

ΔΕΥΤΕΡΟΠΑΘΗΣ ΚΑΚΩΣΗ ΤΟΥ ΝΩΤΙΑΙΟΥ ΜΥΕΛΟΥ - ΑΠΟΠΤΩΣΗ

Α.Γ. ΜΠΑΪΚΟΥΣΗΣ

Κάθε τραύμα στο νωτιαίο μυελό οδηγεί σε άμεση βλάβη, η οποία ακολουθείται συνήθως από περαιτέρω βλάβη του ιστού, που μπορεί να συνεχίζεται για μια περίοδο ημερών ή και μηνών μετά την αρχική κάκωση. Έτσι, στο σημείο της μηχανικής κάκωσης έχουμε την πρωτοπαθή βλάβη του νωτιαίου μυελού και τα αποτελέσματα μιας αλυσίδας κυτταρικών και μοριακών αντιδράσεων, οι οποίες οδηγούν στη δευτεροπαθή βλάβη, στις περιοχές πέριξ της αρχικής κάκωσης. Η τελική επίδραση μιας κάκωσης στο νωτιαίο μυελό εξαρτάται και από την αρχική-πρωτοπαθή βλάβη, αλλά και από το αποτέλεσμα της επίδρασης διαφόρων παραγόντων δευτεροπαθώς. Όλες αυτές οι βλάβες του νωτιαίου μυελού οδηγούν στο σχηματισμό κοιλοτήτων στην κεντρική περιοχή της φαιάς ουσίας, με αντίστοιχη απώλεια περιφερικού ιστού. Αυτό που καθορίζει τη δημιουργία και το μέγεθος των κοιλοτήτων είναι το μέγεθος της καταστροφής των νευρικών κυττάρων και των κυττάρων της γλοίας, κατά τη διάρκεια της δευτεροπαθούς φάσης. Πρόσφατες μελέτες των μηχανισμών που οδηγούν σε κυτταρικό θάνατο ανέδειξαν ότι τα κύτταρα πεθαίνουν με δύο τρόπους: με νέκρωση και με απόπτωση.

Νέκρωση είναι ο άμεσος, τυχαίος θάνατος, που προκαλείται από διάφορες κυτταρικές κακώσεις, αλλά κυρίως μετά από σοβαρή βλάβη του κυττάρου. Ο μηχανισμός αυτός χαρακτηρίζεται από οίδημα των κυττάρων, απώλεια ενέργειας, έντονη μιτοχονδριακή δραστηριότητα και διαταραχή της εσωτερικής ομοιόστασης. Επέρχεται λύση της κυτταρικής μεμβράνης και απελευθέρωση του ενδοκυττάρου υλικού, το οποίο μπορεί να ενεργοποιήσει φλεγμονώδη αντίδραση.

Απόπτωση είναι ο προγραμματισμένος θάνατος, η "αυτοκτονία" των κυττάρων. Τα κύτταρα ενεργά καταστρέφουν τον εαυτό τους με καταστροφή του πυρήνα και του DNA. Ο μηχανισμός αυτός ενεργοποιείται από μια ποικιλία εξωγενών παραγόντων, όπως ακτινοβολία, υπερθερμία, εξωτοξίνες και ελεύθερες ρίζες. Τα κύτταρα που πεθαίνουν με απόπτωση αυτοπέπτονται από πρωτεάσες και απομακρύνονται με φαγοκυττάρωση, χωρίς να ενεργοποιούν φλεγμονώδη αντίδραση.

Σε φυσιολογικές συνθήκες η απόπτωση είναι μια σημαντική και απαραίτητη λειτουργία για την ανάπτυξη και τη διατήρηση του νευρικού συστήματος. Είναι ο τρόπος απαλλαγής από τα ανεπιθύμητα άχρηστα κύτταρα χωρίς την πρόκληση φλεγμονώδους αντίδρασης.

Οι Li και συν.³¹ παρατήρησαν τη χρονική κατανομή της αποπτωτικής βλάβης μεταξύ της 4ης και της 9ης ημέρας μετά από μια σοβαρή κάκωση του νωτιαίου μυελού.

Ο Liu³² αναφέρεται σε δύο κύματα απόπτωσης. Το πρώτο ξεκινά περίπου 4 ώρες μετά την κάκωση και κορυφώνεται στις 8 ώρες. Ανοσοϊστοχημικά βρέθηκε πως τα κύτταρα που πεθαίνουν στο πρώτο κύμα είναι νευρώνες. Η απόπτωση των κυττάρων της γλοίας κορυφώνεται στις 24 ώρες. Όμως, οι καταστροφικές αντιδράσεις συνεχίζονται τις επόμενες 7

ημέρες, με επέκταση της κοιλότητας στη λευκή ουσία, λόγω της εκφύλισης των νευραξόνων.

Οι παράγοντες που ενεργοποιούν τους μηχανισμούς της απόπτωσης είναι οι εξωτοξίνες, οι ελεύθερες ρίζες και οι μεσολαβητές της φλεγμονής. Το γλουταμινικό είναι γνωστός νευροδιαβιβαστής του ΚΝΣ και κάθε τραύμα προκαλεί οξεία παροδική αύξησή του στον εξωκυττάριο χώρο. Το γλουταμινικό προκαλεί βλάβη στα νευρικά κύτταρα επιτρέποντας την είσοδο Ca^{2+} σε αυτά, με αποτέλεσμα την απώλεια της μιτοχondριακής δραστηριότητας και της παραγωγής ενέργειας, η οποία ακολουθείται από κυτταρικό και πυρηνικό οίδημα και ρήξη. Η κάκωση του νωπιαίου μυελού προκαλεί ανεπάρκεια της αντλίας Na^+-K^+ , οδηγεί σε αύξηση του ενδοκυττάρου Na^+ , σε ενεργοποίηση της ενζυμικής δραστηριότητας και σε κυτταρικό θάνατο. Η κυκλοσπορίνη Α, ένας αναστολέας της μιτοχondριακής βλάβης που προκαλείται από το Ca^{2+} , έχει αποδειχθεί πως μειώνει την καταστροφή των νευραξόνων μετά από κάκωση του εγκεφάλου. Δεν έχει, όμως, αξιολογηθεί η δράση της σε κακώσεις του νωπιαίου μυελού.

Μετά από μια κάκωση του νωπιαίου μυελού παρατηρείται ένδεια αντιοξειδωτικών ουσιών και αύξηση των ελεύθερων ριζών, οι οποίες έχουν καταστροφικές επιδράσεις στα λιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης.

Μία από τις ελεύθερες ρίζες με ιδιαίτερο ενδιαφέρον είναι το μονοξειδίο του αζώτου (NO). Παράγεται σε διάφορους ιστούς και έχει μια ποικιλία δράσεων, όπως αγγειοδιαστολή, ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού και νευροδιαβίβαση. Συντίθεται από τη συνθετάση του μονοξειδίου του αζώτου (NOS), μια μορφή της οποίας υπάρχει και στους νευρώνες. Η αυξημένη παραγωγή της ρίζας του μονοξειδίου του αζώτου (NO⁻) μπορεί να βλάψει τα κύτταρα με διάφορους τρόπους, ο συνδυασμός της κυρίως με O₂ δημιουργεί την πολύ δραστική ONOO⁻, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε καταστροφή των λιπιδίων, των πρωτεϊνών και των νουκλεϊκών οξέων. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον φαίνεται πως έχει η νευροτοξικότητα του γλουταμινικού, το οποίο ενεργοποιεί τη συνθετάση του μονοξειδίου του αζώτου. Η αναστολή της συνθετάσης μειώνει τη βλάβη που προκαλεί το γλουταμινικό σε καλλιέργειες κυττάρων εγκεφάλου.

Οι κυτοκίνες είναι μια μεγάλη ομάδα παραγόντων που μεσολαβούν στη φλεγμονή και στην απάντηση του ανοσοποιητικού. Περιλαμβάνουν τις ιντερλευκίνες, τις ιντερφερόνες, τον tumor necrosis factor (TNF), τον leukemia inhibitor factor (LIF) και τον colony stimulating factor (CSF). Παράγονται από τα μακροφάγα, τα Β και Τ-λεμφοκύτταρα και από άλλα κύτταρα που δεν είναι του ανοσοποιητικού. Δρουν μέσω υποδοχέων στην επιφάνεια των κυττάρων του ανοσοποιητικού και προκαλούν πολλαπλασιασμό, διαφοροποίηση και ενεργοποίησή τους. Σε κακώσεις του εγκεφάλου προκαλούν βλάβη του αι-

ματοεγκεφαλικού φραγμού και είσοδο ουδετεροφίλων και μακροφάγων. Παρόμοια αύξηση των ουδετεροφίλων έχει παρατηρηθεί και στις κακώσεις του νωπιαίου μυελού. Η παραγωγή ελεύθερων ριζών, όπως NO⁻, μέσω της ενεργοποίησης της συνθετάσης ενοχοποιείται για τη βλάβη των κυττάρων από τις κυτοκίνες. Επίσης, οι κυτοκίνες βλάπτουν το αραχιδονικό οξύ στην κυτταρική μεμβράνη και την παραγωγή προσταγλαδινών και εικοσανοειδών. Οι αναστολές της κυκλοοξυγενάσης φαίνεται πως έχουν νευροπροστατευτικό αποτέλεσμα.

Αν και πολλές μελέτες σε ζώα έχουν αναδείξει ευοίωνα αποτελέσματα, σε ανθρώπινες σειρές είχαμε σχεδόν απογοητευτικά αποτελέσματα. Όμως, όσο περισσότερα μαθαίνουμε για τους μηχανισμούς που οδηγούν στον κυτταρικό θάνατο, τόσο πιο ικανοί γινόμαστε στο σχεδιασμό της θεραπείας.

Σήμερα, η μεθυλπρεδνιζολόνη είναι το μόνο φάρμακο που μπορεί να βελτιώσει τη νευρολογική λειτουργία μετά από μια οξεία κάκωση του νωπιαίου μυελού. Υψηλές δόσεις μεθυλπρεδνιζολόνης βελτιώνουν μερικά τη νευρολογική λειτουργία, εάν χορηγηθούν ενδοφλεβίως μέσα σε 8 ώρες από την κάκωση και για 24 ώρες. Όταν χορηγήθηκε η μεθυλπρεδνιζολόνη μετά τις 8 ώρες, τα αποτελέσματα δε διέφεραν από αυτά της χορήγησης placebo. Ενώ, όταν η μεθυλπρεδνιζολόνη χορηγήθηκε μεταξύ 3 και 8 ωρών, χρειάστηκε να παραταθεί η χορήγησή της για 48 ώρες.

Εκτός από τη μείωση του οιδήματος και της φλεγμονής, οι υψηλές δόσεις μεθυλπρεδνιζολόνης δρουν μέσω της σταθεροποίησης της κυτταρικής μεμβράνης και της ελάττωσης της οξειδωσης των λιπιδίων της μεμβράνης που προκαλείται από ελεύθερες ρίζες. Επίσης, φαίνεται πως τα στεροειδή προστατεύουν από την τοξικότητα του γλουταμινικού, ενώ ο συνδυασμός τους με αντιοξειδωτικούς παράγοντες έχει, επίσης, δοκιμαστεί.

Σε άλλες κλινικές μελέτες χρησιμοποιούνται γαγγλιοσίδια, λιποπρωτεΐνες με σιαλικό οξύ που βρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη του νωπιαίου μυελού των θηλαστικών. Οι ασθενείς που αντιμετωπίστηκαν με γαγγλιοσίδια εντός 72 ωρών από την κάκωση του νωπιαίου μυελού είχαν καλύτερη νευρολογική λειτουργία από αυτούς που αντιμετωπίστηκαν με placebo. Όπως και τα στεροειδή, τα γαγγλιοσίδια δρουν με περισσότερους του ενός μηχανισμούς. Επίσης, είναι σε εξέλιξη αρκετές σειρές, για τη μελέτη και άλλων τεχνικών και ουσιών.

Συμπερασματικά, μπορούμε να ισχυριστούμε ότι η κατανόηση των μηχανισμών οι οποίοι μετά από την πρωτοπαθή κάκωση του νωπιαίου μυελού οδηγούν σε δευτεροπαθή κυτταρικό θάνατο, είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη τεχνικών και φαρμάκων που θα αποτρέψουν την κατάληξη των τραυματιών σε αναπηρικά αμαξίδια και θα βελτιώσουν την ποιότητα της ζωής τους.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Agrawal SK, Fehlings MG. Mechanisms of secondary injury to spinal cord axons in vitro: Role of Na⁺, Na⁺-K⁺-ATPase, the Na⁺-H⁺ exchanger, and the Na⁺-Ca²⁺ exchanger. *J Neurosci* 1996; 16:545–552.
2. Amar AP, Levy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery* 1999; 44:1027–1040.
3. Anderson DK, Hall ED, Braughler JM, McCall JM, Means ED. Effect of delayed administration of U74006F (tirilazad mesylate) on recovery of locomotor function after experimental spinal cord injury. *J Neurotrauma* 1991; 8:187–192.
4. Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF et al. A randomized, controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of acute spinal-cord injury: Results of the Second National Acute Spinal Cord Injury Study. *N Engl J Med* 1990; 322:1405–1411.
5. Bracken MB, Shepard MJ, Holford TR et al. Methylprednisolone or tirilazad mesylate administration after acute spinal cord injury: 1-year follow up: Results of the third National Acute Spinal Cord Injury randomized controlled trial. *J Neurosurg* 1998; 89:699–706.
6. Buki A, Okonkwo DO, Povlishock JT. Postinjury cyclosporin A administration limits axonal damage and disconnection in traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 1999; 16:511–521.
7. Cohen JJ. Apoptosis. *Immunol Today* 1993; 14:126–130.
8. Crowe MJ, Bresnahan JC, Shuman SL, Masters JN, Beattie MS. Apoptosis and delayed degeneration after spinal cord injury in rats and monkeys. *Nat Med* 1997; 3:73–76.
9. Dalkara T, Moskowitz MA. The complex role of nitric oxide in the pathophysiology of focal cerebral ischemia. *Brain Pathol* 1994; 4:49–57.
10. Dawson TM, Dawson VL, Snyder SH. Molecular mechanisms of nitric oxide actions in the brain. *Ann NY Acad Sci* 1994; 738:76–85.
11. Dawson TM, Hung K, Dawson VL, Steiner JP, Snyder SH. Neuroprotective effects of gangliosides may involve inhibition of nitric oxide synthase. *Ann Neurol* 1995; 37:115–118.
12. Emery E, Aldana P, Bunge MB et al. Apoptosis after traumatic human spinal cord injury. *J Neurosurg* 1998; 89:911–920.
13. Faden AI, Demediuk P, Panter SS, Vink R. The role of excitatory amino acids and NMDA receptors in traumatic brain injury. *Science* 1989; 244:798–800.
14. Furukawa K, Estus S, Fu W, Mark RJ, Mattson MP. Neuroprotective action of cycloheximide involves induction of bcl-2 and antioxidant pathways. *J Cell Biol* 1997; 136:1137–1149.
15. Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol* 1992; 119:493–501.
16. Geisler FH, Dorsey FC, Coleman WP. Past and current clinical studies with GM-1 ganglioside in acute spinal cord injury. *Ann Emerg Med* 1993; 22:1041–1047.
17. Geisler FH, Dorsey FC, Coleman WP. Recovery of motor function after spinal-cord injury - a randomized, placebo-controlled trial with GM-1 ganglioside. *N Engl J Med* 1991; 324:1829–1838.
18. Guth L, Zhang Z, DiProspero NA, Joubin K, Fitch MT. Spinal cord injury in the rat: Treatment with bacterial lipopolysaccharide and indomethacin enhances cellular repair and locomotor function. *Exp Neurol* 1994; 126:76–87.
19. Hall ED, Braughler JM. Free radicals in CNS injury. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis* 1993; 71:81–105.
20. Hamada Y, Ikata T, Katoh S et al. Roles of nitric oxide in compression injury of rat spinal cord. *Free Radic Biol Med* 1996; 20:1–9.
21. Hochman A, Sternin H, Gorodin S et al. Enhanced oxidative stress and altered antioxidants in brains of Bcl-2-deficient mice. *J of Neurochemistry* 1998, 71:741–748.
22. Hollmann M, Hartley M, Heinemann S. Ca²⁺ permeability of KA-AMPA-gated glutamate receptor channels depends on subunit composition. *Science* 1991; 252:851–853.
23. Hu S, Peterson PK, Chao CC. Cytokine-mediated neuronal apoptosis. *Neurochem Int* 1997; 30:427–431.
24. Huang Z, Huang PL, Panahian N, Dalkara T, Fishman MC, Moskowitz MA. Effects of cerebral ischemia in mice deficient in neuronal nitric oxide synthase. *Science* 1994; 265:1883–1885.
25. Jacobs TP, Shohami E, Baze W et al. Thromboxane and 5-HETE increase after experimental spinal cord injury in rabbits. *Cent Nerv Syst Trauma* 1987; 4:95–118.
26. Kato H, Kanellopoulos GK, Matsuo S et al. Neuronal apoptosis and necrosis following spinal cord ischemia in the rat. *Exp Neurol* 1997; 148:464–474.
27. Katoh K, Ikata T, Katoh S et al. Induction and its spread of apoptosis in rat spinal cord after mechanical trauma. *Neurosci Lett* 1996; 216:9–12.
28. Kaufmann WE, Worley PF, Pegg J, Bremer M, Isakson P. COX-2, a synaptically induced enzyme, is expressed by excitatory neurons at postsynaptic sites in rat cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93:2317–2321.
29. Kew JNC, Gill R, Lorez HP et al. NMDA receptor NR2B subtype selective antagonists as neuroprotective agents in brain ischaemia (abstract). Fifth IBRO World Congress of Neuroscience 1999; 5:31.
30. Lazarov-Spiegler O, Rapalino O, Agranov G, Schwartz M. Restricted inflammatory reaction in the CNS: A key impediment to axonal regeneration? *Mol Med Today* 1998; 4:337–342.
31. Li GL, Brodin G, Farooque M et al. Apoptosis and expression of Bcl-2 after compression trauma to rat spinal cord. *J Neuropathol Exp Neurol* 1996; 55:280–289.
32. Liu XZ, Xu XM, Hu R et al. Neuronal and glial apoptosis after traumatic spinal cord injury. *J Neurosci* 1997; 17:5395–5406.
33. Lu J, Waite P. Spine update: Advances in spinal cord regeneration. *Spine* 1999; 24:926–930.
34. Jike Lu, Ashwell KYS, Waite P. Advances in Secondary Spinal Cord Injury Role of Apoptosis *Spine* 2000; 25:1859–1866.
35. Maroney AC, Glicksman MA, Basma AN, et al. Motoneuron apoptosis is blocked by CEP-1347 (KT 7515), a novel inhibitor of the JNK signaling pathway. *J Neurosci* 1998; 18:104–111.
36. Martinou JC, Dubois-Dauphin M, Staple JK et al. Overexpression of BCL-2 in transgenic mice protects neurons from naturally occurring cell death and experimental ischemia. *Neuron* 1994; 13:1017–1030.
37. Merrill JE, Ignarro LJ, Sherman MP, Melinek J, Lane TE. Microglial cell cytotoxicity of oligodendrocytes is mediated through nitric oxide. *J Immunol* 1993; 151:2132–2141.
38. Newton K, Strasser A. The Bcl-2 family and cell death regulation.

- Curr Opin Genet Dev 1998; 8:68–75.
39. Nishisho T, Tonai T, Tamura Y, Ikata T. Experimental and clinical studies of eicosanoids in cerebrospinal fluid after spinal cord injury. *Neurosurgery* 1996; 39:950–957.
 40. Ogata T, Nakamura Y, Tsuji K, Shibata T, Kataoka K. Steroid hormones protect spinal cord neurons from glutamate toxicity. *Neuroscience* 1993; 55:445–449.
 41. Raff M. Cell suicide for beginners. *Nature* 1998; 396:119–122.
 42. Resnick DK, Graham SH, Dixon CE, Marion DW. Role of cyclooxygenase 2 in acute spinal cord injury. *J Neurotrauma* 1998; 15:1005–1013.
 43. Rosenberg LJ, Teng YD, Wrathall JR. 2,3-Dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo(f)quinoxaline reduces glial loss and acute white matter pathology after experimental spinal cord contusion. *J Neurosci* 1999; 19:464–475.
 44. Rosenberg LJ, Teng YD, Wrathall JR. Effects of the sodium channel blocker tetrodotoxin on acute white matter pathology after experimental contusive spinal cord injury. *J Neurosci* 1999; 19:6122–6133.
 45. Sharma HS, Westman J, Olsson Y, Alm P. Involvement of nitric oxide in acute spinal cord injury: An immunocytochemical study using light and electron microscopy in the rat. *Neurosci Res* 1996; 24:373–384.
 46. Stys PK. Anoxic and ischemic injury of myelinated axons in CNS white matter: From mechanistic concepts to therapeutics. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998; 18:2–25.
 47. Sullivan PG, Bruce-Keller AJ, Rabchevsky AG et al. Exacerbation of damage and altered NF- κ B activation in mice lacking tumor necrosis factor receptor after traumatic brain injury. *J Neurosci* 1999; 19:6248–6256.
 48. Svensson LG, Crawford ES, Hess KR, Coselli JS, Safi HJ. Experience with 1509 patients undergoing thoracoabdominal aortic operations. *J Vasc Surg* 1993; 17:357–370.
 49. Takahashi K, Schwarz E, Ljubetic C, Murray M, Tessler A, Saavedra RA. DNA plasmid that codes for human Bcl-2 gene preserves axotomized Clarke's nucleus neurons and reduces atrophy after spinal cord hemisection in adult rats. *J Comp Neurol* 1999; 404:159–171.
 50. Taniguchi T. Cytokine signaling through nonreceptor protein tyrosine kinases. *Science* 1995; 268:251–255.
 51. Taoka Y, Okajima K, Uchiba M. Role of neutrophils in spinal cord injury in the rat. *Neuroscience* 1997; 79:1177–1182.
 52. Tator CH, Koyanagi I. Vascular mechanisms in the pathophysiology of human spinal cord injury. *J Neurosurg* 1997; 86:483–492.
 53. Villa PG, Henzel WJ, Sensenbrenner M, Henderson CE, Pettmann B. Calpain inhibitors, but not caspase inhibitors, prevent actin proteolysis and DNA fragmentation during apoptosis. *J Cell Sci* 1998; 111:713–722.
 54. Wada S, Yone K, Ishidou Y et al. Apoptosis following spinal cord injury in rats and preventative effect of N-methyl-D-aspartate receptor antagonist. *J Neurosurg* 1999; 91:98–104.
 55. Wrathall JR, Choiniere D, Teng YD. Dose-dependent reduction of tissue loss and functional impairment after spinal cord trauma with the AMPA/kainate antagonist NBQX. *J Neurosci* 1994; 14:6598–6607.
 56. Yanase M, Sakou T, Fukuda T. Role of N-methyl-D-aspartate receptor in acute spinal cord injury. *J Neurosurg* 1995; 83:884–888.
 57. Yong C, Arnold PM, Zoubine MN et al. Apoptosis in cellular compartments of rat spinal cord after severe contusion injury. *J Neurotrauma* 1998; 15:459–472.