείες 130€, Συνδρομές εξωτερικού 130€

Παλαιότερα τεύχη του περιοδικού "Η J M" καθώς και δημοσιευμένα Γραπτά Συμπόσια Ιατρικής μπορείτε να δείτε στην ιστοσελίδα της εταιρίας "VEGA E.C.M. Ε.Π.Ε.": www.vegacom.gr στην Ενότητα: Εκδόσεις - Συνέδρια.

ΑΠΑΓΟΡΕΥΕΤΑΙ η αναδημοσίευση, η αναπαραγωγή, ολική ή μερική ή περιληπτική ή κατά παράφραση ή διασκευή απόδοση του περιεχομένου του περιοδικού Η J M με οποιονδήποτε τρόπο, μηχανικό, ηλεκτρονικό, φωτοτυπικό, ηχογράφησης ή άλλο, χωρίς προηγούμενη γραπτή άδεια του Εκδότη. Νόμος 2121/1993 και Κανόνες Διεθνούς Δικαίου που ισχύουν στην Ελλάδα.

©2023 Hellenic Journal of Medicine. All rights reserved. Nothing appearing in Hellenic J Med may be reprinted, reproduced or transmitted, either wholly or in part, by any electronic or mechanical means, without prior written permission from the publisher. Hellenic J Med®Registered in the GR Patent and Trademark Office.

ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ EDITORIAL BOARD

Αλφαβητικώς / Alphabetically

Αλεξανδρίδης Θεόδωρος

Καθηγητής Παθολογίας - Ενδοκρινολογίας Ιατρικής Σχολής
Πανεπιστημίου Πατρών, Πάτρα

Γαρύφαλλος Αλέξανδρος - Αναστάσιος

Καθηγητής Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Κρήτης,
Ηράκλειο Κρήτης

Γώγος Χαράλαμπος

Καθηγητής Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Πατρών,
Πάτρα

Δημόπουλος Μελέτιος - Αθανάσιος

Καθηγητής Θεραπευτικής Ιατρικής Σχολής Εθνικού και
Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής
Πανεπιστημίου Αθηνών, Πρύτανης Εθνικού και Καποδιστριακού
Πανεπιστημίου Αθηνών, Αθήνα

Ζεμπεκάκης Παντελής

Καθηγητής Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Αριστοτελείου Πανεπιστημίου
Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

Ηλιοδρομίτης Ευστάθιος

Καθηγητής Παθολογίας Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου
Αθηνών, Αθήνα

Kantartzis Konstantinos

MD Department of Internal Medicine Division of Endocrinology,
Diabetology Nephrology, Vascular Disease and Clinical Chemistry,
University of Tübingen, Germany

Κολιάκος Γεώργιος

Καθηγητής Βιοχημείας Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης,
Θεσσαλονίκη

Μαλτέζος Ευστράτιος

Καθηγητής Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Δημοκριτείου Πανεπιστημίου
Θράκης, Αλεξανδρούπολη

Mantzoros Christos

MD DSc PhD h.c. Editor in Chief, Metabolism, Clinical and
Experimental Professor of Medicine, Harvard Medical School,
Cambridge, U.S.A.

Μπλώνης Χαράλαμπος

Καθηγητής Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων,
Ιωάννινα

Bakris George

MD, F.A.S.H., F.A.S.N. Professor of Medicine Director, ASH
Comprehensive Hypertension Center The University of Chicago
Medicine, Chicago, U.S.A.

Μπούρα Παναγιώτα

Καθηγήτρια Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Αριστοτελείου
Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

Ντουράκης Π. Σπυρίδων

Καθηγητής Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Εθνικού και Καποδιστριακού
Πανεπιστημίου Αθηνών, Αθήνα

Παπάζογλου Δημήτριος

Καθηγητής Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Δημοκριτείου Πανεπιστημίου
Θράκης, Αλεξανδρούπολη

Παπάνας Νικόλαος

Καθηγητής Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Δημοκριτείου Πανεπιστημίου
Θράκης, Αλεξανδρούπολη

Παπανδρέου Χρήστος

Καθηγητής Παθολογίας - Ογκολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου
Θεσσαλίας, Λάρισα

Spyridopoulos Ioakim

Professor of Cardiology Chairman of Cardiovascular Gerontology,
Institute of Genetic Medicine, Newcastle University, Newcastle,
United Kingdom

Συρίγος Ν. Κωνσταντίνος

Καθηγητής Παθολογίας - Ογκολογίας Ιατρικής Σχολής Εθνικού και
Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, Αθήνα

Tsakiris A. Dimitrios

Professor of Medicine, MD, Diagnostic Hematology University
Hospital Basel, Switzerland

Τσάπας Απόστολος

Καθηγητής Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Αριστοτελείου Πανεπιστημίου
Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

Χατζητόλιος Απόστολος

Καθηγητής Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Αριστοτελείου Πανεπιστημίου
Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

thehjm

thehjm

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ ΕΠΙΘΕΩΡΗΣΗ • HELLENIC JOURNAL OF MEDICINE

**ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΗ ΤΗΣ ΤΑΧΥΔΡΟΜΙΚΗΣ
ΔΙΕΥΘΥΝΣΕΩΣ ΤΩΝ ΣΥΝΔΡΟΜΗΤΩΝ
ΤΟΥ ΠΕΡΙΟΔΙΚΟΥ**

**"ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ ΕΠΙΘΕΩΡΗΣΗ -
HELLENIC JOURNAL OF MEDICINE -
THE HJM"**

ΠΑΡΑΚΑΛΟΥΝΤΑΙ ΟΙ ΠΑΡΑΛΗΠΤΕΣ ΤΟΥ ΠΕΡΙΟΔΙΚΟΥ

**ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ ΕΠΙΘΕΩΡΗΣΗ
HJM - HELLENIC JOURNAL OF MEDICINE**

ΜΟΛΙΣ ΤΟ ΠΑΡΑΛΑΒΟΥΝ, ΝΑ ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΟΥΝ
ΣΤΟ **email: medicine@vegacom.gr**
ΤΗΝ ΤΑΧΥΔΡΟΜΙΚΗ ΤΟΥΣ ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΚΑΘΩΣ ΚΑΙ
ΟΤΙ ΕΠΙΘΥΜΟΥΝ ΝΑ ΣΥΝΕΧΙΣΟΥΝ ΝΑ ΛΑΜΒΑΝΟΥΝ ΤΟ
ΠΕΡΙΟΔΙΚΟ ΣΤΗΝ ΕΝΤΥΠΗ ΜΟΡΦΗ ΤΟΥ.

τ.139
ΙΟΥΛΙΟΣ-ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ
2023

- 110 – 114 **Εγκεφαλίτιδα οφειλόμενη στον ιο του Δυτικού Νείλου:
Μια όχι τόσο σπάνια κλινική οντότητα**
Τσουμάνη Κωνσταντίνα
- 115 – 126 **Βιοδείκτες σε Εγκεφαλικά Συμβάματα**
Ρίζος Δημήτριος
- 127 – 136 **Ασθενείς με αυξημένη ενδοκρανία πίεση
μετά απο ΚΕΚ-ΑΕΕ και μελέτη
προγνωστικών παραγόντων έκβασης**
Υγροπούλου Όλγα
- 137– 149 **Diet & Nutrition:
Toxicological and pharmacokinetic properties
of sucralose-6-acetate and its parent sucralose:
in vitro screening assays (Part A)**
Susan S. Schiffman
- 150 – 151 **Ανασκόπηση Διεθνούς Ιατρικού Τύπου**
Γκουγκουρέλας Ιωάννης
- 152 **Προσεχή Συνέδρια**

η.139
JULY-SEPTEMBER
2023

- 110 – 114 **West Nile virus-attributed encephalitis:
A not so rare clinical entity**
Tsoumani Konstantina,
- 115 – 126 **Biomarkers in Cerebral Events**
Dimitrios Rizos
- 127 – 136 **Patients with increased intracranial pressure
and study of prognosiss factors**
Olga Ygropoulou
- 137– 149 **Diet & Nutrition:
Toxicological and pharmacokinetic properties
of sucralose-6-acetate and its parent sucralose:
in vitro screening assays (Part A)**
Susan S. Schiffman
- 150 – 151 **International Medicine Review**
Gourelas Ioannis
- 152 **Upcoming Conferences**

CONTENTS

ΑΡΘΡΑ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗΣ

Εγκεφαλίτιδα οφειλόμενη στον ιό του Δυτικού Νείλου: Μια όχι τόσο σπάνια κλινική οντότητα



Τσουμάνη Κωνσταντίνα

Τσουμάνη Κωνσταντίνα, Μαντζούκης Σταύρος, Μπάκας Κωνσταντίνος, Μαρίνα Γερασίμου, Ελένη Κοσμά, Λεπίδα Δήμητρα, Υγροπούλου Όλγα, Ρίζος Δημήτριος, Μουσαφίρη Ουρανία

Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων Γ. Χατζηκώστα, Ιωάννινα

Υπεύθυνη αλληλογραφίας

Τσουμάνη Κωνσταντίνα

Στρατηγού Μαρκυγιάννη 1, Ιωάννινα, Τ.Κ. 45500

Τηλ. επικοινωνίας: +30 2651080811

email: tsoumanit@gmail.com

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο ιός του Δυτικού Νείλου είναι ένας ιός RNA. Ο πιο συνηθισμένος τρόπος μετάδοσης στον άνθρωπο είναι μέσω του τσιμπήματος ενός μολυσμένου κουνουπιού. Τα περισσότερα περιστατικά είναι ασυμπτωματικά. Περίπου 1 έως 150 άτομα που μολύνονται παρουσιάζουν τη σοβαρή μορφή της νόσου με προσβολή στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Το συγκεκριμένο περιστατικό αφορά άνδρα 69 ετών με ιστορικό αρτηριακής υπέρτασης και αδιευκρίνιστο ιστορικό νόσου του συνδετικού ιστού, ο οποίος μεταφέρθηκε στο τμήμα επειγόντων περιστατικών του Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων "Γ.Χατζηκώστα", λόγω πυρετού που ξεκίνησε εντός ωρών με ρίγος και μυαλγίες. Κατά την κλινική εξέταση ο ασθενής παρουσίασε υποξυγοναιμία. Πραγματοποιήθηκε αξονική τομογραφία θώρακος χωρίς παθολογικά ευρήματα. Οι καλλιέργειες αίματος ήταν αρνητικές καθώς και τα τεστ ούρων για Legionella και Pneumococcus. Ο ανοσολογικός έλεγχος, ο υπερηχοκαρδιογραφικός έλεγχος και η αξονική τομογραφία κοιλίας δεν αποκάλυψαν παθολογικά ευρήματα. Ο ασθενής εμφάνισε πονοκέφαλο και υπνηλία. Υποβλήθηκε σε οσφυονωτιαία παρακέντηση η οποία αποκάλυψε 25 κύτταρα λεμφοκυτταρικού τύπου. Ο βιοχημικός έλεγχος του νωτιαίου υγρού αποκάλυψε αυξημένες τιμές πρωτεΐνης ενώ τα τεστ PCR ήταν αρνητικά. Ο ασθενής παρουσίασε έντονη σύγχυση και ανικανότητα να ανυψώσει πλήρως τα άνω και κάτω άκρα με φυσιολογικά αντανακλαστικά και μυϊκή δύναμη. Η αξονική τομογραφία εγκεφάλου αποκάλυψε μικροσχηματικού τύπου βλάβες. Την έκτη ημέρα, ο ασθενής εμφάνισε σπαστικότητα, δυσκαμψία αυχένα, μη λεκτική επικοινωνία και σπασμούς αυχενικών και μαστηρίων μυών. Ο ασθενής διασωληνώθηκε και μεταφέρθηκε στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας. Η εξέταση του ορού για αντισώματα κατά του ιού του Δυτικού Νείλου ήταν θετική. Πραγματοποιήθηκε με επιτυχία η σταδιακή αφύπνιση του ασθενούς και ο απογαλακτισμός από τον αναπνευστήρα. Παρουσίασε εξαιρετικό επίπεδο επικοινωνίας αλλά παρουσίασε δυσκολία στην ανύψωση του αριστερού άνω άκρου και του δεξιού κάτω άκρου. Η επαγρύπνηση για τον ιό του Δυτικού Νείλου είναι σημαντική ιδιαίτερα τους καλοκαιρινούς μήνες καθώς ορισμένες εκδηλώσεις όπως η εγκεφαλίτιδα μπορεί να έχουν άσχημη πορεία σε αντίθεση με την περίπτωση μας.

Λέξεις-κλειδιά: Ιός Δυτικού Νείλου, εγκεφαλίτιδα

West Nile virus-attributed encephalitis: A not so rare clinical entity

Tsoumani Konstantina, Mantzoukis Stavros, Mpakas Konstantinos, Gerasimou Marina, Kosma Eleni, Lepida Dimitra, Ygropoulou Olga, Rizos Dimitrios, Mousafiri Ourania

Intensive Care Unit, General Hospital of Ioannina G. Hatzikosta, Ioannina

SUMMARY

West Nile virus is an RNA virus. The most common mode of transmission to humans is through the bite of an infected mosquito. The majority of cases are asymptomatic. About 1 to 150 people who become infected presents the severe form of the disease with an attack on the central nervous system. We report on a 69 years old man with a medical history of arterial hypertension and an unclear history of connective tissue disease, who was transported to the emergency department of the General Hospital of Ioannina "G.Hatzikosta", due to fever started within hours, chills and myalgias. During the clinical examination, the patient presented hypoxxygenemia. A chest CT was performed without pathological findings. Blood cultures were negative as well as urine tests for Legionella and Pneumoniococcus. Immunologic testing, echocardiographic testing, and abdominal CT imaging did not reveal any abnormal findings. The patient developed headache and drowsiness. He underwent a lumbar puncture which revealed 25 cells of lymphocytic type. The biochemical control of the cerebrospinal fluid revealed increased protein values while PCR tests were negative. The patient showed a strongly confused state and inability to fully erect the upper and lower limbs with normal reflexes and muscle power. CT brain revealed micro-ischemic-type lesions. On the sixth day, the patient showed spasticity, neck stiffness, non-verbal communication and spasms of cervical and masticatory muscles. The patient was intubated and transferred to the Intensive Care Unit. A serum test for antibodies against the West Nile virus was positive. A gradual awakening of the patient and weaning from the ventilator were successfully performed. He presented an excellent level of communication but he showed difficulty raising the left upper limb and the right lower limb. Vigilance for West Nile virus is important especially in the summer months as some manifestations such as encephalitis can have a bad course unlike our case.

Key words: West Nile virus, encephalitis

Εισαγωγή

Ο ιός του Δυτικού Νείλου είναι ένας RNA ιός που ανήκει στην οικογένεια Flaviviridae (γένος Flavivirus), η οποία περιλαμβάνει και άλλα ανθρώπινα παθογόνα όπως τους ιούς του Δάγκειου πυρετού, του κίτρινου πυρετού και της Ιαπωνικής εγκεφαλίτιδας.^{1,2} Η επιδημιολογία του ιού του Δυτικού Νείλου αλλάζει διαρκώς. Απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1937 στο αίμα ασθενούς με πυρετό στην περιοχή του Δυτικού Νείλου της Ουγκάντα. Ανθρώπινες λοιμώξεις έχουν αναφερθεί σε πολλές χώρες του κόσμου για περισσότερα από 50 χρόνια. Το 1999 ένα στέλεχος του ιού του Δυτικού Νείλου, που κυκλοφορούσε στο Ισραήλ και στην Τυνησία,

εισήχθη στη Νέα Υόρκη και προκάλεσε ένα μεγάλο ξέσπασμα που εξαπλώθηκε στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής (1999-2010) τονίζοντας πως η εισαγωγή και η μετάδοση παθογόνων που μεταδίδονται από φορείς εκτός του τρέχοντος οικοτόπου τους αποτελούν σοβαρό κίνδυνο για τον κόσμο.³ Τα περισσότερα κρούσματα σημειώθηκαν στην Ελλάδα, το Ισραήλ, τη Ρουμανία, τη Ρωσία και τις ΗΠΑ. Οι τοποθεσίες εστίας βρίσκονται σε κύριες μεταναστευτικές διαδρομές πτηνών.³ Ο πιο συχνός τρόπος μετάδοσης στον άνθρωπο είναι μέσω τσιμπήματος από μολυσμένο κουνούπι, τα οποία μολύνονται όταν τρέφονται από μολυσμένα πουλιά. Στη συνέχεια, τα μολυσμένα κουνούπια μεταδίδουν τον ιό

του Δυτικού Νείλου σε ανθρώπους και άλλα ζώα δαγκώνοντάς τα. Σε πολύ μικρό αριθμό περιστατικών, ο ιός μπορεί να μεταδοθεί έπειτα από έκθεση σε εργαστηριακό περιβάλλον, μετά από μετάγγιση αίματος ή μεταμόσχευση οργάνων, από μητέρα σε μωρό κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης, του τοκετού ή του θηλασμού. Έως και σήμερα δεν έχει τεκμηριωθεί καμία μετάδοση του ιού του Δυτικού Νείλου από άνθρωπο σε άνθρωπο μέσω περιστασιακής επαφής.³ Είναι δύσκολο να προσδιορίσουμε με ακρίβεια τον χρόνο επώασης του ιού του Δυτικού Νείλου στους ανθρώπους (χρόνος από την στιγμή του τσιμπήματος/μόλυνσης έως την εμφάνιση συμπτωμάτων) αλλά υπολογίζεται περίπου στις 2 έως 15 ημέρες.^{4,5} Το μεγαλύτερο ποσοστό των περιπτώσεων (>80%) είναι ασυμπτωματικό. Τα περιστατικά με συμπτώματα είναι συνήθως μέτριας βαρύτητας, αυτοπεριοριζόμενα και με παρουσία εμπυρέτου. Η ήπια μορφή της νόσου εμφανίζεται περίπου στο 20% των περιστατικών και χαρακτηρίζεται από πυρετό, γενικευμένη αδυναμία και καταβολή, πονοκέφαλο, μυαλγίες και αρθραλγίες ενώ μπορούν να εμφανισθούν συμπτώματα από το γαστρεντερικό σύστημα (όπως ναυτία, εμετός, κοιλιακό άλγος, διάρροιας), δερματικό εξάνθημα (κηλιδοβλατιδώδες) και λεμφαδενοπάθεια. Περίπου 1 στα 150 άτομα που μολύνονται, παρουσιάζει την σοβαρή μορφή της νόσου με προσβολή του κεντρικού νευρικού συστήματος (εγκεφαλίτιδα, μηνιγγίτιδα ή οξεία παράλυση) και συμπτώματα όπως πονοκέφαλο, πυρετό, αυχενική δυσκαμψία, διαταραχές του επιπέδου συνείδησης (απάθεια, λήθαργο, αποπροσανατολισμό, σύγχυση, κώμα), σπασμούς, σοβαρή μυϊκή αδυναμία, διαταραχές βάδισης και κινητικότητας.^{4,5}

Περιγραφή περίπτωσης

Άνδρας, 69 ετών, πρώην καπνιστής, με ιατρικό ιστορικό αρτηριακής υπέρτασης (υπό φαρμακευτική αγωγή με σαρτάνη) και ασαφές ιστορικό νοσήματος συνδετικού ιστού (για το οποίο ο ασθενής έλαβε υδροξυχλωροκίνη για 6 μήνες) διακομίζεται με το ΕΚΑΒ από Κέντρο Υγείας, όπου είχε προσέλθει δύο φορές λόγω εμπυρέτου ενάρξεως από ωρών και μη υφιόμενο με τη λήψη αντιπυρετικών, στο τμήμα επειγόντων περιστατικών του Γ.Ν. Ιωαννίνων "Γ.Χατζηκώστα". Ο ασθενής ανέφερε συνοδό ρίγος και μυαλγίες. Κατά την κλινική εξέταση παρουσίαζε υποξυγοναιμία με SPO₂ :91% το οποίο επιβεβαιώθηκε και από τα αέρια αίματος όπου παρουσιάζει pO₂ 60 mmHg. Διενεργείται αξονική τομογραφία θώρακος και αγγειογραφία πνευμονικών αρτηριών η οποία δεν ανέδειξε εμφανή ελλείμματα πλή-

ρωσης συμβατά με παρουσία ενδοαυλικών θρόμβων, ανεδείχθη διάταση του κώνου της πνευμονικής αρτηρίας (μέγιστο εύρος 3.8cm), ανευρυσματική διάταση της ανιούσας θωρακικής αορτής (μέγιστη τιμή 4.7 cm), εμφυσηματικού τύπου αλλοιώσεις (κυρίως στο κορυφαίο τμήμα του δεξιού κάτω λοβού όπου συνυπάρχουν και βρογχιεκτασικού τύπου αλλοιώσεις) και γραμμοειδείς ινωδοατελεκτατικές αλλοιώσεις κάτω λοβών. Ο ασθενής εισήχθη στη Παθολογική Κλινική για περαιτέρω διερεύνηση και αντιμετώπιση. Ετέθη αρχικά υπό αντιβιοτική αγωγή αντιμετώπισης πιθανής λοίμωξης αναπνευστικού με κεφτριαξόνη και αζιθρομυκίνη. Λόγω εμπυρέτου ελήφθησαν καλλιέργειες αίματος η οποία ανέδειξε *S. epidermidis* ενώ η καλλιέργεια ούρων δεν απομόνωσε παθογόνο μικροοργανισμό. Εστάλη εξέταση για παρουσία αντιγόνου για λεγιονέλλα και στρεπτόκοκκο στα ούρα, που ήταν αρνητικά. Η PCR για τον ιό SarsCov2 ήταν αρνητική. Εστάλη έλεγχος με EBV-CMV-Toxoplasma, έλεγχος ηπτιτίδων και HIV τα οποία ήταν αρνητικά. Ο έλεγχος των θυρεοειδικών ορμονών ήταν φυσιολογικός και οι τιμές των καρκινικών δεικτών ήταν εντός φυσιολογικών επιπέδων. Οι εξετάσεις Wright και Rose-Bengal ήταν αρνητικές ενώ η τιμή της προκαλσιτονίνης ήταν ήπια αυξημένη (PCT : 0.85). Εστάλη ανοσολογικός έλεγχος όπου ο ρευματοειδής παράγοντας ήταν αρνητικός η τιμή του C4 μειωμένη (τιμή 60.1 με αναφερόμενη φυσιολογική τιμή 79-152 mg/dl). Κατά την διάρκεια της νοσηλείας διενεργήθηκε σπιρομέτρηση η οποία ανέδειξε ήπιου προς μέτριου βαθμού διαταραχές αερισμού μικτού τύπου (κυρίως αποφρακτικού τύπου) καθώς και καρδιολογική εκτίμηση και υπέρηχος καρδιάς χωρίς να αναδείξουν ιδιαίτερα παθολογικά ευρήματα. Διενεργήθηκε Mantoux η οποία ήταν αρνητική. Διενεργήθηκαν υπέρηχος κοιλίας χωρίς να αναδείξει παθολογικά ευρήματα, καθώς και αξονική τομογραφία κοιλίας που ανέδειξε ήπια πάχυνση των σκελών του αριστερού επινεφριδίου και μικρούς λεμφαδένες (έως 1.5cm) στον οπισθοπεριτοναϊκό χώρο.

Ο ασθενής παρουσίασε πυρετική κίνηση καθημερινά, έως 40° C. Την τέταρτη ημέρα νοσηλείας και λόγω εμμένοντος εμπυρέτου, έγινε τροποποίηση της αντιβιοτικής αγωγής και τέθηκε δοξυκυκλίνη και μεροπενέμη. Την πέμπτη ημέρα νοσηλείας ο ασθενής εμφάνισε κεφαλαλγία και ήπια υπνηλία. Υποβλήθηκε σε οσφυονωτιαία παρακέντηση που ανέδειξε 25 κύτταρα με λεμφοκυτταρικό τύπο και καλλιέργεια με Gram χρώση ουδέν. Ο βιοχημικός έλεγχος του εγκεφαλονωτιαίου υγρού ανέδειξε αυξημένες τιμές πρωτεϊνών (πρωτεΐνες 72), γλυκόζη 96, LDH 19 και ο ασθενής τέθηκε σε

αγωγή και με ακυκλοβίρη. Εστάλη PCR του ENY η οποία ήταν αρνητική για παθογόνους μικροοργανισμούς. Τις βραδινές ώρες της ίδιας ημέρας, ο ασθενής εμφάνισε έντονα συγχητική κατάσταση, με κεφαλαλγία, τρόμο και αδυναμία πλήρους έγερσης των άνω και κάτω άκρων, με φυσιολογικά αντανακλαστικά και μυϊκή ισχύ. Διενεργήθηκε αξονική τομογραφία εγκεφάλου που ανέδειξε μικροισχαιμικού τύπου αλλοιώσεις (κυρίως δεξιά), χωρίς λοιπά ιδιαίτερα παθολογικά ευρήματα. Έγινε έναρξη δεξαμεθαζόνης. Οι εξετάσεις αίματος την πέμπτη ημέρα νοσηλείας ανέδειξαν διαταραχές της ηπατικής βιοχημείας (τρανσαμινασαιμία), αύξηση τιμής TRG και CK καθώς και υψηλή τιμή φερριτίνης (15.096, με αναφερόμενες φυσιολογικές τιμές μεταξύ 20 και 300 ng/ml). Την έκτη ημέρα νοσηλείας, ο ασθενής εμφάνισε σπαστικότητα, διεγερτικότητα με παρουσία αυξημένων αντανακλαστικών. Διενεργήθηκε νευρολογική εκτίμηση όπου παρατηρήθηκε αυχενική δυσκαμψία, μη λεκτική επικοινωνία και σπασμοί τραχηλικών και μασητήριων μυών (κυρίως στη διάνοιξη του στόματος). Κρίθηκε απαραίτητη η διασωλήνωση του ασθενούς και έπειτα μεταφέρθηκε στη ΜΕΘ Γ.Ν. Ιωαννίνων "Γ.Χατζηκώστα".

Κατά την διάρκεια της νοσηλείας στη ΜΕΘ, ο ασθενής δεν παρουσίασε επεισόδια εμπυρέτου. Την πρώτη ημέρα νοσηλείας στη ΜΕΘ, διενεργήθηκε MRI εγκεφάλου η οποία ανέδειξε βλάβες μικροαγγειοπάθειας, ήπια διεύρυνση του κοιλιακού συστήματος και του υπαραχνοειδούς χώρου (κυρίως στο επίπεδο του κυρτού και αμφιμετωπιαία) ως επί βαθμού ατροφίας και εικόνα κύστης από κατακράτηση στον αριστερό μετωπιαίο κόλπο και έτερης στο αριστερό διαμέρισμα του σφηνοειδούς κόλπου με πρωτεϊνικό/βλεννώδες περιεχόμενο. Την ίδια ημέρα εστάλη σε δείγμα ορού προς εξέταση για παρουσία αντισωμάτων έναντι του ιού του Δυτικού Νείλου. Την δεύτερη ημέρα νοσηλείας στη ΜΕΘ έγινε έναρξη σταδιακής αφύπνισης του ασθενούς και σταδιακού απογαλακτισμού από τον αναπνευστήρα και την τρίτη ημέρα νοσηλείας στη ΜΕΘ ο ασθενής αποσωληνώθηκε επιτυχώς. Παρουσίασε άριστο επίπεδο επικοινωνίας, χωρίς να αναφέρει κεφαλαλγία. Κατά την κλινική εξέταση παρουσίαζε δυσκολία έγερσης του αριστερού άνω άκρου και του δεξιού κάτω άκρου. Ο ασθενής όντας σταθερός αιμοδυναμικά αλλά και αναπνευστικά, μεταφέρθηκε μετά από συνολικά πέντε ημέρες νοσηλείας στη ΜΕΘ, στη Παθολογική κλινική του Γ.Ν. Ιωαννίνων "Γ.Χατζηκώστα" για περαιτέρω νοσηλεία. Κατά την διάρκεια της νοσηλείας στη Παθολογική κλινική, ελήφθησαν τα αποτελέσματα της εξέτασης για τον ιό του Δυτικού Νείλου τα οποία ήταν

θετικά (θετικά IgM έναντι WNM στον ορό). Ο ασθενής διεκομίσθηκε στη νευρολογική κλινική του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων για περαιτέρω υποστήριξη και αντιμετώπιση.

Συζήτηση

Η νόσος του Δυτικού Νείλου αποτελεί σοβαρή απειλή για την δημόσια υγεία, ιδιαίτερα όσον αφορά τους ανοσοκατεσταλμένους και τους ηλικιωμένους. Ο ιός παραμένει σε ενζωτικό κύκλο μεταξύ των κουνουπιών και των πουλιών, με ανθρώπους και άλλα θηλαστικά ως παρεπόμενους ξενιστές. Έχουν αναφερθεί παγκοσμίως περιστατικά σε πάνω από 50 χώρες. Η πλειοψηφία των ανθρώπινων λοιμώξεων είναι ασυμπτωματική. Ωστόσο, οι κλινικές εκδηλώσεις μπορούν να κυμαίνονται από σχετικά ήπια εμπύρετη ασθένεια έως πολύ σοβαρές νευρολογικές οντότητες όπως η οξεία χαλαρή παράλυση και η εγκεφαλίτιδα.^{5,6} Ασθενείς με εγκεφαλίτιδα που οφείλεται στον ιό του Δυτικού Νείλου παρουσιάζουν, συνήθως, σοβαρή κεφαλαλγία, τρόμο (κυρίως στα άνω άκρα), διαταραχές συνείδησης, εμπύρετο, μυοκλονίες κυρίως στα άνω άκρα και στους μύς του προσώπου. Η παράλυση που σχετίζεται με τον ιό του Δυτικού Νείλου, συνήθως προκύπτει από την καταστροφή των κυττάρων των προσθίων κεράτων του νωτιαίου μυελού. Η ασύμμετρη αδυναμία συνήθως αναπτύσσεται γρήγορα (εντός των πρώτων 48 ωρών μετά την έναρξη των συμπτωμάτων). Μπορεί να εμφανιστεί κεντρική αδυναμία του προσώπου, συνήθως αμφοτερόπλευρη. Μπορεί να προκύψει αναπνευστική ανεπάρκεια που απαιτεί επείγουσα ενδοτραχειακή διασωλήνωση, από παράλυση του διαφραγματικού και του μεσοπλεύριου μύος.^{5,6} Η αισθητηριακή απώλεια γενικά απουσιάζει αν και ορισμένοι ασθενείς μπορεί να αναφέρουν έντονο πόνο στα προσβεβλημένα άκρα ακριβώς πριν ή κατά την έναρξη της αδυναμίας. Άλλες αιτίες αδυναμίας έπειτα από μόλυνση από τον ιό του Δυτικού Νείλου αποτελούν το σύνδρομο Guillain-Barre', η αξονική πολυνευροπάθεια και άλλες απομυελινωτικές νευροπάθειες.⁵ Η έκβαση της εγκεφαλίτιδας από τον ιό του Δυτικού Νείλου είναι ποικίλη και μπορεί να μην σχετίζεται με την σοβαρότητα της αρχικής ασθένειας. Ασθενείς που νοσηλεύονται με εγκεφαλίτιδα από τον ιό του Δυτικού Νείλου απαιτούν βοήθεια στις καθημερινές δραστηριότητές τους μετά το εξιτήριο από το νοσοκομείο και συχνά αναφέρουν λειτουργικές και γνωστικές δυσκολίες για έως και ένα έτος από την μόλυνση.⁵

Μία αποτελεσματική διάγνωση του ιού του Δυτικού Νείλου απαιτεί την λήψη λεπτομερούς ιστορικού,

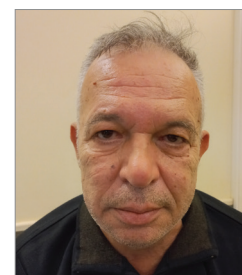
συμπεριλαμβανομένης της πιθανής έκθεσης σε μολυσμένα κουνούπια, καθώς και ευαίσθητες ορολογικές και ιολογικές εξετάσεις. Τέλος, να αναφερθεί πως δεν υπάρχουν προφυλακτικά ή θεραπευτικά μέτρα για την καταπολέμηση των ασθενειών που προκαλούνται από τον ιό του Δυτικού Νείλου.^{5,6}

Βιβλιογραφία

1. Gould EA, Solomon T. Pathogenic flaviviruses. *Lancet* 2008; 371(9611):500–9.
2. Lindenbach BD, Rice CM. Flaviviridae: the viruses and their replication. In: Knipe, HP., editor. *Fields Virology*. Lippincott, Williams, & Wilkins; Philadelphia: 2001. p. 991-1041.
3. World Health Organization. West Nile virus (www.who.int)
4. ΚΕΕΛΠΝΟ-Ιός του Δυτικού Νείλου. <https://eody.gov.gr/disease/ios-toy-dytikoy-neiloy>.
5. Petersen L, Brault A, Nasci R. West Nile Virus: Review of the Literature. *JAMA* 2013; 310(3): 308-315.
6. Rossi S, Ross T, Evans J. West Nile Virus. *Clin Lab Med*. 2010; 30(1): 47–65.

Βιοδείκτες σε Εγκεφαλικά Συμβάματα

Δημήτριος Ρίζος ¹, Σταύρος Μαντζούκας ², Μαρίνα Γερασίμου ³,
Όλγα Υγροπούλου ⁴, Σπυρίδων Βασάκος ⁵, Κωνσταντίνος Μπάκας ⁶,
Γεώργιος Αλεξίου ⁷, Σπυρίδων Βούλγαρης ⁸



Ρίζος Δημήτριος

¹ Καρδιολόγος – Εντατικολόγος, Διευθυντής ΕΣΥ, Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων Γ. Χατζηκώστα, Ιωάννινα

² Καρδιολόγος, Επιμελητής Β' ΕΣΥ, Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων Γ. Χατζηκώστα, Ιωάννινα

³ Ιατρός Βιοπαθολόγος

⁴ Αναισθησιολόγος – Εντατικολόγος, Επιμελήτρια Α' ΕΣΥ, Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων Γ. Χατζηκώστα, Ιωάννινα

⁵ Βιοχημικός, Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων Γ. Χατζηκώστα, Ιωάννινα

⁶ Καρδιολόγος, Επιμελητής Β' ΕΣΥ, Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων Γ. Χατζηκώστα, Ιωάννινα

⁷ Αναπληρωτής Καθηγητής Νευροχειρουργικής, Νευροχειρουργική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων

⁸ Καθηγητής Νευροχειρουργικής, Νευροχειρουργική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων

Υπεύθυνος αλληλογραφίας

Ρίζος Δημήτριος

Στρατηγού Μακρυγιάννη 1, Ιωάννινα, Τ.Κ. 45500

Τηλ. επικοινωνίας: +30 2651080345

email: d.rizos@uoi.gr

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Τα εγκεφαλικά συμβάματα είναι αρκετά συχνά και σχετίζονται με αυξημένη θνητότητα και σημαντικό βαθμό αναπηρίας. Ένας κύριος στόχος της αντιμετώπισης αυτών των ασθενών είναι αντιμετώπιση της ενδοκράνιας υπέρτασης με στόχο την βελτίωση της έκβασης. Ο σκοπός της μελέτης είναι να απομονωθούν παράγοντες και να συσχετιστούν με την δυναμική απάντηση του εγκεφάλου στα μέσα θεραπείας για την μείωση της ενδοκράνιας πίεσης. Ως μέτρο εκτίμησης της δυναμικής απάντησης του εγκεφάλου στις θεραπείες που εφαρμόστηκαν ορίστηκε η έκβαση των ασθενών δηλαδή έξοδος από την ΜΕΘ ή θάνατος τον ασθενών.

Μεθοδολογία: Πρόκειται για μία αναδρομική μελέτη που διεξήχθη στην ΜΕΘ του Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων Γ Χατζηκώστα στην διετία 2011- 2012. Δείγμα της μελέτης αποτέλεσαν ασθενείς που νοσηλεύτηκαν με εγκεφαλικά συμβάματα, αγγειακό εγκεφαλικό ή κρανιοεγκεφαλική κάκωση (ΚΕΚ). Κατά την εισαγωγή μετρήθηκαν οι εξής παράμετροι: S100, IL6 και PCT, η θερμοκρασία εισαγωγής καθώς και εργαστηριακοί βιοχημικοί δείκτες (γλυκόζη εισαγωγής) αιματολογικοί (λευκά αιμοσφαίρια, αιμοσφαιρίνη) καθώς και ο πηκτικός έλεγχος (PTAPTTINR ινωδογόνο) των ασθενών. Όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε νευροαπεικονιστική εξέταση του εγκεφάλου (CT). Πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση προκειμένου να διερευνηθεί η συσχέτιση αυτών των παραγόντων με την έκβαση των ασθενών.

Αποτελέσματα: Συνολικά στην μελέτη συμπεριελήφθησαν 29 ασθενείς. Με βάση τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης, σε ασθενείς οι οποίοι εισάγονται στην ΜΕΘ με παθολογία από τον εγκέ-

φαλο η πρωτεΐνη εισαγωγής S100 συσχετίζεται ισχυρά με την έκβαση των ασθενών. Υπάρχει επίσης συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων S100 και γλυκόζης εισαγωγής. Δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ των υπόλοιπων παραγόντων που μελετήθηκαν και τις έκβασης των ασθενών.

Συμπεράσματα: Σε ασθενείς οι οποίοι εισάγονται στην ΜΕΘ με παθολογία από τον εγκέφαλο η πρωτεΐνη εισαγωγής S100 (εντός 6 ωρών από το συμβάν) συσχετίζεται ισχυρά με την έκβαση των ασθενών. Υπάρχει επίσης συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων S100 και γλυκόζης εισαγωγής. Οι μετρήσεις της S100 μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως προγνωστικός δείκτης σε ασθενείς με εγκεφαλικά συμβάματα που νοσηλεύονται σε γενική ΜΕΘ. Θα πρέπει να αναφερθεί ότι στην μελέτη μας υπήρχαν δύο περιορισμοί. Πρώτον, το δείγμα της μελέτης μας είναι μικρό. Είναι ανάγκη να υπάρξουν μελέτες με μεγαλύτερα δείγματα ασθενών για να επιβεβαιωθούν τα αποτελέσματα μας. Ένας δεύτερος περιορισμός είναι το ότι δεν υπάρχει σε αρκετούς ασθενείς δεύτερο δείγμα λόγω είτε μικρής νοσηλείας είτε λόγω τεχνικών προβλημάτων. Προφανώς απαιτούνται περισσότερες μελέτες σε μεγαλύτερα δείγματα ασθενών για να αποσαφηνιστεί η πιθανή προγνωστική αξία της πρωτεΐνης S100 σε ασθενείς με εγκεφαλικά συμβάματα

Λέξεις-κλειδιά: εγκεφαλικά συμβάματα, έκβαση, πρωτεΐνη S100

Biomarkers in Cerebral Events

Dimitrios Rizos¹, Stavros Mantzoukis², Marina Gerasimou³, Olga Ygropoulou⁴,
Spyridon Vasakos⁵, Konstantinos Bakas⁶, Georgios Alexiou⁷, Spyridon Voulgaris⁸

¹ Cardiologist – Intensivist, Senior Consultant, Intensive Care Unit, General Hospital of Ioannina G. Chatzikosta, Ioannina

² Cardiologist, Consultant, General Hospital of Ioannina G. Chatzikosta, Ioannina

³ Medical Biopathologist

⁴ Anesthesiologist - Intensivist, Senior Consultant, Intensive Care Unit, General Hospital of Ioannina G. Chatzikosta, Ioannina

⁵ Biochemist, General Hospital of Ioannina G. Chatzikosta, Ioannina

⁶ Cardiologist, Consultant, Intensive Care Unit, General Hospital of Ioannina G. Chatzikosta, Ioannina

⁷ Associate Professor of Neurosurgery, Neurosurgery Clinic, University General Hospital of Ioannina

⁸ Professor of Neurosurgery, Neurosurgery Clinic, University General Hospital of Ioannina

SUMMARY

Introduction: Cerebral events are frequent and are associated with increased mortality and a significant degree of disability. A main goal of treating these patients is to treat intracranial hypertension with the aim of improving outcome. The purpose of the study is to isolate factors and correlate them with the brain's dynamic response to intracranial pressure lowering agents. As a measure to assess the dynamic response of the brain to the applied treatments, the outcome of the patients was defined, i.e. leaving the ICU or death of the patients.

Methods: This is a retrospective study that was conducted in the ICU of the General Hospital of Ioannina G Hatzikosta in the two years 2011-2012. The sample of the study was patients who were hospitalized with cerebral events, cerebrovascular accident or traumatic brain injury (CBI). During admission, the following parameters were measured: S100, IL6 and PCT, admission temperature as well as laboratory biochemical indicators (admission glucose), hematological (white blood cells, hemoglobin) and coagulation control (PT,APTT, INR, fibrinogen) of the patients. All patients underwent brain neuroimaging (CT). Statistical analysis was performed to investigate the association of these factors with patient outcome.

Results: A total of 29 patients were included in the study. Based on the results of statistical analysis, in patients who are admitted to the ICU with pathology from the brain, S100 admission protein is strongly correlated with patient outcome. There is also a correlation between S100 levels and glucose intake. No correlation was found between the remaining factors studied and patient outcomes.

Conclusions: In patients admitted to the ICU with pathology from the brain S100 admission protein (within 6 hours of the event) is strongly associated with patient outcome. There is also a correlation between S100 levels and glucose intake. S100 measurements can be used as a prognostic indicator in stroke patients admitted to a general ICU. It should be mentioned that there were two limitations in our study. First, our study sample was small. There is a need for studies with larger patient samples to confirm our results. A second limitation is that several patients do not have a second sample due to either a short hospital stay or technical problems. Obviously, more studies in larger patient samples are needed to elucidate the potential prognostic value of S100 protein in stroke patients

Key words: stroke events, outcome, ptoein S100

Εισαγωγή

Τα εγκεφαλικά συμβάματα είναι αρκετά συχνά και σχετίζονται με αυξημένη θνητότητα και σημαντικό βαθμό αναπηρίας. Ένας κύριος στόχος της αντιμετώπισης αυτών των ασθενών είναι αντιμετώπιση της ενδοκράνιας υπέρτασης με στόχο την βελτίωση της έκβασης. Ο σκοπός της μελέτης είναι να απομονωθούν παράγοντες και να συσχετιστούν με την δυναμική απάντηση του εγκεφάλου στα μέσα θεραπείας για την μείωση της ενδοκράνιας πίεσης. Ως μέτρο εκτίμησης της δυναμικής απάντησης του εγκεφάλου στις θεραπείες που εφαρμόστηκαν ορίστηκε η έκβαση των ασθενών δηλαδή έξοδος από την ΜΕΘ ή θάνατος των ασθενών. Η διεξαγωγή της μελέτης εγκρίθηκε από το Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων.

Μέθοδοι

Πρόκειται για μία αναδρομική μελέτη που διεξήχθη στην ΜΕΘ του Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων Γ Χατζηκώστα στην διετία 2011- 2012, η οποία διαθέτει έξι κλίνες, εφημερεύει καθόλη την διάρκεια του μήνα και είναι πολυδύναμη. Σε ένα σύνολο 339 εισαγωγών στην ΜΕΘ κατά το διάστημα της μελέτης 62 ασθενείς είχαν εγκεφαλικά συμβάματα, αγγειακό εγκεφαλικό ή κρανιοεγκεφαλική

κάκωση (ΚΕΚ) και αποτέλεσαν το αρχικό δείγμα της μελέτης.

Τα κριτήρια εξαίρεσης ήταν:

- 1) η συνύπαρξη εξωκρανιακού τραυματισμού ή άλλης πάθησης που θα μπορούσε να επηρεάσει τα αποτελέσματα στις μετρήσεις των δειγμάτων μας
- 2) ασθενείς με κλίμακα Γλασκώβης > 8
- 3) ασθενείς μετά από αναπυυχθείσα ανακοπή λόγω συχνής συνύπαρξης και άλλων παθήσεων και
- 4) ασθενείς που εισήχθησαν στην ΜΕΘ πάνω από 6 ώρες μετά το αρχικό συμβάν

Όταν ένας ασθενής εισάγεται στην ΜΕΘ λαμβάνεται ένα πλήρες ιατρικό ιστορικό και πλήρης σειρά εξετάσεων. Κατά την εισαγωγή μετρήθηκαν οι εξής παράμετροι: S100, IL6 και PCT, η θερμοκρασία εισαγωγής καθώς και εργαστηριακοί βιοχημικοί δείκτες (γλυκόζη εισαγωγής) αιματολογικοί (λευκά αιμοσφαίρια, αιμοσφαιρίνη) καθώς και ο πηκτικός έλεγχος (PTAPTTINR ινωδογόνο) των ασθενών.

Οι IL-6 και S-100 και PCT προσδιορίστηκαν στον αναλυτή cobas e411 της Roche Diagnostics με την μέθοδο της ανοσοδοκιμασίας ηλεκτροχημικής φωταύγειας (ElecSysS100B®; Roche Diagnostics, Penzberg, Γερμανία).

Οι εξετάσεις πραγματοποιήθηκαν από προσωπικό κατόπιν εκπαίδευσης και πιστοποίησης από την εταιρεία ROCHE.(Εικόνα 1)

Χαρακτηριστικά των μετρήσεων

IL-6

Εύρος μέτρησης

1.5-5000 pg/mL (οριζόμενο από το κατώτατο όριο ανίχνευσης και το ανώτατο σημείο της πρότυπης καμπύλης). Οι τιμές που είναι χαμηλότερες από το κατώτατο όριο ανίχνευσης δίδονται ως < 1.5 pg/mL. Οι τιμές που είναι υψηλότερες από το εύρος μέτρησης δίδονται ως > 5000 pg/mL (ή έως και 50000 pg/mL για δείγματα αραιωμένα κατά 10 φορές).

Κατώτατο όριο ανίχνευσης: περίπου 1.5 pg/mL

Τιμές αναφοράς

Σε μια μελέτη με χρήση της μεθόδου Elecsys IL-6 σε δείγματα από 817 φαινομενικά υγιή άτομα καθορίστηκε εύρος αναφοράς έως και 7 pg/mL (95ο εκατοστημόριο).¹

Αναπαραγωγικότητα

- Σε συγκέντρωση μέσης τιμής 17,3 pg/ml >> CV 6,0 %
- Σε συγκέντρωση μέσης τιμής 117 pg/ml >> CV 2,5%
- Σε συγκέντρωση μέσης τιμής 891 pg/ml >> CV 2,65%
- Ενδιάμεση επαναληψιμότητα
- Σε συγκέντρωση μέσης τιμής 17,3 pg/ml >> CV 8,5 %
- Σε συγκέντρωση μέσης τιμής 117 pg/ml >> CV 3,2%
- Σε συγκέντρωση μέσης τιμής 891 pg/ml >> CV 2,9%

S-100

Εύρος μέτρησης

0.005-39 μg/L (οριζόμενο από το κατώτατο όριο ανίχνευσης και το ανώτατο σημείο της πρότυπης καμπύλης). Οι τιμές που είναι χαμηλότερες από το κατώτατο όριο ανίχνευσης δίδονται ως < 0.005 μg/L. Οι τιμές που είναι υψηλότερες από το εύρος μέτρησης δίδονται ως > 39 μg/L.

Αναπαραγωγικότητα

- Σε συγκέντρωση μέσης τιμής 0,084 μg/L >> CV 1,5 %
- Σε συγκέντρωση μέσης τιμής 117 μg/L >> CV 2,1%
- Σε συγκέντρωση μέσης τιμής 891 μg/L >> CV 2,3%
- Ενδιάμεση επαναληψιμότητα
- Σε συγκέντρωση μέσης τιμής 0,084 μg/L >> CV 4,4 %
- Σε συγκέντρωση μέσης τιμής 117 μg/L >> CV 5,3%
- Σε συγκέντρωση μέσης τιμής 891 μg/L >> CV 5,6%TA.

PCTElecsys

- Εύρος μέτρησης 0.02-100 ng/mL
- Analytical sensitivity β□€ 0.02 ng/mL
- Functional sensitivity β□€ 0.06 ng/mL
- Intra-assay CV < 0.01 ng/mL 7-9%
- >> 1.0 ng/mL 2%
- >> 10 ng/mL 1-2%
- > Inter-assay CV < 0.01 ng/mL 9-16%
- < 1.0 ng/mL 3-4%

Όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε νευροαπεικονιστική εξέταση του εγκεφάλου (CT). Τα απεικονιστικά ευρήματα από την CT εγκεφάλου περιελάμβαναν υποσκληρίδιο ή επισκληρίδιο αιμάτωμα, θλάσεις, ενδοεγκεφαλική αιμορραγία υπαραχνοειδή αιμορραγία, διάχυτο ή περιεσσιακό οίδημα, μετατόπιση μέσης γραμμής και τέλος παρουσία κατάγματος κρανίου.

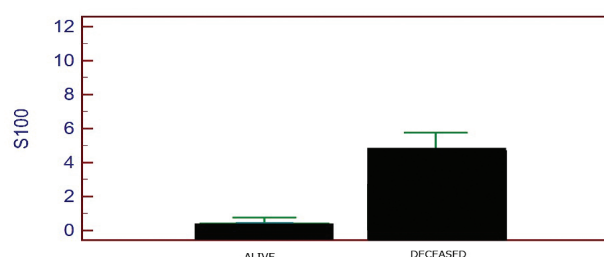
Αποτελέσματα

Στη μελέτη πήραν μέρος τελικά 29 ασθενείς (19 άνδρες, 10 γυναίκες, μέση ηλικία 65.7±7.2 έτη). Από ΑΕΕ έπασχαν 17 ασθενείς και 12 από ΚΕΚ. Ο μέσος χρόνος παραμονής στη ΜΕΘ ήταν 12.2±10.7 μέρες.

S100

Μελετώντας συνολικά τον πληθυσμό των 29 ασθενών, η μέση τιμή S100 ήταν 1.55 με σταθερά απόκλιση ±2.6. Οι ασθενείς με ΑΕΕ είχαν υψηλότερες τιμές S-100 έναντι των ασθενών με ΚΕΚ αλλά η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική (διάμεση τιμή 0.38 έναντι 0.27, p=0.47). Όλοι οι ασθενείς με επίπεδα πρωτεΐνης S-100 μεγαλύτερα από 0.8 (n= 9) απεβίωσαν. Η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική (p=0.02, Γράφημα 1)).

Γράφημα 1. Διάφορα στις τιμές της πρωτεΐνης S100 σε σχέση με την επιβίωση των ασθενών



Με logistic regression analysis και χωρίζοντας την έκβαση των ασθενών σε θάνατο και βελτίωση ή έξοδο από τη ΜΕΘ οι παράγοντες που φάνηκε να έχουν σημαντική προγνωστική αξία ήταν

Variable	P
ΗΛΙΚΙΑ	0.6676
ΠΗΚΤΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ	0.2756
ΣΥΝΝΟΣΗΡΟΤΗΤΕΣ	0.9956
ΣΔ	0.5695
ΥΠΕΡΤΑΣΗ	0.9974
ΗΜΕΡΕΣ ΠΑΡΑΜΟΝΗΣ ΜΕΘ	0.7184
ΦΥΛΟ	0.2722
S100	0.2961
CONSTANT	

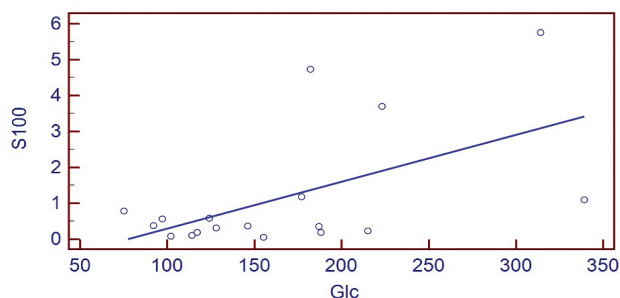
Αναφορικά με τα απεικονιστικά ευρήματα στην πρώτη αξονική τομογραφία δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση.

Variable	P
ΘΛΑΣΗ	0.9963
ΕΠΙΣΚΛΗΡΙΔΙΟ	0.9996
ΚΑΤΑΓΜΑ	0.9978
ΕΓΚΟΛΕΑΣΜΟΣ	0.9997
ΕΝΔΟΠΑΡΕΓΧΥΜΑΤΙΚΗ	0.9965
ΕΝΔΟΚΟΙΛΙΑΚΗ ΑΙΜ	0.9961
ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΗ ΜΕΣΗΣ ΓΡΑΜΜΗΣ	0.9988
ΟΙΔΗΜΑ	0.9986
ΥΠΑΡΑΧΝΟΕΙΔΗΣ	0.9999
ΥΠΟΣΚΛΗΡΙΔΙΟ	0.9986
CONSTANT	

Δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των αιματολογικών παραμέτρωνόπως επίσης δεν βρέθηκε συσχέτιση με εμφάνιση υπερκαπνίας, οξέωσης καθώς και επιπέδων γλυκόζης.

Από την στατιστική ανάλυση προέκυψε συσχέτιση των επιπέδων S100 και γλυκόζης πλάσματος. Οι υψηλότερες τιμές γλυκόζης παρατηρήθηκαν σε ασθενείς με υψηλότερες τιμές πρωτεΐνης S100 ($p=0.017$, γράφημα 2).

Γράφημα 9 συσχέτιση τιμών S100 και γλυκόζης πλάσματος



Δέκα ασθενείς εμφάνισαν διαταραχές πήκτικότητας. Ως διαταραχή πήκτικότητας ορίστηκε η εύρεση aPTT>40

seconds και/ή INR>1.2 και/ή αριθμός αιμοπεταλίων < 120*10⁹ ανά λίτρο. Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στις τιμές της S-100 μεταξύ αυτών που εμφάνισαν ή όχι διαταραχές πήκτικότητας ($p=0.9$). Οι ασθενείς με διαταραχές πήκτικότητας είχαν χειρότερη έκβαση αλλά η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($p=0.8$).

Προκαλσιτονίνη

Η μέση τιμή της προκαλσιτονίνης ήταν 2.65±5.9. Οι ασθενείς με κακή έκβαση είχαν υψηλότερη τιμή προκαλσιτονίνης έναντι αυτών που επιβίωσαν ωστόσο η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική (διάμεση τιμή 0.19 vs 0.58, $p=0.11$, αντίστοιχα). Δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της τιμής προκαλσιτονίνης μεταξύ AEE και KEK ($p=0.88$).

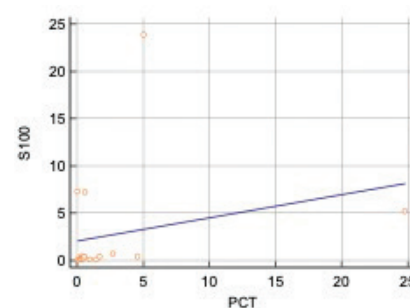
IL-6

Η μέση τιμή της IL-6 ήταν 266±559. Οι ασθενείς με κακή έκβαση είχαν υψηλότερη τιμή IL-6 έναντι αυτών που επιβίωσαν ωστόσο η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική (διάμεση τιμή 58.8 vs 36, $p=0.45$, αντίστοιχα). Δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της τιμής IL-6 μεταξύ AEE και KEK ($p=0.92$).

Συσχέτιση επιπέδων S-100, IL-6 και προκαλσιτονίνης

Βρέθηκε τάση συσχέτισης μεταξύ S-100 και προκαλσιτονίνης ($p=0.1$, $r=0.4$) (Γράφημα 2). Δε βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ S-100 και IL-6 ($p=0.24$) και μεταξύ προκαλσιτονίνης και IL-6 ($p=0.27$).

Γράφημα 12. Συσχέτιση προκαλσιτονίνης με S-100.



Συζήτηση

Στην μελέτη μας προσπαθήσαμε να ανιχνεύσουμε προγνωστικούς παράγοντες για την έκβαση των διασωληνωμένων ασθενών σε μια ομάδα με ετερογενή χαρακτηριστικά και με διαφορετικές παθολογίες από τον εγκέφαλο που περιελάμβαναν αιμορραγία, ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό και τραυματική κάκωση του εγκε-

φάλου. Κοινό χαρακτηριστικό των ασθενών η χαμηλή κλίμακα Γλασκώβης προ της διασωλήνωσης. Η κλίμακα Γλασκώβης έχει συσχετιστεί με την έκβαση και με την αυξημένη ενδοκράνια πίεση^(1,2).

Η πρωτεΐνη S100, η IL 6 και καθώς και η PCT δεν έχουν δοκιμαστεί ως βιοδείκτες εγκεφαλικής βλάβης και ως δείκτες έκβασης σε έναν τόσο ετερογενή πληθυσμό. Ο κύριος στόχος μας ήταν να διερευνήσουμε εάν οι πρωτεΐνες S100, IL6 και PCT ή άλλοι παράγοντες όπως η ηλικία, το φύλο, η υπέρταση, αιματολογικοί ή βιοχημικοί παράμετροι μπορούν να χρησιμεύσουν ως προγνωστικό εργαλείο σε έναν ετερογενή πληθυσμό ασθενών που έχουν εισαχθεί στο τμήμα εντατικής θεραπείας. Εκτιμήσαμε την προγνωστική ισχύ της πρωτεΐνης S100, IL6 και PCT στον θάνατο ή επιβίωση. Επίσης μελετήσαμε βιοχημικές και αιματολογικές παραμέτρους στους ασθενείς αυτούς.

Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η πρωτεΐνη S100 που αξιολογήθηκε κατά την εισαγωγή στην μονάδα εντατικής θεραπείας μπορεί να είναι χρήσιμη για την πρόβλεψη της έκβασης των ασθενών. Αν και το εύρημα αυτό δεν είναι νέο, οι περισσότερες μελέτες που προέρχονται από την περιοχή εντατικής θεραπείας έως σήμερα επικεντρώνονται σε ασθενείς μετά από καρδιακή ανακοπή.⁽³⁾ Σε μια ολοκληρωμένη μετα-ανάλυση της χρήσης βιοδεικτών μετά από καρδιακή ανακοπή, οι Shinozaki et al.⁽⁴⁾ παρουσίασαν πολλές μελέτες που επιβεβαιώνουν ότι η πρωτεΐνη S100 ήταν χρήσιμη στη νευρολογική πρόβλεψη.

Η ομάδα-στόχος μας, ωστόσο, ήταν διαφορετική, καθώς στοχεύαμε να απαντήσουμε σε ένα ερώτημα, εάν η πρωτεΐνες S100, IL6 και PCT μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως καθολικοί βιοδείκτες κατά την εισαγωγή στην ΜΕΘ σε ασθενείς με εγκεφαλική παθολογία διαφόρων αιτιών και με διαφορετικούς παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς. Από όσα γνωρίζουμε είναι η πρώτη μελέτη στη Ελλάδα σε διασωληνωμένους ασθενείς η οποία εξετάζει την έκβαση.

S100

Έχει επιβεβαιωθεί ότι η πρωτεΐνη S100 ως βιοδείκτης εγκεφαλικής βλάβης μπορεί να είναι δυνητικά χρήσιμος στην εκτίμηση ασθενών που εισάγονται με κρανιοεγκεφαλική κάκωση⁽⁵⁾, υπαραχνοειδή αιμορραγία⁽⁶⁾, σοβαρή σήψη⁽⁷⁾, δηλητηρίαση από CO⁽⁸⁾ και σε ασθενείς με εξωσωματική υποστήριξη ζωής⁽⁹⁾.

Για τη χρήση στις ΜΕΘ, είναι εξαιρετικά σημαντικό να γνωρίζουμε ποιοι παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν τα επίπεδα της πρωτεΐνης S100 στο πλάσμα σε ασθενείς με κρίσιμη νόσο. Έχει ήδη επιβεβαιωθεί ότι το προγνωστικό δυναμικό της πρωτεΐνης S100 δεν επηρεάζεται

από τον τύπο καταστολής⁽¹⁰⁾ και την υποθερμία⁽¹¹⁾ αλλά τα επίπεδα στο αίμα ήταν υψηλότερα παρουσία χαμηλής συστηματικής πίεσης, pH και αιμοσφαιρίνης σε αυτόν τον πληθυσμό. Συνεπώς, τα αυξημένα επίπεδα πλάσματος αυτού του βιοδείκτη μπορεί επίσης να επηρεαστούν από την υποάρδευση ιστών⁽¹⁰⁾. Αρκετές ανασκοπήσεις έχουν αναλύσει πώς μπορεί να χρησιμοποιηθεί το S100 σε ασθενείς με μέτρια και σοβαρή ΚΕΚ^(12,13).

Ενώ η αξονική τομογραφία CT βοηθά στη διάγνωση και χειρουργική αντιμετώπιση, είναι συχνά δύσκολο να προβλεφθεί η έκβαση αυτών των ασθενών⁽¹⁴⁾. Έτσι, θα ήταν χρήσιμος ένας βιοδείκτης της εξέλιξης της βλάβης του εγκεφαλικού ιστού που μπορεί να καθοδηγήσει την αρχική θεραπεία των ασθενών⁽¹⁵⁾. Σε μετανάλυση 39 μελετών του S100B, παρατηρήθηκε μια σημαντική σχέση μεταξύ συγκεντρώσεων του ορού πρωτεΐνης S-100β (2.16 μg/l- 14.0 μg/l) και δυσμενούς προγνώσεως όπως ορίζεται από τη θνησιμότητα, το αποτέλεσμα GOS ≤ 3 και τον εγκεφαλικό θάνατο. Οι βέλτιστες τιμές κατωφλίου διάκρισης για την πρωτεΐνη S-100β και ο βέλτιστος χρόνος δειγματοληψίας παραμένουν αβέβαιες καθώς υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των μελετών⁽¹⁶⁾. Στην μελέτη μας η δειγματοληψία έγινε κάτω των 6 ωρών από το αρχικό συμβάν και το προγνωστικό κατώφλι ήταν 0,8 μg/l για επιβίωση η θάνατο.

Το ευρύ φάσμα συγκεντρώσεων στις διάφορες μελέτες είναι ένα τεράστιο πρόβλημα για τυποποίηση και ακριβή όρια για την πρόβλεψη της έκβασης. Ένας επίσης σημαντικός λόγος για αυτό, είναι η διαφορά στο χρόνο δειγματοληψίας στις μελέτες. Ο βέλτιστος χρόνος για τη συλλογή S100B για την πρόβλεψη του αποτελέσματος μετά από τραύμα σε μέτρια έως σοβαρή TBI δεν είναι πλήρως καθορισμένος. Σε αρκετές μελέτες, το αρχικό δείγμα S100B μετά το τραύμα θεωρείται το πιο σημαντικό για πρόβλεψη έκβασης. Αργότερα χρονικά πλαίσια έχουν επίσης προταθεί να έχουν κλινική σημασία, που κυμαίνεται από 6 ώρες έως > 84 ώρες μετά από τραύμα.

Έτσι, η συγκέντρωση του ίδιου του S100B στον ορό είναι περιορισμένης χρήσης για πρόβλεψη της έκβασης εάν ο χρόνος που έχει παρέλθει από το τραύμα είναι άγνωστος.⁽¹⁷⁾ Σε μία άλλη μελέτη σε μια ομάδα 265 ασθενών με TBI, το αρχικό δείγμα ορού S100B κατά την εισαγωγή έχει χαμηλότερη προβλεπόμενη ακρίβεια ως προς το αποτέλεσμα σε σύγκριση με δείγματα που αποκτήθηκαν αργότερα περίπου 24 ώρες μετά την εισαγωγή⁽¹⁸⁾. Η προγνωστική ακρίβεια του S100B είναι στην πραγματικότητα 2–3 φορές υψηλότερη από παράγοντες όπως η ηλικία, η αντίδραση κορών ή βαθμολογία GCS κατά την είσοδο ξεχωριστά, οι οποίοι είναι γνωστοί ανεξάρτητοι

προγνωστικοί παράγοντες του τραυματισμού που προτάθηκαν από την ομάδα μελέτης IMPACT (Διεθνής Αποστολή για την Πρόγνωση και Ανάλυση των κλινικών μελετών σε TBI⁽¹⁵⁾). Σε μία μελέτη, η καλύτερη πρόβλεψη αποτελεσμάτων για το S100B εμφανίστηκε περίπου στις 30 ώρες μετά από αναφερόμενο τραύμα⁽¹⁹⁾. Ο λόγος για την αδύναμη αρχική συσχέτιση μεταξύ της πρώιμης μέτρησης του S100B και της έκβασης φαίνεται να είναι το αποτέλεσμα της εξωκρανιακής συνεισφοράς του S100B και κάλυψης της ενδοκρανιακής απελευθέρωσης.

Στις 30 ώρες, οι ασθενείς με μακροχρόνιο score GOS 1 (θάνατος) είχαν διάμεσο S100B 1 μg / l, GOS 3 (σοβαρή αναπηρία) 0,5 μg / l, GOS 4 (μέτρια αναπηρία) 0,3 μg / l και GOS 5 (καλή ανάρρωση) 0,25 μg / l, ενώ δεν ήταν δυνατή η ανίχνευση σημαντικών επιπέδων για διαφορετικές βαθμολογίες GOS κατά την είσοδο⁽¹⁸⁾. Οι ιδιότητες του S100B να προβλέψουν την έκβαση οδήγησαν ορισμένους συγγραφείς στο συμπέρασμα ότι το S100B θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης εγκεφαλικού θανάτου μετά από τραυματισμό⁽¹⁹⁾. Ωστόσο, υπάρχουν λόγοι για τους οποίους αυτό είναι δυνητικά επικίνδυνο και πρέπει να αποφεύγεται. Πιο συγκεκριμένα, λόγω της χαμηλής ειδικότητας του εγκεφαλικού τραυματισμού, άλλοι λόγοι για αυξήσεις του S100B θα πρέπει πάντα να εξερευνώνται. Τα επίπεδα S100B που προτείνονται από συγγραφείς που προωθούν το S100B ως δείκτη διάγνωσης εγκεφαλικού θανάτου (0,372 μg / l τις πρώτες 24 ώρες) είναι επίπεδα σε ασθενείς που έχουν ευνοϊκό αποτέλεσμα 12 μήνες μετά από τραυματισμό. Πιθανά το S100B χρειάζεται διάχυση μέσω του προσβεβλημένου ιστού για να απελευθερωθεί στο αίμα και αυτή η διαδικασία δεν θα υπάρχει στους εγκεφαλικά νεκρούς ασθενείς, καθιστώντας τα επίπεδα S100B αναξιόπιστα⁽¹⁶⁾. Το S100B χωρίς επαρκή κυκλοφορία (CPP, εγκεφαλική πίεση άρδευσης) στον εγκέφαλο, λόγω της υψηλής ICP, θα απελευθερωθεί σε σημαντικά χαμηλότερες ποσότητες⁽²⁰⁾. Πιθανά αιχμές S100B μετά από εγκεφαλικό επεισόδιο αντιπροσωπεύουν εκπλύσεις επαναδιάχυσης. Ωστόσο, αυτό πρέπει να επιβεβαιωθεί. Επομένως, το S100B δεν πρέπει να θεωρείται ως εργαλείο για να αναγνωρίσει εγκεφαλικό θάνατο ή για να υποστηρίξει τη λήψη αποφάσεων σχετικά με απόσυρση θεραπειών σε σοβαρές περιπτώσεις TBI.

Συνοπτικά, αφού ληφθούν υπόψη οι περιορισμοί που αφορούν την χαμηλή ειδικότητα των πρώιμων δειγμάτων, η S100B φαίνεται να είναι σημαντική και χρήσιμη για πρόβλεψη της λειτουργικής έκβασης στην μέτρια έως σοβαρή TBI. Τα μοντέλα πρόβλεψης στο KEK μέχρι σήμερα είναι αρκετά ακριβή ώστε να υποστηρίζουν καθ' 'αυτές τις αποφάσεις στο τέλος της ζωής τους. Αντί 'αυτού,

το S100B μπορεί να είναι μέρος μελλοντικών στρατηγικών διαστρωμάτωσης των ασθενών^(16,21,22).

IL-6

Όσο αναφορά την IL6 στην μελέτη μας δεν διαπιστώσαμε συσχέτιση με την έκβαση. Τα επίπεδα IL6 ευρέθησαν υψηλότερα στην ομάδα ασθενών που απεβίωσαν αλλά δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά. (διάμεση τιμή 58.8 vs 36, p=0.45, αντίστοιχα).

Οι ασθενείς με ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό παρουσιάζουν σημαντικές αυξήσεις IL-6 στο ENY και στον ορό λίγο μετά το ισχαιμικό συμβάν που συσχετίζονται με τον όγκο του εγκεφαλικού εμφράκτου⁽²³⁾.

Η ισχαιμική εγκεφαλική βλάβη περιλαμβάνει φλεγμονή, διεγερτική τοξικότητα, οξειδωτική βλάβη και απόπτωση, και έτσι σε κάποιο βαθμό είναι παρόμοιες βλάβες με αυτές μετά από τραυματικό εγκεφαλικό τραυματισμό. Η IL-6 είναι ένας σημαντικός παράγοντας που ενοποιεί τις αποκρίσεις που προκαλούνται από εγκεφαλικό επεισόδιο. Σε ζωικά μοντέλα εγκεφαλικής ισχαιμίας υπήρξε σταθερή εύρεση ανοδικής ρύθμισης της IL-6, κυρίως σε νευρώνες αλλά επίσης στα γλοιακά κύτταρα και στο αγγειακό ενδοθήλιο. Σύμφωνα με τις in vitro μελέτες που αναφέρθηκαν παραπάνω, η νευρωνική αύξηση της IL-6 μετά από εγκεφαλική ισχαιμία πιθανώς μεσολαβείται από επαγόμενη από γλουταμινικό, νευρωνική αποπόλωση⁽²³⁾ Αρκετές από αυτές τις μελέτες κατέδειξαν σαφώς έναν νευροπροστατευτικό ρόλο της εξωγενώς χορηγούμενης IL-6, όπως και τα πειράματα με ένεση μονοκλωνικού αντισώματος IL-6 υποδοχέα⁽²⁴⁾ και με ποντίκια IL-6 γενετικά τροποποιημένα^(25,26) Ο έλεγχος οξειδωτικού στρες και η αγγειογένεση συγκαταλέγονται μεταξύ των λειτουργιών της IL-6 κατά τη διάρκεια του εγκεφαλικού επεισοδίου.⁽²³⁾

Ο ρόλος της IL-6 στο εγκεφαλικό επεισόδιο είναι αμφιλεγόμενος. Τα επίπεδα IL-6 είναι αυξημένα στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό των ασθενών με εγκεφαλικό επεισόδιο και αυτό μπορεί να αντικατοπτρίζει τη συστηματική απελευθέρωση και την παθητική διέλευση λόγω διαταραχής ή απελευθέρωσης μέσω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού από νευρώνες που πεθαίνουν και από παραγωγή από την μικρογλοία. Αν και τα ζωικά μοντέλα προτείνουν μια λειτουργία στον έλεγχο του οξειδωτικού στρες και της αγγειογένεσης, οι νευροπροστατευτικοί μηχανισμοί είναι δύσκολο να συνδυαστούν με κλινικά ευρήματα. Υψηλότερα επίπεδα της IL-6 μετά από εγκεφαλικό επεισόδιο συσχετίστηκαν επίσης με πρώιμο νευρολογικό έλλειμμα, θερμοκρασία σώματος και μακροχρόνια πτωχή έκβαση. Είναι επίσης πιθανό ότι οι αλλαγές στα συστηματικά και

τα ενδορραχιαία επίπεδα της IL-6 μπορεί να αντανakλούν διαφορετικές κυτταρικές πηγές που προκαλούνται από διαφορετικές αλληλεπιδράσεις / μονοπάτια. Η πρώιμη συστηματική αύξηση μπορεί να σχετίζεται με θρομβωτικά επεισόδια και αλληλεπιδράσεις αιμοπεταλίων – ενδοθηλιακών κυττάρων – μονοκύτταρων, ενώ η καθυστερημένη ανύψωση μπορεί να υποδηλώνει ενεργοποίηση λευκοκυττάρων.

Η IL-6 εμπλέκεται σε έναν αριθμό από προ-φλεγμονώδεις και αντιφλεγμονώδεις οδούς που σχετίζονται με την σοβαρή TBI. Η IL-6 λειτουργεί σχηματίζοντας ένα σύμπλοκο με δεσμευμένες σε μεμβράνη ή διαλυτές πρωτεΐνες δέσμευσης υποδοχέα IL-6 (IL-6α) και δεσμευμένη με μεμβράνη υπομονάδα gp130. Ο επακόλουθος σχηματισμός συμπλέγματος της IL-6, υπομονάδας IL-6R και gp130 οδηγεί σε μεταγωγή σήματος μέσω της οδού JAK/STAT.⁽²⁷⁾

Τα αυξημένα επίπεδα IL-6 στον ορό κατά την εισαγωγή και την 7η ημέρα σχετίζονται με καλύτερη έκβαση (GOSE 4-5) σε 1 έτος παρακολούθησης, με υψηλότερη ευαισθησία και ειδικότητα την 7η ημέρα (70 και 93%, αντίστοιχα)⁽²⁶⁾ Σειρά περιπτώσεων που χρησιμοποιούν μικροδιάλυση σε ασθενείς με KEK έχουν δείξει μια σχέση μεταξύ του μέγιστου επιπέδου IL-6 στο ENY και της επιβίωσης⁽²⁸⁾ Τα δείγματα ENY από παιδιατρικές περιπτώσεις KEK παρουσιάζουν παρόμοια αυξήσεις του IL-6 και του νευρικού αυξητικού παράγοντα (NGF), ενός νευροπροστατευτικού παράγοντα, αμέσως μετά τον τραυματισμό. Τα περιστατικά με υψηλότερα επίπεδα IL-6 και NGF στο ENY ήταν πιο πιθανό να έχουν ευνοϊκά αποτελέσματα⁽²⁹⁾.

Μπορεί επίσης να υπάρχει και γενετική συμβολή στις επιπτώσεις της IL-6 στο TBI. Ο γονιδιακός πολυμορφισμός μεταξύ των ασθενών μπορεί να υποδηλώνει μεγαλύτερη ή χαμηλότερη τάση για μεταγραφή της IL-6 κατά τη διάρκεια του sTBI. Ένας λειτουργικός πολυμορφισμός (-174C / G) σε μια περιοχή προαγωγού του γονιδίου IL-6 σχετίζεται με υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας στο sTBI. Ασθενείς με το CG γονότυπο είχαν υψηλότερα επίπεδα IL-6, που σχετίζονταν με την επιβίωση⁽³⁰⁾.

Αντίθετα άλλες μελέτες έχουν δείξει αυξημένα επίπεδα IL-6 στον ορό που σχετίζονται με την ανάπτυξη συνδρόμου οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας και υψηλότερων ποσοστών θνησιμότητας⁽³¹⁾. Τα υψηλά επίπεδα αιθανόλης στο αίμα φαίνεται να αμβλύνουν τη συστηματική απόκριση IL-6 και να μειώνουν τον κίνδυνο θνησιμότητας σε σύγκριση με τους ελέγχους στην sTB⁽³²⁾. Τέλος, υψηλά επίπεδα IL-6 στον ορό νωρίτερα μετά την KEK μπορούν να προβλέψουν υψηλές μετρήσεις ICP σε ασθενείς με σοβαρή KEK⁽³³⁾.

Λόγω της σχεδόν πανταχού παρούσας παραγωγής IL-6, τα επίπεδα στον ορό πρέπει να ερμηνεύονται με προσοχή. Οι συστηματικοί τραυματισμοί εκτός του ΚΝΣ προκαλούν επίσης αύξηση στον ορό IL-6 και μπορεί να περιπλέξει τη χρησιμότητά του στο KEK⁽³³⁾. Ο ρόλος της IL-6 στην παθοφυσιολογία της KEK δεν είναι απολύτως ξεκάθαρος και δεν φαίνεται να είναι αρκετά αξιόπιστος για κλινική εφαρμογή. Ωστόσο, μελέτες έδειξαν ότι αύξηση των επιπέδων IL 6 συνδέονται με κακή έκβαση. Αυτό υποδηλώνει ότι τα αυξημένα επίπεδα της IL-6 έχουν τη δυνατότητα να χρησιμεύσουν ως προγνωστικός βιοδείκτης ανάκτησης από σοβαρές TBI.

Η IL-6 έχει τόσο ευεργετικό όσο και επιβλαβή ρόλο σε έναν αριθμό νευρολογικές καταστάσεις 23H IL-6 φαίνεται έχει τόσο ευεργετικό όσο και επιβλαβή ρόλο σε έναν αριθμό νευρολογικές καταστάσεις.⁽³⁴⁾

Η IL-6 παίζει βασικό ρόλο στην επαγωγή του αυξητικού παράγοντα των νευρών από τα αστροκύτταρα και, επομένως, στην διόρθωση του τραυματισμένου εγκεφάλου⁽³⁵⁾ Οι Leyetal. ανέφεραν ότι γενετικά τροποποιημένα ποντίκια με έλλειψη IL-6 παρουσίασαν μειωμένη νευρολογική έκβαση μετά από TBI σε σύγκριση με φυσιολογικούς ποντικούς, υποδηλώνοντας και πάλι ότι η IL-6 είναι απαραίτητη για την νευρωνική αναγέννηση.⁽³⁶⁾ ο νευροπροστατευτικός ρόλος της IL-6 Προτάθηκε επίσης σε μια μελέτη των επιπέδων παρεγχυματικής IL-6 του μετωπιαίου λοβού σε ασθενείς μετά από σοβαρή TBI. Σημαντικά αυξημένα επίπεδα IL-6 βρέθηκαν στους επιζώντες σε σύγκριση με εκείνους που πέθαναν, ενώ τα επίπεδα της IL-1β δεν ήταν διαφορετικά⁽³⁷⁾ Ωστόσο, οι αριθμοί σε αυτήν τη μελέτη ήταν μικροί.

Από την άλλη πλευρά, πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η IL-6 έχει επιβλαβείς επιδράσεις μετά το TBI.⁽³⁸⁾ Οι Conroyetal.2004 έδειξαν ότι η IL-6 ήταν τοξική για νευρώνες παρεγκεφαλίδας τρωκτικών σε καλλιέργεια.⁽³⁹⁾ Σε μια άλλη μελέτη, η ενδορινική χορήγηση της IL-6 σε αρουραίους βρέθηκε να αυξάνει την ένταση των επιληπτικών κρίσεων, καθώς και αύξηση της θνησιμότητας⁽⁴⁰⁾ Ο Γιανγκ κ.ά.⁽⁴¹⁾ έδειξε ότι ελλείμματα κινητικού συντονισμού σε ποντίκια μετά από ήπια TBI θα μπορούσαν να διορθωθούν με IL-6 αποκλεισμό.

PCT

Τα επίπεδα προκαλσιτονίνης στην μελέτη μας ευρέθησαν υψηλότερα στην ομάδα των ασθενών που απεβίωσαν σε σχέση με την ομάδα των επιζήσαντων αλλά η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική (διάμεση τιμή 0.19 vs 0.58, p=0.11, αντίστοιχα). Η μέτρηση έγινε σε χρονικό διάστημα κάτω των 6 ωρών από τον τραυματισμό. Σε σχέση

με την προκαλιτονίνη υπάρχουν μόλις 18 αναφορές στο pubmed με λέξεις κλειδιά την προκαλιτονίνη και την τραυματική κάκωση του εγκεφάλου.

Τα επίπεδα προκαλιτονίνης (PCT) από 0 – 48 ώρες είναι προγνωστικά για δυσμενές νευρολογικό αποτέλεσμα σε ασθενείς μετά από καρδιακή ανακοπή εκτός νοσοκομείου⁽⁴²⁾. Σε μελέτη 442 ατόμων με οξύ ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο φάνηκε ότι τα επίπεδα PCT στον ορό κατά την εισαγωγή συσχετίστηκαν με τη σοβαρότητα και το μέγεθος βλάβης του εγκεφαλικού. Τα αυξημένα επίπεδα θα μπορούσαν να θεωρηθούν ως ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης για AIS⁽⁴³⁾.

Η προκαλιτονίνη είναι ένας σημαντικός ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης 30 ημερών θνησιμότητας μετά από οξύ ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο⁽⁴⁴⁾. Επίσης, τα επίπεδα PCT στον ορό και ο αριθμός των ουδετερόφιλων κατά τη διάρκεια του πρώιμου σταδίου του MCI μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες για κακή έκβαση εγκεφαλικό οίδημα στο MCI, με τα επίπεδα PCT να είναι ανώτερα από τον αριθμό των ουδετερόφιλων. Η φλεγμονώδης απάντηση μπορεί να παίζει ρόλο στην παθογένεση του κακοήθους εγκεφαλικού οιδήματος κατά τη διάρκεια του MCI, αλλά ο μηχανισμός του απαιτεί περαιτέρω μελέτη⁽⁴⁵⁾. Σε μια μελέτη παρατήρησης 115 ασθενών με κρανιοεγκεφαλική κάκωση μελετήθηκε η σχέση βιοδεικτών μεταξύ των οποίων και της προκαλιτονίνης με την βαρύτητα και το μέγεθος και την θέση των αιμορραγικών βλαβών. Στη μελέτη, οι συγκεντρώσεις PCT παρουσίασαν συσχέτιση με την νευρολογική εικόνα, τόσο και την GCS και συσχέτιση με το μέγεθος των αιμορραγικών βλαβών.⁽⁴⁶⁾

Διαταραχές πήξης

Στην μελέτη μας δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση της έκβασης και των διαταραχών πήξης.

Σε μελέτη 120 ασθενών με κρανιοεγκεφαλική κάκωση η συχνότητα εμφάνισης TIC είναι 41,6%, με πιθανότητες 4,7 φορές για τη θνησιμότητα. Η τραυματική εγκεφαλική κάκωση προκαλεί αυξημένη ενεργοποίηση της πήξης, ανεπαρκή αναστολή, επιδείνωση της δημιουργίας θρομβίνης και επακόλουθη αυξημένη ινωδολύση. Η ανάλυση καμπύλης ROC αποκάλυψε ένα κατώφλι του PS ≤ 74 με ειδικότητα 63,8%, ευαισθησία 72,7% για την ανάπτυξη TIC.⁽⁴⁷⁾

Επίπεδα γλυκόζης

Τα επίπεδα γλυκόζης δεν είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων στην μελέτη μας.

Σε μετανάλυση 16 RCTs με συνολικό αριθμό 1248

ασθενών που ενοσηλεύοντο σε NICU φάνηκε ότι η εντατική θεραπεία με ινσουλίνη αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο υπογλυκαιμίας και δεν επηρεάζει τη θνησιμότητα στους ασθενείς με νευροκριτική φροντίδα. Ο πολύ χαλαρός έλεγχος της γλυκόζης σχετίζεται με χειρότερη νευρολογική ανάκαμψη και πρέπει να αποφεύγεται. Αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι οι ενδιάμεσοι γλυκαιμικοί στόχοι μπορεί να είναι οι πλέον κατάλληλοι.⁽⁴⁸⁾ Σε άλλη μετα-ανάλυση 10 RCTs με συνολικό αριθμό ασθενών 1066 με κρανιοεγκεφαλική κάκωση ο εντατικός έλεγχος της γλυκόζης δεν δείχνει συσχέτιση με μειωμένη θνησιμότητα στο TBI. Ο εντατικός έλεγχος της γλυκόζης έδειξε οριακή σημαντική μείωση του κινδύνου κακής νευρολογικής έκβασης, αλλά αύξησε σημαντικά τον κίνδυνο υπογλυκαιμίας. Αυτά τα αντιφατικά ευρήματα πρέπει να ενθαρρύνουν περαιτέρω έρευνα⁽⁴⁹⁾.

Συμπεράσματα

Σε ασθενείς οι οποίοι εισάγονται στην ΜΕΘ με παθολογία από τον εγκέφαλο η πρωτεΐνη εισαγωγής S100 < 6 ωρών συσχετίζεται ισχυρά με την έκβαση των ασθενών. Υπάρχει επίσης συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων S100 και γλυκόζης εισαγωγής. Τα ευρήματα της μελέτης υποδηλώνουν ότι οι μετρήσεις της S100 μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως προγνωστικός δείκτης σε ασθενείς με εγκεφαλικά συμβάματα που νοσηλεύονται σε γενική ΜΕΘ. Θα πρέπει να αναφερθεί ότι στην μελέτη μας υπήρχαν δύο περιορισμοί. Πρώτον, το δείγμα της μελέτης μας είναι μικρό. Είναι ανάγκη να υπάρξουν μελέτες με μεγαλύτερα δείγματα ασθενών για να επιβεβαιωθούν τα αποτελέσματά μας. Ένας δεύτερος περιορισμός είναι το ότι δεν υπάρχει σε αρκετούς ασθενείς δεύτερο δείγμα λόγω είτε μικρής νοσηλείας είτε λόγω τεχνικών προβλημάτων. Προφανώς απαιτούνται περισσότερες μελέτες σε μεγαλύτερα δείγματα ασθενών για να αποσαφηνιστεί η πιθανή προγνωστική αξία της πρωτεΐνης S100 σε ασθενείς με εγκεφαλικά συμβάματα.

Βιβλιογραφία

1. Novkoski M, GvozdenoviĀ A, KeleĀiĀ M, ĀorĀeviĀ A, MazulSunko B, ĀiranoviĀ M, Fotivec A, VukiĀ M, NegovetiĀ L, PeriĀ M. Correlation between glasgow coma scale score and intracranial pressure in patients with severe head injury Acta clin Croat 2001;40:191-195
2. Leitgeb J, Mauritz W, Brazinova A, Majdan M, Janciak I, Wilbacher I, Rusnak M. Glasgow Coma Scale score at intensive care unit discharge predicts the 1-year outcome of patients with severe

- traumatic brain injury. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2013;39(3):285-92.
3. Knapik P, Knapik M, Partyka R, Broll I, Cieśla D, Wawrzyńczyk M, Kokocińska D, Jałowicki P. Utility of serum concentration of protein S100at admission to the medical intensive care unit in prediction of permanent neurological injury
 4. Shinozaki K, Oda S, Sadahiro T, Nakamura M, Abe R, Nakada TA, Nomura F, Nakanishi K, Kitamura N, Hirasawa H. Serum S-100B is superior to neuron-specific enolase as an early prognostic biomarker for neurological outcome following cardiopulmonary resuscitation. *Resuscitation*. 2009;80(8):870-5.
 5. Undén J, Romner B. A new objective method for CT triage after minor headinjury – serum S100B. *Scand J Clin Lab Invest* 2009;69:13-17.
 6. Weiss N, Sanchez-Peña P, Roche S, Beaudeau JL, Colonne C, Coriat P, Puybasset L. Prognosis value of plasma S100B protein levels after subarachnoid aneurysmal hemorrhage. *Anesthesiology* 2006;104: 658-666.
 7. Yao B, Zhang LN, Ai YH, Liu ZY, Huang L. Serum S100β is a better biomarker than neuron-specific enolase for sepsis-associated encephalopathy and determining its prognosis: a prospective and observational study. *Neurochem Res* 2014;39:1263-1269.
 8. Cakir Z, Aslan S, Umudum Z, Acemoglu H, Akoz A, Turkyilmaz S, Oztürk N. S-100beta and neuron-specific enolase levels in carbon monoxide-related brain injury. *Am J Emerg Med* 2010;28:61-67
 9. Nguyen DN, Huyghens L, Wellens F, Schiettecatte J, Smitz J, Vincent JL. Serum S100B protein could help to detect cerebral complications associated with extracorporeal membrane oxygenation (ECMO). *Neurocrit Care* 2014;20: 367-374.
 10. Ghori KA, Harmon DC, Elashaal A, Butler M, Walsh F, O'Sullivan Mg, Shorten GD. Effect of midazolam versus propofol sedation on markers of neurological injury and outcome after isolated severe head injury: a pilot study. *Crit Care Resusc* 2007;9:166-171.
 11. Pfeifer R, Börner A, Krack A, Sigusch HH, Surber R, Figulla HR. Outcome after cardiac arrest: predictive values and limitations of the neuroproteins neuron-specific enolase and protein S-100 and the Glasgow Coma Scale. *Resuscitation* 2005;65:49-55
 12. Routsis C, Stamataki E, Nanas S, Psachoulia C, Stathopoulos A, Koroneos A, Zervou M, Jullien g, Roussos C. Increased levels of serum S100B protein in critically ill patients without brain injury. *Shock* 2006;26:20-24.
 13. Kövesdi E, Lückl J, Bukovics P, Farkas O, Pál J, Czeiter E, Szellár D, Dóczy T, Komoly S, Büki A. Update on protein biomarkers in traumatic brain injury with emphasis on clinical use in adults and pediatrics. *Acta Neurochir (Wien)*. 2010;152(1):1-17.
 14. Hergenroeder GW, Redell JB, Moore AN, Dash PK. Biomarkers in the clinical diagnosis and management of traumatic brain injury. *Mol Diagn Ther*. 2008;12(6):345-58.
 15. Murray GD, Butcher I, McHugh GS, Lu J, Mushkudiani NA, Maas AI, Marmarou A, Steyerberg EW. Multivariable prognostic analysis in traumatic brain injury: results from the IMPACT study. *Neurotrauma*. 2007;24(2):329-37.
 16. Thelin EP, Nelson DW, Bellander BM. A review of the clinical utility of serum S100B protein levels in the assessment of traumatic brain injury. *Acta Neurochir (Wien)*. 2017;159(2):209-225
 17. Mercier E, Boutin A, Lauzier F, Fergusson DA, Simard JF, Zarychanski R, Moore L, McIntyre LA, Archambault P, Lamontagne F, Légaré F, Randell E, Nadeau L, Rousseau F, Turgeon AF. Predictive value of S-100β protein for prognosis in patients with moderate and severe traumatic brain injury: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2013 Apr 4;346:f1757. doi: 10.1136/bmj.f1757. PMID: 23558282.
 18. Thelin EP, Nelson DW, Bellander BM. A review of the clinical utility of serum S100B protein levels in the assessment of traumatic brain injury. *Acta Neurochir (Wien)*. 2017;159(2):209-225
 19. Thelin EP, Johannesson L, Nelson D, Bellander BM. S100B is an important outcome predictor in traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 2013;30(7):519-28.
 20. Thelin EP, Jeppsson E, Frostell A, Svensson M, Mondello S, Bellander BM, Nelson DW. Utility of neuron-specific enolase in traumatic brain injury; relations to S100B levels, outcome, and extracranial injury severity. *Crit Care*. 2016;20:285.
 21. Shakeri M, Mahdikhah A, Panahi F. S100B Protein as a Post-traumatic Biomarker for Prediction of Brain Death in Association With Patient Outcomes. *Arch Trauma Res*. 2013;2(2):76-80.
 22. Undén J, Bellner J, Reinstrup P, Romner B. Serial S100B levels before, during and after cerebral herniation. *Br J Neurosurg*. 2004;18(3):277-80.
 23. Erta M, Quintana A, Hidalgo J. Interleukin-6, a major cytokine in the central nervous system. *Int J Biol Sci*. 2012;8(9):1254-66.

24. Yamashita T, Sawamoto K, Suzuki S, Suzuki N, Adachi K, Kawase T, et al. Blockade of interleukin-6 signaling aggravates ischemic cerebral damage in mice: possible involvement of Stat3 activation in the protection of neurons. *J Neurochem.* 2005; 94: 459-68.
25. Herrmann O, Tarabin V, Suzuki S, Attigah N, Coserea I, Schneider A, et al. Regulation of body temperature and neuroprotection by endogenous interleukin-6 in cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2003;23:406-15.
26. Gertz K, Kronenberg G, Kälin RE, et al. Essential role of interleukin-6 in post-stroke angiogenesis. *Brain.* 2012;135(Pt 6):1964-1980.
27. Benveniste EN. Cytokine actions in the central nervous system. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1998 Sep-Dec;9(3-4):259-75.
28. Winter CD, Pringle AK, Clough GF, Church MK. Raised parenchymal interleukin-6 levels correlate with improved outcome after traumatic brain injury. *Brain.* 2004;127(Pt 2):315-20.
29. Chiaretti A, Antonelli A, Mastrangelo A, et al. Interleukin-6 and nerve growth factor upregulation correlates with improved outcome in children with severe traumatic brain injury. *J Neurotrauma.* 2008;25(3):225-34.
30. Casault C, Al Sultan A.S., Banoei M, et al. Cytokine Responses in Severe Traumatic Brain Injury: Where There Is Smoke, Is There Fire?. *Neurocrit Care* 2019;30:22-32.
31. Aisiku IP, Yamal JM, Doshi P, Benoit JS, Gopinath S, Goodman JC, Robertson. Plasma cytokines IL-6, IL-8, and IL-10 are associated with the development of acute respiratory distress syndrome in patients with severe traumatic brain injury. *Crit Care.* 2016;20:288..
32. Wagner N, Akbarpour A, Mörs K, Voth M, Störmann P, Auner B, Lehnert M, Marzi I, Relja B. Alcohol Intoxication Reduces Systemic Interleukin-6 Levels and Leukocyte Counts After Severe KEK Compared With Not Intoxicated KEK Patients. *Shock.* 2016;46(3):261-9.
33. Hergenroeder GW, Moore AN, McCoy JP Jr, et al. Serum IL-6: a candidate biomarker for intracranial pressure elevation following isolated traumatic brain injury. *J Neuroinflammation.* 2010;7:19.
34. Sordillo PP, Sordillo LA, Helson L. Bifunctional role of pro-inflammatory cytokines after traumatic brain injury. *Brain Inj.* 2016;30(9):1043-53.
35. Kossmann T, Hans V, Imhof HG, Trentz O, Morganti-Kossmann MC. Interleukin-6 released in human cerebrospinal fluid following traumatic brain injury may trigger nerve growth factor production in astrocytes. *Brain Research* 1996;713:143-152..
36. Ley EJ, Clond MA, Singer MB, Shouhed D, Salim A. Il6 deficiency affects function after traumatic brain injury. *Journal of Surgical Research* 2011;170:253-256
37. Winter CD, Pringle AK, Clough GF, Church MK. Raised parenchymal interleukin-6 levels correlate with improved outcome after traumatic brain injury. *Brain.* 2004;127(Pt 2):315-20.
38. Sordillo, P. P., Sordillo, L. A., & Helson, L. (2016). Bifunctional role of pro-inflammatory cytokines after traumatic brain injury. *Brain Injury*, 30(9), 1043-1053.
39. Conroy SM, Nguyen V, Quina LA, Blakely-Gonzales P, Ur C, Netzeband JG, Prieto AL, Gruol DL. Interleukin-6 produces neuronal loss in developing cerebellar granule neuron cultures. *Journal of Neuroimmunology* 2004;155:43-54
40. Kalueff AV, Lehtimäki KA, Ylinen A, Honkaniemi J, Peltola J. Intranasal administration of human IL-6 increases the severity of chemically induced seizures in rats. *Neurosci Lett* 2004;365:106-110.
41. Yang SH, Gangidine M, Pritts TA, Goodman MD, Lentsch AB. Interleukin 6 mediates neuroinflammation and motor coordination deficits after mild traumatic brain injury and brief hypoxia in mice. *Shock* 2013;40:471-475
42. Shin H, Kim JG, Kim W, Lim TH, Jang BH, Cho Y, Choi KS, Ahn C, Lee J, Na MK. Procalcitonin as a prognostic marker for outcomes in post-cardiac arrest patients: A systematic review and meta-analysis. *Resuscitation.* 2019 May;138:160-167.
43. Da Tian 1, Shengwu Zhang, Xuwei He, Hong Liu. Serum procalcitonin as a diagnostic marker in acute ischemic stroke *Neuroreport.* 2015;26(1):33-7.
44. Yan L, Wang S, Xu L, Zhang Z, Liao P. Procalcitonin as a prognostic marker of patients with acute ischemic stroke. *J Clin Lab Anal.* 2020 Mar 20;34(7):e23301.
45. Zhang Y, Liu G, Wang Y, Su Y, Leak RK, Cao G. Procalcitonin as a Biomarker for Malignant Cerebral Edema in Massive Cerebral Infarction. *Sci Rep.* 2018 Jan 17;8(1):993.
46. Carabias CS, Gomez PA, Panero I, Eiriz C, Castaño-León AM, Egea J, Lagares A ; i+12 Neurotraumatology Group Collaborators. Chitinase-3-Like Protein 1, Serum Amyloid A1, C-Reactive Pro-

- tein, and Procalcitonin Are Promising Biomarkers for Intracranial Severity Assessment of Traumatic Brain Injury: Relationship with Glasgow Coma Scale and Computed Tomography Volumetry. *World Neurosurg.* 2020;134:e120-e143.
47. 47. Albert V, Arulselvi S, Agrawal D, Pati HP, Pandey RM. Early posttraumatic changes in coagulation and fibrinolysis systems in isolated severe traumatic brain injury patients and its influence on immediate outcome. *Hematol Oncol Stem Cell Ther.* 2019;12(1):32-43.
48. 48. Kramer AH, Roberts DJ, Zygun DA. Optimal glyce-mic control in neurocritical care patients: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care.* 2012;16(5):R203.
49. 49. Hermanides J, Plummer MP, Finnis M, Deane AM, Coles JP, Menon DK. Glycaemic control targets after traumatic brain injury: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care.* 2018;22(1):11.

Ασθενείς με αυξημένη ενδοκρανία πίεση μετά από ΚΕΚ-ΑΕΕ και μελέτη προγνωστικών παραγόντων έκβασης

Όλγα Υγροπούλου¹, Δημήτριος Ρίζος¹, Σταύρος Μαντζούκας³,
Ελένη Κοσμά⁴, Μαρίνα Γερασίμου⁵, Ουρανία Μουσαφίρη⁶,
Γεώργιος Αλεξίου⁷, Σπυρίδων Βούλγαρης⁸



Υγροπούλου Όλγα

- ¹ Αναισθησιολόγος – Εντατικολόγος, Επιμελήτρια Α' ΕΣΥ, Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων Γ. Χατζηκώστα, Ιωάννινα
- ² Καρδιολόγος – Εντατικολόγος, Διευθύντρια ΕΣΥ, Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων Γ. Χατζηκώστα, Ιωάννινα
- ³ Καρδιολόγος, Επιμελητής Β' ΕΣΥ, Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων Γ. Χατζηκώστα, Ιωάννινα
- ⁴ Πνευμονολόγος - Εντατικολόγος, Επιμελήτρια Α' ΕΣΥ, Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων Γ. Χατζηκώστα
- ⁵ Ιατρός Βιοπαθολόγος
- ⁶ Αναισθησιολόγος - Εντατικολόγος, Διευθύντρια ΕΣΥ, Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων Γ. Χατζηκώστα
- ⁷ Αναπληρωτής Καθηγητής Νευροχειρουργικής, Νευροχειρουργική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων
- ⁸ Καθηγητής Νευροχειρουργικής, Νευροχειρουργική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων

Υπεύθυνη αλληλογραφίας

Υγροπούλου Όλγα

Στρατηγού Μακρυγιάννη 1, Ιωάννινα, Τ.Κ. 45500

Τηλ. επικοινωνίας: +30 2651080345

email: ygolga@gmail.com

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Οι κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις (ΚΕΚ) καθώς και τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια (ΑΕΕ) είναι από τις κύριες αιτίες θανάτου και αναπηρίας στο σύγχρονο κόσμο. Η πρόβλεψη της μακροπρόθεσμης έκβασης των ασθενών είναι δύσκολη, εξαιτίας της μεγάλης ετερογένειας των κακώσεων καθώς και της παρουσίας δευτεροπαθών βλαβών. Στόχος της συγκεκριμένης μελέτης ήταν η μελέτη διαφόρων κλινικό-εργαστηριακών παραμέτρων και η διερεύνηση του πιθανού προγνωστικού τους ρόλου στην έκβαση των ασθενών με ενδοκράνια παθολογία.

Μέθοδος: Πρόκειται για αναδρομική μελέτη παρατήρησης όπου κατά τη διάρκεια 3 χρόνων συγκεντρώθηκαν όλοι οι ασθενείς με ενδοκράνια παθολογία (ΚΕΚ, ισχαιμικά-αιμορραγικά ΑΕΕ) οι οποίοι διασωληνώθηκαν και μεταφέρθηκαν στη ΜΕΘ του Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων Γ. Χατζηκώστα. Σε αυτούς τους ασθενείς καταγράφηκαν η θερμοκρασία εισαγωγής, η αντίδραση των κορών στο φως καθώς και πολλοί άλλοι κλινικοί και εργαστηριακοί δείκτες όπως ο λόγος ουδετερόφιλων προς λεμφοκύτταρα (NEUTR:LYMPH ratio) κατά την εισαγωγή, η κλίμακα κώματος Γλασκώβης (GCS), η κλίμακα Marshall, η ύπαρξη διαταραχών ηλεκτρικής δραστηριότητας, καθώς και άλλοι βιοχημικοί δείκτες όπως η γλυκόζη αίματος, η ουρία, η κρεατινίνη, οι ηλεκτρολύτες κ.ά. Οι παράμετροι αυτές καταγράφηκαν σε περισσό-

τερες από μία χρονικές στιγμές και συγκεκριμένα κατά την εισαγωγή, στις 3,6, και 12 ώρες μετά από αυτή. Ακολούθως μελετήθηκε η σχέση των παραγόντων αυτών με την έκβαση με την χρήση λογισμικού SPSS v26.0.

Αποτελέσματα: Στη διάρκεια 3 ετών συγκεντρώθηκαν συνολικά 79 ασθενείς με ενδοκράνια παθολογία, 56 ήταν άνδρες και 23 γυναίκες. Από αυτούς απεβίωσαν οι 37. Υποθερμία καταγράφηκε σε 52 από τους ασθενείς ο δείκτης NLR καταγράφηκε σημαντικά υψηλότερος για τους ασθενείς που απεβίωσαν ($12,78 \pm 9,48$) συγκριτικά με τους ασθενείς που επέζησαν ($7,08 \pm 5,96$) ($p=0.007$). Παράλληλα οι τιμές της κλίμακας Γλασκώβης (GCS) καταγράφηκαν σημαντικά χαμηλότερες για τους ασθενείς που απεβίωσαν ($5,35 \pm 2,90$) συγκριτικά με τους ασθενείς που επέζησαν ($8,13 \pm 4,21$) ($p=0.002$). Τέλος στατιστικά σημαντικές διαφορές εντοπίστηκαν και για το δείκτη Marshall όπου καταγράφηκαν σημαντικά υψηλότερες τιμές για τους ασθενείς που απεβίωσαν ($5,08 \pm 1,14$) συγκριτικά με τους ασθενείς που επέζησαν ($4,25 \pm 1,66$) ($p=0.020$). Επίσης φαίνεται ότι τόσο για της τιμές της Cre όσο για την Urea οι τιμές των θανάτων είναι σημαντικά υψηλότερες από αυτούς που επέζησαν με $p=0,005$ και $p=0,004$ αντίστοιχα.

Συμπεράσματα: Η συγκεκριμένη μελέτη διερεύνησε την προγνωστική αξία των τυπικών εξετάσεων αίματος κατά την εισαγωγή των ασθενών με ενδοκράνια παθολογία σε ενήλικες. Η χρήση αιματολογικών εξετάσεων που γίνονται τακτικά ως προγνωστικά εργαλεία θα ήταν ένας εύκολος και οικονομικά αποδοτικός τρόπος για την πρόβλεψη του αποτελέσματος στην πρώιμη φάση. Το γεγονός αυτό θα είχε ως αποτέλεσμα την επιθετικότερη αντιμετώπιση τους, την αξιολόγηση των ήδη υπαρχόντων θεραπειών αλλά και την δημιουργία νέων.

Λέξεις-κλειδιά: κраниοεγκεφαλικές κακώσεις, πρόγνωση, αιματολογικοί και βιοχημικοί παράμετροι

Patients with increased intracranial pressure and study of prognosis factors

Olga Ygropoulou¹, Dimitrios Rizos¹, Stavros Mantzoukis³,
Eleni Kosma⁴, Marina Gerasimou⁵, Ourania Mousafiri⁶,
Georgios Alexiou⁷, Spyridon Voulgaris⁸

¹ Anesthesiologist - Intensivist, Senior Consultant, Intensive Care Unit, General Hospital of Ioannina G. Chatzikosta, Ioannina

² Cardiologist – Intensivist, Senior Consultant, Intensive Care Unit, General Hospital of Ioannina G. Chatzikosta, Ioannina

³ Cardiologist, Consultant, Intensive Care Unit, General Hospital of Ioannina G. Chatzikosta, Ioannina

⁴ Pulmonologist - Intensivist, Consultant, Intensive Care Unit, General Hospital of Ioannina G. Chatzikosta, Ioannina

⁵ Medical Biopathologist

⁶ Anesthesiologist - Intensivist, Head of the Department, Intensive Care Unit, General Hospital of Ioannina 'G. Hatzikosta

⁷ Associate Professor of Neurosurgery, Neurosurgery Clinic, University General Hospital of Ioannina

⁸ Professor of Neurosurgery, Neurosurgery Clinic, University General Hospital of Ioannina

SUMMARY

Introduction: Traumatic brain injuries as well as cerebrovascular events are among the main causes of death and disability in the modern world. Predicting the long-term outcome of patients is difficult, due to the great heterogeneity of injuries as well as the presence of secondary lesions. The aim of this study was to study various clinical-laboratory parameters and to investigate their possible prognostic role in the outcome of patients with intracranial pathology.

Methods: This is a retrospective observational study which includes all patients with intracranial pathology, over the course of 3 years, who were intubated and transferred to the ICU of the General Hospital of Ioannina 'G. Hatzikosta'. In these patients, admission temperature, pupillary light reaction and many other clinical and laboratory parameters such as neutrophil to lymphocyte ratio (NEUTR:LYMPH ratio) on admission, Glasgow Coma Scale (GCS), Marshall Scale, the existence of coagulation disorders, as well as other biochemical indicators such as blood glucose, urea, creatinine, electrolytes etc were recorded. These parameters were recorded at more than one time point, specifically during admission, at 3, 6, and 12 hours after admission. Subsequently, the relationship of these factors with the outcome was studied using SPSS v26.0 software.

Results: During 3 years, a total of 79 patients with intracranial pathology were included, 56 were men and 23 were women. 37 of them died. Hypothermia was recorded in 52 of the patients. The NLR index was significantly higher for the patients who died (12.78 ± 9.48) compared to the patients who survived (7.08 ± 5.96) ($p = 0.007$). At the same time, the Glasgow Scale (GCS) values were significantly lower for the patients who died (5.35 ± 2.90) compared to the patients who survived (8.13 ± 4.21) ($p = 0.002$). Finally, statistically significant differences were also found for the Marshall index where significantly higher values were recorded for the patients who died (5.08 ± 1.14) compared to the patients who survived (4.25 ± 1.66) ($p = 0.020$). It also appears that for both the values of Cre and Urea the values of the deceased are significantly higher than those who survived with $p = 0.005$ and $p = 0.004$ respectively.

Conclusions: This study investigated the predictive value of standard blood tests on admission of patients with intracranial pathology in adults. The use of routine blood tests as prognostic tools would be an easy and cost-effective way to predict the outcome in the early phase. This fact would result in a more aggressive treatment of them, the evaluation of already existing treatments and the creation of new ones.

Key words: traumatic brain injuries, prognosis, hematological and biochemical parameters

Εισαγωγή

Οι κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις (ΚΕΚ) καθώς και τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια (ΑΕΕ) είναι από τις κύριες αιτίες θανάτου και αναπηρίας στο σύγχρονο κόσμο. Η πρόβλεψη της μακροπρόθεσμης έκβασης των ασθενών είναι δύσκολη, εξαιτίας της μεγάλης ετερογένειας των κακώσεων καθώς και της παρουσίας δευτεροπαθών βλαβών. Η πρόβλεψη της έκβασης στις πρώτες ώρες ή ημέρες μετά τον τραυματισμό περιορίζεται από την έλλειψη διαθέσιμων συστημάτων ή κλινικών μεταβλητών. Ο στόχος ενός μοντέλου πρόβλεψης είναι να καθορίσει την επιβίωση και τη μακροπρόθεσμη λειτουργική έκβαση του ατόμου.

Η ακριβής και έγκαιρη πρόγνωση είναι σημαντική

καθώς επιτρέπει την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας αλλά και της σύγκρισης νέων θεραπειών, καθώς και να επιτρέπει τον έλεγχο και τη σύγκριση μεταξύ των κέντρων φροντίδας. Από την άλλη μεριά η έγκαιρη αναγνώριση μιας κακής πρόγνωσης δίνει στον ιατρό και διεπιστημονική ομάδα τη δυνατότητα της επιθετικής αντιμετώπισης του ασθενούς με βελτίωση πολλές φορές των αποτελεσμάτων.⁽¹⁾ Πολλές κλινικές μεταβλητές έχουν μελετηθεί για να προσδιοριστεί εάν μπορεί να διαδραματίσουν κάποιο ρόλο πρόβλεψη της έκβασης, συμπεριλαμβανομένης της ηλικίας, της βαθμολογίας της κλίμακας κώματος Γλασκόβης της αντιδραστικότητας των κορώνστο φως, των ευρημάτων αξονικής ή μαγνητικής τομογραφίας.^(2,3,4) Επίσης, διάφορες

κλίμακες βαρύτητας, όπως η κλίμακα βαρύτητας τραύματος (Injury Severity Score (ISS)), η κλίμακα Abbreviated Injury Scale (AIS), η κλίμακα έκτασης εγκεφαλικής βλάβης κατά MARSHALL (Computed Tomography scan grade (CT scan grade)) χρησιμοποιούνται συχνά σε πολυπαράγοντικά μοντέλα πρόβλεψης έκβασης.⁽⁵⁾

Στη μελέτη αυτή εξετάσαμε διάφορους κλινικό-εργαστηριακούς δείκτες και προσπαθήσαμε να αποδείξουμε αν μπορούν να διαδραματίσουν κάποιο ρόλο στην πρόβλεψη της έκβασης των ασθενών με ενδοκράνια παθολογία.

Μέθοδος

Πρόκειται για αναδρομική μελέτη παρατήρησης όπου κατά τη διάρκεια 3 χρόνων συγκεντρώθηκαν όλοι οι ασθενείς με ενδοκράνια παθολογία (ΚΕΚ, ισχαιμικά-αιμορραγικά ΑΕΕ) οι οποίοι διασωληνώθηκαν και μεταφέρθηκαν στη ΜΕΘ του Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων 'Γ. Χατζηκώστα'. Σε αυτούς τους ασθενείς καταγράφηκαν η θερμοκρασία εισαγωγής, η αντίδραση των κορών στο φως καθώς και πολλοί άλλοι κλινικοί και εργαστηριακοί δείκτες όπως ο λόγος ουδετερόφιλων προς λεμφοκύτταρα (NEUTR:LYMPH ratio) κατά την εισαγωγή, η κλίμακα κώματος Γλασκώβης (GCS), η κλίμακα Marshall, η ύπαρξη διαταραχών πηκτικότητας, καθώς και άλλοι βιοχημικοί δείκτες όπως η γλυκόζη αίματος, η ουρία, η κρεατινίνη, οι ηλεκτρολύτες κ.ά. Οι παράμετροι αυτές καταγράφηκαν σε περισσότερες από μία χρονικές στιγμές και συγκεκριμένα κατά την εισαγωγή, στις 3,6, και 12 ώρες μετά από αυτή.

Στατιστική ανάλυση

Για την περιγραφή των δεδομένων σε συνεχή κλίμακα όπως η κλίμακα GCS και το NLR χρησιμοποιήθηκαν μέσες τιμές και τυπικές αποκλίσεις ενώ για τις κατηγορικές παραμέτρους όπως ο θάνατος και η υποθερμία χρησιμοποιήθηκαν πλήθη και ποσοστά. Πραγματοποιήθηκαν έλεγχοι MannWhitney για δύο ανεξάρτητα δείγματα για την διαφοροποίηση των εκβάσεων ανάλογα με την θνητότητα και την υποθερμία. Για την εξέταση των σχέσεων μεταξύ κατηγορικών μεταβλητών χρησιμοποιήθηκε ο Έλεγχος ανεξαρτησίας PearsonChiSquare αλλά και ο έλεγχος Fisher'sExact σε περιπτώσεις μη πλήρωσης των προϋποθέσεων του πρώτου. Οι αλλαγές τους στην πάροδο του χρόνου καθώς και μεταξύ ομάδων, υπολογίστηκαν με χρήση γενικών γραμμικών μοντέλων για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις και με posthoc test στα οποία ερμηνεύτηκαν με βάση το κριτήριο Bonferroni για πολλαπλές συγκρίσεις. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό

SPSS v26.0 και το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε ίσο με 0,05 σε όλες τις περιπτώσεις.

Αποτελέσματα

Στη διάρκεια 3 ετών συγκεντρώθηκαν συνολικά 79 ασθενείς με ενδοκράνια παθολογία, 56 ήταν άνδρες και 23 γυναίκες με διαφορετικές διαγνώσεις που περιγράφονται αναλυτικά στον πίνακα 1. Από αυτούς απεβίωσαν οι 37. Υποθερμία καταγράφηκε σε 52 από τους ασθενείς

Πίνακας 1

	COUNT	COLUMN N %	
ΦΥΛΟ	A	56	70,89
	Θ	23	29,11
ΔΙΑΓΝΩΣΗ	Αιμορραγικό ΑΕΕ	35	44,30
	Ισχαιμικό ΑΕΕ	8	10,13
	ΚΕΚ	24	30,38
	Όγκος εγκεφάλου	5	6,33
	Πολυτραυματίας	7	8,86
ΥΠΟΘΕΡΜΙΑ36	όχι	27	34,18
	ναι	52	65,82
ΘΑΝΑΤΟΣ	Όχι	40	51,95
	Ναι	37	48,05

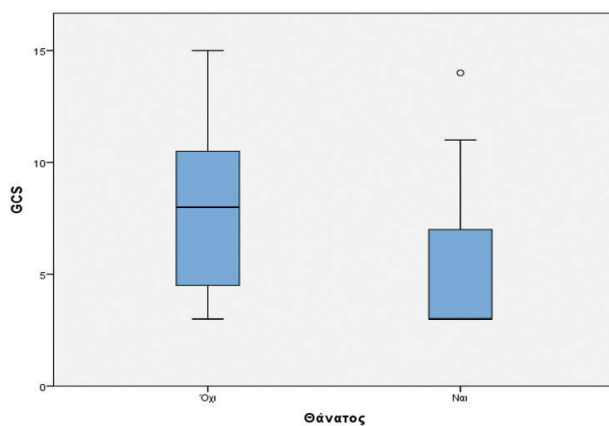
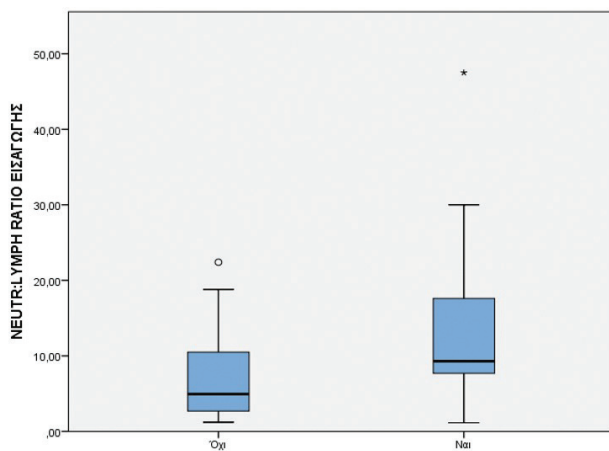
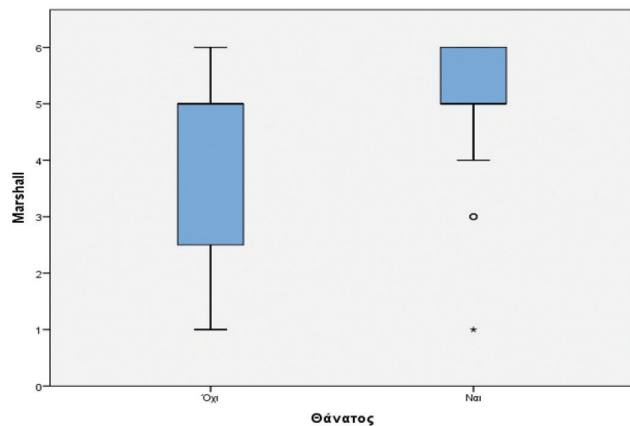
Από την πρωτογενή ανάλυση φαίνεται ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά των τιμών στους κύριους δείκτες έκβασης ανάλογα με το θάνατο, όπως φαίνεται από το πίνακα 2 που ακολουθεί.

Πίνακας 2

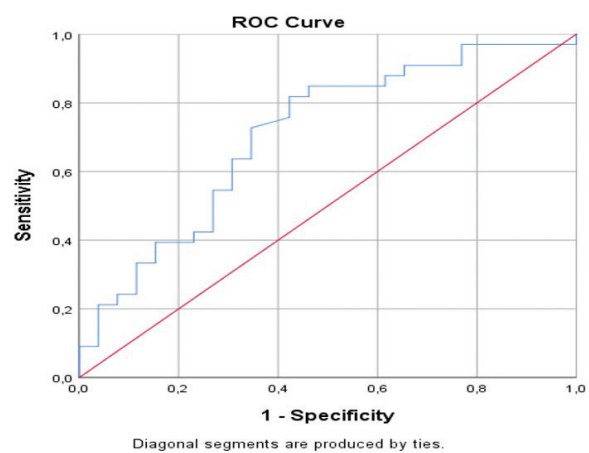
	ΘΑΝΑΤΟΣ	N	Mean	Std. Deviation	p-value
NEUTR:LYMPH RATIO ΕΙΣΑΓΩΓΗΣ	Όχι	26	7,08	5,96	0,007
	Ναι	33	12,79	9,48	
GCS	Όχι	40	8,13	4,21	0,002
	Ναι	37	5,35	2,90	
GLC	Όχι	40	167,95	65,41	0,112
	Ναι	37	195,11	77,23	
INR	Όχι	38	1,186	,187	0,942
	Ναι	34	1,273	,480	
MARSHALL	Όχι	40	4.25	1.66	0,020
	Ναι	37	5.08	1.14	
FIB	Όχι	35	339,7	167,5	0,070
	Ναι	28	417,5	214,12	

Συγκεκριμένα προκύπτει ότι ο δείκτης NLR καταγράφηκε σημαντικά υψηλότερος για τους ασθενείς που απεβίωσαν (12,78±9,48) συγκριτικά με τους ασθενείς που

επέζησαν ($7,08 \pm 5,96$) ($p=0.007$). Παράλληλα οι τιμές της κλίμακας Γλασκώβης (GCS) καταγράφηκαν σημαντικά χαμηλότερες για τους ασθενείς που απεβίωσαν ($5,35 \pm 2,90$) συγκριτικά με τους ασθενείς που επέζησαν ($8,13 \pm 4,21$) ($p=0.002$). Τέλος στατιστικά σημαντικές διαφορές εντοπίστηκαν και για το δείκτη Marshall όπου καταγράφηκαν σημαντικά υψηλότερες τιμές για τους ασθενείς που απεβίωσαν ($5,08 \pm 1,14$) συγκριτικά με τους ασθενείς που επέζησαν ($4,25 \pm 1,66$) ($p=0.020$). Για τις υπόλοιπες εκβάσεις δεν καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφοροποιήσεις. Οι διαφορές αποδίδονται από τα γραφήματα 1-3



Για τον προσδιορισμό της διαχωριστικής ικανότητας του NLR σχετικά με την έκβαση «θάνατος» εκτιμήθηκε η καμπύλη ROC. Από την ανάλυση προέκυψε ότι το p-value για την καμπύλη είναι ίσο με 0,007 και συνεπώς οι τιμές του NLR μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να προβλέψουν την έκβαση. Συγκεκριμένα το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη (AUC) εκτιμήθηκε ίσο με 0,707 με 95% διάστημα εμπιστοσύνης (0,572 – 0,843). Η ευαισθησία και η ειδικότητα του NLR για την έκβαση με cutoff την τιμή 6 εκτιμήθηκαν ίσες με 81,8% και 57,7% αντίστοιχα. Οι αντίστοιχες τιμές για cutoff την τιμή 8 εκτιμήθηκαν ίσες με 72,7% και 65,4%

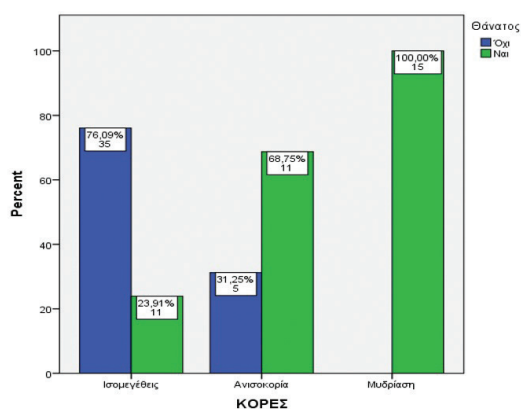


Σχετικά με τις διαταραχές πήξης δε καταγράφηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην αναλογία των θανάτων ($p=0,588$). Καταγράφηκε όμως διαφορά ανάλογα με την κατάσταση των κορών όπως φαίνεται και από τον πίνακα 3.

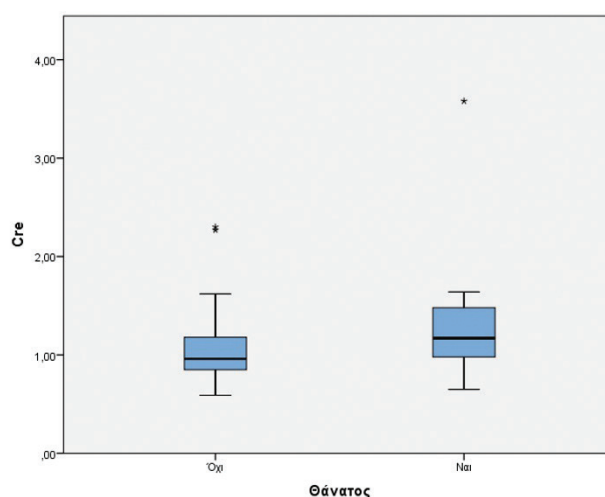
Πίνακας 3

	ΘΑΝΑΤΟΣ					
	ΟΧΙ		ΝΑΙ		p- value	
	N	%	N	%		
ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΠΗΞΗΣ	όχι	23	54,76	19	45,24	0,588
	ναι	17	48,57	18	51,43	
ΚΟΡΕΣ	Ισομεγέθεις	35	76,09	11	23,91	<0,001
	Ανισοκορία	5	31,25	11	68,75	
	Μυδρίαση	0	,00	15	100,00	

Συγκεκριμένα και όπως προκύπτει από το γράφημα 4 το ποσοστό θανάτου είναι σημαντικά υψηλότερο στους ασθενείς με ανισοκορία (68,75%) συγκριτικά με τους ασθενείς που είχαν ισομεγέθεις κόρες (23,91%), ενώ οι 15 ασθενείς με μυδρίαση απεβίωσαν όλοι (100%). Οι διαφορές αυτές αποδίδονται από το συγκριτικό ραβδόγραμμα που ακολουθεί.



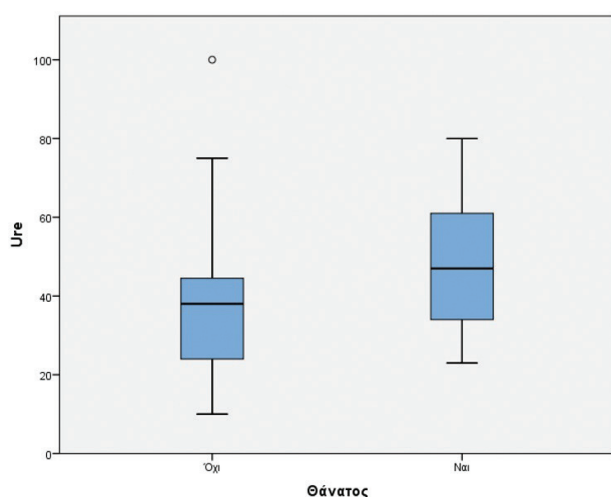
Ως προς το σύνολο των παραμέτρων που εξετάζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές καταγράφονται για την Ure και Cre. Συγκεκριμένα φαίνεται ότι τόσο για τις τιμές της Cre όσο για την Urea οι τιμές των θανόντων είναι σημαντικά υψηλότερες από αυτούς που επέζησαν με $p=0,005$ και $p=0,004$ αντίστοιχα. Οι διαφορές αποδίδονται από τα συγκριτικά θηκογράμματα 5 και 6 που παρατίθενται στη συνέχεια.



Όσον αφορά τις παραμέτρους μερική πίεση οξυγόνου στο αίμα (PO₂), γαλακτικό οξύ, pH (νορμοκαπνία - οξέωση) δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές. Τα p-values παρουσιάζονται αναλυτικά στους πίνακες 5 και 6 που ακολουθούν.

Πίνακας 4

	ΘΑΝΑΤΟΣ						
	OXI			NAI			p-value
	STANDARD			STANDARD			
	Mean	Deviation	N	Mean	Deviation	N	
HT	36,53	7,11	40	36,60	7,62	37	0,668
NA	139,80	5,07	40	140,97	4,61	37	0,287
U.A.	6,63	3,77	8	3,45	3,62	11	0,062
URE	37,70	17,82	40	48,68	16,82	37	0,005
CRE	1,06	0,37	40	1,26	0,48	37	0,004
AMS	101,97	176,16	38	116,62	206,11	37	0,626
CRP	4,65	7,98	39	4,68	8,57	34	0,821
PLT	204,80	92,90	40	210,86	102,69	37	0,646
PT	13,50	2,21	40	14,70	5,55	37	0,886
APTT	31,34	7,95	40	40,38	30,63	36	0,077



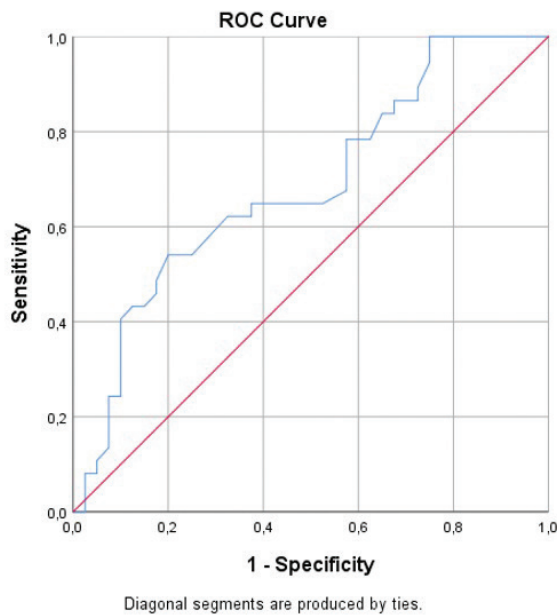
Πίνακας 5

	ΘΑΝΑΤΟΣ						
	OXI			NAI			p-value
	STANDARD			STANDARD			
	Mean	Deviation	N	Mean	Deviation	N	
PO ₂	216,45	130,02	40	206,69	110,34	37	0,725
ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ	3,30	2,80	17	5,11	7,72	18	0,368
PH	7,43	,08	40	7,40	,10	37	0,127

Πίνακας 6

	ΘΑΝΑΤΟΣ						p-value
		OXI		NAI			
		N	%	N	%		
ΝΟΡΜΟΚΑΠΝΙΑ	Όχι	28	52,8%	25	47,2%	0,818	
	Ναι	12	50,0%	12	50,0%		
ΟΞΕΩΣΗ	Όχι	38	53,5%	33	46,5%	0,419	
	Ναι	2	33,3%	4	66,7%		

Για τον προσδιορισμό της διαχωριστικής ικανότητας της Ουρίας σχετικά με την έκβαση «θάνατος» εκτιμήθηκε η καμπύλη ROC. Από την ανάλυση προέκυψε ότι το p-value για την καμπύλη είναι ίσο με 0,005 και συνεπώς οι τιμές της ουρίας μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να προβλέψουν την έκβαση. Συγκεκριμένα το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη (AUC) εκτιμήθηκε ίσο με 0,685 με 95% διάστημα εμπιστοσύνης (0,566 – 0,804). Η ευαισθησία και η ειδικότητα της ουρίας για την έκβαση με cutoff την τιμή 46 εκτιμήθηκαν ίσες με 54,1% και 80% αντίστοιχα.



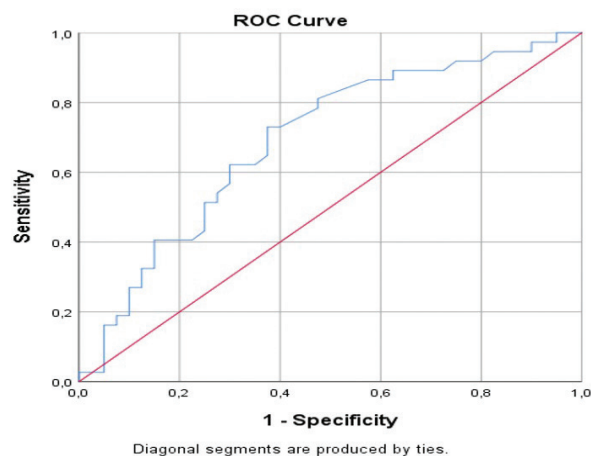
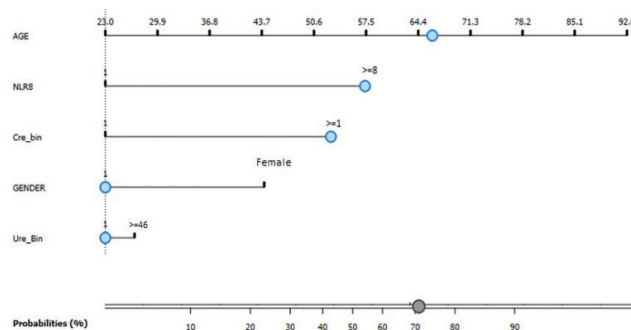
AREAUUNDER THE CURVE				
Test Result Variable(s): Ure				
ASYMPTOTIC 95% CONFIDENCEINTERVAL				
Area	Std.Error	AsymptoticSig.b	LowerBound	UpperBound
,692	,061	,004	,573	,811

Για την αποτύπωση της αύξησης του κινδύνου για αρνητική έκβαση δημιουργήθηκε ένα νομογράμμα το οποίο αποδίδει την πιθανότητα αρνητικής ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του ασθενούς. Οι παράμετροι που χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία του νομογράμματος είναι αυτοί που προέκυψε ότι είναι στατιστικά σημαντικοί από την ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης αλλά και η ηλικία και το φύλο των ασθενών για τη δυνατότητα της γενίκευσης.

Έτσι, από την ανάλυση προκύπτει ότι ο κίνδυνος για ένα άρρεν ασθενή 65 ετών με $NLR \geq 8$, κρεατινίνη ≥ 1 και ουρία μικρότερη από 46 εκτιμάται ίση με 71%, ενώ για ασθενή ίδιας ηλικίας και φύλου χωρίς τους δύο παράγοντες κινδύνου, έχει κίνδυνο ίσο με 26%. Οι αντίστοιχες τιμές για μία γυναίκα ίδια ηλικίας είναι 82% και 40% αντίστοιχα. Εκτός λοιπόν από την ηλικία που προφανώς επηρεάζει σημαντικά τον κίνδυνο μίας αρνητικής έκβασης, σημαντικό ρόλο έχει το NLR όταν είναι μεγαλύτερο ή ίσο με 8 όπως επίσης και οι τιμές κρεατινίνης όταν ξεπερνούν την τιμή 1.

AREAUUNDER THE CURVE				
Test Result Variable(s): Ure				
ASYMPTOTIC 95% CONFIDENCEINTERVAL				
Area	Std.Error	AsymptoticSig.b	LowerBound	UpperBound
,685	,061	,005	,566	,804

Για τον προσδιορισμό της διαχωριστικής ικανότητας της Κρεατινίνης σχετικά με την έκβαση «Θάνατος» εκτιμήθηκε η καμπύλη ROC. Από την ανάλυση προέκυψε ότι το p-value για την καμπύλη είναι ίσο με 0,004 και συνεπώς οι τιμές της κρεατινίνης μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να προβλέψουν την έκβαση. Συγκεκριμένα το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη (AUC) εκτιμήθηκε ίσο με 0,692 με 95% διάστημα εμπιστοσύνης (0,573 – 0,811). Η ευαισθησία και η ειδικότητα της κρεατινίνης για την έκβαση με cutoff την τιμή 1 εκτιμήθηκαν ίσες με 73,0% και 62,5% αντίστοιχα.



Συζήτηση

Εκτιμάται ότι καταγράφονται 69 εκατομμύρια περιπτώσεις τραυματικών εγκεφαλικών βλαβών (TBI) ετησίως σε όλο τον κόσμο, κυρίως στη Νοτιοανατολική Ασία, ενώ σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, το 30% με 40% των θανάτων που σχετίζονται με τραυματισμούς οφείλονται σε κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις.⁽⁶⁾ Οι κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις είναι σημαντικό κοινωνικοοικονομικό πρόβλημα υγείας που επηρεάζει τόσο τις χαμηλού και μεσαίου εισοδήματος χώρες όσο και τις ανεπτυγμένες χώρες και αποτελούν την κυρίαρχη αιτία θνησιμότητας και σωματικής αναπηρίας σε άτομα ηλικί-

ας κάτω των 40 ετών παγκοσμίως, καθώς περίπου το 50% των ασθενών με ΚΕΚ ζουν με σοβαρές αναπηρίες δια βίου.⁽⁷⁾

Σημαντικό ρόλο στον καθορισμό της έκβασης των ασθενών διαδραματίζει η κλίμακα κώματος της Γλασκόβης (GCS) που δημιουργήθηκε κυρίως για την αξιολόγηση του επιπέδου συνείδησης των ασθενών μετά από κρανιοεγκεφαλική κάκωση. Μετρά τις καλύτερες οφθαλμικές, κινητικές και λεκτικές απαντήσεις του ασθενή με ΚΕΚ και είναι μια ευρέως χρησιμοποιούμενη και αποδεκτή προγνωστική κλίμακα τόσο για τραυματικές όσο και για μη τραυματικές διαταραχές συνείδησης. Επιπλέον, έχει αναγνωρισθεί ως αξιόπιστο εργαλείο για την παρακολούθηση ασθενών με ΚΕΚ, καθώς και ως δείκτης σοβαρότητας τραυματισμού.⁽⁸⁾

Η κλίμακα Γλασκόβης (GCS) κατά την εισαγωγή, η ηλικία και η αντίδραση των κορών στο φως είναι από τους πιο ισχυρούς προγνωστικούς παράγοντες. Η αύξηση ακόμα και ενός βαθμού GCS συσχετίζεται με σχεδόν δύο φορές καλύτερη πρόγνωση και ευνοϊκότερο αποτέλεσμα.^(9,10)

Στη μελέτη μας φάνηκε ότι η κλίμακα Γλασκόβης αποτελεί προγνωστικό δείκτη έκβασης και οι ασθενείς με χαμηλή βαθμολογία στην κλίμακα Γλασκόβης έχουν χειρότερη έκβαση ενώ κάτι ανάλογο συμβαίνει και με την κλίμακα έκτασης εγκεφαλικής βλάβης-Marshall. Επίσης η ανισοκορία αποτελεί ανεξάρτητο δυσμενή προγνωστικό παράγοντα.

Υπόταση και υποξία

Η υπόταση και η υποξία μετά από ΚΕΚ σχετίζονται με δυσμενή έκβαση. Μελέτες έχουν δείξει ότι η υποξία προκαλεί ταχεία καταστροφή του εγκεφαλικού ιστού και ως εκ τούτου, μια δυσμενή πρόγνωση. Ο Petroni και οι συνεργάτες του βρήκαν μια πολύ δυνατή σχέση μεταξύ υπότασης και αποτελέσματος. Η υπόταση (SBP <90 mmHg) συσχετίστηκε με δυσμενή 6μηνη έκβαση στο 96 τοις εκατό των περιπτώσεων. Τα αποτελέσματα τυχαιοποιημένων ελεγχόμενων μελετών έδειξαν ότι η αύξηση της συστολικής αρτηριακής πίεσης (SBP) είναι ένας σημαντικός και ανεξάρτητος παράγοντας βελτίωσης της έκβασης σε ασθενείς με TBI που παρουσιάζουν υπόταση.⁽¹⁰⁾

Στη μελέτη μας η υποξία και η υπόταση εισαγωγής δεν φάνηκε να αποτελούν ανεξάρτητους προγνωστικούς παράγοντες κακής έκβασης ίσως λόγω μικρού αριθμητικού δείγματος.

Αιματολογικοί και βιοχημικοί παράμετροι

Επίσης καταγράφηκαν διάφοροι αιματολογικοί παράμετροι κατά την εισαγωγή των ασθενών στη ΜΕΘ, όπως ο

αιματοκρίτης, η ουρία, η κρεατινίνη, η αμυλάση, η C αντιδρώσα πρωτεΐνη, τα αιμοπετάλια, ο χρόνος θρομβίνης, ο χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης, το γαλακτικό οξύ, ηλεκτρολύτες όπως το νάτριο και το κάλιο, η μερική πίεση οξυγόνου στο αίμα, η μερική πίεση του διοξειδίου, το Ph κ.α.

Πολύ συχνά ασθενείς με κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις εμφανίζουν χαμηλές τιμές αιματοκρίτη, γεγονός που συνδέεται με δυσμενή έκβαση.^(11,12,13,14,15,16)

Στη μελέτη μας ένα πολύ μικρό ποσοστό ασθενών είχε χαμηλές τιμές αιματοκρίτη, και έτσι δεν αποτέλεσε ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα. Το γεγονός αυτό συμφωνεί με τη μελέτη του Dolmans και των συνεργατών του οι οποίοι δεν μπόρεσαν να συσχετίσουν τις χαμηλές τιμές αιματοκρίτη με την έκβαση, παρά το υψηλό ποσοστό ασθενών με χαμηλό αιματοκρίτη που είχαν στη μελέτη τους. Στην ίδια μελέτη οι ερευνητές δεν μπόρεσαν επίσης να συσχετίσουν τις διαταραχές πήκτικότητας με την έκβαση παρα το γεγονός ότι παρουσιάστηκε στο 49% των ασθενών.⁽¹²⁾

Έτσι και στη δική μας μελέτη οι διαταραχές πήκτικότητας δεν αποτέλεσαν προγνωστικό δείκτη. Παρόλα αυτά οι διαταραχές πήκτικότητας μετά από ΚΕΚ είναι συχνές και μπορούν να επηρεάσουν δυσμενώς την έκβαση.⁽¹⁶⁾

Ανεξάρτητοι παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με οξείες διαταραχές πήκτικότητας μετά από κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις περιλαμβάνουν την αρτηριακή υπόταση, περίσσεια βάσης, υποθερμία, χαμηλή τιμή της GCS κατά την εισαγωγή καθώς και υποξία. Η αναγνώριση και η αξιολόγηση των παραγόντων κινδύνου είναι χρήσιμοι στην κλινική πράξη για την έγκαιρη αναγνώριση των διαταραχών πήκτικότητας, με αποτέλεσμα την έγκαιρη παροχή, στοχευμένων θεραπειών. Μένει να προσδιοριστεί αν οι διαταραχές πήκτικότητας είναι αποτέλεσμα της κρανιοεγκεφαλικής κάκωσης ή ένας παράγοντας που επιδεινώνει την κρανιοεγκεφαλική κάκωση.^(17,18)

Ο επιπολασμός των διαταραχών πήκτικότητας σε ασθενείς με κρανιοεγκεφαλική κάκωση οι οποίοι βρίσκονται υπό θεραπεία με αντιπηκτικά και αντιαιμοπεταλιακά φάρμακα είναι σημαντικά υψηλότερος από ό, τι σε ασθενείς χωρίς αντιπηκτική θεραπεία. Αντιπηκτικά και/ή αντιαιμοπεταλιακά φάρμακα συνταγογραφούνται όλο και περισσότερο για αρκετές ενδείξεις σε ηλικιωμένους. Επιδημιολογικές μελέτες επιβεβαιώνουν ότι οι πτώσεις είναι ο συνηθέστερος μηχανισμός που οδηγεί ηλικιωμένους ασθενείς σε σοβαρούς τραυματισμούς στην κεφαλή.⁽¹⁸⁾

Οι ηλεκτρολυτικές διαταραχές επίσης είναι συχνές σε τραυματική εγκεφαλική βλάβη. Οι διαφορετικοί τύποι ενδοφλέβιων υγρών που χρησιμοποιούνται στην ανά-

νηψη των ασθενών, τα ωσμωτικά διουρητικά, η μαζική απώλεια αίματος και η ενδοκράνια παθολογία είναι παράγοντες που επιδεινώνουν τις διαταραχές των ηλεκτρολυτών σε αυτούς τους ασθενείς (19). Στη μελέτη μας οι ηλεκτρολυτικές διαταραχές (υπο- υπερνατρίαμια) δεν αποτέλεσαν δείκτες έκβασης.

Η υπεργλυκαιμία από την άλλη μεριά, σχετίζεται με χειρότερη έκβαση στους ασθενείς με ΚΕΚ. Η υπεργλυκαιμία του στρες είναι ένα συνηθισμένο εύρημα μετά τον τραυματισμό και τοποθετείται μεταξύ των παραγόντων με την ισχυρότερη προγνωστική αξία. (10,20,21)

Η αύξηση της γλυκόζης στο αίμα δεν προκαλεί έκπληξη όταν το σκεφτεί κανείς τον πρωταρχικό ρόλο που παίζουν οι ορμόνες του στρες σε πολλά τραύματα συμπεριλαμβανομένων οξέων σοβαρών εγκεφαλικών τραυματιών. Αυτό ισχύει ιδιαίτερα για τις ορμόνες που εμπλέκονται στο μεταβολισμό της γλυκόζης, όπως η κορτιζόλη, η γλυκαγόνη και οι κατεχολαμίνες οι οποίες είναι αυξημένες λόγω της ενεργοποίησης του άξονα υποθαλάμου- υπόφυσης-επινεφριδίων καθώς και του συμπαθητικού αυτόνομου νευρικού συστήματος. Η αύξηση αυτών των ορμονών στο αίμα οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα γλυκόζης μέσω ενεργοποίησης μιας σειράς μεταβολικών οδών όπως λιπόλυση, πρωτεόλυση, γλυκογενόλυση και γλυκονεογένεση σε πολλούς ιστούς, αλλά ιδιαίτερα στο ήπαρ. Τα αυξημένα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα εμφανίζονται σε ανταπόκριση στις αυξημένες απαιτήσεις γλυκόζης των κατεστραμμένων κύτταρων του ιστού του εγκεφάλου και ως εκ τούτου μπορεί να αναμένεται αύξηση τους με αυξανόμενη σοβαρότητα της ζημιάς. Μια άλλη αιτία υπεργλυκαιμίας στο TBI θα μπορούσε είναι η φλεγμονώδης απάντηση. Κατά τη διάρκεια της TBI, αρκετές προφλεγμονώδεις κυτοκίνες, όπως π.χ. ιντερλευκίνη 6 (IL-6) και παράγοντας νέκρωσης όγκου (TNF) άλφα, απελευθερώνονται και μπορούν να επηρεάσουν τη παραγωγή γλυκόζης (12,22)

Διαφοροποίηση καταγράφηκε στις τιμές της ουρίας και της κρεατινίνης όπου η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική με $p=0,009$ και $p=0,00$ αντίστοιχα με τους επιζώντες να έχουν αρχικά σημαντικά χαμηλότερες τιμές. Το εύρημα αυτό συμφωνεί με τη μελέτη του Gul. και των συνεργατών του, όπου διαπιστώνουν σημαντικά υψηλότερες τιμές της ουρίας σε ασθενείς που απεβίωσαν μετά από σοβαρή κρανιοεγκεφαλική κάκωση. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται σε καταστάσεις προνεφρικής αζωθαιμίας, οξείας σωληναριακής νέκρωσης ή να είναι μια αντανάκλαστική απάντηση του οργανισμού στο οξύ τραύμα σε μια προσπάθεια να μειώσει την αυξημένη ενδοκράνια πίεση. Εκτός από αυτούς τους παθολογικούς λόγους,

είναι πιθανό υψηλά επίπεδα ουρίας να αναπτυχθούν σε ασθενείς με σοβαρούς τραυματισμούς ως αποτέλεσμα πολλαπλών κακώσεων ή πολλαπλών ανεπαρκειών.⁽²²⁾

Ένας άλλος προγνωστικός παράγοντας για την πρόβλεψη λειτουργικών αποτελεσμάτων και ποσοστών θνησιμότητας σε ασθενείς με TBI είναι και ο λόγος ουδετερόφιλων προς λεμφοκύτταρα (NLR). Είναι ένας αντικειμενικός, διαθέσιμος, χαμηλού κόστους δείκτης φλεγμονής. Είναι επίσης ένας δείκτης εκτεταμένης δευτερογενούς βλάβης Κατά συνέπεια, το NLR προτείνεται ως πολύτιμος προγνωστικός παράγοντας έκβασης σε ασθενείς με ΚΕΚ. Στοιχεία που προκύπτουν από πολλές μελέτες δείχνουν ότι οι υψηλότερες τιμές NLR είναι ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες για φτωχότερα λειτουργικά αποτελέσματα και υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας σε ασθενείς με σοβαρή ΚΕΚ. Επιπλέον, υψηλότερες τιμές NLR συσχετίζονται με χαμηλότερη κλίμακα κώματος της Γλασκόβης (GCS). Έτσι, ο ρόλος του ως συμπληρωματικός δείκτης με άλλους παράγοντες όπως η κλίμακα GCS στην πρόβλεψη αποτελεσμάτων μετά από TBI είναι υπό διερεύνηση. (23,24,25)

Στη δική μας μελέτη προκύπτει ότι ο δείκτης NLR καταγράφηκε σημαντικά υψηλότερος για τους ασθενείς που απεβίωσαν ($12,78\pm 9,48$) συγκριτικά με τους ασθενείς που επέζησαν ($7,08\pm 5,96$) ($p=0.007$).

Συμπεράσματα

Η συγκεκριμένη μελέτη διερεύνησε την προγνωστική αξία των τυπικών εξετάσεων αίματος κατά την εισαγωγή των ασθενών με ενδοκράνια παθολογία σε ενήλικες. Η χρήση αιματολογικών εξετάσεων που γίνονται τακτικά, ως προγνωστικά εργαλεία θα ήταν ένας εύκολος και οικονομικά αποδοτικός τρόπος για την πρόβλεψη του αποτελέσματος στην πρώιμη φάση. Το γεγονός αυτό θα είχε ως αποτέλεσμα την επιθετικότερη αντιμετώπιση τους, την αξιολόγηση των ήδη υπαρχόντων θεραπειών αλλά και την δημιουργία νέων.

Βιβλιογραφία

1. Lindley E, Folkerson, Duncan Sloan, Elizabeth Davis, Ryan S. Kitagawa, Bryan A. Cotton, et al. Coagulopathy as a predictor of mortality after penetrating traumatic brain injury, *The American Journal of Emergency Medicine*, Volume 36, Issue 1, 2018, Pages 38-42, ISSN 0735-6757,
2. MRC CRASH Trial Collaborators, Perel P, Arango M, Clayton T, Edwards P, Komolafe E, Poccock S, et al. Predicting outcome after traumatic brain injury: practical prognostic models based on large cohort of in-

- ternational patients. *BMJ*. 2008; 336:425-9.
3. Signorini DF, Andrews PJ, Jones PA, Wardlaw JM, Miller JD. Predicting survival using simple clinical variables: a case study in traumatic brain injury. *J Neurol-Neurosurg Psychiatry*. 1999; 66:20-5.
 4. Zhu GW, Wang F, Liu WG. Classification and prediction of outcome in traumatic brain injury based on computed tomographic imaging. *J IntMedRes*. 2009; 37:983-95.
 5. Foreman BP, Caesar RR, Parks J, Madden C, Gentilello LM, Shafi S, Carlile MC, Harper CR, Diaz-Arrastia RR. Usefulness of the abbreviated injury score and the injury severity score in comparison to the Glasgow Coma Scale in predicting outcome after traumatic brain injury. *J Trauma*. 2007; 62:946-50.
 6. World Health Organization. Neurological disorders: public health challenges. Available at: https://www.who.int/mental_health/neurology/neurological_disorders_report_web.pdf Accessed 23 May, 2019.
 7. Maas AIR, Menon DK, Adelson PD, Andelic N, Bell MJ, Belli A, et al. InTBIR Participants and Investigators. Traumatic brain injury: integrated approaches to improve prevention, clinical care, and research. *Lancet Neurol*. 2017; 16:987-1048.
 8. Bae IS, Chun HJ, Yi HJ, Bak KH, Choi KS, Kim DW. Modified Glasgow Coma Scale Using Serum Factors as a Prognostic Model in Traumatic Brain Injury. *World Neurosurg*. 2019; 126:e959-e964.
 9. Murray GD, Butcher I, McHugh GS, Lu J, Mushkudiani NA, Maas AI, et al. Multivariable prognostic analysis in traumatic brain injury: results from the IMPACT study. *J Neurotrauma*. 2007; 24:329-37.
 10. Kulesza B, Litak J, Grochowski C, Nogalski A, Rola R. The Initial Factors with Strong Predictive Value in Relation to Six-Month Outcome among Patients Operated due to Extra-Axial Hematomas. *Diagnostics (Basel)*. 2020; 10:174.
 11. Steyerberg EW, Mushkudiani N, Perel P, Butcher I, Lu J, McHugh GS, et al. Predicting outcome after traumatic brain injury: development and international validation of prognostic scores based on admission characteristics. *PLoS Med*. 2008; 5:e165.
 12. Dolmans RGF, Hulsbergen AFC, Gormley WB, Broekman MLD. Routine Blood Tests for Severe Traumatic Brain Injury: Can They Predict Outcomes? *World Neurosurg*. 2020; 136:e60-e67.
 13. Litofsky NS, Martin S, Diaz J, Ge B, Petroski G, Miller DC, et al. The Negative Impact of Anemia in Outcome from Traumatic Brain Injury. *World Neurosurg*. 2016; 90:82-90.
 14. Lelubre C, Bouzat P, Crippa IA, Taccone FS. Anemia management after acute brain injury. *Crit Care*. 2016; 20:152.
 15. Sekhon MS, McLean N, Henderson WR, Chittock DR, Griesdale DE. Association of hemoglobin concentration and mortality in critically ill patients with severe traumatic brain injury. *Crit Care*. 2012; 16:R128.
 16. Yuan Q, Yu J, Wu X, Sun YR, Li ZQ, Du ZY, et al. Prognostic value of coagulation tests for in-hospital mortality in patients with traumatic brain injury. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*. 2018 Jan 5; 26(1):3.
 17. Alexiou GA, Lianos G, Fotakopoulos G, Michos E, Pachatouridis D, Voulgaris S. Admission glucose and coagulopathy occurrence in patients with traumatic brain injury. *Brain Inj*. 2014; 28:438-41.
 18. Böhm JK, Güting H, Thorn S, Schäfer N, Rambach V, Schöchl H, et al. CENTER-TBI Participants and Investigators. Global Characterisation of Coagulopathy in Isolated Traumatic Brain Injury (iTBI): A CENTER-TBI Analysis. *Neurocrit Care*. 2021; 35:184-196.
 19. Pin-On P, Saringkarinkul A, Punjasawadwong Y, Kacha S, Wilairat D. Serum electrolyte imbalance and prognostic factors of postoperative death in adult traumatic brain injury patients: A prospective cohort study. *Medicine (Baltimore)*. 2018; 97:e13081.
 20. Zuhroidah I, DewiNastiti A, Huda N, Rahmania N. Correlation between respiratory frequency (rr) and outcome in head injury patients in emergency room of bangil hospital, pasuruan district. *Nurse Health J. Keperawatan*. 2018; 7:148-151.
 21. Chakraborty S, Skolnick B, Narayan RK. Neuroprotection trials in traumatic brain injury. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep*. 2016; 16:29.
 22. Gul HF, Dolanbay T, Simsek AT, Aras M. Evaluation of Blood Urea, Creatinine, and Glucose Levels as Biochemical Indicators of the Type and Severity of Traumatic Brain Injury. *Turk Neurosurg*. 2021; 31:333-338.
 23. Corbett JM, Ho KM, Honeybul S. Prognostic significance of abnormal hematological parameters in severe traumatic brain injury requiring decompressive craniectomy. *J Neurosurg*. 2019; 132:545-551.
 24. Sabouri E, Majdi A, Jangjui P, RahighAghsan S, NaseiriAlavi SA. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and Traumatic Brain Injury: A Review Study. *World Neurosurg*. 2020; 140:142-147.
 25. Alexiou GA, Tzima A, Lianos GD, Lampros M, Sotiropoulos A, Rizos D, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio in the prediction of coagulopathy in traumatic brain injury. *Biomark Med*. 2022;16:163-168.

Diet & Nutrition

Toxicological and pharmacokinetic properties of sucralose-6-acetate and its parent sucralose: in vitro screening assays (Part A)

Susan S. Schiffman^a, Elizabeth H. Scholl^b, Terrence S. Furey^c, and H. Troy Nagle^{a,d}

^a Joint Department of Biomedical Engineering, University of North Carolina/North Carolina State University, Raleigh, NC, USA;

^b Sciome LLC, Durham, NC, USA;

^c Departments of Genetics and Biology, University of North Carolina, Chapel Hill, NC, USA;

^d Department of Electrical and Computer Engineering, North Carolina State University, Raleigh, NC, USA

Correspondence to:

Susan S. Schiffman

ssschiiff@ncsu.edu

**Joint Department of Biomedical Engineering,
University of North Carolina/North Carolina State
University, Raleigh, NC, USA**

SUMMARY

The purpose of this study was to determine the toxicological and pharmacokinetic properties of sucralose-6-acetate, a structural analog of the artificial sweetener sucralose. Sucralose-6-acetate is an intermediate and impurity in the manufacture of sucralose, and recent commercial sucralose samples were found to contain up to 0.67% sucralose-6-acetate. Studies in a rodent model found that sucralose-6-acetate is also present in fecal samples with levels up to 10% relative to sucralose which suggest that sucralose is also acetylated in the intestines. A MultiFlow® assay, a high-throughput genotoxicity screening tool, and a micronucleus (MN) test that detects cytogenetic damage both indicated that sucralose-6-acetate is genotoxic. The mechanism of action was classified as clastogenic (produces DNA strand breaks) using the MultiFlow® assay. The amount of sucralose-6-acetate in a single daily sucralose-sweetened drink might far exceed the threshold of toxicological concern for genotoxicity (TTCgenotox) of 0.15 µg/person/day. The RepliGut® System was employed to expose human intestinal epithelium to sucralose-6-acetate and sucralose, and an RNA-seq analysis was performed to determine gene expression induced by these exposures. Sucralose-6-acetate significantly increased the expression of genes associated with inflammation, oxidative stress, and cancer with greatest expression for the metallothionein 1 G gene (MT1G). Measurements of transepithelial electrical resistance (TEER) and permeability in human transverse colon epithelium indicated that sucralose-6-acetate and sucralose both impaired intestinal barrier integrity. Sucralose-6-acetate also inhibited two members of the cytochrome P450 family (CYP1A2 and CYP2C19). Overall, the toxicological and pharmacokinetic findings for sucralose-6-acetate raise significant health concerns regarding the safety and regulatory status of sucralose itself.

Keywords: Sucralose; sucralose-6-acetate; genotoxicity; gene expression; intestinal barrier

1. Introduction

Background: Discovery and synthesis

Sucralose is a chlorinated artificial sweetener that is used worldwide as a sugar substitute in thousands of food, beverage, and pharmaceutical products (Schiffman and Rother 2013). The sweet taste of sucralose was discovered at Queen Elizabeth College in London (Hough and Phadnis 1976) as part of a program to chemically modify sucrose (table sugar) for possible industrial applications. One structural modification was a chlorinated version of a novel disaccharide fructogalactose in which three hydroxyl groups were replaced by chlorine atoms with the chemical name 1,6-dichloro-1,6-dideoxy- β -D-fructofuranosyl-4-chloro-4-deoxy- α -D-galactopyranoside. This compound was originally called trichlorogalactosucrose (TGS) but was subsequently given the name sucralose. The sweetness potency of sucralose is approximately 385 to 650-fold greater than sucrose by weight depending on the specific application (DuBois et al. 1991; Schiffman, Sattely-Miller, and Bishay 2008). The manufacturing process involves the synthesis of sucralose-6-acetate in multiple steps from sucrose with subsequent deacetylation to produce sucralose (Hao 2011; Mufti and Khan 1983; Wang et al. 2011). The chemical structures of sucralose-6-acetate and sucralose are presented in Figure 1. The sucralose-6-acetate intermediate generated during the manufacturing process is retained as an impurity in commercial sources of sucralose (Catani et al. 2006; OpAns 2021; United States Food and Drug Administration US FDA 2021; Werness 2021).

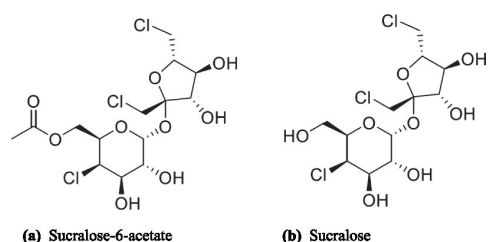


Figure 1. Chemical structures of sucralose-6-acetate (molecular weight 439.7, CAS number 105066-21-5) and sucralose (molecular weight 397.6, CAS number 56038-13-2).

Historical safety claims

Sucralose has regulatory approval in North America, Europe, and Asia along with the establishment of Acceptable Daily Intake (ADI) levels (Canada Gazette 1991; European Union EU 2004; Japanese Ministry of Health and Welfare JMHW 1999; Scientific Committee on Food SCF 2000; United States Food and Drug Administration US FDA 1998, 1999). Regulatory approval and establishment of ADIs were based upon historical

studies performed during the 1980s and early 1990s in rats, mice, dogs, rabbits, and humans and ultimately published in part in the year 2000 (Baird et al. 2000; Goldsmith 2000; Grice and Goldsmith 2000; John, Wood, and Hawkins 2000a, 2000b; Kille et al. 2000a, 2000b; Roberts et al. 2000; Sims et al. 2000; Wood, John, and Hawkins 2000). These historical studies made the following 6 claims regarding sucralose and constituted the rationale for its regulatory approval:

- 1) Stability in vivo: Passes through the intestine unchanged.
 - 2) Gut Microflora: No effect on gut microflora.
 - 3) Intestinal Barrier: No effect on intestinal tissue.
 - 4) Bioaccumulation: Does not bioaccumulate.
 - 5) Metabolism: No effect on metabolism including blood glucose or insulin.
 - 6) Biological/Toxicological Impact: Not genotoxic with no associated biologically significant consequences, and is heat stable.
- Based on these historical claims, an ADI of 15 mg/kg body weight/day for humans was established by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives JECFA (1991) and by the Scientific Committee on Food SCF (2000). A lower ADI of 5 mg/kg body weight/day was set by the United States Food and Drug Administration US FDA (1998).

Independent research contrary to historical safety studies

Many scientific research investigations since regulatory approval, however, do not corroborate any of the 6 early historical claims regarding the biological fate or safety of sucralose.

Stability in vivo

Two acetylated sucralose biotransformation products were found in urine and feces of rats dosed with sucralose (Bornemann et al. 2018), and this finding is inconsistent with the historical claim that sucralose is stable and excreted unchanged (i.e., not metabolized) in the intestine. The more abundant acetylated metabolite was identified as sucralose-6-acetate (Werness and Schiffman 2020), and its relative contribution to the biological consequences of sucralose exposure has not yet been determined.

Gut microflora

Ingestion of sucralose by humans and/or animals within approved ADI levels was found to disrupt the microbiome in the gastrointestinal tract (GIT) (Abou-Donia et al. 2008; Bian et al. 2017; Méndez-García et al. 2022; Suez et al. 2022; Zhang et al. 2022). Maternal ingestion of sucralose in pregnant and lactating mice also impacted their progeny's microbiome (Dai et al. 2020, 2021; Olivier-Van Stichelen, Rother, and Hanover 2019). Sucralose has also been detected in human breast milk sam-

ples from lactating women which indicates it is ingested by nursing infants (Sylvetsky et al. 2015).

Intestinal barrier

Sucralose also impacts the intestinal tissue. Sucralose ingestion induced histopathological changes including lymphocytic infiltrates into the intestinal epithelium, glandular disorganization, and epithelial scarring (Abou-Donia et al. 2008), increased bacterial infiltration into the ileal lamina propria in Crohn's disease – like ileitis (Rodriguez-Palacios et al. 2018), elevated % CD3+T cells, CD19+B cells, and IgA+ plasma cells in Peyer's patches (Rosales-Gómez et al. 2018), significantly increased levels of fecal chymotrypsin and trypsin and reduced fecal β -glucuronidase (Li et al. 2016), initiated lymphocyte aggregation in the ileum and colon (Zheng et al. 2022), and promoted inflammation and colitis-associated colorectal cancer risk (Guo et al. 2021; Li et al. 2020; Wang et al. 2019). Further, maternal ingestion of sucralose inhibited intestinal development, disrupted barrier function, and induced Paneth cell defects in offspring (Dai et al. 2020, 2021). In vitro studies demonstrated that sucralose enhanced biofilm formation along with bacterial invasion into gut epithelial cells (Shil and Chichger 2021) and disrupted tight junctions and barrier function in an intestinal epithelial model (Shil et al. 2020).

Bioaccumulation

Sucralose was found to bioaccumulate in adipose tissue of rats and was present two weeks after cessation of a 40-day feeding period even though it had disappeared from the urine and feces (Bornemann et al. 2018). An in vitro study reported that sucralose increased lipid accumulation and expression of adipocyte differentiation genes in cultured adipocytes (Azad et al. 2020).

Metabolism

Consumption of sucralose was noted to alter glucose and/or insulin concentrations in the plasma of some human subjects when delivered in liquids or capsules (Lertrit et al. 2018; Méndez-García et al. 2022; Pepino et al. 2013; Romo-Romo et al. 2018; Schiffman and Rother 2013; Suez et al. 2022) and when accompanied by carbohydrate (Dalenberg et al. 2020) or another non-caloric sweetener (Young et al. 2017). Maternal ingestion of sucralose during pregnancy impacted the progeny's metabolism including downregulation of hepatic detoxification mechanisms and changes in bacterial metabolites (Olivier-Van Stichelen, Rother, and Hanover 2019). Additional studies reported that sucralose might affect incretin hormones including glucagon-like peptide-1 (GLP-1) and glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) as well as the sodium-dependent glucose co-transporter-1 (SGLT-1) (Kreuch et al. 2018; Lertrit

et al. 2018; Margolskee et al. 2007; Sun et al. 2017; Young et al. 2017). Further, sucralose was demonstrated to blunt thyroid function (Pałkowska-Goździk, Bigos, and Rosołowska-Huszcz 2018). Chronic sucralose ingestion at levels that have regulatory approval in the United States and Europe also modify the fecal metabolome (Bian et al. 2017), liver proteome (Liu et al. 2019), and induce the expression of two intestinal proteins involved in first-pass metabolism, specifically P-glycoprotein (P-gp) and cytochrome P450 (CYP3A4) (Abou-Donia et al. 2008).

Biological/Toxicological impact

Additional independent research investigations since regulatory approval reported toxicological findings including genotoxicity and cancer risk following sucralose exposure. Sucralose, administered in feed beginning prenatally through the life-span, induced hematopoietic neoplasias such as leukemias in male mice (Soffritti et al. 2016). Significant elevation in the number and size of colorectal tumors was detected in a murine model of colorectal cancer after sucralose treatment (Li et al. 2020). Four different studies utilizing a comet assay found that sucralose damaged DNA (Pasqualli et al. 2020; Raya et al. 2020; Sasaki et al. 2002; Van Eyk 2015). Sucralose also enhanced anti-microbial resistance and mutation frequency of *E. coli* (Qu et al. 2017). Further, heating sucralose with glycerol or lipids was found to generate chloropropanols, a potentially toxic class of compounds (Rahn and Yaylayan 2010), and this finding was supported by subsequent investigations that also reported thermal instability of sucralose accompanied by generation of hazardous polychlorinated compounds even in mild temperature conditions (De Oliveira, de Menezes, and Catharino 2015; Eisenreich, Gürtler, and Schäfer 2020).

Rationale for additional safety studies

It has not yet been established if adverse biological findings reported since regulatory approval are due to exposure to sucralose itself, to acetylated sucralose (e.g., sucralose-6-acetate), or both. Exposure to sucralose-6-acetate might occur during sucralose ingestion or result from metabolism of sucralose in the intestine. The amount of sucralose-6-acetate retained as an impurity in recent commercial sucralose samples varied with levels up to 0.67% (Werness 2021). McNeil Specialty Products Company acknowledged the presence of sucralose-6-acetate in batches of sucralose in their Food Additive Petition to the US FDA prior to approval (stated as 0.8% but <1.3%) (United States Food and Drug Administration US FDA 2021). However, the concentration of sucralose-6-acetate relative to sucralose in feces of rats dosed with sucralose was significantly greater than amounts in commercial sucralose samples, with fecal sucralose-6-acetate levels up to 10% (Bornemann et al. 2018;

Werness and Schiffman 2020). This significant rise of the ratio of sucralose-6-acetate to sucralose in fecal samples may result from acetylation of sucralose by commensal bacteria in the GIT. Commensal bacteria in the intestine are known to acetylate xenobiotic compounds (Delomenie et al. 2001; Dull, Salata, and Goldman 1987). Previously Labare and Alexander (1994) noted that microorganisms including bacteria were found to metabolize sucralose in sewage and soil samples. Further, Sun et al. (2017) reported that a bacterium, *Bacillus amyloliquefaciens*, is capable of both acetylating and deacetylating sucralose. Overall, these findings indicate that biological exposure to sucralose-6-acetate may occur from ingestion of commercial impure sucralose as well as from acetylation of sucralose in the intestine.

The potential adverse health effects of exposure to sucralose-6-acetate are not yet known because this chemical has not been tested individually with a toxicology battery of tests to assess human risks. A comprehensive and systematic search of the scientific literature including government websites, chemical databases, patent literature, and scientific publications did not produce any apparent information on genotoxicity and cytotoxicity attributed to sucralose-6-acetate.

Additional studies undertaken

In this report, a series of 8 experiments were performed to screen for toxicological and pharmacokinetic properties of sucralose-6-acetate along with its structural parent sucralose (control). The following tests were utilized in these 8 experiments.

- (1) An *in vitro* MultiFlow® assay, a rapid high-throughput screening tool that predicts clastogenicity (induced DNA strand breakages) and aneugenicity (alterations in chromosome numbers), was used to determine genotoxic potential (Bryce et al. 2017; 2018).
- (2) A traditional *in vitro* Mammalian Cell Micronucleus Assay in thymidine kinase 6 (TK6) cells was performed to assess potential cytogenetic/chromosomal damage (Organisation for Economic Cooperation and Development OECD 2016).
- (3) The *in silico* Model Applier Leadscope® program was employed to detect structural chemical features with the potential to induce genetic mutations (Dearfield et al. 2017).
- (4) A traditional Bacterial Reverse Mutation Test (Ames test) was performed to assess mutagenic potential (Organisation for Economic Cooperation and Development OECD 2020).
- (5) Transepithelial Electrical Resistance (TEER) and permeability of human transverse colon were assessed using

the RepliGut® system to investigate potential impairment and integrity of the intestinal barrier (Allbritton et al. 2021; Altis Biosystems, Durham, North Carolina, USA).

- (6) RNA-seq (RNA-sequencing) was utilized to investigate gene expression and identify differentially expressed genes in human intestinal epithelium (Marioni et al. 2008; Wang, Gerstein, and Snyder 2009).
- (7) Liver Microsome Stability Assays were employed to assess potential hepatic bio-transformation (Houston 1994).
- (8) A Cytochrome P450 (CYP450) Inhibition Study was conducted to assess potential blunting of detoxification enzymes that might lead to drug-drug interactions (Obach et al. 2006).

These toxicological and pharmacokinetic tests were conducted in independent analytical labs that were selected based upon their expertise in specific *in vitro* techniques. This test battery of multiple assays was undertaken because no single test is able to conclusively identify the numerous potential toxicological and pharmacokinetic properties of a chemical compound.

Methods

Test articles

Two test articles, sucralose-6-acetate and sucralose, were utilized in 8 experiments to determine their toxicological and pharmacokinetic properties. Sucralose-6-acetate (4,1,6-trichloro sucralose-6-acetate) was synthesized by Jiangyin PharmaAdvance, Inc., 6 Dongsheng, West Road, Building D1, Jiangyin, Jiangsu Province, P. R. China 214431. The sucralose-6-acetate conformed to structure with a purity of 99.7% and was certified by ¹H NMR spectrum, mass spectrum and high-performance liquid chromatography with an evaporative light scattering detector (HPLC-ELSD). Sucralose, used for control and comparison in several studies, was obtained from Sigma-Aldrich. It contained 0.5% sucralose-6-acetate as determined by HPLC-MS/MS (OpAns, Durham, North Carolina, USA) which is consistent with commercial food-grade sucralose.

Experiment 1: *In vitro* MultiFlow® DNA damage assay in TK6 cells

A rapid high-throughput flow cytometric assay (*in vitro* MultiFlow® Assay) was performed to assess the genotoxic potential of sucralose-6-acetate and sucralose in human TK6 cells using a 96-well format. This screening tool for DNA damage predicts whether compounds are clastogens, aneugens, or non-genotoxic based upon increases in two clastogen-sensitive biomarkers (γ H2A \times and p53) and two aneugen-sensitive bio-

markers (p-H3 and polyploidy) (Bernacki et al. 2016; Bryce et al. 2014, 2016, 2017, 2018). The phosphorylated histone γ H2Ax is an indicator of double-strand DNA breaks, and trans-location of tumor protein p53 to the nucleus is a marker of DNA damage response. Phospho-his-tone 3 (p-H3) accumulates in cells exposed to aneugens, and polyploidization is a consequence of aneugenic activity. The methodology for the MultiFlow® assay that assessed these endpoints of DNA damage response pathways was described previously (Bryce et al. 2017; Hung et al. 2020). The assay was conducted by BioReliance (Rockville, MD) under their proto-col entitled In Vitro Clastogenic, Aneugenic, or Non-Genotoxic (CAN) FlowScreen Assay in TK6 Cells (BioReliance 2020a, 2021). High-per-forming mathematical algorithms were used to predict the mode of action (MoA) based upon the signatures of biomarkers for clastogenicity and aneugenicity using established Global Evaluation Factors (GEFs) that provide cutoff values indicating significant fold increases for each biomarker (Bryce et al. 2017).

Materials

Materials for liberation of nuclei, staining of chromatin, and immunological labeling of specific nuclear epitopes (MultiFlow® DNA Damage Kit – p53, γ H2Ax, Phospho-Histone H3 kit) were purchased from Litron Laboratories, Rochester, NY. The components and reagents in the proprietary kit included: Nuclei Release Solution with Counting Beads (lyses cells and provides absolute bead count), DNA Stain (propidium iodide) that labels free nuclei for identification in flow cytometric analysis, RNase Solution that removes RNA, p53 Antibody FITC that detects nuclear translocation of the protein p53, γ H2Ax Antibody Alexa Fluor® 647 that detects double-strand breaks, and Phospho-Histone H3 Antibody PE that detects mitotic cells. Multiflow® analyses were performed at two time points (4 and 24 hr) after treatment initiation with test articles. Latex microsphere counting beads were utilized to calculate nuclei density and cytotoxicity metrics. The Multiflow® reagent solution was prepared from these components according to the instruction manual for the kit.

An exogenous metabolic activation system (Mutazyme™, a Phenobarbital/ β -Naphthoflavone (PB/NF) induced liver S9 derived from male Sprague Dawley rats) was obtained from Moltox®, Boone, NC (www.moltox.com). Four genotoxic compounds with either a clastogenic or aneugenic MoA were employed as controls. Methyl methanesulfonate (MMS) and carbendazim (100, 50, 25, or 12.5 μ M for both compounds) were utilized as positive controls for the treatment without S9 (-S9) activation. Cyclophosphamide (80, 40, 20 or 10 μ M) and benzo(a)pyrene (100, 50, 25, or 12.5 μ M) were used as positive controls for the treatment with S9 (+S9) activation. The positive controls were employed to ensure responsiveness of the test

system and appropriate clastogenic and/or aneugenic MoA prediction but not to provide a standard for comparison with test articles. Dimethyl sulfoxide (DMSO) was used as the solvent for positive controls.

TK6 cell culture test system

TK6 cells, lymphoblastoid cells of human origin, were obtained from the American Type Culture Collection (repository number CRL-8015), Manassas, VA. The TK6 cell line is p53 proficient, sensitive to different mechanisms of genotoxicity with a doubling time of 12–14 hr. The spontaneous frequency of mutations and chromosome alterations in TK6 cells does not differ significantly from primary human cells (Schwartz et al. 2004). The TK6 cells were cultured in T-75 cm² flasks in RPMI 1640 medium with L-glutamine (Sigma- Aldrich) supplemented with 10% heat-inactivated horse serum and penicillin-streptomycin complete culture medium (CCM). Cultures were incubated at 37°C, 5% CO₂ and \geq 85% humidity. After 22–26 hr incubation, cell density in the T-75 cm² flasks was calculated after cell counting. Target cell stocks required for the Multiflow® tests in both absence and presence of S9 were calculated; an appropriate volume of cell suspension was transferred to 50 ml tubes and centrifuged at 150 \times g for 6 min. The culture medium was aspirated, and cell densities adjusted with the CCM solution to 2×10^5 cells/ml in the absence of S9, and to 2.2×10^5 cells/ml in the presence of S9, immediately prior to use.

Treatments, and flow cytometric analysis

The TK6 cells were exposed to 20 concentrations of sucrose-6-acetate (maximum 4.5489 mM or 2000 μ g/ml) or 20 concentrations of sucralose (maximum 10 mM or 3980 μ g/ml) with a dose spacing of 1.4142 (square root of 2) in the presence (+S9) and absence (-S9) of metabolic activation along with vehicle control alone using 96- well plates. The test articles were prepared using DMSO with a final DMSO concentration in the cell suspension below 1%. In the +S9 condition, cells were exposed to S9 (Mutazyme™) for 4 hr after which S9 was washed out, centrifuged twice (5 min at 340 \times g), and re-incubated in fresh culture media. Aliquots were taken from +S9 treatment wells at 4 hr (prior to the wash step) and at 24 hr incubation and subsequently transferred to new plates that were pre-loaded with 50 μ l MultiFlow®-kit reagent solution. In the -S9 condition, aliquots were also taken at 4 and 24 hr exposure and transferred to new plates that were also pre-loaded with MultiFlow®-kit reagent solution. Cells were incubated in the reagent mix according to instructions in the kit in order to simultaneously digest the cytoplasmic membranes in the harvested cells, liberate the nuclei, stain the chromatin with the fluorescent nucleic acid dye, and label γ H2Ax, p-H3, and p53 with fluorescent antibodies.

Fluorescent microspheres in reagent mix were used to obtain nuclei-to-bead ratios as a simple cytotoxicity index at 4 and 24 hr. Analysis was performed by flow cytometry utilizing a BD FACSCanto II Flow Cytometer with BD FACSDiva™ software (BD Biosciences), and fold-shifts in biomarkers determined.

Analysis of cytometric results

High-performing mathematical algorithms (Bernacki et al. 2016; Bryce et al. 2016, 2017) were used to predict MoA based upon multi-endpoints of biomarkers for clastogenicity and aneugenicity using Global Evaluation Factors (GEFs) that provided cutoff values representing significant fold elevation for each bio-marker. Conditions for making MoA calls were established for 3 cases. First, a clastogenic call was made for S9 treatments (+S9) by fold-increases in two consecutive concentrations that met or exceeded GEFs for at least two out of 4 clastogen-sensitive biomarkers with γ H2A \times required for at least one response:

- (a) ≥ 1.44 -fold 4-hr γ H2A \times ,
- (b) ≥ 1.31 -fold 24-hr γ H2A \times ,
- (c) ≥ 1.23 -fold 4-hr nuclear p53,
- (d) ≥ 1.12 -fold 24-hr nuclear p53.

Second, a clastogenic call was made for 24-hr treatments (-S9) by fold elevation in two consecutive concentrations that met or exceeded cutoffs for at least two out of 4 clastogen-sensitive biomarkers with γ H2A \times required for at least one response:

- (a) ≥ 1.51 -fold 4-hr γ H2A \times ,
- (b) ≥ 2.11 -fold 24-hr γ H2A \times ,
- (c) ≥ 1.40 -fold 4-hr nuclear p53,
- (d) ≥ 1.45 -fold 24-hr nuclear p53.

Third, an aneugenic signature was demonstrated by fold increases in two consecutive concentrations that met or exceeded cutoffs for at least two of the following aneugenic responses:

- (a) ≥ 1.71 -fold 4-hr phospho-histone H3,
- (b) ≥ 1.52 -fold 24-hr phospho-histone H3,
- (c) ≥ 5.86 -fold 24-hr polyploidy,
- (d) ≥ 1.45 -fold 24-hr nuclear p53.

The call was nongenotoxic under the test conditions if less than two clastogen-sensitive or two aneugen-sensitive biomarkers did not meet or exceed the above GEFs. Cytotoxicity was based upon reduction of nuclei counts for individual cultures.

Experiment 2: In vitro mammalian cell micronucleus test in TK6 cells

An in vitro mammalian cell micronucleus (MN) test in TK6 cells was used to determine if MN are present in the cytoplasm of cells that were exposed to sucralose-6-acetate. Micronuclei are small extra-nuclear structures that are produced by DNA breakage (clastogens) or are induced by numerical chromosomal ab-

errations (aneugens) (OECD 487, 2016). A rise in MN frequency is a biomarker of cytogenetic/chromosomal damage. The MN assay was performed by BioReliance (2020b) using TK6 cells according to standard protocol guidelines of the Organisation of Economic Cooperation and Development (OECD 487, 2016).

TK6 cells and treatment

The assay was conducted by treating TK6 cells with a range of concentrations of the test article (sucra-lose-6-acetate) as well as with positive and vehicle controls. The procedure for preparation of TK6 cells was described above for the Multiflow® test, and cell density was adjusted to 2.5×10^5 cells/ml in the absence and presence of exogenous metabolic activation (S9). DMSO was the vehicle for the sucralose-6-acetate and served as the vehicle control for each treatment type. The potential of sucra-lose-6-acetate and/or its metabolites to induce MN in TK6 cells was assessed in the presence (4-hr treatment) and absence (27-hr treatment) with S9. After the 4-hr incubation, cells were centrifuged to remove the treatment medium, resuspended in CCM, and incubated for an additional 23 hr. Sucra-lose-6-acetate was assessed at the following concentrations. For the 4-hr incubation, the concentrations of sucralose-6-acetate were 2000, 1500, 1000, 750, 700, 600, 500, 400, 350, 300, 200, and 100 μ g/ml. For the 27-hr exposure, the levels of sucra-lose-6-acetate were 2000, 1500, 1250, 1000, 750, 500, 250, 125, 100, 80, 40, and 20 μ g/ml. Cyclophosphamide (2.5, 3 or 4 μ g/ml prepared in water) was employed as a positive control for the 4-hr treatment, and vinblastine (10 or 12 ng/ml prepared in water) served as the positive control in the 27-hr treatment.

Micronucleus scoring and statistical analysis

Micronucleus scoring was performed after exposure to sucra-lose-6-acetate for a minimum of 2000 mononuclear cells and a minimum of 200 binucleated/multinucleated cells at 4 concentrations in the 4-hr and at 5 concentrations for the 27-hr treatment. Scoring included the number and frequency of MN in binucleated and multinucleated cells as well as mononuclear cells as increases in binucleated cells were evident at higher concentrations of sucralose-6-acetate in this study. Scoring was performed for 300, 500, 700 and 1000 μ g/ml for the 4-hr exposure and 100, 250, 500, 750 and 1000 μ g/ml for 27-hr incubation.

Significance was assessed with a Fisher's Exact Test (Fisher 1954) relative to solvent control. The Cochran-Armitage trend test was performed to determine if there was a trend in the number of micronucleated cells across increasing concentrations of sucralose-6-acetate (Agresti 2002; Armitage 1955; Cochran 1954). The criterion for significance was set at $p < .05$. Calculations were made in Excel (Microsoft Corporation). A MN test for sucralose itself was not undertaken in the current study as

it was conducted and reported previously (United States Food and Drug Administration US FDA 1998).

Experiment 3: In silico assessment of mutagenic potential by Leadscope®

Leadscope®, a quantitative structure activity tool (Leadscope® 2019), was used to predict the geno-toxic potential of sucralose-6-acetate and sucralose in silico based upon the chemical structure and performed by Aclairo Pharmaceutical Development Group (Aclairo 2019). The Leadscope® model utilizes a large mutagenic toxicology database called SAR Genetox based on International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH M7) (United States Food and Drug Administration US FDA 2018) with validated structures to generate computational structure-activity predictions (Hevener 2018). This tool also provides bacterial mutation alerts for the active/ primary portion or molecular fragment(s) of these molecules. The alert knowledge base was constructed from a systematic analysis of available bacterial mutagenicity data and scientific literature. The chemical structures of sucralose-6-acetate and its parent sucralose (control) were both entered into the Leadscope® model as MOL files, a file format that includes attributes associated with entire chemical structure (CTFile Formats 2005).

Experiment 4: Bacterial reverse mutation test (Ames Test)

A Bacterial Reverse Mutation Test was performed by BioReliance (2020c) according to OECD guidelines (Organization of Economic Cooperation and Development OECD 2020). This classic mutagenicity test was employed to evaluate the potential of the sucralose-6-acetate, sucralose, and/or their metabolites to induce reverse mutations at loci of TA98, TA100, TA1535, and TA1537 strains of *Salmonella typhimurium* and the WP2 *uvrA* strain of *Escherichia coli* in the presence and absence of an exogenous metabolic activation system (S9). The test article, sucralose-6-acetate was prepared in DMSO, and sucralose was prepared in sterile deionized water. Both test articles were evaluated via the plate incorporation method at 8 concentrations 1.5, 5, 15, 50, 150, 500, 1500, and 5000 µg/plate. The final DMSO concentration in the cell suspension was at or below 1% v/v. The positive controls in the Bacterial Reverse Mutation Test for each bacterial strain are presented in Table 1.

Experiment 5: Assessment of transepithelial electrical resistance (TEER) and permeability in human transverse colon epithelium

A high throughput in vitro intestinal stem cell platform (RepliGut®, Altis Biosystems, Durham, NC USA) was utilized to screen

the effects of sucralose-6-acetate and sucralose on human transverse colon. The assay was performed by Altis Biosystems (2020, 2021). The RepliGut® system is comprised of polarized intestinal cells grown on transwells that mimic normal intestinal barrier function (Allbritton et al. 2021). The effect of sucralose-6-acetate and sucralose on TEER and permeability was assessed in two separate trials. TEER is a measure of monolayer resistance which is an indirect measure of barrier function and integrity of tight junctions (Elbrecht, Long, and Hickman 2016; Srinivasan et al. 2015). In Trial 1, TEER was determined after exposure of the RepliGut® system to a single effective concentration of test article (10 mM sucralose-6-acetate or 10 mM sucralose). In Trial 2, TEER as well as permeability were assessed at a range of effective concentrations of sucralose-6-acetate (0.3125 mM to 10 mM) and sucralose (5 mM to 160 mM). In both trials there was an additional no-treatment (control) condition.

Transverse colon cells were plated directly onto RepliGut® transwell plates coated with a thin hydrogel. Cultures were monitored for cell confluence by eye using a bright field microscope. Epithelial cells became confluent after 4 days. Once confluent, media was changed to a proprietary Altis Differentiation Media (ADM). Cells were then grown for 2 days in the ADM. To monitor cell confluence while cells were grown in ADM, TEER was measured using an EVOM2 Epithelial Volt/Ohm Meter with an STX2 Electrode (World Precision Instruments).

After 48 hr in ADM, TEER was measured on each transwell. Subsequently, the test compound was added to both apical and basal sides of each transwell. Transwells were incubated with the test compound for 24 hr, and TEER was measured in all transwells in Trials 1 and 2. In Trial 2, a permeability assay using 40 kDa fluorescein isothiocyanate labeled dextran (FITC) was also performed on each transwell to measure flux of the dextran over 4 hr. While TEER is an indicator of ionic conductance, 40 kDa FITC is an indicator of paracellular permeability (Utami et al. 2018).

In Trial 1, apical and basal supernatants were collected from all transwells prior to cell collection and transferred to tubes and stored at -80°C. The apical and basal supernatants were submitted for chromatographic analysis to determine if there was any conversion to sucralose-6-acetate in sucralose-exposed transverse colon cells or deacetylation to sucralose in cells exposed to sucralose-6-acetate (OpAns, Durham, NC USA). After cell collection, 500 µl RNA Lysis Buffer was added to the apical side of each transwell. Lysates were pipetted up and down 10 times and complete lysis was confirmed by using a bright field microscope. Lysates were transferred to individual tubes and stored at -80°C for RNA extraction and RNA-seq analysis.

Table 1. Positive controls for each bacterial strain with and without metabolic activation.

Strain	Activation	Positive Control
TA98	None	2-nitrofluorene 1 µg per plate
TA98	S9	2-aminoanthracene 2 µg per plate
TA100	None	Sodium azide 1 µg per plate
TA100	S9	2-aminoanthracene 2 µg per plate
TA1535	None	Sodium azide 1 µg per plate
TA1535	S9	2-aminoanthracene 2 µg per plate
TA1537	None	9-aminoacridine 75 µg per plate
TA1537	S9	2-aminoanthracene 2 µg per plate
WP2 <i>uvrA</i>	None	Methyl methanesulfonate 1000 µg per plate
WP2 <i>uvrA</i>	S9	2-aminoanthracene 15 µg per plate

Experiment 6: RNA-seq and gene expression in transverse colon

RNA was isolated, quantified, and quality checked by Altis Biosystems using the transverse colon cells exposed to sucralose-6-acetate and sucralose (along with the no-treatment control) in the RepliGut® system in Trial 1 of Experiment 5. There were 12 samples, 4 each from sucralose, sucralose-6-acetate, and untreated controls. RNA was isolated using a RNAqueous-Micro Total RNA Isolation Kit (Invitrogen Cat#AM1931) and stored at -80°C . RNA concentration was determined using a Qubit RNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, Cat#Q32852) and a Qubit 3.0 Fluorometer. RNA Integrity (RIN) values were determined utilizing an RNA 6000 Pico Kit (Agilent, Cat#5067-1513) on a Bioanalyzer 2100 machine. Subsequently, RNA concentrations and RIN values were determined.

RNA-seq (RNA-sequencing) was employed to analyze the transcriptome and determine changes in gene expression due to exposure to sucralose-6-acetate and sucralose, each relative to control (no treatment). RNAseq was conducted at the North Carolina State University (NCSU) Genomic Sciences Laboratory, and samples were run as 150bp paired-end reads on the NovaSeq 6000 (Illumina, Inc., San Diego, CA, USA). Raw reads were trimmed for adapter and quality using Trim Galore version 0.6.1 (Babraham Bioinformatics 2019) with the two-color flag set. Trim Galore calls cutadapt (v2.1) (Martin 2011) for adapter trimming. Quality cutoff was set to 20 and minimum sequence length for both reads was set to 20bp. All reads passed the initial quality and length filters. Bases kept post-trimming ranged from 95.7 to 98% of total bases analyzed. A second round of trimming to account for poly-G runs that may have been introduced during sequencing was performed with fastp (version 0.19.10) (Chen et al. 2018) with adapter trimming disabled and polyG tail trimming enforced with 98.77 to 99.36% reads retained post-trim.

Trimmed reads were aligned to the human genome as represented in the GRCh38 (Genome Reference Consortium Human Build 38, National Center for Biotechnology Information, USA) no alt analysis set using HISAT2 (v2.1.0) with the $-dta$ -cufflinks flag set for downstream processing (Kim et al. 2019; Kim, Langmead, and Salzberg 2015; Pertea et al. 2016). Alignment rates

ranged from 95.92 to 97.62%. The resulting SAM (Sequence Alignment Map) files were sorted and converted to BAM (Binary Alignment Map) binary files using samtools (Li et al. 2009). Stringtie2 (Pertea et al. 2015) was deployed for the individual BAM files for each replicate to assemble the alignments into potential transcripts and resulting replicate gene transfer format (GTF) files were merged into a single expressed transcriptome. Coverage tables were produced with the Stringtie $-eB$ command to create a Ballgown object directory.

The Ballgown R package (Frazee et al. 2015) was deployed to access count data. Hierarchical clustering using Euclidean distances in gene expression between different replicates indicated that one of the 4 controls (the Control-2 replicate) was an outlier. It was therefore removed from further analysis. All remaining replicates passed quality control based upon PCA/MDS and hierarchical clustering analysis. Gene expression values were passed through a low-abundance filter such that any gene with a variance of less than 1 in expression across all samples was removed from further analysis. Four different comparisons were then made for the data: Sucralose-6-Acetate vs Control, Sucralose vs Control, Sucralose vs Sucralose-6-Acetate, and a three-way comparison for all samples. Significance was determined by a false-discovery-rate q-value of 0.05. Over-representation testing of significant genes was accomplished using gProfiler's Gost service using default parameters, version: e101_eg48_p14_baf17f0 (Raudvere et al. 2019).

Experiment 7: Liver microsome stability assays for half-life (T1/2) determination

A microsomal stability assay was performed by BioDuro-Sundia (Shanghai, China) using a standardized protocol to determine the in vitro half-life $T_{1/2}$ (min) of the two test articles, sucralose-6-acetate and sucralose, in the presence of liver microsomes that contain membrane-bound metabolizing enzymes including cytochrome P450 (CYP450). The goal of this assay was directed at determining Phase I metabolism in 5 different species (human, monkey, dog, rat, and mouse) using dihydronicotinamide-adenine dinucleotide phosphate/NADPH (ACROS Cat#328742500) as an enzyme co-factor. Microsome stability was assessed using a singlet incubation of 100 µM of each test

article at 5 time points (0, 5, 15, 30, and 60 min). Samples were assessed using liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) at peak area ratios to determine T1/2 along with an estimation of intrinsic clearance (Cl_{int}). The fraction of each test article removed by the liver (extraction ratio) was calculated for each of the 5 different species based upon physiological variables reported by Houston (1994) and Davies and Morris (1993). Subsequent liver stability assays were also conducted by Cyprotex (Watertown, MA USA) in human liver microsomes both with and without NADPH using standardized protocols (Cyprotex 2022).

Experiment 8: Inhibition of cytochrome P450 (CYP450) xenobiotic detoxification enzymes in human liver microsomes

A cytochrome P450 (CYP450) inhibition assay was conducted by BioDuro-Sundia (Shanghai, China) to determine if sucralose-6-acetate or sucralose are inhibitors of CYP enzymes that metabolize exogenous as well as endogenous compounds.

CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, and CYP3A4/5 were selected for assessment as recommended by the United States Food and Drug Administration (2020). The probe substrates for each CYP isoform along with the inhibitors used as positive controls are provided in Table 2. The CYP isoform-specific substrates were incubated with human liver microsomes along with sucralose-6-acetate or sucralose according to standardized protocols of BioDuro-Sundia. In Trial 1, sucralose-6-acetate was incubated in duplicate at 0, 0.137, 0.412, 1.23, 3.7, 11.1, 33.3 and 100 μM, and sucralose was incubated in duplicate at 0, 4.12, 12.3, 37, 111, 333, and 1000 μM (BioDuro-Sundia 2021a). In Trial 2, sucralose-6-acetate was reassessed to compare the results with Trial 1 and incubated in duplicate at 0, 0.098, 0.39, 1.56, 6.3, 25, and 100 μM (BioDuro-Sundia 2022). At the end of each incubation, the amount of probe substrate remaining was monitored by LC/MS/MS, and IC₅₀ (half-maximal inhibitory concentration) values for sucralose and sucralose-6-acetate were computed.

Table 2. CYP450 inhibition study.

CYP Isoform	Probe Substrates	Positive Control Inhibitors
1A2	Phenacetin	β-Naphthoflavone
2C9	Diclofenac	Sulfaphenazole
2C19	Mephenytoin	Tranylcypromine
2D6	Dextromethorphan	Quinidine
3A4/5	Midazolam	Ketoconazole

Positive controls and substrate controls used by BioDuro-Sundia (2021a, 2022).

Results

Experiment 1: In vitro MultiFlow® DNA damage assay in TK6 cells

The results of the MultiFlow® assay in TK6 cells for sucralose-6-acetate indicated that sucralose-6-acetate exhibited a prototypical clastogenic signature for both +S9 and -S9 conditions. The fold-increases in γH2A_x and nuclear p53 relative to control for the +S9 and -S9 treatments are shown in Tables 3 and 4 respectively. A clastogenic call was made for the +S9 treatment in Table 3 because fold-elevation in 3 consecutive concentrations of sucralose-6-acetate met or exceeded the GEF cutoffs for the 24-hr γH2A_x (1.31) and the 24-hr nuclear p53 (1.12) biomarkers. The lowest observed concentration of genotoxicity with S9 for sucralose-6-acetate was 353 μg/ml (803 μM). A clastogenic call was detected for 24-hr treatment without S9 in Table 4 as fold-increases in 2 consecutive concentrations exceeded the cutoffs for fold 4-hr nuclear p53 (1.40) and 24-hr nuclear p53 (1.45), and one concentration exceeded the cutoff for 24-hr γH2A_x (2.11). The lowest observed concentration for genotoxicity of sucralose-6-acetate without S9 was 707 μg/ml (1607 μM or 1.607 mM). Thus, clastogenicity call for sucra-

lose-6-acetate occurred at a lower concentration with S9 metabolic activation than it did without S9 activation. Sucralose-6-acetate did not display an aneugenic signature.

Table 3. MultiFlow® assay for the sucralose-6-acetate (+S9) condition. (Table view)

Concentration of Sucralose-6-Acetate		Clastogen Responsive Biomarkers and GEF Cutoffs			Pan-Genotoxic Responsive Biomarker and Cutoff	Clastogenic Signature
μM	μg/ml	γH2A _x (4 Hr) ≥ 1.44	γH2A _x (24 Hr) ≥ 1.31	p53 (4 Hr) ≥ 1.23	p53 (24 Hr) ≥ 1.12	
1607	707	0.74	1.83*	1.08	1.28*	Yes
1136	500	0.82	1.48*	1.04	1.19*	Yes
803	353	0.87	1.35*	1.03	1.12*	Yes
568	250	0.97	1.12	1.05	1.10	No
402	177	1.01	1.00	1.05	1.02	No
284	125	1.03	1.02	1.03	1.03	No
201	88	0.93	1.03	0.98	1.02	No
142	62	0.88	0.95	0.94	1.07	No
100	44	0.95	1.00	0.97	1.02	No
71	31	1.08	1.02	1.02	1.00	No
50	22	1.13	1.10	1.05	0.96	No
35	16	1.07	1.11	1.00	0.97	No
25	11	1.06	1.13	1.01	0.96	No
18	8	1.18	1.06	1.06	1.02	No
13	6	1.06	1.12	1.02	0.96	No
9	4	1.11	1.04	1.03	0.98	No
6	3	1.02	1.06	0.98	0.94	No

* Met or exceeded the cutoffs.

Fold changes in biomarkers along with GEF cutoffs and predictions of genotoxicity for each concentration of sucralose-6-acetate.

The MultiFlow® assay for sucralose with concentrations up to 3980 µg/ml yielded no marked predictions of genotoxicity, with or without S9, in TK6 cells. However, there were 4 successive increasing concentrations of sucralose beginning at 994 µg/ml (2.5 mM) in the non-activated treatment that resulted in a greater than 2-fold rise in γH2Ax, a marker for DNA breaks.

Table 4. MultiFlow® assay for the sucralose-6-acetate (-S9) condition. (Table view)

Concentration of Sucralose-6-Acetate		Clastogen Responsive Biomarkers and GEF Cutoffs			Pan-Genotoxic Responsive Biomarker and Cutoff	Clastogenic Signature
µM	µg/ml	γH2Ax (4 Hr) ≥ 1.51	γH2Ax (24 Hr) ≥ 2.11	p53 (4 Hr) ≥ 1.40	p53 (24 Hr) ≥ 1.45	
2274	1000	0.57	3.59*	1.68*	1.73*	Yes
1607	707	0.59	1.08	1.47*	1.46*	Yes
1136	500	0.62	0.97	1.30	1.21	No
803	353	0.66	1.18	1.17	1.21	No
568	250	0.77	2.14*	1.07	1.22	No
402	177	0.89	2.79*	0.97	1.27	No
284	125	0.90	2.47*	1.00	1.19	No
201	88	0.92	2.15*	0.96	1.18	No
142	62	0.89	1.54	0.99	1.14	No
100	44	0.87	1.25	0.96	1.10	No
71	31	1.00	1.09	1.01	1.08	No
50	22	1.06	1.07	1.00	1.05	No
35	16	1.00	1.13	1.01	1.06	No
25	11	1.09	1.06	1.00	1.06	No
18	8	1.01	1.08	1.01	1.06	No
13	6	1.01	1.12	1.00	1.05	No
9	4	1.05	1.11	1.01	1.08	No
6	3	1.00	1.09	1.01	1.08	No

*Exceeded cutoff. Fold changes in biomarkers along with GEF cutoffs and predictions of genotoxicity for each concentration of sucralose-6-acetate.

Experiment 2: In vitro mammalian cell MN test in TK6 cells

The results of the in vitro mammalian cell micronucleus test in TK6 cells shown in Tables 5 and 6 indicated that sucralose-6-acetate was positive in the 27-hr treatment without S9 but not with S9. That is, sucralose-6-acetate (-S9) elevated the MN frequency which is a biomarker of cytogenetic/chromosomal damage. The occurrence of binucleated cells was also enhanced at higher concentrations. For this reason, the MN frequency was determined in combined mono-, bi-, and multi-nucleated cells. When all populations of cells were combined and assessed (mono-, bi-, and multi-nucleated), there was a significant rise at 1000 µg/ml in the 27 hr -S9 treatment. A Cochran Armitage Trend Test of the top 3 concentrations of 500, 750 and 1000 µg/ml (1137, 1705, and 2274 µM) showed a significant concentration-dependent elevation within that concentration range, and the MN frequency was outside of the historical vehicle control limit. Data indicate the sucralose-6-acetate is genotoxic which is consistent with the MultiFlow® assay.

A MN test for sucralose itself was not performed in the current study as a previous MN test submitted during regulatory assessment was inconclusive (United States Food and Drug

Administration US FDA 1998) and the MultiFlow® assay was not positive.

Table 5. Micronucleus test: 27-hr treatment without S9. (Table view)

Condition	S6A ^a (µM)	S6A (µg/ml)	Total Micronucleated Cells	Total Cells Counted	Micronucleus Frequency (%)
Vehicle control (DMSO)	0	0	12	2261	0.53
Test article	227	100	18	2272	0.79
Test article	569	250	21	2235	0.94
Test article	1137	500	13	2242	0.58
Test article	1705	750	18	2270	0.79
Test article	2274	1000	24	2278	1.05*
Positive control (VB ^b , 12 ng/mL)			114	2400	4.75*

^aS6A = Sucralose-6-acetate; ^bVB = Vinblastine. Results of the micronucleus frequency in combined mono-, bi-, and multi-nucleated cells. **p* ≤ .05; Fisher's Exact Test, relative to the solvent control.

Table 6. Micronucleus test: 4-hr treatment with S9. (Table view)

Condition	S6A ^a (µM)	S6A (µg/mL)	Total Micronucleated Cells	Total Cells Counted	Micronucleus Frequency (%)
Vehicle control (DMSO)	0	0	22	2254	0.98
Test article	682	300	16	2214	0.72
Test article	1137	500	25	2269	1.10
Test article	1592	700	20	2244	0.89
Test article	2274	1000	18	2258	0.80
Positive Control (CP ^b , 4 µg/ml)			59	2248	2.62*

^aS6A = Sucralose-6-acetate; ^bCP = Cyclophosphamide. Results of the micronucleus frequency in combined mono-, bi-, and multi-nucleated cells. **p* ≤ .05; Fisher's Exact Test, relative to the solvent control.

Experiment 3: In silico assessment of mutagenic potential by Leadscope®

The consensus call by the Leadscope® quantitative structure activity tool predicted that sucralose-6-acetate may be mutagenic and induce permanent transmissible genetic variations. Leadscope® also provided a bacterial mutation alert for the secondary alkyl halide as the active/primary portion or molecular fragment of concern for sucralose-6-acetate (Figure 2). The program recommended a follow up with a bacterial reverse mutation test using standard strains of Salmonella typhimurium and/or E. coli. These findings for sucralose were ambiguous.

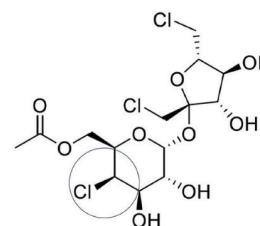


Figure 2. The secondary alkyl halide (encircled) of sucralose-6-acetate that generated a bacterial mutation alert by Leadscope®.

Experiment 4: Bacterial reverse mutation test (Ames Test)

Data from the bacterial reverse mutation tests in Tables 7 and 8 indicated that sucralose-6-acetate and sucralose were both negative (non-mutagenic) under the conditions, and according to the criteria, of the study protocol. Sucralose-6-acetate and sucralose, and/or their metabolites, did not induce reverse mutations in 4 strains of *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, and TA1537) or in the WP2 *uvrA* strain of *Escherichia coli* in the presence and absence of an exogenous metabolic activation system (S9). These results do not confirm the *in silico* prediction by Leadscope® and suggest that sucralose-6-acetate and sucralose are not mutagenic. These observations indicate that although sucralose-6-acetate was genotoxic in both the MultiFlow® and MN test, DNA damage initiated by sucralose-6-acetate may not lead to permanent alterations in further generations of cells because it is not mutagenic.

Table 7. Bacterial reverse mutation test for sucralose-6-acetate. (Table view)

Tester Strains	Without metabolic activation (μg per plate)		Without metabolic activation (μg per plate)	
	Precipitate	Toxicity*	Precipitate	Toxicity*
TA98	None	None	None	None
TA100	None	None	None	None
TA1535	None	None	None	None
TA1537	None	None	None	5000
WP2 <i>uvrA</i>	None	None	None	None

Precipitate and toxicity results.

*Toxicity is defined as a >50% reduction in revertants compared to the negative controls.

Table 8. Bacterial reverse mutation test for sucralose. (Table view)

Tester Strains	Without metabolic activation (μg per plate)		Without metabolic activation (μg per plate)	
	Precipitate	Toxicity*	Precipitate	Toxicity*
TA98	None	None	None	None
TA100	None	None	None	None
TA1535	None	None	None	None
TA1537	None	None	None	5000
WP2 <i>uvrA</i>	None	None	None	None

Precipitate and toxicity results.

*Toxicity is defined as a >50% reduction in revertants compared to the negative controls.

Experiment 5: Assessment of transepithelial electrical resistance (TEER) and permeability in human transverse colon epithelium

Both sucralose-6-acetate and sucralose altered TEER and permeability in human colonic epithelial monolayers at mM concentrations in the absence of bacteria. The results in Figures 3a,b below illustrate that a reduction in TEER from a single treatment for 24 hr with sucralose-6-acetate begins at 5 mM with a complete collapse at 10 mM. In Figure 3c, the relative permeability to 40 kDa FTIC-dextran significantly increased after exposure to 10 mM sucralose-6-acetate.

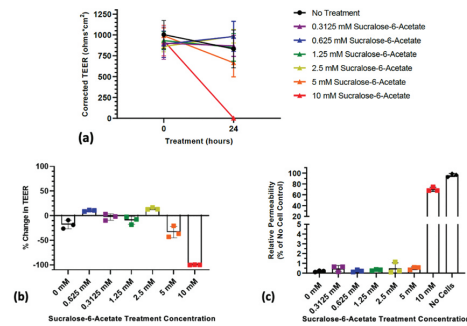


Figure 3. Response of human transverse colon epithelium to sucralose-6-acetate: (a) Corrected TEER of transverse colon monolayers showing that a reduction began to occur at 5 mM with a total loss at 10 mM; (b) Percent change in TEER of transverse colon computed from corrected TEER; (c) Change in permeability to 40 kDa FTIC-dextran transitions at 10 mM.

Figures 4a,b show that a reduction in TEER from a single treatment for 24 hr with sucralose begins at 40 mM with a complete collapse at 80 mM. Figure 4c illustrates that the relative permeability to 40 kDa FTIC-dextran was significantly elevated after incubation with 80 mM and 160 mM sucralose.

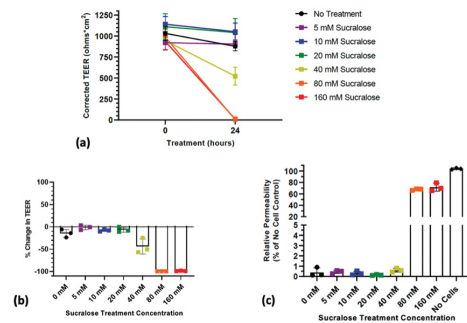


Figure 4. Response of human transverse colon epithelium to sucralose: (a) Corrected TEER of transverse colon monolayers (note: results for 80 mM and 160 mM overlap); (b) Percent change in TEER of transverse colon; (c) Change in permeability to 40 kDa FTIC-dextran transitions at 80 mM.

Experiment 6: RNA-seq and gene expression in transverse colon

Differential gene expression analysis was used to determine changes in gene expression in human transverse colon induced by sucralose-6-acetate and sucralose, each relative to control (no treatment). A total of 12,553 genes were analyzed after low-abundance filtering. Four comparisons using the R package Ballgown's "stattest" function were: Sucralose-6-Acetate vs Control, Sucralose vs Control, Sucralose vs Sucralose-6-Acetate, and a three-way comparison for all samples (Sucralose vs Sucralose-6-Acetate vs Control).

Sucralose-6-acetate vs control

Thirty-four (34) genes were differentially expressed between sucralose-6-acetate and control samples, and 23 of these were identified. The expression of 16 of the identified genes significantly increased in the sucralose-6-acetate samples as compared to controls (Table 9), and the expression of 7 of the identified genes significantly decreased in the sucralose-6-acetate

samples compared to controls (Table 10). In Table 9, three additional named but uncharacterized genes including LOC399900, LOC105371483, and LOC107986058 also exhibited significantly increased expression in sucralose-6-acetate than control. Twenty (20) of the 23 identified genes encode proteins while 2 of these are non-coding RNAs and 1 is a pseudogene. A brief description of each gene is presented in Tables 9 and 10 along with fold change and significance values. The fold changes for sucralose-6-acetate relative to control for three genes, metallothionein 1 G (MT1G), serine hydroxymethyltransferase (SHMT2), and activating transcription factor 3 (ATF3) were exceptionally large at 253.82, 81.23, and 54.49 respectively.

Table 9. Differential gene expression for sucralose-6-acetate with fold change >1. (Table view)

Gene Symbol and name	Brief description (Genecards 2023; The Human Protein Atlas 2023)	Fold Change	P(q) value
MT1G (Metallothionein 1 G)*	Binds heavy metals; regulated by heavy metals and glucocorticoids; cancer-related gene	253.82	2.07E-05 (0.02)
SHMT2 (Serine hydroxymethyltransferase 2)*	Encodes mitochondrial form of a pyridoxal phosphate-dependent enzyme; involved in glycine synthesis	81.23	8.02E-05 (0.04)
ATF3 (Activating Transcription Factor 3)*	Encodes member of activation transcription factor/cAMP responsive element-binding (CREB) protein family; involved in cellular stress response	54.49	1.22E-04 (0.04)
CHST3 (Carbohydrate Sulfotransferase 3)*	Encodes an enzyme that catalyzes sulfation of chondroitin; involved in cell migration and differentiation	9.26	1.08E-04 (0.04)
LOC399900	Uncharacterized	9.02	2.22E-05 (0.02)
ATE1-AS1 (ATE1 Antisense RNA 1)**	Pseudogene	5.89	1.61E-04 (0.04)
MCM2 (Minichromosome Maintenance Complex Component 2)*	Involved in initiation of eukaryotic genome replication; cancer related gene	5.14	1.54E-04 (0.04)
KCNQ1DN (KCNQ1 Downstream Neighbor)***	Affiliated with the lncRNA class	3.57	2.01E-05 (0.02)
ZSCAN10 (Zinc Finger and SCAN Domain Containing 10)*	Embryonic stem (ES) cell-specific transcription factor; metal-binding	3.07	1.21E-04 (0.04)
ARMC10 (Armado Repeat Containing 10)*	Decreases the transcriptional activity of the tumor suppressor protein p53	2.78	1.98E-04 (0.04)
ELP5 (Elongator Acetyltransferase Complex Subunit 5)*	Component of the elongator complex that is required for multiple tRNA modifications	2.78	9.94E-06 (0.02)
LOC105371483	Uncharacterized	2.49	1.28E-04 (0.04)
UVRAG-DT (UVRAG Divergent Transcript)***	Affiliated with the lncRNA class	2.38	1.85E-04 (0.04)
EWSR1 (EWS RNA Binding Protein 1)*	Involved in various cellular processes, including gene expression, cell signaling, and RNA processing and transport; cancer related gene	2.28	3.44E-05 (0.02)
MTMR9 (Myotubularin Related Protein 9)*	Adapter for myotubularin-related phosphatases	2.04	7.03E-05 (0.04)
LOC107986058	Uncharacterized	1.77	1.37E-04 (0.04)
TNFSF14 (TNF Superfamily Member 14)*	Encodes member of the tumor necrosis factor (TNF) ligand family that stimulates proliferation of T cells and mediates apoptosis.	1.78	1.97E-04 (0.04)
SET (SET Nuclear Proto-oncogene)*	Multitasking protein; inhibits acetylation of nucleosomes; cancer-related gene	1.70	1.73E-04 (0.04)
CASKIN1 (CASK Interacting Protein 1)*	Predicted to be involved in signal transduction; may link scaffolding protein CASK to intracellular effectors	1.25	1.07E-04 (0.04)

Ranked by fold change including significance and brief description from gene and protein databases.
*Protein coding gene, **Pseudogene, ***RNA coding gene.

Table 10. Differential gene expression for sucralose-6-acetate with fold change <1. (Table view)

Gene Symbol and name	Brief description (Genecards 2023; The Human Protein Atlas 2023)	Fold Change	P(q) value
DHX35 (DEAH-Box Helicase 35)*	May be involved in pre-mRNA splicing	0.54	1.10E-04 (0.04)
RABL2B (RAB, Member Of RAS Oncogene Family Like 2B)*	Small GTPase required for ciliation	0.54	2.16E-06 (0.01)
ABO (Alpha 1-3-N-Acetylgalactosaminyltransferase and Alpha 1-3-Galactosyltransferase)*	Encodes proteins that are the basis of the ABO blood group system	0.26	2.11E-04 (0.04)
PIGN (Phosphatidylinositol Glycan Anchor Biosynthesis Class N)*	Involved in glycosylphosphatidylinositol-anchor biosynthesis	0.26	1.14E-05 (0.04)
FRMD8 (FERM Domain Containing 8)*	Involved in positive regulation of tumor necrosis factor production	0.15	1.15E-04 (0.04)
ADCY6 (Adenylate Cyclase 6)*	Encodes a member of the adenylyl cyclase family of proteins, which are required for the synthesis of cyclic AMP	0.06	1.03E-04 (0.04)
SMARCC2 (SWI/SNF Related, Matrix Associated, Actin Dependent Regulator of Chromatin Subfamily C Member 2)*	Involved in transcriptional activation and repression of select genes by chromatin remodeling	0.01	1.51E-04 (0.04)

Ranked by fold change including significance and brief description from gene and protein databases.
*Protein coding gene.

Sucralose vs control

Only two protein coding genes were differentially expressed between sucralose vs control samples. A brief description of these two genes is presented in Table 11 along with fold change and significance values. For COX10, gene expression was higher in sucralose than control. For FAM166A, gene expression was lower in sucralose than control.

Table 11. Differential gene expression for sucralose. (Table view)

Gene Symbol and name	Brief Description (Genecards 2023; The Human Protein Atlas 2023)	Fold Change	P (q) value
COX10 (cytochrome c oxidase assembly factor heme A:farnesyltransferase COX10)*	Encodes heme A:farnesyltransferase which is required for the expression of functional cytochrome c oxidase	1.26	2.12E-05 (0.04)
FAM166A (family with sequence similarity 166 member A)*	Protein located in ciliary basal body; broad expression in testis	0.61	9.16E-06 (0.04)

Fold change, significance, and brief description from gene and protein databases.
*Protein coding gene.

Sucralose vs sucralose-6-acetate

There were 186 genes that were differentially expressed in the sucralose vs sucralose-6-acetate comparison. For 62 genes, expression in sucralose samples was higher than in sucralose-6-acetate samples with an average fold elevation of 4.63 ± 4.53 . For 126 genes, expression was higher in sucralose-6-acetate than in sucralose but with a lower average fold change of only 0.28 ± 0.2 . The Farnesyl-Diphosphate Farnesyltransferase gene (FDFT1) that encodes the first specific enzyme in cholesterol biosynthesis (Genecards 2023; The Human Protein Atlas 2023) displayed the largest change in expression in sucralose with a 30.93-fold rise relative to sucralose-6-acetate (P(q) value $3.6E-4$

Ανασκόπηση Διεθνούς Ιατρικού Τύπου International Medicine Review



Hellenic Journal of Medicine
2023: 139: 150–151

Επιμέλεια:

Δρ. Γκουγκουρέλας Ιωάννης

Επιμελητής Β', Παθολογική Κλινική Γ.Ν.Θ. «Άγιος Δημήτριος»

ΤΕΡΛΙΠΡΕΣΣΙΝΗ ΚΑΙ ΑΛΒΟΥΜΙΝΗ ΩΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΝΕΦΡΙΚΟΥ ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ ΤΥΠΟΥ Ι

Terlipressin plus Albumin for the Treatment of Type 1 Hepatorenal Syndrome. F. Wong and Others. N Engl J Med 2021; 384:818-828

Η τερλιπρεσσίνη αποτελεί ένα συνθετικό ανάλογο της βασοπρεσσίνης με αγγειοσυσπαστική δράση τόσο στην σπλαγχνική, όσο και στην συστηματική κυκλοφορία. Η δράση αυτή συμβάλλει στη μείωση της ροής του αίματος στην πυλαία κυκλοφορία και συνεπώς στη μείωση της πυλαίας υπέρτασης, την κύρια αιτία των αιμοδυναμικών διαταραχών που σχετίζονται με την προχωρημένη κίρρωση. Η παραπάνω αναδιανομή του κυκλοφορόντος όγκου από την σπλαγχνική στην συστηματική κυκλοφορία αυξάνει τη νεφρική διήθηση, ενώ επιπρόσθετα ο αυξημένος δραστικός ενδαγγειακός όγκος μειώνει την αντισταθμιστική αγγειοσύσπαση στην νεφρική κυκλοφορία, βελτιώνοντας περαιτέρω την αιμοδυναμική των νεφρών.

Η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια της τερλιπρεσσίνης ελέγχθηκε σε μία πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη, διπλή τυφλή, placebo-controlled μελέτη φάσης 3, η οποία έλαβε χώρα στην Αμερική και τον Καναδά από τον Ιούλιο του 2016 μέχρι τον Ιούλιο του 2019. Στη μελέτη αυτή έλαβαν μέρος 300 ασθενείς με προχωρημένη κίρρωση, ασκίτη και ηπατονεφρικό σύνδρομο τύπου Ι, οι οποίοι ταξινομήθηκαν τυχαία σε δύο ομάδες με αναλογία 2:1. Στην πρώτη ομάδα οι ασθενείς έλαβαν τερλιπρεσσίνη και αλβουμίνη, ενώ στη δεύτερη ομάδα οι ασθενείς έλαβαν placebo και αλβουμίνη, για 14 ημέρες. Η θεραπεία θεωρήθηκε επιτυχής εφόσον καταγράφηκε υποστροφή του ηπατονεφρικού συνδρόμου, η οποία ορίστηκε ως η πτώση της κρεατινίνης ορού σε επίπεδα από 1,5 mg/dl και κάτω σε δύο διαδοχικές μετρήσεις με χρονική διαφορά τουλάχιστον 2 ωρών μεταξύ τους, καθώς και η επιβίωση των ασθενών για τουλάχιστον 10 ημέρες χωρίς την ανάγκη εξωνεφρικής κάθαρσης.

Στο τέλος της μελέτης παρατηρήθηκε μεγαλύτερη ύφεση του ηπατονεφρικού συνδρόμου στους ασθενείς που έλαβαν τερλιπρεσσίνη και αλβουμίνη (32%) έναντι των ασθενών που έλαβαν placebo και αλβουμίνη (17%). Στο follow-up που ακολούθησε 90 ημέρες μετά την έναρξη της μελέτης, οι ασθενείς που έλαβαν τερλιπρεσσίνη έχρηζαν σε μικρότερο ποσοστό μεταμόσχευσης ήπατος (23%) από τους ασθενείς που έλαβαν εικονικό φάρμακο (29%). Παρόλα αυτά, η συνολική θνητότητα στο διάστημα αυτό ήταν μεγαλύτερη στην ομάδα της τερλιπρεσσίνης (51%) έναντι της ομάδας του placebo (45%). Το εύρημα αυτό αποδόθηκε στις σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες, οι οποίες περιλαμβάν-

νουν το κοιλιακό άλγος, τη ναυτία, τις διάρροιες και την οξεία αναπνευστική ανεπάρκεια, οι οποίες εμφανίστηκαν με σημαντικά μεγαλύτερη συχνότητα στην ομάδα της τερλιπρεσσίνης από την ομάδα του εικονικού φαρμάκου.

Καταληκτικά, σε ενήλικες με κίρρωση και ηπατονεφρικό σύνδρομο τύπου 1, η τερλιπρεσσίνη ήταν πιο αποτελεσματική από το εικονικό φάρμακο στην βελτίωση της νεφρικής λειτουργίας, αλλά η χρήση της σχετίστηκε με σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες, συμπεριλαμβανομένης της οξείας αναπνευστικής ανεπάρκειας.

Αρχική θεραπεία με τετραπλό συνδυασμό αντιυπερτασικών φαρμάκων έναντι της τυπικής μονοθεραπείας σε ασθενείς με αρτηριακή υπέρταση (QUARTET): Μια πολυκεντρική, διπλή τυφλή, τυχαιοποιημένη, φάσης 3 μελέτη

[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)01922-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)01922-X).

Το QUARTET αφορά μια πολυκεντρική, διπλή τυφλή, τυχαιοποιημένη, φάσης 3 μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τον Ιούνιο του 2017 έως τον Αύγουστο του 2020 ανάμεσα σε 591 Αυστραλούς ενήλικες με αρτηριακή υπέρταση που είτε δεν ελάμβαναν θεραπεία είτε ελάμβαναν μονοθεραπεία και οι οποίοι ταξινομήθηκαν τυχαία σε δύο ομάδες με αναλογία 1:1. Από τους 591 συμμετέχοντες οι 300 έλαβαν θεραπεία με συνδυασμό 4 αντιυπερτασικών (37,5 mg ιρβεσαρτάνη, 1,25 mg αμλοδιπίνη, 0,625 mg ινδαπαμίδη και 2,5 mg βισοπρολόλη (1/4 της συνήθους δόσης)-ομάδα 1 και οι 291 μονοθεραπεία (ιρβεσαρτάνη 150 mg)-ομάδα 2. Η μέση ηλικία των συμμετεχόντων ήταν τα 59 χρόνια, είχαν πανομοιότυπο κλινικοεργαστηριακό προφίλ και ατομικό ιστορικό και ίδιο baseline μέσης αρτηριακής πίεσης, είτε με μη θεραπευμένη ΑΠ ≥ 4 εβδομάδες με κλινική ΑΠ $\geq 140/90$ mmHg ή 24ωρη ΜΑΠ $\geq 135/85$ mmHg ή υπό μονοθεραπεία για ΑΥΠ με ΑΠ κλινικής $\geq 130/85$ mmHg ή 24ωρη ΜΑΠ $\geq 125/80$ mmHg. Εξαιρέθηκαν ασθενείς με δευτεροπαθή ΑΥ, με αντενδείξεις χορήγησης στα φάρμακα της μελέτης, καθώς και γυναίκες που ελάμβαναν αντισύλληψη. Όλοι οι συμμετέχοντες αξιολογήθηκαν κατά την έναρξη της μελέτης, μετά από 6 εβδομάδες, και μετά από 12 εβδομάδες. Κάθε αξιολόγηση περιλάμβανε 1 μέτρηση της ΑΠ με επίβλεψη, 3 μετρήσεις χωρίς επίβλεψη καθώς και μια 24ωρη καταγραφή της ΑΠ σε συνδυασμό με κλινικοεργαστηριακό έλεγχο.

Η κύρια έκβαση στις 12 εβδομάδες ήταν πως η ΑΠ χωρίς επίβλεψη στο ιατρείο στην ομάδα 1 ήταν 121/71 mmHg και στην ομάδα 2 127/79 mmHg. Η μέση διαφορά στην ΣΑΠ ανάμεσα στην ομάδα 1 και 2 ήταν -6,9 mmHg ($p < 0,01$). Τα δευτερεύοντα αποτελέσματα της ομάδας 1 έναντι της ομάδας 2 αφορούν: Μέση διαφορά στη ΔΑΠ την εβδομάδα 12: -5,8 mmHg ($p < 0,0001$), έλεγχος ΑΠ < 140/90 mmHg την εβδομάδα 12: 76% έναντι 58% ($p < 0,0001$), μέση διαφορά στην ΣΑΠ/ΔΑΠ την εβδομάδα 52: -7,8/-6 mmHg ($p < 0,0001$), κεφαλαλγία την εβδομάδα 12: 31% έναντι 25,4% ($p < 0,08$) και τιμή κρεατινίνης ορού την εβδομάδα 12: 0,9 έναντι 0,85 mg/dl ($p = 0,006$). Δεν υπήρξε διαφορά στις αποσύρσεις από τη θεραπεία που σχετίζονται με ανεπιθύμητες ενέργειες.

Τα πλεονεκτήματα αυτής της μελέτης είναι ότι παρέχει μια διπλή τυφλή αξιολόγηση αυτής της νέας στρατηγικής με επαρκή περίοδο παρακολούθησης σε σύγκριση με παλαιότερες έρευνες. Τα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν την αποτελεσματικότητα στη μείωση της ΑΠ και την ικανοποιητική ανεκτικότητα και ασφάλεια στην πρώιμη διαχείριση της υπέρτασης, επιφέροντας δυνητικά πρόσθετη μείωση του κινδύνου μακροπρόθεσμα. Περαιτέρω μελέτες, ωστόσο, θα πρέπει να στοχεύουν στην αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας και της ανεκτικότητας σε σύγκριση με τα επί του παρόντος συνιστώμενα σχήματα ως θεραπεία πρώτης γραμμής.

Προσεχή Ιατρικά Συνέδρια, Επιστημονικές Ιατρικές Εκδηλώσεις στην Ελλάδα και το Εξωτερικό. Ανακοινώσεις Ιατρικών Εταιρειών



22ο Πανελλήνιο Συνέδριο Μεταμοσχεύσεων, 18/01/2024 - 20/01/2024,
THE MET HOTEL Θεσσαλονίκη, Ελληνική Εταιρεία Μεταμοσχεύσεων

- **33ο Ετήσιο Συνέδριο Συνεχιζόμενη Εκπαίδευση Παιδιάτρου, 16/02/2024 - 17/02/2024,** GRAND SERAI HOTEL, Ιωάννινα, Παιδιατρική Κλινική Τομέας Υγείας του παιδιού Τμήμα Ιατρικής Σχολής Επιστημών Υγείας Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων.
- **Ιπποκράτειες Ημέρες Νεφρολογίας, 01/03/2024 - 02/03/2024,** ELECTRA PALACE Θεσσαλονίκη, Α΄ Νεφρολογική Κλινική ΑΠΘ Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης Ιπποκράτειο
- **Προβληματισμοί & διλήμματα που αντιμετωπίζει καθημερινά ο Παθολόγος, 01/03/2024 - 02/03/2024,** Α΄ και Β΄ Πανεπιστημιακές Παθολογικές Κλινικές Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων.
- **Hot Spots στη Γαστρεντερολογία & Ηπατολογία, 08/03/2024 - 09/03/2024,** Συνεδριακό Πολιτιστικό Κέντρο του Πανεπιστημίου Πατρών Πάτρα, Ιατρική Εταιρεία Δυτικής Ελλάδος και Πελοποννήσου.
- **34η Διημερίδα Ελληνικής Εταιρείας Αθροσκήρωσης, 05/04/2024 - 06/04/2024,** Mediterranean Palace Θεσσαλονίκη, Ελληνική Εταιρεία Αθροσκήρωσης.
- **2η Εκπαιδευτική Διημερίδα "Χειρουργική Ογκολογία Πεπτικού & Μεταμοσχεύσεις: Θεραπευτικές Εξελίξεις και Σύγχρονες Τεχνικές,** Αμφιθέατρο Ιδρύματος Βασίλη και Ελίζας Γουλανδρή Αθήνα, Ινστιτούτο Μελέτης Νεοπλασματικών Πεπτικού.
- **Αιχμές στην Ηπατολογία: Ιογενείς Ηπατίτιδες, 13/04/2024,** Αμφιθέατρο ΓΝΑ Ιπποκράτειο Αθήνα, Β΄ Παθολογική Κλινική και Ομώνυμο Εργαστήριο Ηπατολογικό Τμήμα Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ γνάθων Ιπποκράτειο Αθηνών.
- **Διημερίδα " Θεραπευτική σε Νευροανοσολογικά Νοσήματα", 20/04/2024 - 21/04/2024,** Grand Hotel Palace Θεσσαλονίκη, Ελληνική Νευρολογική Εταιρεία.
- **EUROPAG 2024 - 16TH EUROPEAN CONGRESS OF PEDIATRIC AND ADOLESCENT GYNAEOLOGY, 05/06/2024 - 08/06/2024,** Hyatt Regency Hotel Θεσσαλονίκη, EURAPAG.